

AINEs como tratamiento coadyuvante de la enfermedad periodontal

BECA T*
HERNÁNDEZ G*
BASCONES A**

Beca T, Hernández G, Bascones A. *AINEs como tratamiento coadyuvante de la enfermedad periodontal*. *Av Periodon Implantol*. 2007; 19, 2: 101-113.

RESUMEN

Se presenta una revisión bibliográfica acerca de la aplicación de antiinflamatorios de forma coadyuvante en el tratamiento periodontal. Tras una breve introducción, se establecen las bases inmunológicas de la inflamación y destrucción periodontal, centrándonos en el metabolismo del ácido araquidónico y los cuatro mediadores más implicados actualmente en la destrucción periodontal: prostaglandina E_2 (PGE_2), prostaglandina $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$), leucotrieno B_4 (LTB_4) y factor activador de plaquetas (PAF), y estableciendo su mecanismo de acción, su relación con la destrucción periodontal a través de las metaloproteinasas (MMPs) y su relación con algunas interleuquinas de la cascada inflamatoria también relacionadas con la destrucción tisular. Después se expone una relación de los fármacos más empleados en la literatura para la inhibición de todos estos mediadores (Antiinflamatorios no esteroideos o AINEs, ácidos grasos omega3, tetraciclinas y bifosfonatos), explicando su mecanismo de acción y los estudios que los han investigado y posteriormente se ha llevado a cabo una recopilación de los escasos estudios que realizan mediciones clínicas para finalizar estableciendo una serie de conclusiones.

PALABRAS CLAVE

AINEs, destrucción periodontal, destrucción tisular, inflamación periodontal.

Fecha de recepción: Junio 2006.

Fecha de aceptación: Julio 2006.

INTRODUCCIÓN

La periodontitis es una enfermedad que cursa inmunológicamente con la liberación de multitud de factores que inducen la respuesta inmune ocasionando de forma patológica la destrucción de los tejidos periodontales, muchas veces por la acción de factores de virulencia bacterianos como el lipopolisacárido (LPS)

segregado por multitud de bacterias implicadas en la progresión de la enfermedad periodontal.

Iniciada la colonización tisular por bacterias, la respuesta inmune desencadena la liberación de ciertos factores que, de un modo u otro, funcionando como una auténtica red, inician de forma patológica la destrucción tisular a nivel óseo y conectivo, que conducen a la

* Experto en Clínica Periodontal. Alumno de Doctorado UCM.

** Catedrático de Periodoncia de la Universidad Complutense de Madrid.

pérdida del diente. Hoy se conocen pormenorizadamente las vías y los factores que, finalmente, desencadenan tales procesos, y por ello distintas investigaciones se han centrado en proponer fármacos que inhiban estas cascadas de forma coadyuvante al tratamiento periodontal con el fin de disminuir al máximo la inflamación periodontal y la destrucción tisular.

INFLAMACIÓN PERIODONTAL Y DESTRUCCIÓN TISULAR

A. DESTRUCCIÓN DE LOS TEJIDOS BLANDOS:

El ligamento periodontal es uno de los tejidos de mayor actividad metabólica del organismo y el metabolismo del colágeno representa la mayoría de esta actividad. La razón biológica tal vez esté relacionada con la capacidad adaptativa ante las fuerzas oclusales, existiendo un equilibrio similar al que ocurre en la remodelación del tejido óseo. En las lesiones periodontales, este equilibrio está interrumpido e incluso durante la gingivitis inicial, las fibras colágenas gingivales ya están empezando a degradarse para dar paso a la entrada de células inflamatorias. Cuando esta destrucción se cronifica, se puede producir el avance de la lesión hacia estructuras más profundas y después la destrucción de fibras colágenas del ligamento periodontal, junto con el hueso alveolar de sostén.

La patogénesis de la enfermedad periodontal cursa, en el momento inicial de la destrucción tisular, con la degradación de los tejidos blandos gingivales, destrucción clínicamente apreciable como falta de integridad tisular en la encía, inflamación, enrojecimiento, hemorragia espontánea o ante estímulos mínimos... Hoy se sabe que el brazo efector final en este proceso lo constituyen las metaloproteinasas (MMPs), que catalizan la hidrólisis de colágeno y proteoglicano, los mayores componentes de la matriz extracelular. El papel de estas enzimas en la destrucción tisular ha sido demostrada en numerosos estudios (1-4) y su relación con la enfermedad periodontal está muy bien documentada.

La expresión de estas enzimas viene regulada por la presencia de citoquinas como la PGE_2 , segregadas ante ciertos estímulos por las células inflamatorias locales y que estimulan a los fibroblastos para que segreguen las MMPs. La PGE_2 ha sido la más estudiada a la hora de evaluar la destrucción tisular de las MMPs, pero no es la única en desencadenar este proceso, sino que existe una red de citoquinas que, de forma sinérgica,

pueden llevar a una mayor destrucción tisular que la únicamente explicable por la acción de la PGE_2 . Por ejemplo, el $TNF\alpha$ segregado por los macrófagos es capaz de aumentar la acción de la $COX2$, promoviendo así la síntesis de más PGE_2 . $IL1\beta$ también puede desencadenar por sí solo la producción de MMPs por los fibroblastos y se ha visto cómo la $IL6$, en acción sinérgica con la PGE_2 , tiene efecto estimulador en la regulación genética de la expresión de las MMPs.

B. DESTRUCCIÓN DE LOS TEJIDOS DUROS

Progresivamente, la enfermedad avanza hacia planos más profundos, consecuencia de la interacción entre la reacción inmune exagerada del huésped y la acción de los patógenos periodontales y es en este momento cuando la destrucción tisular empieza a afectar al hueso alveolar. En la destrucción del tejido óseo entran en juego otros factores, sobre todo relacionados con el metabolismo de los osteoclastos (factor de activación osteoclástica, algunas interleuquinas...), pero también están presentes las prostaglandinas, que siempre se han visto relacionadas con la reabsorción ósea. Miyauchi et al (35) han visto cómo la aplicación tópica de 1 mg/ml de PGE_2 aumentaba significativamente el número de osteoclastos en comparación con el grupo control, mostrando una relación dosis-dependiente, pero el mayor aumento en el número de osteoclastos se observaba a 0,1 mg/ml. Ante una mayor presencia de PGE_2 (2 mg/ml), no existían diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control, efecto también observado por otros estudios en función a la liberación de calcio (39), posiblemente debido a un proceso tóxico no específico sobre las células óseas. Otros estudios han visto (36) una mayor liberación de iones calcio y un aumento del número de osteoclastos a dosis bajas de PGE_2 y Rifkin et al (37) también vieron cómo los osteoclastos duplicaban su número en presencia de PGE_2 , observando modificaciones onduladas en la membrana, indicativas de inicio de reabsorción ósea. Se cree que, a nivel de la médula ósea, la PGE_2 podría inducir la producción de células similares a los osteoclastos al estimular la fusión de mononucleares precursoras (38), pero debemos tener en cuenta que la PGE_2 no tiene su origen, en la enfermedad periodontal, en el propio hueso, sino en el tejido periodontal, de modo que los resultados arrojados por estos estudios hacen pensar en que este mediador inflamatorio, originado en la encía y el tejido periodontal superficial a causa de un estímulo externo como es la aparición de LPS bacteriano ante una colonización, penetra en el tejido periodontal profun-

do causando allí donde está presente la reabsorción ósea por medio del estímulo para la proliferación y diferenciación de osteoclastos.

