



CESPU

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Biomarcadores no fluido crevicular durante o tratamento ortodôntico.

Uma revisão sistemática integrativa

Federica Lugas

Dissertação conducente ao Grau de Mestre em Medicina Dentária (Ciclo Integrado)

Gandra, 28 de maio de 2021



CESPU

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Federica Lugas

Dissertação conducente ao Grau de Mestre em Medicina Dentária (Ciclo Integrado)

Biomarcadores no fluido crevicular durante o tratamento ortodôntico.

Uma revisão sistemática integrativa

Trabalho realizado sob a Orientação de Prof. Doutora Cátia Arabela Albuquerque Costa Reis”

Declaração de Integridade

Eu, acima identificado, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste trabalho, confirmo que em todo o trabalho conducente à sua elaboração não recorri a qualquer forma de falsificação de resultados ou à prática de plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria do trabalho intelectual pertencente a outrem, na sua totalidade ou em partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores foram referenciadas ou redigidas com novas palavras, tendo neste caso colocado a citação da fonte bibliográfica.



AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, os meus pilares, pela esperança, crença e amor incondicional. Por todos os ensinamentos e valores inculcados, por serem acreditarem em mim e terem uma palavra sincera, amiga e encorajadora nos momentos mais difíceis, pela oportunidade que me deram ao frequentar este curso, mesmo que isso implique terem de abdicar dos seus sonhos, são um exemplo de humildade, honestidade e união.

Obrigada a Mara, minha colega de quarto, quantas risadas e lágrimas naquela casa! Quantas frases de encorajamento, quantos discursos filosóficos, da vida! Obrigado por estes 5 anos vividos juntos por todos os momentos memoráveis que partilhamos, eles estarão sempre no meu coração.

Agradeço Veronica e Giacomo para as nossas jornadas de estudos, obrigada pelo espírito de interajuda e por todas as vitórias alcançadas.

Às amigas criadas na universidade ao longo destes 5 anos em particular Giulia, Prudenza, Paolo e Stefano

Às minhas amigas de uma vida Caterina, Simona, Susanna, Maddalena, Giusi

À minha orientadora Catia Reis, os meus sinceros agradecimentos por toda a disponibilidade e confiança.

À minha família para estar sempre comigo.

A todos, de verdade, um muito obrigado.

RESUMO

Introdução: O movimento dentário ortodôntico é uma combinação de indução de força no ligamento periodontal (PDL) e remodelação óssea alveolar. Mediadores bioquímicos são liberados em vários estágios de movimento dentário e pode ser detectado em amostras do fluido crevicular (GCF). O método para coletar GCF é simples e não invasivo, e as amostras permitem o exame de eventos biológicos ao longo do período de observação, pois são coletadas em vários estágios do tratamento .

Objectivo: O objetivo desta revisão sistemática integrativa é investigar as mudanças nas citocinas e biomarcadores do metabolismo ósseo e tecidual através da colheita do GCF de pacientes submetidos ao tratamento ortodôntico.

Material e Métodos: Uma pesquisa bibliográfica foi realizada na base de dados em PubMed, utilizando combinações das palavras-chave: "crevicular fluid", "orthodontics treatment", "biomarkers", "bone resorption" e abrangendo artigos entre 2011 e 2021 de idioma Inglês.

Resultados: Interleucina 1 β (IL-1 β) e prostaglandina E2 (PGE2) aumentam durante os estágios iniciais da movimentação dentária ortodôntica e induzem a reabsorção óssea. A remodelação óssea é controlada por um equilíbrio entre a ligação RANK-RANKL e a produção de OPG. O nível de RANKL aumentou significativamente nos locais de pressão e tensão da aplicação da força ortodôntica.

Conclusão: Mesmo que significativos, esses aumentos do biomarcadores no volume do GCF foram pequenos e provavelmente não têm significado clínico quando a colocação do aparelho ortodôntico é concomitante às condições clínicas ideais.

Palavras-chave: "crevicular fluid", "orthodontics treatment", "biomarkers", "bone resorption", "PGE2", "IL-1"

ABSTRACT

Introduction: Dental orthodontic movement is the combination of the force induced by the periodontal ligament (PDL) and remodelling of the alveolar bone. Biochemical mediators are released at various stages of tooth movement and can be detected in fluid samples (GCF). The method for collecting the GCF is non-invasive and straightforward. The samples allow the examination of biological events during the observation period, as they are collected in the various stages of treatment.

Objective: This integrative systematic review aims to study changes in cytokines and biomarkers of bone and tissue metabolism through the collection of GFCs from patients undergoing orthodontic treatment.

Materials and methods: A literature search was carried out in the PubMed database, using combinations of keywords: crevicular fluid ", orthodontic treatment", "biomarkers", "bone resorption", and articles published between 2011 and 2021 in English.

Results: Interleukin 1 β (IL-1 β) and prostaglandin E 2 (PGE 2) increase during the early stages of orthodontic tooth movement and induce bone resorption. Bone remodeling is controlled by a balance between the RANK-RANKL bond and the production of OPG. The level of RANKL increased significantly at the sites of pressure and tension of the application of orthodontic force.

Conclusion: While significant, these biomarker increases in GCF volume were small and likely have no clinical significance when orthodontic appliance placement is concomitant with ideal clinical conditions.

Keywords: "crevicular fluid", "orthodontics treatment", "biomarkers", "bone resorption", "PGE2", "IL-1"



ÍNDICE GERAL

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS	XV
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	3
OBJECTIVO GERAL:	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	3
MATERIAIS E MÉTODOS	4
DESENHO DO ESTUDO	4
BASES DE DADOS E PALAVRAS CHAVE CONSULTADAS	4
Estratégias de pesquisa	5
Características da amostra	5
DISCUSSÃO	14
I. FLUIDO GENGIVAL CREVICULAR	14
II. INTERLUCINAS	16
III. RANK/RANKL	17
IV. MONITORAMENTO PERIODONTAL	18
CONCLUSÃO	19
BIBLIOGRAFÍA	20

Índice de tabelas

Tabela 1- Estratégias de pesquisa	5
Tabela 2- Critérios de inclusão e exclusão	5
Tabela 3- Características da amostra	5

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

BOP(%) - Sangramento à sondagem

E₂- Prostaglandina

GE-Aumento gengival

GFC- Fluido crevicular gengival

GI- Índice gengival

IL-1, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 Interleucinas pró-inflamatórias

