



Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial

www.elsevier.pt/spemd



Investigação

Marcadores inflamatórios no fluido gengival durante o movimento dentário - Estudo clínico prospetivo

Mónica Morado Pinho^{a,*}, Patrícia Almeida Pinto^b, Ricardo Faria Almeida^b,
Afonso Pinhão Ferreira^b e Mariano Sanz^c

^a Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal

^b Faculdade de Medicina Dentária, Universidade do Porto, Portugal

^c Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid, Espanha

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 13 de julho de 2011

Aceite a 30 de novembro de 2011

On-line a 28 de janeiro de 2012

Palavras-chave:

Doença Periodontal

Movimento dentário

Ortodontia

Fluido Crevicular Gengival

Interleuquina-1 β

R E S U M O

Objetivo: (1) Avaliar as diferenças nas concentrações e na dinâmica, dos marcadores bioquímicos da inflamação, entre dentes com histórico de doença periodontal e dentes saudáveis, quando submetidos a forças. (2) Verificar de que forma essa dinâmica é afetada pela condição periodontal.

Material e métodos: A população selecionada foi dividida em dois grupos, baseados no histórico de doença periodontal:

Grupo I (grupo experimental, com histórico de periodontite);

Grupo II (grupo de controlo, pacientes saudáveis a nível periodontal).

Foram selecionados 76 dentes, de 22 pacientes. Os dentes teste receberam uma força mesial através da aplicação de um separador elástico; os dentes controlo não foram submetidos a força. Todos os pacientes aceitaram o protocolo e assinaram o consentimento informado.

O fluido crevicular gengival foi recolhido no ponto mesio-vestibular antes da colocação dos separadores (T1), imediatamente a seguir (T2), uma hora depois (T3) e uma semana mais tarde (T4). A sua quantificação foi realizada com recurso ao Periotron® 8000 e os níveis de IL-1 β , e o os níveis de fator de necrose tumoral- α (FNT- α) foram determinados com recurso aos teste ELISA.

Análise estatística: Teste ANOVA entre grupos e o teste t-student intra-grupo.

Resultados: As concentrações de IL-1 β apresentaram diferenças entre T1 e T4 nos grupos teste, com ou sem histórico de doença periodontal ($p \leq 0,05$). Para o FNT- α não foram registadas diferenças entre as quatro avaliações ($p > 0,05$) em nenhum dos grupos. No entanto, os níveis desta citocina foram mais elevados em pacientes saudáveis.

Conclusão: O uso de separadores cria alterações nos níveis de IL-1 β em ambos os grupos teste, mas não nos níveis de FNT- α .

© 2011 Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: monicampinho@hotmail.co (M. Morado Pinho).

Inflammatory markers in gingival fluid during tooth movement - Prospective clinical study

A B S T R A C T

Keywords:

Periodontal disease
Gingival crevicular fluid
Factor de necrose tumoral- α
Tumor necrosis factor-alpha
Interleukin-1beta
Tooth movement
Orthodontics

Objective: (1) Assess the differences in the concentrations and dynamics of biochemical markers of inflammation between patients with a history of periodontal disease and healthy patients undergoing forces. (2) Study whether these dynamics are affected by the current periodontal status of the patients.

Material and methods: The patients were divided in two groups, based in their periodontal history:

Group I (Experimental, with historical of periodontal disease);

Group II (Control, with no history of periodontal disease).

76 teeth from 22 patients were selected. Test teeth received a mesial force, through the application of an elastic separator; control teeth were not subjected to force. All patients accepted the protocol and signed the informed consent.

The gingival crevicular fluid was collected from mesio-buccal before the placement of the separators (T1), immediately afterwards (T2), 1 hour later (T3) and a week later (T4). Its quantification was accomplished with Periotron® 8000 and the IL-1 β and TNF- α levels were determined through ELISA tests.

Statistical analysis: ANOVA test between groups and the paired t-student intra-group.

Results: IL-1 β concentrations presented differences from T1 to T4 in test groups with or without history of periodontal disease ($p \leq 0.05$).

For the FNT- α no differences were founded between the four evaluations ($p > 0.05$) in all groups, although the concentration levels of this cytokine was higher in healthy patients.

Conclusion: The use of separators creates alterations in IL-1 β levels in both test groups, but not in TNF- α levels.

© 2011 Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

A periodontite é uma doença inflamatória crónica causada pelas bactérias presentes no biofilme subgengival^{1,2}. Estas bactérias atuam indiretamente, provocando uma resposta inflamatória e autoimune, por parte do hospedeiro, modulando o processo destrutivo. Esta resposta por parte do hospedeiro liberta mediadores catabólicos ativos que causam a destruição do tecido conjuntivo e do osso^{3,4}.