C. PRINCIPALES FACTORES INVOLUCRADOS EN LA DESTRUCCIÓN TISULAR

A lo largo de la literatura, todos estos factores han sido revisados e investigados, y se ha llegado a la conclusión de que, en la cascada inflamatoria de la destrucción tisular están presentes muchas citoquinas que actúan de forma sinérgica, destacando entre todas la prostaglandina E_2 (PGE_2), la prostaglandina $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$), leucotrieno 4 (LTB_4) y factor activador de plaquetas (PAF).

METABOLISMO DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

Los factores descritos se generan a partir de un precursor común de carácter lipídico, el ácido araquidónico, cuyo origen está en los fosfolípidos de membrana, metabolizados generalmente por medio de la fosfolipasa A_2 . Estos compuestos se denominan eicosanoides, y tomaron una importancia significativa en los años 30 cuando algunas publicaciones demostraron que el semen contenía una sustancia que contraía el músculo liso uterino; se creía que esta sustancia se generaba en la próstata y por ello se la denominó erróneamente prostaglandina. Posteriormente se vio cómo esta molécula no era una sustancia única, sino una familia completa de sustancias producidas en muchos tejidos, derivadas todas del ácido araquidónico.

Existen dos cascadas a partir del ácido araquidónico, según el enzima que actúe. Si actúa la prostaglandina sintasa (o COX), se obtiene una serie de prostanoides entre los que se encuentra la PGE_2 , mientras que si actúa la 5-lipooxigenasa, se obtienen los mediadores lipídicos conocidos como leucotrienos. Por otro lado, el metabolismo del ácido araquidónico está también implicado de forma indirecta en la obtención de otro mediador inflamatorio, el PAF, también implicado en la destrucción tisular.

A. PROSTANOIDES

A partir del ácido araquidónico, mediante la prostaglandina sintasa (COX), se obtiene la prostaglandina H_2 , muy inestable, y precursora por distintas vías de

tromboxanos, prostaciclina y otras prostaglandinas, como la PGE_2 o la $PGF_2\alpha$, según la célula en que se dé: en las plaquetas, por ejemplo, la vía conduce a la síntesis del TxA_2 ; en el endotelio vascular, conduce a la síntesis de prostaciclina; los mastocitos sintetizan PGD_2 , y los macrófagos implicados en la respuesta inmune sintetizarían en una fase tardía PGE_2 y $F_2\alpha$. Se trata básicamente de hormonas locales de vida breve que alteran la actividad de la célula donde son sintetizadas y de las células adyacentes. La naturaleza de estos efectos varían de una célula a otra, a diferencia de las hormonas globales, que tienen efectos más uniformes. Las prostaglandinas estimulan la inflamación, regulan el flujo sanguíneo local, controlan el transporte transmembrana, modulan la transmisión sináptica e inducen el sueño.

Para su obtención, pues, es necesaria la presencia de las ciclooxigenasas (COX). La COX se encuentra unida al retículo endoplásmico celular, y tiene una doble vertiente de actuación:

- Acción peróxido sintetasa, que primero oxigena el araquidonato y después lo cicliza para producir el endoperóxido cíclico PGG_2 .
- Acción peroxidasa, que convierte el PGG_2 en otro endoperóxido cíclico, PGH_2 .

Existe bajo dos formas isoméricas:

- La COX1 se encuentra en la mayoría de los tejidos como enzima constitutiva, y los eicosanoides que produce están implicados en la homeostasis normal.
- La COX2 es inducida en las células inflamatorias a partir de un estímulo inflamatorio (muy probablemente a partir de la presencia de IL-1 y LPS bacteriano), y es la más relacionada con la respuesta inflamatoria del tejido periodontal, al observarse en concentraciones muy altas en esta situación y en comparación con tejidos periodontales sanos (5) Un aumento de la concentración de COX2 iría, pues, unido a una mayor concentración periodontal de PGE_2 y $F_2\alpha$, como se ha visto en la literatura (6). Además, la COX2 induce la activación celular por el LPS u otras citoquinas inflamatorias, como la IL1 β muy relacionada también con la IL6 producida por los fibroblastos.

Los distintos factores implicados en la inflamación periodontal pueden estimular la expresión de estas enzimas, acelerando y potenciando el metabolismo del ácido araquidónico. Se sabe, por ejemplo, que la IL1 β aumenta la producción de PGE_2 vía COX2 (7) y de IL6 (8).

PGE₂

Fue la primera descubierta y por ello se ha prestado mucha atención a su papel en la reabsorción del tejido periodontal.

En primer lugar, existe una relación positiva entre los niveles de PGE₂ en el fluido crevicular y el incremento de la severidad y agresividad de la enfermedad, y se ha visto una relación con la tasa de pérdida de inserción de los tejidos periodontales y con la destrucción del hueso alveolar. La PGE₂ ha sido asociada a la pérdida de inserción en enfermedad periodontal y sus niveles en fluido crevicular son mayores en pacientes con periodontitis agresiva (9).

Se ha descubierto su relación con otras citoquinas, como la IL6 (10), muy implicada en la destrucción tisular, aunque la relación de esta con la PGF₂α es más fuerte. También se ha visto relacionada la expresión de la PGE₂ con los niveles de IL1β.

También se ha visto la relación que presenta con las MMPs (11). Nishikawa et al (2002) han visto cómo la PGE₂, paradójicamente, puede inhibir la síntesis de la MMP13 regulada por el TNFα.

PGF₂ALFA

Por otro lado, se ha observado (12) cómo la PGF₂α induce la secreción de MMPs por los fibroblastos y la estimula aún más en las células activadas por IL1β, y cómo induce la respuesta inflamatoria relacionada con la IL6 (13). Se ha visto cómo estimula la formación de osteoclastos y la producción de MMP1 (14), y también se ve elevada en localizaciones de enfermedad periodontal activa.

B. LEUCOTRIENOS

Se encontraron por primera vez en los leucocitos y tienen tres dobles enlaces conjugados, de ahí su nombre. El primer enzima en su biosíntesis es la 5-lipooxigenasa, que obtiene, a partir del ácido araquidónico, leucotrieno A₄, precursor de los leucotrienos más importantes de la respuesta inflamatoria periodontal. Uno de los compuestos provenientes del LTA₄ es el B₄, que se puede encontrar en muchos exudados inflamatorios tisulares.