NO- Oxido nítrico

OPG-Osteoprotegerina

OPN- Osteopontina

OTM-Movimento Dentario Ortodontico

PD (mm)- Profundidade da sondagem

PDL- Ligamento Periodontal

PI%- Índice placa

RANK- Recetor do Ativador do Fator Nuclear Kappa B

RANKL- Ligante do Recetor Ativador do Fator Nuclear Kappa B

TGF- β 1- Fator de Crescimento Transformador

TNF- α - Factor de necrose tumoral

INTRODUÇÃO

O fluido crevicular gengival (GCF) é um exsudato biológico e a quantificação de seus constituintes é um método atual para identificar biomarcadores específicos com sensibilidade razoável. O GCF é uma mistura de substâncias derivadas do soro, células inflamatórias do hospedeiro, células estruturais do periodonto e bactérias orais. As moléculas isoladas do fluido sulcular incluem eletrólitos, pequenas moléculas orgânicas, proteínas, citocinas, anticorpos específicos, antígenos bacterianos e enzimas de origem bacteriana e hospedeira (1). Citocinas são proteínas de baixo peso molecular ($m_w < 25$ kDa) libertadas em ambiente autócrino ou parácrino em resposta a sinais locais de inflamação e estão envolvidas na renovação e remodelação óssea fisiológica normal. Tem havido um interesse crescente em compreender as suas contribuições como mediadores do movimento dentário ortodôntico (OTM) devido ao seu papel na remodelação óssea e tecidual. As principais citocinas são as interleucinas (ILs) (IL-1 α , IL-1 β , IL-1RA, IL-8, IL-2, IL-6 e IL-15), fatores de necrose tumoral (TNFs), interferons (IFNs), fatores de crescimento (GFs) (2). Após um stress mecânico, as alterações na vascularização e no fluxo sanguíneo no PDL são induzidas por moléculas de sinalização. A cascata começa com metabólitos do ácido aracadônico (eicosanóides), neurotransmissores (substância P e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina) e segundos mensageiros, como AMP-cíclico, fosfatos de fosfoinositol e diacilglicerol. Estes desencadeiam a liberação de citocinas, fatores de crescimento e fatores estimuladores de colônias, que por sua vez afetam as espécies moduladoras de tecido ósseo, como o receptor para Ligante B de NF kappa (RANKL), osteoprotegerina (OPG), metaloproteinases de matriz (MMPs) e inibidores de tecido de MMPs (3). O movimento dentário ortodôntico (OTM) é considerado um epifenômeno da expressão gênica do ligamento periodontal (PDL) e células vizinhas, resultante de uma série de eventos celulares e moleculares orquestrados no osso alveolar e tecido periodontal iniciados pela aplicação de força ortodôntica (2). A aplicação desta força num dente cria áreas de tensão e compressão no ligamento periodontal (PDL) que afetam a remodelação do ligamento, osso alveolar e gengiva (3). Interleucina 1 β (IL-1 β) e prostaglandina E 2 (PGE 2) aumentam durante os estágios iniciais da movimentação dentária ortodôntica e induzem a reabsorção óssea (4). Uma vez que a remodelação óssea induzida

ortodonticamente está relacionada à expressão de vários mediadores inflamatórios, componentes da matriz extracelular e enzimas que degradam o tecido, a sua presença no fluido gengival crevicular (GCF) deve estar relacionada à taxa de OTM(5).

A análise do GCF é um instrumento de diagnóstico muito útil tanto para a periodontologia quanto para a ortodontia (1). Coletado de forma não invasiva com pontas de papel colocadas no sulco gengival. Uma vez coletado, o GCF pode ser criopreservado ou enviado diretamente para análise química. O GCF também pode ser coletado repetidamente em vários estágios do tratamento ortodôntico e, portanto, fornece informações úteis para eventos biológicos durante todo o período de observação (2). Considerando que a remodelação tecidual incidente ao movimento dentário ortodôntico é desencadeada por um processo inflamatório em que um dos primeiros eventos é o aumento da permeabilidade vascular foi levantada a hipótese de que a quantidade de produção de GCF pode refletir essas mudanças nos tecidos (6).



OBJETIVOS

OBJECTIVO GERAL:

Avaliar as mudanças nas citocinas e biomarcadores do metabolismo ósseo e tecidual dentro do fluido gengival (GCF) de pacientes submetidos ao tratamento ortodôntico. Portanto, se o volume GCF é um biomarcador previsível para a remodelação tecidual decorrente do movimento dentário ortodôntico, bem como analisar as várias teorias e o efeito dos mediadores químicos envolvidos no movimento.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar os níveis das principais interleucinas que estão presentes na resposta inflamatória do GFC durante o tratamento ortodôntico.
- Perceber o papel fundamental do recetor ativador do fator nuclearligante kappa (RANKL), o ativador do recetor do fator nuclear kappa B (RANK), osteoprotegerina (OPG) durante a reabsorção óssea.

MATERIAIS E MÉTODOS

DESENHO DO ESTUDO

Este estudo é uma revisão sistêmica integrativa e compreende estudo de revisão sistemática, estudo de caso-controlo, estudo de coorte, estudo randomizado, estudos prospetivos. Os estudos de revisão sistemática só foram utilizados para integrar a discussão e introdução de este trabalho.

BASES DE DADOS E PALAVRAS CHAVE CONSULTADAS

As pesquisa dos artigos em inglês foram feita nas seguintes bases de dados: Pubmed; Entre 5 de Fevereiro de 2021 e 9 de Fevereiro de 2021.

As palavras-chave utilizadas para realizar essa pesquisa são: " crevicular fluid", orthodontics treatment", "biomarkers", "bone resorption".

Combinações através dos operadores booleanos AND, para que o maior número possível de artigos seja obtido. Foram formadas as seguintes estratégias de pesquisa, descritas na tabela seguinte.



Estratégias de pesquisa

ESTRATEGIA DE BUSCA	PALAVRAS CHAVES	ARTIGOS
	PubMed	
1	(orthodontic treatment) AND (crevicular fluid)	109
2	((crevicular fluid) AND (orthodontic treatment) AND (interleukin)	36
3	(crevicular fluid) AND (orthodontics treatment) And (biomarkers)	36
4	(crevicular fluid) AND (orthodontics treatment) AND (bone resorption)	6
TOTAL= 187		

Tabela 1

Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Artigos publicados nos últimos 10 anos (2011-2021)	Artigos publicados antes do 2011
Idioma: inglês	Outro idioma que não for inglês
Obtenção de artigo em pdf	Artigo não presente em PDF
Estudo randomizado, estudo de caso controlo, estudo de coorte, revisão sistemática, estudo prospetivo	Estudo de meta-analise
Estudos humanos, grupos de idade submetidos aos vários tipos de forças ortodônticas	Estudos in vitro, estudos em animais, tamanho da amostra <5, estudos onde a resposta inflamatória não depende do tratamento ortodôntico