Al actuar sobre receptores específicos, el LTB₄ produce adherencia, quimiotaxis y activación de PMN y macrófagos y estimula la producción de citoquinas por

los macrófagos y linfocitos. Aumenta la producción de IL6, muy relacionada con la destrucción tisular (15).

C. FACTOR DE AGREGACIÓN PLAQUETARIA (PAF)

El mal llamado PAF tiene efecto sobre una gran variedad de células diana diferentes y se considera un mediador importante en estados inflamatorios como la destrucción periodontal, incluso a concentraciones muy bajas. Este mediador se genera en concierto con lípidos mediadores derivados del ácido araquidónico. Como sinergiza con estos mediadores amplificando la respuesta inflamatoria, parece que ejerce un papel crítico en la inflamación en procesos tanto agudos como crónicos (16), aunque no existe mucha evidencia científica de su acción todavía (17).

Produce aumento de la permeabilidad vascular y edema. Es una importante quimiotaxina para los PMNs y macrófagos. Puede activar la fosfolipasa A₂ (PLA₂) y producir por ello eicosanoides.

FÁRMACOS A EMPLEAR**A. INTRODUCCIÓN**

Conociendo los mecanismos inflamatorios de la destrucción tisular y los mediadores que la promueven, podemos plantearnos la búsqueda de fármacos que inhiban su síntesis, mecanismo de acción y sus consecuencias. Como al principio, el mediador más implicado y estudiado fue la PGE₂, los estudios iniciales se centraron en fármacos que inhibían su síntesis (los AINEs), pero más tarde se conocieron las isoformas de la COX, con lo que se concluyó que lo lógico sería inhibir aquella más relacionada con la inflamación tisular, la COX2. Además, posteriormente se vio que otra vía metabólica del ácido araquidónico llevaba a la formación de otros mediadores implicados, los leucotrienos, con lo que también se postuló que sería necesario emplear fármacos que inhibieran. Hoy, se van descubriendo nuevas posibilidades de disminución de la destrucción tisular basándose en la inhibición de procesos distintos a los explicados, y se aplican fármacos muy diferentes a los anteriores, como es el caso de los bifosfonatos y las tetraciclinas.

B. AINEs

Como sabemos, los AINEs suprimen la síntesis de prostanoïdes por inhibición de la actividad enzimática

COX1 y COX2. Por ello, se ha especulado desde hace tiempo con la posibilidad de ejercer dicha acción a nivel periodontal evitando o disminuyendo la destrucción tisular. Hemos visto como está relacionada la COX2 en la síntesis de prostanoideos implicados en la inflamación. Sin embargo, la mayoría de los fármacos AINEs son inhibidores de ambas isoenzimas, aunque varían en el grado de inhibición de cada una de ellas (en paréntesis aparece la razón COX1/COX2):

- Relativamente selectivos de COX1: ácido acetil salicílico (166), indometacina (60), sulindaco (100), piroxicam (250), tolmetín (175).
- Menos selectivos para la COX1: ibuprofeno (15) y paracetamol (7,5).
- Equipotentes sobre ambas enzimas: naproxeno (0,6), flurbiprofeno (1,3), diclofenaco (0,7), nabumetona (1,4).
- Más selectivos para la COX2: nimesulida (0,018), celecoxib y rofecoxib.

Tenemos así AINEs no selectivos y selectivos de la COX2.

NO SELECTIVOS

La capacidad de un AINE de inhibir la COX2 explicaría su acción terapéutica, y la capacidad de inhibir la COX1, los efectos secundarios. Por lógica, nuestro objetivo sería la inhibición específica de la acción COX2, que es la implicada en la producción de los prostanoideos, y por ende, de las citadas PGs y, sin embargo, en muchos estudios, se han venido empleando desde el principio distintos AINEs (la mayoría no COX-específicos) con resultados bastante alentadores.

En este sentido se han aplicado distintos fármacos presentes en todos los grupos antes descritos, desde la indometacina, como menos selectiva al flurbiprofeno, que tiene una acción equitativa para las dos isoformas. Los resultados de estos estudios tienen como clara conclusión la reducción de los niveles de PGE₂ en los tejidos periodontales, pero, como se ve en algunos, no ejercen ningún efecto significativo sobre otros mediadores como la IL1 β , la IL6 o los LTB₄, ante los cuales hay datos muy contradictorios. Aunque algunos estudios son muy alentadores en cuanto a las mediciones clínicas radiográficas (para la medición de la pérdida de hueso), hay otros que no ven efectos positivos y los plazos de seguimiento son muy variables:

- Preshaw et al (1998) realizaron un estudio en 42 pacientes evaluando los efectos del Ketorolaco tópico (enjuague) en comparación con un placebo

durante 6 semanas, observando que 14 días de enjuague con ketorolaco controlaba la elevación de PGE₂ en el fluido crevicular. Sin embargo, no se observaban cambios detectables en los niveles de PGE₂ a las 12 horas siguientes del primer enjuague (18).

- Offenbacher et al (1992) evaluaron en perros beagle los efectos en comparación de: tres formulaciones diferentes de ibuprofeno, naproxeno sistémico, flurbiprofeno tópico o placebo durante 6 meses. Llevaron a cabo mediciones en cuanto a los cambios en la pérdida de hueso, viendo que el índice de pérdida en animales no tratados era del 38%, mientras que en el los grupos test variaba del 21 al 36.9%, una variación no significativa, aunque veían una significativa disminución del nivel de PGE₂ en el fluido crevicular (19).
- Abramson et al (1992) evaluaron el efecto del flurbiprofeno sistémico en 21 pacientes. No realizaron mediciones clínicas, aunque observaron que la PGE₂ y el tromboxano A₂ se mantuvieron constantes desde el día 29 al 50. El flurbiprofeno desaparece a los 7 días del organismo sin efectos secundarios (20).
- Li et al (1996) estudiaron el efecto del ketoprofeno tópico en 8 primates (Macaca Rhesus) durante 6 meses. Se trata de un estudio muy completo en el que, por un lado, se hicieron mediciones óseas mediante radiografía digital, encontrando incluso aumento del nivel óseo en comparación con la pérdida observada en el grupo placebo, a los 3 y 6 meses. Por otro lado, estudiaron sus efectos en los niveles tisulares de distintos mediadores, viendo que:
 - LTB₄ y PGE₂ disminuían, lo cual resulta paradójico dado que el LTB₄ no se obtiene por medio de la COX.
 - IL1 β y TNF α : no mostraban cambios significativos (21).
- O'Brien et al (1996) estudiaron los efectos de ibuprofeno de forma controlada con un placebo en 12 pacientes durante 2 semanas. No realizaron mediciones clínicas, pero observaron los altos niveles de PEG₂ y LTB₄ en los tejidos periodontales después de una cirugía. Concluyen que el ibuprofeno puede inhibir satisfactoriamente la PGE₂ y reducir estos efectos, pero no tiene efecto como el LTB₄ como es lógico (22).
- Jeffcoat et al (1995) llevaron a cabo un completo estudio en 55 pacientes durante 6 meses, a los que distribuyeron en tres grupos: enjuagues de ketorolaco con una tableta de placebo, enjuagues de placebo con tabletas de flurbiprofeno y placebo en cápsula y enjuague. Realizaron mediciones clínicas

mediante radiografías, viendo en el grupo del flurbiprofeno una pérdida mayor que en el grupo del ketorolaco. Además vieron una reducción significativa en el nivel de PGE_2 , concluyendo que la aplicación de ketorolaco preservaría más hueso alveolar que el flurbiprofeno sistémico (23).

- Cavanaugh et al (1998) evaluaron los efectos del ketorolaco en enjuagues en 55 pacientes durante 6 meses. Llevaron a cabo mediciones clínicas mediante radiografías de aleta de mordida, pero no vieron grandes efectos. Estudiaron los niveles de PGE_2 e $IL1\beta$ en el fluido crevicular, viendo los claros efectos sobre la PGE_2 pero no sobre la interleuquina (24).
- Abramson et al. (1992) vieron cómo la administración parenteral de flurbiprofeno reducía momentáneamente (durante la administración) las concentraciones de TxB_2 y PGE_2 en el fluido crevicular de pacientes con periodontitis leve (no agresiva, por ejemplo) (25).
- Blom et al (1997) han visto cómo la indometacina es capaz de reducir significativamente los niveles de PGE_2 pero no la $IL6$, aunque este estudio se centraba en la enfermedad de Alzheimer (26).

Efectos secundarios y reacciones adversas: en la mayoría de los pacientes no se producen ningún tipo de efectos secundarios importantes. En principio, si no existe ninguna intolerancia al fármaco por parte del paciente, sólo a dosis altas y continuadas en el tiempo suelen aparecer reacciones adversas. Estas reacciones son más frecuentes a nivel gastrointestinal (las náuseas y las molestias o dolor de estómago son las más frecuentes). En algunas ocasiones se puede producir diarrea y rara vez, hemorragia digestiva. Los pacientes que utilizan piroxicam o meloxicam tienen un mayor riesgo de hemorragia gástrica. Con diclofenaco y naproxeno el riesgo es menor, con ibuprofeno el riesgo es aún menor y con nimesulida es mínimo. Estas reacciones se deben a la inhibición de la $COX1$, que actúa inhibiendo la secreción ácida.

También se describen reacciones cutáneas, aunque es raro en los fármacos citados.

Otros efectos secundarios que se pueden producir sería a nivel renal, pues existen prostanoides implicados en el mantenimiento de la hemodinámica renal y, más concretamente, de la vasodilatación compensatoria mediada por PGE_2 en respuesta a la acción de la noradrenalina o de la angiotensina II. Se podría producir en un consumo prolongado lo que se conoce

como nefropatía analgésica, que puede llevar a la necrosis papilar renal. Actualmente, hay estudios que ven indicios de que el paracetamol y otros AINEs podrían estar relacionados con estos efectos.

SELECTIVOS

Aunque inicialmente se considerara a la PGE_2 como molécula fundamental en la mediación de la destrucción tisular inflamatoria, posteriormente se fueron descubriendo nuevos mediadores que también estaban implicados. Por otro lado, se descubrieron las isoformas de la COX . Con el avance en el conocimiento de las cascadas de la inflamación, se vio que los datos tan alentadores que arrojaban los estudios sobre los AINEs no selectivos eran sólo aplicables a la disminución de los niveles de la PGE_2 , pero no en cuanto a otros mediadores como la $PGF_2\alpha$, los leucotrienos, el PAF o la $IL6$, como vieron distintos estudios. Muy pocos estudios mostraban, por ejemplo, claros descensos en la secreción de $IL6$ (implicada también junto con la PGE_2 en la producción de MMPs) mediante indometacina, por ejemplo (10), mientras que la mayoría concluían que los AINEs no selectivos tenían poco o ningún efecto sobre su secreción (26-28). Otros estudios (22) veían cómo estos fármacos no tenían ningún efecto sobre la otra vertiente del metabolismo del ácido araquidónico, aquella que generaba los leucotrienos. Realmente no se sabe con certeza por qué algunos AINEs como la indometacina son incapaces de regular la secreción de $IL6$, pero se piensa que posiblemente se deba a la acción de estos fármacos en otras cascadas de la inflamación. En el caso concreto de la indometacina, parece que no tiene efecto inhibitorio sobre la regulación del $NF\kappa B$ su efecto sobre la expresión de la $IL6$. Se cree que la PGE_2 producida vía $COX2$ (mediante la $IL1\beta$), contribuye a la producción de $IL6$, estando $IL6$ y PGE_2 implicadas en la destrucción tisular y siendo por tanto necesario inhibir ambas.

Los inhibidores de la COX no selectivos pueden disminuir la producción de $IL6$ en células humanas de diferente forma según el tipo de célula, pero no hay un efecto unificado de inhibición de la secreción de $IL6$ por estos fármacos. En el caso de los anti $COX2$, parece que la inhibición de la PGE_2 puede ser simplemente una parte del mecanismo de acción de estos fármacos, que también implica la inhibición de la secreción de $IL6$.

Desde que empezaron a aparecer AINEs más selectivos de $COX2$ en el mercado, distintos autores comen-

zaron a evaluar los distintos fármacos en este campo, empezando por inhibidores selectivos que ni siquiera había salido al mercado. Algunos ni siquiera eran totalmente selectivos de la COX2, como el caso de la nimesulida, pero recientemente aparecen estudios evaluando los efectos de fármacos como el Celecoxib o el Rofecoxib:

- Tipton et al (2003) hicieron una innovación e incluyeron en su estudio (sobre fibroblastos gingivales in vitro) la valoración de la acción de la IL6 estimulada por la IL1 β en la respuesta inflamatoria. En su estudio, compararon el efecto de la indometacina con el ejercido por antiCOX2 (rofecoxib y celecoxib) tanto sobre la IL6 como sobre la PGE₂, encontrando que los niveles de PGE₂ descendían en ambos grupos pero que la IL6 sólo se reducía en el grupo de los antiCOX2. De hecho, en algunos casos de indometacina incluso aumentaba su secreción. Concluyen que si bien los AINEs no selectivos disminuyen la secreción de PGE₂, su efecto no es tal con respecto a la IL6, cosa que sí se observa con los anti COX2 (29).
- Vardar et al (2003) realizaron un estudio sobre 30 pacientes con periodontitis crónica evaluando el naproxeno (no selectivo) en comparación con la nimesulida (muy selectivo de COX2) y vieron cómo la nimesulida disminuía significativamente los niveles tisulares de PGF₂ α , pero no mucho los de PGE₂. Llevaron a cabo mediciones clínicas en las que no vieron muchas diferencias en comparación con el placebo (30).
- Holzhausen et al. (2002) realizaron un estudio de seguimiento de 30 días en ratas acerca del efecto del celecoxib en la pérdida ósea y vieron cómo esta disminuía significativamente (31).
- Vardar et al (2005), en un estudio posterior, evaluaron el efecto de antiCOX2 y antileucotrienos (ácidos grasos omega-3) en los niveles de PGE₂, PGF₂ α , LTB₄ y PAF y vieron que, individualmente, los fármacos citados presentaban un efecto parcial poco significativo pero, en combinación, presentaban una acción sinérgica bastante eficaz, consiguiendo niveles muy similares a los del grupo control. En cuanto a la PGF₂ α , consiguieron reducciones en los niveles, aunque no fueron estadísticamente significativas. Vieron cómo el PAF era inhibido en mayor proporción con el celecoxib que con los antileucotrienos (32).