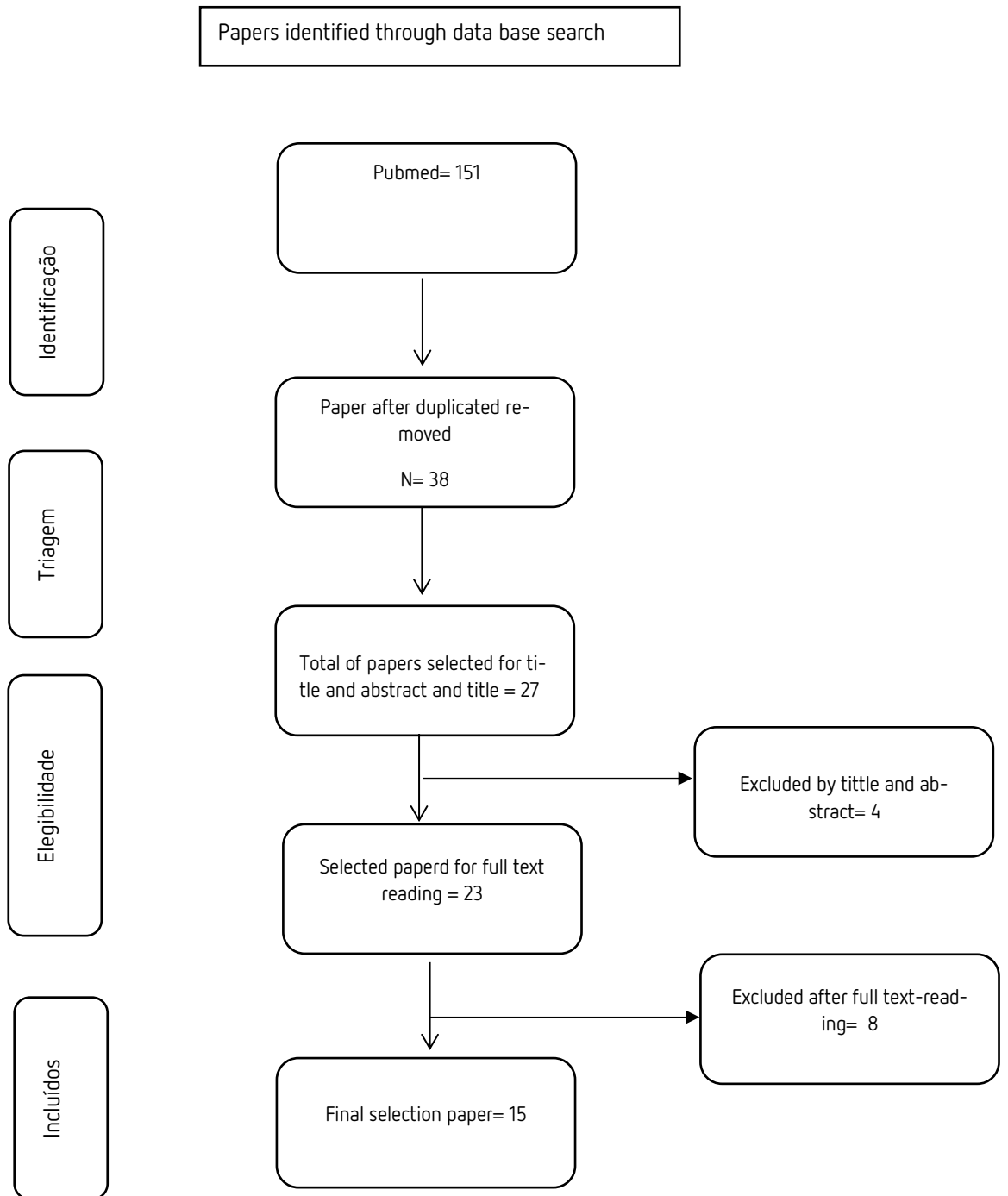
Tabela 2

Características da amostra

Autor	Ano	Tipo de artigo
Sıla Çağlayan Topal et all	2019	Estudo de corte prospetivo
Melissa Grant et all	2012	Estudo de corte longitudinal
Yiming Gong et all	2011	Estudo de caso-controlo
Livia Nunesa et all	2017	Estudo de corte longitudinal
Tommaso Castroflorio et all	2017	Estudo de corte prospetivo
S. Drummond et all	2011	Ensaio clínico randomizado
Abhilasha Khanal et all	2015	Estudo de caso-controle
Mariana Umekita Shirozaki et all	2020	Estudo de caso
Nihal Hamamci et all	2019	Estudo de caso-controlo
Wellington J Rody Jr et all	2014	Estudo de caso-controlo
Pornputthi Puttaravutti et all	2018	Ensaio clínico randomizado
Nur Ozel et all	2018	Estudo de caso
Lora S. Ribagin et all	2012	Estudo de caso
Sevil Sema Atue Özcan et all	2014	Estudo de caso
Anadha N. Gujar etall	2019	Estudo de caso

Tabela 3

RESULTADOS





Autor (ano) Tipo de estudo	Objectivo	Amostra	Coleta de amostra GCF	Tipo de Aparelho	Resultados	
					Mediadores Inflamatórios	Parâmetros periodontais clínicos:
<i>S. Drummond et al.</i> 2011 Ensaio clínico randomizado	Avaliar se um aparelho ortodôntico per se ou o movimento dentário ortodôntico pode induzir mudanças detectáveis no volume do fluido gengival (GCF) e, portanto, se o volume GCF é um biomarcador previsível para a remodelação tecidual decorrente do movimento dentário ortodôntico.	16 pacientes ortodônticos não fumantes, 7 mulheres e 9 homens.	O GCF foi coletado em cada local com o uso de uma tira de papel Periopaper inserida na fenda gengival e à esquerda no local por 30 segundos. Imediatamente após a coleta, as tiras foram posicionadas no medidor de fluido gengival Periotron 8000, que determinou o volume exato de GCF em cada tira de papel.	Bandas foram montadas nos primeiros molares, enquanto braquetes foram colados nos segundos pré-molares e caninos. Um segmento de fio passivo de aço inoxidável 0,019 x 0,025 polegadas (Morelli) foi inserido no tubo da banda molar e amarrado ao braquete no segundo pré-molar.	●Remodelação tecidual conseqüente à movimentação dentária ortodôntica não produz nenhum aumento clinicamente relevante no volume do GCF no primeiro mês de tratamento.	PL e BOP mostraram pequenas reduções ao longo do tempo, embora não fossem estatisticamente significativas.
<i>Yiming Gong et al.</i> 2011 Estudo de caso-controlo	Investigar os fatores microbiológicos e imunológicos relacionados ao aumento gengival (GE) induzido por tratamento ortodôntico.	24 adolescentes, 15 meninos e 9 meninas, com idades entre 12 e 18 anos.	GCF foi coletado com tiras de papel (Whatman International, Maidstone, Reino Unido) colocadas na fenda gengival e mantidas por 30 segundos. Um examinador realizou todas as amostras microbianas e GCF. Todas as amostras (placa subgengival e GCF) foram armazenadas em - 20 C.	Tratamento ortodôntico fixo	●Os níveis médios de IL-1 b e TGF- b 1 no grupo GE foram significativamente maior do que aqueles no grupo de controlo. ●Após 4 semanas, os níveis de IL-1 b diminuiu comparação com aqueles do CG ●Os níveis médios de TGF- b 1 diminuiu ligeiramente, sem diferença significativa encontrada entre o início e 4 semanas.	PI, PBI,PD e HI dos locais de teste no grupo GE foram maior do que aqueles no GC. \$ semanas após o tratamento periodontal, esses parâmetros clínicos diminuíram em comparação com aqueles do GC.