Efectos secundarios y reacciones adversas: inicialmente, los inhibidores de la ciclooxigenasa 2 se convirtieron en una importante alternativa en el arsenal de los antiinflamatorios no esteroideos, considerados

tan eficaces como los no selectivos, pero sin efectos secundarios como los gastrointestinales. Recientemente, el inhibidor de la COX2 celecoxib (Celebrex) parece ser una esperanza importante para el tratamiento y prevención del cáncer, y es actualmente el centro de atención de más de 40 ensayos clínicos del National Cancer Institute. Sin embargo, con la reciente retirada voluntaria del mercado de rofecoxib (Vioxx) por preocupaciones de que puede aumentar el riesgo de problemas cardiovasculares, muchos profesionales se están preguntando si todos los inhibidores de la COX2 podrían plantear problemas similares de inocuidad. Según las casas farmacéuticas, parece que Vioxx y Celebrex difieren sustancialmente en su composición molecular y en el tiempo que permanecen en el organismo. Se piensa que difieren en su grado de especificidad a la COX2 y actividad inhibidora y, probablemente lo que es más importante, en sus interacciones con blancos que no sean la COX2. La experiencia con Vioxx, no obstante, es un valioso recordatorio de que, a pesar de su historia de inocuidad, todos los medicamentos tienen algún riesgo. La decisión de recetar o estudiar un medicamento en un ensayo clínico requiere que se ponderen cuidadosamente los riesgos y beneficios potenciales. Es precisa una mayor investigación acerca de estos fármacos antes de aplicarlos indiscriminadamente.

C. INHIBIDORES DE LOS LEUCOTRIENOS

Con el fin de inhibir la vía inflamatoria dependiente de los leucotrienos, que implica la acción del enzima LOX sobre el ácido araquidónico, es preciso emplear otros fármacos. Algunos autores, de hecho, han especulado sobre la posibilidad de que, al inhibir la vía COX, se acumulan las moléculas de ácido araquidónico y es fácil que todo el equilibrio se desvíe a una mayor producción de leucotrienos, que también tienen su importancia en la respuesta inflamatoria.

Con este fin se han venido empleando distintos fármacos, sobre todo derivados de ácidos grasos de pescado como son el ácido eicosapentanoico (EPA) y docosahexanoico (DHA). Estos dos fármacos compiten con el ácido araquidónico y evitan su metabolismo, sobre todo en las vías LOX, pero también ejercen un control parcial sobre las COX, con lo que se producen prostaglandinas de serie 3 (PG3) y leucotrienos de serie 5 (LTB₅), que no presentan casi ningún efecto inflamatorio. Aparte, los EPA sustituyen al ácido araquidóni-

co, con lo que disminuyen los niveles de glicerofosfolina, una importante fuente de lyso-PAF, el precursor del PAF.

Hay otros fármacos que directamente inhiben la 5-LOX, inhibiendo la síntesis de todos los leucotrienos. Un ejemplo es el zileuton, aún en fase de investigación. Se sabe poco aún de esta posibilidad y es necesaria una mayor investigación.

- Vardar et al (2005), en el estudio antes citado, ven cómo los antiCOX2, obviamente, tienen poco o ningún efecto sobre los leucotrienos (el LTB₄), pero el empleo de ácidos grasos omega-3 los reducía significativamente (32).
- Alam et al (1991) han visto cómo ratas alimentadas con una dieta rica en ácidos omega 3 presentaban un descenso en los niveles gingivales de ácido araquidónico, PGE₂ y LTB₄ (33).

D. OTROS FÁRMACOS INVESTIGADOS

TETRACICLINAS

Desde hace tiempo estos fármacos se han venido aplicando en Periodoncia con fines antimicrobianos, pero recientemente se ha visto que presentan un efecto antiinflamatorio añadido. Se cree que eliminan la inhibición de la síntesis de colágeno, pero también se cree que es posible que afecten el metabolismo de los fosfolípidos de membrana, precursores de ácido araquidónico.

- Se ha visto que bajas dosis de tetraciclinas son capaces de reducir los niveles de prostaglandinas y fosfolipasa A₂, y también de MMPs (34,35).
- Ramamurthy et al (2002) han visto reducciones significativas en los niveles de MMPs y mediadores inflamatorios tras la aplicación de tetraciclinas (36).
- Bezerra et al (2002): Concluyen que la doxiciclina inhibe la destrucción ósea alveolar (37).

BIFOSFONATOS

Actúan modulando la respuesta del huésped reduciendo el reclutamiento y la actividad de los osteoclastos. El alendronato sódico es un ejemplo, y actúa como un agente antiosteolítico produciendo modificaciones estructurales en la membrana del osteoclasto en el momento de la reabsorción. Tienen una gran afinidad por los cristales cálcicos y han sido empleados en el tratamiento de PAGET, hipercalcemia maligna.... Además, parecen inhibir la acción de las MMPs por este

efecto quelante sobre los cationes (38). Se han visto en literatura:

- Reddy et al (1995): El alendronato inhibe la pérdida de densidad ósea en periodontitis inducida por ligaduras en perros, aunque los efectos en cuanto parámetros clínicos fueron mínimos (39).
- Denoyelle et al (2003): El bifosfonato zoledronic reduce la expresión de la COX2 y por tanto la secreción de PGE₂ (40).
- Buduneli et al (2004): Es posible que los bifosfonatos inhiban la reabsorción ósea mediante el control de la PGE₂ y la destrucción del tejido conectivo reduciendo la actividad de las MMPs (41).
- Mundy et al (2001): Especulan que los bifosfonatos inhiban la acción osteoclástica promoviendo su apoptosis (42).

En asociación, tetraciclinas y bifosfonatos parecen tener un efecto sinérgico y han sido estudiados en modelos animales, viéndose una reducción en la síntesis y liberación de MMPs, pero se han hecho pocos estudios evaluando se efecto sobre otros mediadores como la PGE₂.