<p><i>Lora S. Ribagin et al.</i></p> <p>2012</p> <p>Estudo de caso</p>	<p>Investigar os níveis de metaloproteinase-8 da matriz e interleucina-1β em amostras de fluido gengival durante os primeiros 3 meses de tratamento ortodôntico com aparelhos fixos em crianças.</p>	<p>O estudo incluiu 12 crianças (6 meninos e 6 meninas) com idades entre 11 e 15 anos.</p>	<p>Para a coleta de GCF foram usadas tiras de retângulo papel de filtro, 2 mm por 12 mm.</p>	<p>Tratamento com técnica ortodôntica fixa.</p>	<p>●IL-1β: aplicação de forças leves não leva a nenhum aumento significativo Os níveis de ambos os marcadores (MMP-8 e IL-1β) diminuem ligeiramente em comparação com os valores basais e apresentam aumento até o terceiro mês de tratamento ortodôntico</p>	<p>Observou-se tendência de manutenção de valores médios de PBI significativamente mais baixos, que se mantêm até o terceiro mês.</p>
<p><i>Melissa Grant et al.</i></p> <p>2012</p> <p>Estudo de corte longitudinal</p>	<p>Investigar as mudanças nas citocinas e biomarcadores do metabolismo ósseo e tecidual dentro do fluido gengival (GCF) de pacientes submetidos ao tratamento ortodôntico.</p>	<p>21 pacientes com idades entre 12 e 20 anos e boa saúde sistêmica.</p>	<p>Tiras de Periopaper foram colocadas na fenda gengival nos lados de tensão e compressão dos dentes de teste e controle até que uma resistência suave fosse sentida. As tiras foram deixadas no local por 30 segundos e removidas antes da colocação imediata no Periotron 8000 para medição de volume. As amostras foram então combinadas para compressão (sítios distopalatais esquerdo e direito) e tensão (sítios méso-vestibulares direito e esquerdo) para os caninos e segundos molares.</p>	<p>Braquetes de prescrição MBT (3M Unitek, Reino Unido) e módulos elastoméricos foram usados, juntamente com a sequência de fio 0,014 Níquel Titânio \rightarrow 0,018 Níquel Titânio \rightarrow 0,018 aço inoxidável. As mudanças de arco foram feitas 6 e 10 semanas após a colocação do aparelho; a O fio de aço inoxidável 0,018 foi colocado em 10 semanas.</p>	<p>●Locais de compressão: IL-1beta e IL-8 aumentaram significativamente ●Locais de tensão: os níveis permaneceram significativamente elevados após 7 e 42 dias para IL-1beta e IL-8, e após 42 dias para TNF-alfa. Quantidades de IL-1beta foram significativamente maiores em caninos após a colocação de arcos, mas antes que a força de distalização fosse aplicada. As quantidades de IL-6 e IFN-gama nos locais de tensão foram significativas. As quantidades de TNF-alfa foram significativamente maiores nos locais de compressão canina após a colocação do arco ●Mediadores de reabsorção óssea: RANKL foi significativamente aumentado nos locais de compressão dos caninos 42 dias após a aplicação de força, também aumentou após 42 dias nos locais de compressão dos segundos molares.</p>	<p>As variações no PI não foram significativas nos locais de tensão ou compressão dos caninos ou segundos molares em nenhum momento. BOP foi encontrado para ser significativamente elevado apenas nos locais de tensão canina quando os arcos foram colocados. Não foram encontradas correlações entre os índices de placa e sangramento para MMP-9 ou TIMP-1 e 2 níveis.</p>



<p><i>Wellington J Rody Jr et al.</i></p> <p>2014</p> <p>Estudo de caso-controlo</p>	<p>Investigar as diferenças na composição do fluido gengival (GCF) entre pacientes adolescentes e adultos submetidos a tratamento ortodôntico com aparelhos fixos.</p>	<p>Grupo 1: 10 adolescentes</p> <p>Grupo 2: 10 adultos</p> <p>Todos com má oclusões de Classe I e apinhamento dos incisivos superiores.</p>	<p>Amostras de GCF foram coletadas dos lados labiais dos incisivos superiores e inferiores de cada sujeito em cinco pontos de tempo.</p> <p>T0: BASELINE</p> <p>T1: 3 semanas após a colocação do aparelho</p> <p>T2: 6 semanas após a inserção do primeiro arco (NiTi 0,014)</p> <p>T3: 6 semanas após a inserção do terceiro arco (0,016 3 0,022 em NiTi)</p> <p>T4: 2 semanas após o último arco de alinhamento (0,019 3 NiTi de 0,025 pol.).</p>	<p>Tratamento com um sistema convencional de braquetes Edgewise com prescrição MBT 0,022 pol. Os braquetes foram colados apenas na arcada superior durante as 20 semanas do experimento, enquanto os incisivos inferiores, livres de qualquer aparelho ortodôntico, foram usados como controle.</p>	<ul style="list-style-type: none">•Concentração de IL-1RA em locais experimentais de adultos aumentou repentinamente e tornou-se maior do que os locais de controle em T1•Em adolescentes, um pico na proporção de RANKL para OPG foi observada em T3•No grupo adulto, onde RANKL para OPG foi significativamente maior do que os valores basais apenas em T1 Não houve diferenças estatisticamente significativas na concentração de MMP-9 coletada de dentes experimentais entre adultos e adolescentes.	<p>----- -----</p>
<p><i>Sevil Sema Atue Özcan et al.</i></p> <p>2014</p> <p>Estudo de caso</p>	<p>Examinar as mudanças nos níveis de interleucina-1 beta (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF), malondialdeído (MDA), óxido nítrico (NO) e 8-hidroxidesoxiguanosina (8-OHdG) em amostras de fluido gengival (GCF) de pacientes com aparelhos ortodônticos fixos.</p>	<p>50 pacientes, incluindo 27 mulheres e 23 homens com idades entre 13 e 20 anos.</p>	<p>Técnica intracrevicular profunda foi usada para obter amostras de GCF das superfícies mesial e distal dos incisivos superiores e caninos. Cones de papel (periopaper padrão) (ORAFLOW, Smithtown) foram gentilmente empurrados no sulco gengival dos dentes da amostra GCF até que qualquer resistência fosse encontrada e esperou por 30s.</p>	<p>Tratamento ortodôntico fixo</p>	<ul style="list-style-type: none">•IL-1 aumentou significativamente entre pré-tratamento e sexto mês de tratamento.•IL-1 e TNF atingiram o nível mais alto na fase inicial após a força ortodôntica• Todos os outros parâmetros bioquímicos detectados tanto na saliva quanto no GCF não mostraram qualquer mudança significativa em nenhum período de medição.	<p>PI, GI e PD aumentaram durante o período de pré-tratamento e sexto mês de tratamento.</p>