- Budunelli et al (2004) realizaron un estudio sobre animales evaluando los efectos de los fármacos sobre los mediadores mas implicados en la destrucción periodontal (PAF, PGE₂, PGF₂α y LTB₄.) y vieron cómo los fármacos ejercía una acción conjunta sinérgica al disminuir los niveles de los mediadores estudiados (41).
- Llavaneras et al (2001) vieron como, por sí solos, los bifosfonatos y las tetraciclinas conseguían ligeras reducciones den los niveles de MMPs y casi nulos efectos a nivel clínico pero, en conjunción, sí se veían cambios clínicos y reducciones significativas en los niveles de MMPs (43).
- Yaffe et al. (2003) también han visto este efecto sinérgico en comparación con la aplicación de los productos sin combinar (44).

HALLAZGOS CLÍNICOS EN ESTUDIOS SOBRE HUMANOS Y ANIMALES:

La mayoría de los estudios revisados se basan en el estudio de los efectos de los fármacos sobre los niveles de concentraciones de los mediadores inflamatorios citados, pero existe muy poca evidencia científica del efecto de dichos fármacos sobre los hallazgos clínicos periodontales, sobre todo en humanos.

- Offenbacher et al (1992), en un estudio antes citado, vieron cómo el empleo de AINEs no selectivos (ibuprofeno, naproxeno sistémico y flurbiprofeno

- tópico) producía cambios poco significativos en cuanto a la pérdida ósea, viendo que el índice de pérdida en animales no tratados era del 38%, mientras que en los grupos test variaba del 21 al 36.9% (19).
- Jeffcoat et al (1995) realizaron mediciones clínicas mediante radiografías, viendo en el grupo del flurbiprofeno una pérdida mayor que en el grupo del ketorolaco, concluyendo que la aplicación de ketorolaco preservaría mas hueso alveolar que el flurbiprofeno sistémico (23).
 - Li et al (1996) estudiaron el efecto del ketoprofeno y llevaron a cabo mediciones óseas mediante radiografía digital, encontrando incluso aumento del nivel óseo en comparación con la pérdida observada en el grupo placebo, a los 3 y 6 meses (22).
 - Cavanaugh et al (1998) evaluaron los efectos del ketorolaco en enjuagues en 55 pacientes durante 6 meses. Llevaron a cabo mediciones clínicas mediante radiografías de aleta de mordida, pero no vieron grandes efectos (24).
 - Vardar et al (2003) evaluaron en un estudio comparativo de doble ciego (controlado con placebo) los efectos clínicos de la aplicación en pacientes periodontales tratados con terapia no quirúrgica, por un lado, de nimesulida (relativamente selectivo de COX2) y de naproxeno por otro (no selectivo) y estudiaron la evolución de parámetros periodontales (profundidad de sondaje y nivel clínico de inserción, índice de placa e índice de sangrado papilar) a 10 días y 3 meses en 30 pacientes con periodontitis crónica, encontrando mejores resultados en el grupo de la nimesulida por ser quizá mas selectivo de la COX2:
 - Profundidad de sondaje y nivel clínico de inserción disminuyeron pero sólo significativamente a los 3 meses.
 - Índice de placa: disminuyó a los 10 días y 3 meses.
 - Índice de sangrado papilar: Mostró una disminución muy significativa a los 10 días, aunque volvió a aumentar en el grupo del naproxeno a los 3 meses.
 - Holzhausen et al (2002): vieron cómo la aplicación del celecoxib en ratas con enfermedad periodontal disminuía significativamente la pérdida ósea en comparación con el grupo control. Sin embargo, las diferencias eran sólo significativas a los 18 días (31).

CONCLUSIONES

La mayoría de los estudios observados sólo se centran en los efectos que los fármacos tienen a nivel de los

mediadores de la inflamación, pero se han llevado a cabo pocos estudios en humanos evaluando parámetros clínicos, lo que sería definitivo para determinar la idoneidad de la aplicación de una terapia antiinflamatoria con el fin de frenar la pérdida de inserción periodontal y la reabsorción ósea alveolar una vez instaurado el tratamiento periodontal, sobre todo en casos de periodontitis agresiva, en los que se observa una destrucción tisular exagerada por parte del huésped, muchas veces relacionada con una altísima presencia observada de PGE₂. Serían necesarios mas estudios llevando a cabo un seguimiento fiable como mínimo a 6 meses, evaluando parámetros clínicos y radiográficos.

A la luz de los artículos revisados, parece lógico que el mejor camino por ahora en la inhibición de la cascada inflamatoria que acarrea la destrucción tisular sería la inhibición selectiva de la COX2 mediante fármacos como el celecoxib (no el rofecoxib), con lo que inhibiríamos la creación de PGE₂ y PGF₂α (y también PAF e IL6 por otras vías poco claras todavía), pero también por inhibición de la 5-LOX, es decir, por la inhibición de la síntesis de leucotrienos, que también se encuentran asociados a la destrucción periodontal. Es mas, si no añadimos fármacos que inhiban la LOX y sólo inhibimos la COX2, el equilibrio metabólico del ácido araquidónico puede decantarse por una mayor obtención de leucotrienos, con lo que los efectos sobre la inflamación tisular serán nulos. En cualquier caso, estos fármacos siempre se deberán aplicar en conjunción con un tratamiento periodontal adaptado al paciente y al tiempo de periodontitis que presenta, teniendo en cuenta la eventualidad del uso de antibióticos y antisépticos orales y sus posibles interacciones farmacológicas tanto con la medicación que se prescriba como con la que el paciente se halle tomando.

El fármaco a aplicar sería, en el campo de los inhibidores de la COX2, el celecoxib y, en el de la LOX, en principio los comentados EPA y DHA, pues, aunque existen nuevos fármacos posiblemente mas selectivos, todavía están en fase de experimentación. Sin embargo, aún esta en el aire la inocuidad de los AINes específicos de la COX2 y puede que el celecoxib no sea tan inofensivo como se cree por ahora, como ocurrió con el rofecoxib. Aún es necesaria mas investigación acerca de los efectos de estos fármacos a largo plazo.

Por supuesto, la vía de administración de elección deberá ser sistémica. Podría plantearse el empleo coad-

yuvante de enjuagues con ketorolaco a la luz de algunos resultados observados en estudios anteriores, pero el efecto principal antiinflamatorio se efectuara con la distribución del fármaco a nivel sistémico.

En cuanto al momento de administración, esta debería realizarse, como mínimo, de dos a tres días antes de la intervención terapéutica periodontal, pues es el momento en que estos fármacos alcanzan en sangre su concentración idónea, y prolongando su administración al menos dos días después de terminar con el tratamiento periodontal, a fin de que la inflamación tisular provocada por las maniobras terapéuticas (raspaje y alisado, cirugías periodontales...) no sea capaz de acarrear incluso una adicional destrucción periodontal. Además, cabe pensar en el efecto analgésico para bienestar del paciente durante el postoperatorio.

En cuanto a la aplicación de otros fármacos como las tetraciclinas en conjunción con los bifosfonatos, se ha investigado poco actualmente del efecto antiinflamatorio de estos compuestos. Sería necesaria una mayor investigación acerca de este fenómeno. En un futuro sería muy positivo llevar a cabo un estudio comparativo entre la asociación de bifosfonatos y tetraciclinas por un lado y los antiCOX2 y antileucotrenos por otro.

SUMMARY

A review about the application of antiinflammatories as an aid for the periodontal treatment is presented. After a brief introduction, we explain the immunological bases of periodontal inflammation and tissue destruction, focusing on arachidonic acid metabolism and the four most important inflammatory mediators now in periodontal tissue resorption: prostaglandin E₂ (PGE₂), prostaglandin F₂α (PGF₂α), leucotriene B₄ (LTB₄) and platelet activation factor (PAF), and explaining their actions and role in inflammation through matrix metalloproteinase (MMPs) and their relation with some other mediators in the inflammatory chain also related with tissue resorption. After, we expound some of the most used drugs for the inhibition of all of these mediators (non-steroid antiinflammatory drugs or NSAIDs, omega3 fatty acids, tetracyclines and bisfosfonates), explaining their action and the papers which investigated them and later we have made a compilation of the few studies making clinical measurements to finish establishing some conclusions.

KEYWORDS

NSAIDs, periodontal destruction, tissue destruction, periodontal inflammation.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ohlsson K, Olsson I. The neutral proteases of human granulocytes. Isolation and partial characterization of two granulocyte collagenases. *Eur J Biochem.* 1973;36 (2):473-81.
2. Kowashi Y, Jaccard F, Cimasoni G. Increase of free collagenase and neutral protease activities in the gingival crevice during experimental gingivitis in man. *Arch Oral Biol.* 1979;24(9):645-50.
3. Haerian A, Adonogianaki E, Mooney J, Docherty JP, Kinane DF. Gingival crevicular stromelysin, collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases levels in healthy and diseased sites. *J Clin Periodontol.* 1995;22 (7):505-9.
4. Haerian A, Adonogianaki E, Mooney J, Manos A, Kinane DF. Effects of treatment on gingival crevicular collagenase, stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases and their ability to predict response to treatment. *J Clin Periodontol.* 1996;23 (2): 83-91.
5. Morton RS, Dongari-Bagtzoglou AI. Cyclooxygenase-2 is upregulated in inflamed gingival tissues. *J Periodontol.* 2001;72 (4):461-9.
6. Offenbacher S, Odle BM, Braswell LD, Johnson HG, Hall CM, McClure H, Orkin JL, Strobert EA, Green MD. Changes in cyclooxygenase metabolites in experimental periodontitis in Macaca mulatta. *J Periodontal Res.* 1989;24 (1):63-74.
7. Modeer T, Yucel-Lindberg T, Iinuma M, Lerner UH, Andersson G. Epidermal growth factor potentiates interleukin 1 and tumor necrosis factor-induced prostaglandin biosynthesis in human gingival fibroblasts. *Cytokine.* 1993;5(3):198-204.
8. Dongari-Bagtzoglou AI, Ebersole JL. Production of inflammatory mediators and cytokines by human gingival fibroblasts following bacterial challenge. *J Periodontal Res.* 1996;31(2):90-8.
9. Offenbacher S, Odle BM, Gray RC, Van Dyke TE. Crevicular fluid prostaglandin E levels as a measure of the

- periodontal disease status of adult and juvenile periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 1984;19(1):1-13.
10. Czuszak CA, Sutherland DE, Billman MA, Stein SH. Prostaglandin E2 potentiates interleukin-1 beta induced interleukin-6 production by human gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol.* 1996;23 (7):635-40.
 11. McLaren J, Taylor DJ, Bell SC. Prostaglandin E (2)-dependent production of latent matrix metalloproteinase-9 in cultures of human fetal membranes. *Mol Hum Reprod.* 2000;6(11):1033-40.
 12. Noguchi K, Tominaga Y, Matsushita K, Izumi Y, Endo H, Kondo H, Ishikawa I. Upregulation of matrix metalloproteinase-1 production by prostaglandin F2alpha in human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2001;36(5):334-9.
 13. Noguchi K, Endo H, Kondo H, Ishikawa I. Prostaglandin F2alpha upregulates interleukin-6 production in human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2001;36(2):80-7.
 14. Noguchi K, Tominaga Y, Matsushita K, Izumi Y, Endo H, Kondo H, Ishikawa I. Upregulation of matrix metalloproteinase-1 production by prostaglandin F2alpha in human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2001;36(5):334-9.
 15. Emingil G, Cinarcik S, Baylas H, Coker I, Huseyinov A. Levels of leukotriene B4 in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *J Periodontol.* 2001;72 (8):1025-31.
 16. Emingil G, Cinarcik S, Baylas H, Huseyinov A. Levels of platelet-activating factor in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *J Periodontol.* 2001;72 (8):1032-7.
 17. McManus LM, Pinckard RN. PAF, a putative mediator of oral inflammation. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2000;11(2):240-58.
 18. Preshaw PM, Lauffart B, Brown P, Zak E, Heasman PA. Effects of ketorolac tromethamine mouthrinse (0.1%) on crevicular fluid prostaglandin E2 concentrations in untreated chronic periodontitis. *J Periodontol.* 1998;69(7):777-83.
 19. Offenbacher S, Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH, Odle BM, Smith MA, Hall CM, Johnson HG, Goldhaber P. Effects of NSAIDs on beagle crevicular cyclooxygenase metabolites and periodontal bone loss. *J Periodontal Res.* 1992;27 (3):207-13.
 20. Abramson MM, Wolff LF, Offenbacher S, Aeppli DM, Hardie ND, Friedman HM. Flurbiprofen effect on gingival crevicular fluid prostaglandin and thromboxane levels in humans. *J Periodontal Res.* 1992; 27 (5):539-43.
 21. Li KL, Vogel R, Jeffcoat MK, Alfano MC, Smith MA, Collins JG, Offenbacher S. The effect of ketoprofen creams on periodontal disease in rhesus monkeys. *J Periodontal Res.* 1996;31(8):525-32.
 22. O'Brien TP, Roszkowski MT, Wolff LF, Hinrichs JE, Hargreaves KM. Effect of a non-steroidal anti-inflammatory drug on tissue levels of immunoreactive prostaglandin E2, immunoreactive leukotriene, and pain after periodontal surgery. *J Periodontol.* 1996;67(12):1307-16.
 23. Jeffcoat MK, Reddy MS, Haigh S, Buchanan W, Doyle MJ, Meredith MP, Nelson SL, Goodale MB, Wehmeyer KR. A comparison of topical ketorolac, systemic flurbiprofen, and placebo for the inhibition of bone loss in adult periodontitis. *J Periodontol.* 1995;66(5):329-38.
 24. Cavanaugh PF Jr, Meredith MP, Buchanan W, Doyle MJ, Reddy MS, Jeffcoat MK. Coordinate production of PGE2 and IL-1 beta in the gingival crevicular fluid of adults with periodontitis: its relationship to alveolar bone loss and disruption by twice daily treatment with ketorolac tromethamine oral rinse. *J Periodontal Res.* 1998;33(2):75-82.
 25. Abramson MM, Wolff LF, Offenbacher S, Aeppli DM, Hardie ND, Friedman HM. Flurbiprofen effect on gingival crevicular fluid prostaglandin and thromboxane levels in humans. *J Periodontal Res.* 1992;27(5):539-43.
 26. Blom MA, van Twillert MG, de Vries SC, Engels F, Finch CE, Veerhuis R, Eikelenboom P. NSAIDs inhibit the IL-1 beta-induced IL-6 release from human post-mortem astrocytes: the involvement of prostaglandin E2. *Brain Res.* 1997;777 (1-2):210-8.
 27. Tsuboi I, Tanaka H, Nakao M, Shichijo S, Itoh K. Non-steroidal anti-inflammatory drugs differentially regulate cytokine production in human lymphocytes: up-regulation of TNF, IFN-gamma and IL-2, in contrast to down-regulation of IL-6 production. *Cytokine.* 1995;7(4):372-9.