<p><i>Abhilasha Khanal et al</i></p> <p>2015</p> <p>Estudo de caso-controle</p>	<p>Investigar as expressões do receptor ativador do fator nuclear-beta kappa (RANKL) e interleucina17A (IL-17A) no GCF em indivíduos com ou sem aparelhos ortodônticos, a correlação entre eles, sua predominância de gênero e sua relação com o tempo de tratamento.</p>	<p>Grupo A (grupo de tratamento) composto por 48 adolescentes e adultos jovens (24 homens, 24 mulheres). O Grupo B (grupo controle) foi composto por 24 adolescentes e adultos jovens (12 homens, 12 mulheres) sem aparelhos.</p>	<p>O fluido gengival crevicular (GCF) foi coletado em homens e mulheres por membranas de filtro Millipore (tamanho de poro 0,22 mm; Millipore) dos lados mesial e distal do canino superior direito sendo distalizado com fio de ligadura de 0,25 polegadas.</p>	<p>Técnica do aparelho Mclaughlin Bennett e Trevisi (MBT). A variável independente neste estudo foi a técnica de MBT ca nine laceback (distalização canina), que geralmente é exercida após a segunda consulta ortodôntica (2 a 3 meses).</p>	<ul style="list-style-type: none">●Comparações entre grupos de IL-17A em homens e mulheres: foi muito maior no grupo A, o que denotou fortemente o processo de inflamação subjacente.●Comparações entre grupos de RANKL em homens e mulheres: aumentou significativamente no grupo de Tratamento.	<p>----- -----</p>
<p><i>Tommaso Castorflorio et al.</i></p> <p>2017</p> <p>Estudo de corte prospectivo</p>	<p>Avaliar a expressão do receptor ativador do fator nuclear-ligante kappa (RANKL), Osteoprotegerina (OPG), osteopontina (OPN), interleucina(IL-1 b), e o fator transformador de crescimento β1 (TGF-β1) no fluido das fendas gengivais (GCF) de dentes submetidos a forças ortodônticas liberadas por alinhadores.</p>	<p>Um total de 10 pacientes adultos saudáveis (5 homens, 5 mulheres.</p>	<p>Amostras GCF foram coletadas 1 hora antes da colocação do aparelho (T0), 1 hora após a entrega do alinhador (T1), 7 dias após (T2) e 21 dias após (T3). Duas amostras de GCF para cada local foram coletadas usando tiras PerioPaper. O volume da amostra nas tiras de papel foi medido usando um Periotron 8000 calibrado.</p>	<p>O aparelho ortodôntico Invisalign foi usado para distalizar apenas um segundo molar selecionado aleatoriamente. 0,25 mm por alinhador. O estudo teve duração de 3 semanas.</p>	<ul style="list-style-type: none">●IL-1 b mostrou um aumento significativo nos locais de pressão após 1 semana e após 3semanas●A cinética do TGF-1 b e OPN foram caracterizados por um aumento significativo nos locais de tensão dos dentes de teste●O nível de RANKL aumentou significativamente nos locais de pressão e tensão após 1 hora e 1 semana da aplicação da força ortodôntica.	<p>Nenhuma diferença significativa foi detectada para os índices periodontais considerados (PI, GI ou BOP) em qualquer momento para os dentes de teste ou controle.</p>
<p><i>Livia Nunes et al</i></p> <p>2017</p> <p>Estudo de corte longitudinal</p>	<p>Avaliar a fenda gengival e os níveis de fluido (GCF) de dez citocinas, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17, IFN-γ, GM-CSF, MCP-1, MIP-1 b e TNF-α, durante o</p>	<p>A amostra do estudo consistiu de 15 pacientes saudáveis (9 homens e 6 mulheres).</p>	<p>As amostras do GCF foram coletadas das faces labiais de dois incisivos centrais e um incisivo</p>	<p>Braquetes ortodônticos com slot de 0,022 0,028 polegadas foram colados a partir do</p>	<ul style="list-style-type: none">●IL-6, GM-CSF MCP-1 e TNF-α mostraram níveis significativamente maiores no Teste em 7 dias●Nenhuma diferença significativa foi observada em	<p>GM-CSF com o % BOP aumentado. Sô depois 7 dias o valor de IL- 8 foi significativo com ambos os valores de % PL</p>



	tratamento ortodôntico inicial.		lateral nas arcadas superior e inferior (dentes 12, 11, 21, 31, 41 e 42) em momentos diferentes, como segue: no momento da instalação do aparelho (linha de base), e após 1, 7 e 21 dias de ativação ortodôntica. Coletadas inserindo tiras de papel absorvente 1 a 2mm no sulco gengival e segurando-as por 30s.	primeiro molar ao molar nas arcadas inferior e superior. Após a colagem, um arco de Níquel-Titânio 0,014 polegadas foi inserido nos braquetes dos dentes inferiores e amarrado com elásticos modulares.	outros pontos de tempo.	+ e% BOP aumentado.
<i>Nur Ozel et all</i> 2018 Estudo de caso	Determinar os níveis de interleucina-1 β (IL-1 β), óxido nítrico (NO), capacidade antioxidante total (TAC) e estado oxidante total (TOS) em fendas gengivais durante o tratamento de expansão rápida da maxila (RME).	14 pacientes jovens.	Utilizou-se um ejetor de saliva e rolos de algodão e secou-se suavemente a fenda com seringa de ar para evitar contaminação salivar nos locais méso-vestibular e mesiopalatal da maxilar dos primeiros molares. Amostras T0, T1, T2 e T3 foram consideradas como controles, enquanto T4, T5, T6 (período de ativação) e T7, T8 (primeiro e terceiro mês no período de retenção) foram considerados como materiais de test.	(T0): controle (T1): após profilaxia periodontal e instruções de higiene oral (T2): colocado o aparelho Hyrax, sem acionamento do parafuso. (T3): 7 dias após T2. O parafuso não foi ativado durante a semana. (T4): 24 h após T3. O parafuso foi ativado duas vezes como ¼ de volta por dia. (T5): 6 dias após T4.	●IL1- β , NO aumentou significativamente de T1 a T2.	O GI, BOP% e PI não mostraram significância estatística não mudou ao longo do tratamento. PD aumentou significativamente de T1 a T2.
<i>Pornputthi Puttavarutti et all.</i>	Medir as mudanças na mobilidade dentária, osso alveolar e	36 mulheres com incisivos superiores compro-	O GCF foi coletado nos locais labial e palatino dos	O tratamento ortodôntico envolveu a colocação	●A espessura do osso labial e palatino aumentou significativamente de T1 para T3 no	Mobilidade dentária, altura óssea e densidade não foram



2018 Ensaio clínico randomizado	ativador do receptor do ligante kappa-B do fator nuclear (RANKL) / osteoprotegerina (OPG) no fluido gengival crevicular (GCF) durante o tratamento ortodôntico.	metidos periodontalmente 18 Grupo experimental exercícios de mordida foram instruídos a morder um rolo de plástico macio por 5 min/d; 18 controles não receberam rolos de plástico	incisivos superiores no pré-tratamento (T0), final do tratamento (T1) e 1 mês (T2) e 7 meses após T1 (T3).	de aparelhos Edgewise pré-ajustados. O tratamento continuou até que o overjet, overbite e a angulação interincisal fossem obtidos	grupo experimental em todos os três níveis de raiz. ●A espessura óssea correlacionou-se negativamente com a razão RANKL / OPG entre T1 e T2.	significativamente diferentes entre T1 e T3.
<i>Anadha N. Gujar et al</i> 2019 Estudo de caso	Testar a hipótese de que os níveis de IL-1 β e TNF-a aumentaram mais e IL-1a, IL-2, IL6, IL-8 aumentaram menos, após 3 semanas de tratamento com aparelho fixo labial convencional e com alinhadores.	40 pacientes foram tratados com braquetes labiais (n ¼ 20) ou alinhadores (n ¼ 20).	Amostras de fluido gengival (GCF) foram coletadas no início do estudo e após 21 dias.	Tratamento ortodôntico com aparelho fixo labial metálico e alinhadores.	●Houve um aumento estatisticamente significativo nos níveis de IL-1 uma, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 e TNF-alfa ●IL-1 β e TNF-a mostraram um aumento proeminente em seus níveis em comparação com as outras citocinas no GCF de dentes submetidos a forças ortodônticas tanto pelo aparelho fixo labial quanto pelos alinhadores ●IL-2, IL-6 e IL-8 foram aumentados em pacientes tratados por alinhadores	PI,GI e BOP não houve diferença estatisticamente significativa em cada índice quando comparado na baseline e no acompanhamento em ambos os grupos
<i>Nihal Hamamcı et al</i> 2019 Estudo de caso-controle	Identificar os níveis de interleucina (IL) -2, IL-6 e IL-8 ao redor dos mini-implantes usados para ancoragem durante a distalização de caninos.	16 pacientes, oito homens e oito mulheres foram tratados com extrações bilaterais de primeiros pré-molares superiores. G1: tratamento G2: miniimplantes G3: controle	Foram obtidas dos caninos superiores (tratamento) e dos segundos pré-molares superiores (controles) com tiras de papel. Amostras de fluido crevicular de implante perimipiçamento (PMICF) também foram coletadas com tiras de papel. As	Um aparelho Edgewise pré-ajustado e fixo com ranhuras de 0,018 polegadas foi inserido e um arco(NiTi) de 0,014 polegar foi colocado. Após o alinhamento dos dentes anteriores superiores, um arco de	●Um aumento significativo no nível de IL-2 ocorreu apenas em T3. ●IL-6 foi significativamente diferente entre os grupos de tratamento com mini-implante e o grupo de mini-implante de controle em T7. ●O nível de IL-8 mostrou aumentos significativos no grupo de tratamento em ●T2 ,T3, e T4e em T3 e no grupo de mini-implante	----- -----



			amostras foram coletadas durante a manhã. A placa foi removida sem tocar na gengiva para minimizar a contaminação das tiras de papel.	aço inoxidável de 0,016 x 0,022 polegar foram colocados seguidos pré-molares superiores e primeiros molares. Foram colocados 32 implantes.		
<i>Sıla Çajlayan Topal et al.</i> 2019 Estudo de corte prospectivo	Monitorar os efeitos da expansão rápida da maxila (RME) nas atividades metabólicas ósseas durante e após 3 meses de retenção.	15 pacientes adolescentes (8 mulheres, 7 homens)	As amostras do lado da compressão foram obtidas das fendas gengivais MV dos primeiros molares (antes do início da expansão), no 1º e no 10º dias após a ativação inicial do parafuso e 3 meses após a contenção. Amostras do lado da tensão foram coletadas das fendas gengivais MP no T0 e no final do período de retenção de 3 meses.	Dispositivo de expansão de acrílico tipo Hyra: fios de aço inoxidável de 0,045 polegadas estendendo-se para as superfícies palatinas dos pré-molares e molares.	<ul style="list-style-type: none">•Lado de compressão: IL-1β aumentou no 1º e 10º dias, TGF-β1 aumentaram no 1º e no 10º PGE 2 a quantidade total foi aumentada no 10º NO aumento no 1º e no 10º dia e no 3º mês na quantidade total•Lado de tensão: As quantidades totais de IL-1β, TGF-β1 e PGE 2 foram aumentados no 3º mês em relação à baseline	PI e GI aumentaram significativamente no final da retenção.
<i>Mariana Umekita Shirozaki et al</i> 2020 Estudo de caso	Analisar parâmetros periodontais clínicos, microbiológicos e imunológicos em pacientes em tratamento ortodôntico corretivo.	28 pacientes (11 - 44 anos).	O fluido gengival das fendas foi coletado com tiras de papel de filtro Periopaper. As tiras foram colocadas no sulco gengival por 30s, armazenadas em Eppendorf e congeladas em -80 °C.	Aparelho com braquetes. Os dentes foram analisados em três tempos: T0, antes do tratamento; T1, 6 meses após T2, 12 meses após a colagem dos braquetes.	<ul style="list-style-type: none">•Após o início do tratamento ortodôntico, il-1 β e Tnf- α aumentou em t1 e t2 MMP-8 diminuiu Todas essas mudanças não foram estatisticamente significativas	PI foram maiores em T1 (70,58%) e em T2 (83,23%) quando comparados com T0. Houve um aumento estatisticamente significativo na %de sites BOP de T0 a T1.

DISCUSSÃO

Esta revisão sistemática integrativa teve como objetivo principal reunir evidências substanciais em relação aos níveis de citocinas, quimiocinas, recetores e seus antagonistas (RANK, RANKL, OPG) no GCF resultante da aplicação de força ortodôntica. A literatura revelou heterogeneidade nos desenhos de estudo relativos às características dos participantes, aplicação de força, níveis de força, métodos de coleta GCF e protocolo de coleta, armazenamento e higiene oral e manutenção (1). Os resultados extraídos dos estudos incluídos confirmaram uma expressão diferencial dos marcadores inflamatórios. Estudos analisaram o fluido crevicular gengival para investigar uma variedade de biomarcadores envolvidos no movimento dentário ortodôntico. Os procedimentos fisiológicos estendidos subjacentes ao movimento dentário ortodôntico (OTM) são a elaboração das complexidades do corpo. O OTM é caracterizado pelas várias etapas de remodelação dentro e ao redor dos tecidos dentários e periodontais (7). De acordo com a tabela dos resultados à amostra de idades dos participantes utilizadas nos artigos consultados a escolha recaiu sobre adolescente/jovem adultos. No que diz respeito ao aparelho utilizado em cada artigo, a maioria parte dos trabalho utiliza um aparelho ortodôntico fixo, alguns o tratamento intercetivo como o aparelho Hyrax (1,8), por vezes, o tratamento com Invisaling (3). Na primeira visita (linha de base), o Índice de Placa de Løe e Silness (PI), Índice de Lobene Modificado de Gengiva (GI) e Índice de Sangramento na Sondagem (BOP) foram sempre registrados(9). Na maioria dos estudos todos os pacientes tratados tinham boa saúde periodontal em que IS e IP foi < 10% (6,8) e valores de profundidade na sondagem < 2 mm (7). Os dados clínicos foram coletados sempre pelo mesmo operador. A contaminação das amostras GCF foi minimizada registrando o PL antes de limpar cuidadosamente o dente com algodão, coletar o GCF da área isolada e, em seguida, registrar o BOP (6).

I. FLUIDO GENGIVAL CREVICULAR

A análise da amostra de GFC identificou diversos tipos de colheita: Cones de papel foram colocadas nos sulcos gengivais nos locais de interesse do estudo até que uma resistência suave fosse sentida. Os cones foram deixadas durante 30 segundos e depois colocadas no Periotron 8000 calibrado para medir o volume (6,10,11) outros utilizaram membranas de

filtro Millipore de 0,22mm (7). Amostras de fluido crevicular de implante peri-minipirecionamento (PMICF) também foram coletadas com cones de papel (8) ou cones de retângulo papel de filtro, 2 mm por 12 mm (12).