28. Tanaka K, Tanaka H, Kanemoto Y, Tsuboi I. The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on immune functions of human peripheral blood mononuclear cells. *Immunopharmacology*. 1998;40(3):209-17.
29. Tipton DA, Flynn JC, Stein SH, Dabbous MKh. Cyclooxygenase-2 inhibitors decrease interleukin-1beta-stimulated prostaglandin E2 and IL-6 production by human gingival fibroblasts. *J Periodontol*. 2003;74(12):1754-63.
30. Vardar S, Baylas H, Huseyinov A. Effects of selective cyclooxygenase-2 inhibition on gingival tissue levels of prostaglandin E2 and prostaglandin F2alpha and clinical parameters of chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2003;74(1):57-63.
31. Holzhausen M, Rossa Junior C, Marcantonio Junior E, Nassar PO, Spolidorio DM, Spolidorio LC. Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2002;73(9):1030-6.
32. Vardar S, Buduneli E, Baylas H, Berdeli AH, Buduneli N, Atilla G. Individual and combined effects of selective cyclooxygenase-2 inhibitor and omega-3 fatty acid on endotoxin-induced periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2005;76(1):99-106.
33. Alam SQ, Bergens BM, Alam BS. Arachidonic acid, prostaglandin E2 and leukotriene C4 levels in gingiva and submandibular salivary glands of rats fed diets containing n-3 fatty acids. *Lipids*. 1991;26(11):895-900.
34. Pruzanski W, Greenwald RA, Street IP, Laliberte F, Stefanski E, Vadas P. Inhibition of enzymatic activity of phospholipases A2 by minocycline and doxycycline. *Biochem Pharmacol*. 1992;44(6):1165-70.
35. Caton JG, Ciancio SG, Blieden TM, Bradshaw M, Crout RJ, Hefti AF, Massaro JM, Polson AM, Thomas J, Walker C. Treatment with subantimicrobial dose doxycycline improves the efficacy of scaling and root planing in patients with adult periodontitis. *J Periodontol*. 2000;71(4):521-32.
36. Ramamurthy NS, Rifkin BR, Greenwald RA, Xu JW, Liu Y, Turner G, Golub LM, Vernillo AT. Inhibition of matrix metalloproteinase-mediated periodontal bone loss in rats: a comparison of 6 chemically modified tetracyclines. *J Periodontol*. 2002;73(7):726-34.
37. Bezerra MM, Brito GA, Ribeiro RA, Rocha FA. Low-dose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats. *Braz J Med Biol Res*. 2002;35(5):613-6.
38. Teronen O, Konttinen YT, Salo T, Lindqvist C, Heikkila P, Laitinen M, Sorsa T. Bisphosphonates inhibit matrix metalloproteinases—a new possible mechanism of action. *Duodecim*. 1999;115(1):13-5.
39. Reddy MS, Weatherford TW 3rd, Smith CA, West BD, Jeffcoat MK, Jacks TM. Alendronate treatment of naturally-occurring periodontitis in beagle dogs. *J Periodontol*. 1995;66(3):211-7.
40. Denoyelle C, Hong L, Vannier JP, Soria J, Soria C. New insights into the actions of bisphosphonate zoledronic acid in breast cancer cells by dual RhoA-dependent and -independent effects. *Br J Cancer*. 2003;88(10):1631-40.
41. Buduneli E, Vardar S, Buduneli N, Berdeli AH, Turkoglu O, Baskesen A, Atilla G. Effects of combined systemic administration of low-dose doxycycline and alendronate on endotoxin-induced periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2004;75(11):1516-23.
42. Mundy GR, Yoneda T, Hiraga T. Preclinical studies with zoledronic acid and other bisphosphonates: impact on the bone microenvironment. *Semin Oncol*. 2001;28(2 Suppl 6):35-44.
43. Llavaneras A, Ramamurthy NS, Heikkila P, Teronen O, Salo T, Rifkin BR, Ryan ME, Golub LM, Sorsa T. A combination of a chemically modified doxycycline and a bisphosphonate synergistically inhibits endotoxin-induced periodontal breakdown in rats. *J Periodontol*. 2001;72(8):1069-77.
44. Yaffe A, Herman A, Bahar H, Binderman I. Combined local application of tetracycline and bisphosphonate reduces alveolar bone resorption in rats. *J Periodontol*. 2003;74(7):1038-42.
45. Miyauchi M, Ijuhin N, Nikai H, Takata T, Ito H, Ogawa I. Effect of exogenously applied prostaglandin E2 on alveolar bone loss-histometric analysis. *J Periodontol*. 1992 May;63(5):405-11.
46. Schelling SH, Wolfe HJ, Tashjian AH Jr. Role of the osteoclast in prostaglandin E2-stimulated bone resorption: a correlative morphometric and biochemical analysis. *Lab Invest*. 1980;42(3):290-5.

47. Rifkin BR, Baker RL, Coleman SJ. Effects of prostaglandin E2 on macrophages and osteoclasts in cultured fetal long bones. *Cell Tissue Res.* 1980;207(2): 341-6.
48. Ibbotson KJ, Roodman GD, McManus LM, Mundy GR. Identification and characterization of osteoclast-like cells and their progenitors in cultures of feline marrow mononuclear cells. *J Cell Biol.* 1984;99(2): 471-80.
49. Santoro MG, Jaffe BM, Simmons DJ. Bone resorption in vitro and in vivo in PGE-treated mice. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1977;156(2):373-7.
50. Lindhe J. *Periodoncia Clínica e Implantología Odontológica*, 4ª edn. Copenhagen, pp. 157-187.