A análise bioquímica de moléculas de citocinas em GFC foi feita através de um ensaio imunoenzimático (ELISA), as quantidades de biomarcadores foram determinadas em picogramas (pg/mL)(8,9,11–14). Um dos ensaios utilizou por exemplo anticorpos monoclonais dirigidos contra epítomos distintos de IL-1 β , ou para PE₂, o kit de ensaio estava baseado na competição entre PGE₂ e PGE₂ acetilcolinesterase conjugado para uma quantidade limitada de anticorpo monoclonal PGE₂(4). Os resultados foram todos registrados em leitor "*Multiskan Plus Elisa*" com comprimento de onda de 450nm (12) e a concentração de amostras foi determinadas por interpretação de uma curva de calibração (11).

Outros estudos utilizaram o kit "*Quantibody Array*" personalizado, o imunoenensaio foi realizado de acordo com as instruções do fabricante, as concentrações foram sempre expressas em picogramas por mililitro (pg/mL) e foi calculada com o software *Q Analyzer V8.6.4* com uma curva padrão definida para cada biomarcador(15).

Para a análise estatística o teste de Shapiro-Wilk foi usado para examinar a normalidade das distribuições da espessura média do osso alveolar, altura e densidade, e RANKL / OPG(13). A análise de variância unilateral foi usada para comparação entre grupos, e Dunnett's t e testes de diferença honestamente significativa de Tukey para comparação múltipla entre grupos (8)

Para todos os parâmetros usados, análises estatísticas descritivas compreendendo médias e desvios-padrão, foram realizadas separadamente em cada período de registro(12). Para analisar as variações longitudinais dos níveis de citocinas (cinética) dentro dos grupos (análise intragrupo) e comparar essas variações entre os grupos (análise intergrupo), foi realizada a análise de variância *ANOVA* de medidas repetidas(16).

II. INTERLUCINAS

Os estudos tem-se concentrado nas atividades celulares durante o tratamento ortodôntico, a fim de fornecer conhecimento sobre as alterações no metabolismo ósseo e tecidual no fluido gengival (4). No lado de compressão (reabsorção óssea) Interleucina 1 β (IL-1 β) e prostaglandina E 2 (PGE 2) aumentam durante os estágios iniciais da movimentação dentária ortodôntica e induzem a reabsorção óssea. Outro agente biológico, o fator de crescimento transformador- β 1 (TGF- β 1), que é libertado da matriz orgânica do osso reabsorvido para o microambiente local, medeia a proliferação e a diferenciação de precursores de osteoblastos e, assim, promove a formação óssea(4). TGF- β 1 é uma citocina multifuncional com propriedades pleiotrópicas, exibindo tanto efeitos pró-inflamatório e efeitos inflamatórios, que afetam a proliferação e diferenciação celular ao inibir a destruição de proteínas da matriz extracelular por meio da supressão de proteinases que degradam a matriz (17).

IL-B1, IL-1 β , Tgf- β e IL-8 aumentaram significativamente no 1º e 10º dias (3,4,8,9,11,16). Após 4 semanas, os níveis de IL-1 β diminuiu visivelmente em comparação com aqueles do baseline (17). A IL-1 mostrou um aumento mínimo em seu nível em comparação com as outras citocinas no GCF de dentes submetidos a forças ortodônticas tanto pelo aparelho fixo labial quanto pelos alinhadores (9). A literatura mostra resultados contraditórios em relação às concentrações máximas de IL-8, IL-1 β , aplicação de forças leves não leva a nenhum aumento significativo (11,12,18) . Embora os níveis médios de TGF- b 1 diminuam ligeiramente, sem diferença significativa encontrada entre o início e 4 semana (17). A IL-6 é considerada uma citocina pró-inflamatória, multifuncional e os níveis elevados estão envolvidos na destruição óssea (10). Frequentemente exibe significância estatística e concentração aumentada no 1 dia (18). As TNF- α mostraram níveis significativamente maiores ao 7 dia (18). Óxido nítrico (NO) também desempenha um papel importante na regulação da resposta óssea ao stress mecânico com um aumento no 1º e no 10º dia e no 3º mês (11). Em alguns estudos os níveis de NO não se alteraram significativamente do lado da tensão, o que pode ser explicado pela ausência de força ortopédica após o período de contenção (4).

A IL-2 tem sido implicada na estimulação da atividade dos osteoclastos durante a reabsorção óssea e os níveis séricos de IL-2 estão elevados em pacientes com periodontite quando comparados com aqueles sem periodontite (8).

No locais de lado de tensão houve presença sustentada de citocinas, visto que IL-1 β , TGF- β 1 e PGE 2 são associada a processos inflamatórios contínuos e remodelação óssea (4). IL-1 β , IL-1 IL-8 e Tnf- α permanecem elevados após 7 e 42 dias (3). A cinética do TGF-1 β e OPN foram caracterizados por um aumento significativo nos locais de tensão (16) mas a remodelação tecidual consequente à movimentação dentária ortodôntica não produz nenhum aumento clinicamente relevante no volume do GCF no primeiros 3 meses(6)

III. RANK/RANKL

A remodelação óssea é controlada por um equilíbrio entre a ligação RANK-RANKL e a produção de OPG. Numerosos estudos demonstraram que a via de sinalização RANK é crucial para diferenciar e ativar os osteoclastos. Osteoprotegerina (OPG) é expresso em células osteoblásticas bem como em RANKL, e é um recetor chamariz produzido por células osteoblásticas, que competem com RANK pela ligação de RANKL(16)

A osteopontina (OPN), uma das principais proteínas ósseas não colágenas, atua não apenas como um gatilho para a diferenciação precoce dos osteoblastos, mas também pode inibir a atividade osteoclástica. Tem sido associada à reabsorção óssea por meio da promoção da adesão dos osteoclastos à matriz óssea. No local da compressão, observamos um aumento significativo de RANKL e uma diminuição significativa de OP (16). Por outro lado, uma redução da razão RANKL / OPG foi relatada como inibindo os estágios terminais da diferenciação dos osteoclastos, suprimindo a ativação da matriz dos osteoclastos e induzindo a apoptose nas células do ligamento periodontal humano (13). O nível de RANKL aumentou significativamente nos locais de pressão e tensão após 1 hora e 1 semana da aplicação da força ortodôntica (7,16).

Em adolescentes, um pico na proporção de RANKL para OPG foi observada em seis semanas depois da colocação do aparelho. No grupo adulto, onde RANKL para OPG foi significativamente maior do que os valores basais apenas nas primeiras semanas (13,15). O RANKL foi significativamente aumentado nos locais de compressão dos caninos 42 dias após a aplicação de força, também aumentou após 42 dias nos locais de compressão dos segundos molares (3).

Resultado semelhante comparando a expressão de RANKL entre os dois sexos dos grupos justificou o fato que o processo de osteoclastogênese foi máxima nos pacientes do sexo masculino após a aplicação de forças ortodônticas e que essa citocina permanece mais elevada nos homens do grupo sem tratamento do que nas mulheres. Os autores descobriram que existe alguma correlação entre essas proteínas e estudaram de forma inovadora a predominância de gênero dessas duas proteínas IL17A (que desempenham um papel patogênico em muitas doenças inflamatórias e autoimunes, como a artrite reumatóide) e RANKL e sua relação com o aumento do GFC (7).

IV. MONITORAMENTO PERIODONTAL

No presente estudo, as condições clínicas ideais foram observadas em todos os pacientes, devido às repetidas instruções de higiene oral dadas e ao seu regime de colutórios à base de clorexidina. As percentagens gerais de dentes PD e BOP foram muito baixas em toda a boca ao longo do estudo (6). PI, GI e PD aumentaram durante o período de pré-tratamento e sexto mês de tratamento (14). Em geral PI,GI e BOP não houve diferença estatisticamente significativa em cada índice quando comparado na maioria dos estudos (9). O controle adequado da higiene oral durante todo o estudo é importante, uma vez que o resultado provavelmente mudará com a presença de inflamação gengival. A gengivite tem influência na expressão de IL-1 β e o nível de IL-1 pode ser aumentado em pacientes com higiene oral pobre ou moderada(5).

CONCLUSÃO

Com base nos objetivos descritos para o presente trabalho e nos resultados obtidos a partir da análise dos artigos obtidos, podem ser tiradas as seguintes conclusões. No lado de compressão, observa-se um aumento de mediadores de formação óssea como IL-1, β , IL-6, TNF-beta IL-8, e RANKL, RANK, OPG.

Entre outros e no lado de tensão predomina o aumento de mediadores TNF-alfa, IL-1, IL-1 β , IL-8. No entanto, apesar de todas as investigações relatadas, a aplicabilidade clínica do método ainda é limitada com mais dados necessários para alcançar um diagnóstico completo da utilidade de biomarcadores GCF específicos para ortodontia. Mais estudos são necessários para elucidar o papel dos principais biomarcadores do GCF e a sua quantificação. Nessa visão, o monitoramento bioquímico relacionado ao tratamento ortodôntico representa uma questão promissora. A realização de mais estudos sobre esta temática iria contribuir para uma resposta mais robusta à questão desta revisão, já que há falta de uniformidade no desenho do estudo com relação ao tamanho da amostra, idade, proporção de sexo, intervalos de observação, duração das observações, e barreiras étnicas / nutricionais. Há evidências clínicas limitadas de que os pacientes mais velhos respondem menos ao stress ortodôntico do que os mais jovens. Outra limitação deve-se ao facto do número de artigos selecionados poder ser reduzido, resultante do processo de seleção dos artigos, já que estes foram selecionados no intervalo de tempo 2011 a 2021. Portanto, mais investigações são necessárias para elucidar os papéis potenciais para esses biomarcadores na remodelação tecidual incidente na movimentação dentária ortodôntica. Estudos futuros devem reunir mais informações recrutando mais participantes ou aumentando o número de follow-up.

BIBLIOGRAFÍA

1. de Aguiar MCS, Perinetti G, Capelli J. The Gingival Crevicular Fluid as a Source of Biomarkers to Enhance Efficiency of Orthodontic and Functional Treatment of Growing Patients. *BioMed Research International*. 2017;2017:3257235.
2. Kapoor P, Kharbanda OP, Monga N, Miglani R, Kapila S. Effect of orthodontic forces on cytokine and receptor levels in gingival crevicular fluid: A systematic review. *Progress in Orthodontics*. 2014;15(1):1–21.
3. Grant M, Wilson J, Rock P, Chapple I. Induction of cytokines, MMP9, TIMPs, RANKL and OPG during orthodontic tooth movement. *European Journal of Orthodontics*. 2013;35(5):644–51.
4. Topal SÇ, Tuncer BB, Elgun S, Erguder I, Ozmeric N. Levels of cytokines in gingival crevicular fluid during rapid maxillary expansion and the subsequent retention period. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2019;43(2):137–43.
5. Schubert A, Jäger F, Maltha JC, Bartzela TN. Age effect on orthodontic tooth movement rate and the composition of gingival crevicular fluid: A literature review. *Journal of Orofacial Orthopedics*. 2020 Mar 1;81(2):113–25.
6. Drummond S, Canavarro C, Perinetti G, Teles R, Capelli J. The monitoring of gingival crevicular fluid volume during orthodontic treatment: A longitudinal randomized split-mouth study. *European Journal of Orthodontics*. 2012;34(1):109–13.
7. Khanal A, Huynh-Ba L, Chen L. Comparison of Expression Levels of RANKL and Interleukin-17A in Male and Female Orthodontic Patients With and Without Appliances. *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry [Internet]*. 2015 Mar;35(2):e28–34.
8. Hamamci N, Acun Kaya F, Uysal E, Yokuş B. Identification of interleukin 2, 6, and 8 levels around miniscrews during orthodontic tooth movement. *European Journal of Orthodontics [Internet]*. 2012 Jun;34(3):357–61.
9. Gujar AN, Baeshen HA, Alhazmi A, Bhandi S, Raj AT, Patil S, et al. Cytokine levels in gingival crevicular fluid during orthodontic treatment with aligners compared to

- conventional labial fixed appliances: a 3-week clinical study. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2019 Aug 18;77(6):474–81.
10. Shirozaki MU, da Silva RAB, Romano FL, da Silva LAB, de Rossi A, Lucisano MP, et al. Clinical, microbiological, and immunological evaluation of patients in corrective orthodontic treatment. *Progress in Orthodontics*. 2020;21(1):6–13.
 11. Ozel N, Aksoy A, Kirzioglu FY, Doguc DK, Aksoy TA. Evaluation of interleukin-1 β level and oxidative status in gingival crevicular fluid during rapid maxillary expansion. *Archives of Oral Biology*. 2018 Jun 1;90:74–9.
 12. Ribagin LS, Rashkova MR. Matrix metalloproteinase-8 and interleukin-1beta in gingival fluid of children in the first three months of orthodontic treatment with fixed appliances. *Folia medica*. 2012;54(3):50–6.
 13. Puttaravutti P, Wongsuwanlert M, Charoemratrote C, Lindauer SJ, Leethanakul C. Effect of incisal loading during orthodontic treatment in adults: A randomized control trial. *Angle Orthodontist*. 2018;88(1):35–44.
 14. Atuğ Özcan SS, Ceylan I, Özcan E, Kurt N, Dağsuyu IM, Çanakçı CF. Evaluation of oxidative stress biomarkers in patients with fixed orthodontic appliances. *Disease Markers*. 2014;2014:597892
 15. Rody WJ, Wijegunasinghe M, Wiltshire WA, Dufault B. Differences in the gingival crevicular fluid composition between adults and adolescents undergoing orthodontic treatment. 2014 Jan;84(1):120-6.
 16. Castroflorio T, Gambero EF, Caviglia GP, Deregibus A. Biochemical markers of bone metabolism during early orthodontic tooth movement with aligners. *Angle Orthodontist*. 2017;87(1):74–81.
 17. Gong Y, Lu J, Ding X. Clinical, microbiologic, and immunologic factors of orthodontic treatment-induced gingival enlargement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2011 Jul;140(1):58–64.
 18. Nunes L, Quintanilha L, Perinetti G, Capelli J. Effect of orthodontic force on expression levels of ten cytokines in gingival crevicular fluid. *Archives of Oral Biology*. 2017;76:70–5.