As metaloproteínases da matriz são os mediadores mais relevantes na destruição do tecido conjuntivo, e a interleucina-1 β (IL-1 β), prostaglandina E2 (PGE2) e o fator de necrose tumoral α (FNT- α) na reabsorção óssea. A associação entre estes mediadores e a periodontite tem sido demonstrada uma vez que altas concentrações destes mediadores têm sido associadas a períodos de destruição ativa do periodonto. Por outro lado, as concentrações destes marcadores retornam à sua normalidade, após tratamento periodontal com subsequente resolução da inflamação gengival⁵.

O tratamento ortodôntico baseia-se no movimento controlado dos dentes, pela aplicação de forças mecânicas e ocorre através do desenvolvimento de áreas de pressão e tensão no ligamento periodontal, resultando em áreas de aposição e de reabsorção óssea. Este mecanismo inflamatório «controlado», também designado como inflamação asséptica, está também ele dependente da libertação de mediadores bioquímicos específicos associados à inflamação crónica e à estimulação osteoclástica, como por exemplo a IL-1 β e o FNT- α ⁶⁻¹⁶.

Estudos *in vitro* demonstram que durante o movimento do dente existe um aumento acentuado nas concentrações de IL-1 β e de FNT- α ³. Também *in vivo*, alguns autores detetaram mudanças significativas na composição bioquímica do fluido crevicular gengival (FCG) (4), considerando estas citocinas como fatores-chave para o movimento do dente¹⁶.

O aumento do tratamento ortodôntico em adultos, despoletou uma controvérsia sobre se pacientes com histórico de periodontite poderiam ter respostas bioquímicas diferentes às forças a que seriam sujeitos. Os objetivos deste trabalho foram:

- (1) Avaliar as diferenças nas concentrações e na dinâmica, dos marcadores bioquímicos da inflamação, entre dentes com histórico de doença periodontal e dentes saudáveis, quando submetidos a forças.
- (2) Verificar de que forma essa dinâmica é afetada pela condição periodontal.

Material e métodos

Os pacientes foram selecionados entre aqueles que procuravam tratamento ortodôntico em duas clínicas privadas (Porto, Portugal), entrando para o estudo se os seguintes critérios fossem totalmente preenchidos:

- Ser adulto (≥ 20 anos);

- Ter pelo menos dois quadrantes completos (até ao primeiro molar inclusive);
- Estar disposto a participar no estudo e a cumprir com todas as consultas agendadas. Isto foi confirmado pelo consentimento escrito assinado pelos pacientes, após terem sido informados sobre todos os pormenores do estudo;
- Ser não fumador. Pacientes fumadores ou ex-fumadores foram excluídos;
- Ser saudável. Pacientes com patologias sistémicas, grávidas ou a tomar medicação anti-inflamatória foram igualmente excluídos;
- Ser saudável a nível periodontal. Pacientes com doença periodontal ativa ou em fase de tratamento periodontal ativo, também foram excluídos.

Desenho experimental

Esta investigação é um estudo clínico prospetivo, onde a população selecionada foi dividida em dois grupos, baseados no histórico de doença periodontal:

Grupo I (grupo experimental) – pacientes com histórico de periodontite que, uma vez tratados, estão dispostos a submeterem-se a tratamento ortodôntico.

Grupo II (grupo de controlo) – pacientes saudáveis a nível periodontal que também se submeteriam a tratamento ortodôntico.

Em cada grupo de pacientes, os últimos molares erupcionados num quadrante (primeiro ou segundo molar) foram selecionados para receber forças através da aplicação de um separador elástico aplicado na sua superfície mesial (dentes teste). Os últimos molares erupcionados do quadrante oposto serviram de controlo negativo (nenhuma força foi aplicada).

Em ambos os grupos, os dentes foram examinados do ponto de vista periodontal, antes da aplicação da força (T1) e uma semana depois desta (T4). Este exame periodontal incluiu: determinação da presença de placa, de hemorragia após sondagem, da profundidade de sondagem e da recessão gengival, e ainda a recolha e quantificação do volume de FCG e a determinação das concentrações de IL-1 β e FNT- α .

Em T2 (imediatamente após a aplicação da força) e T3 (uma hora depois) apenas foi efetuada a recolha, a quantificação do volume de FCG e a determinação das concentrações de IL-1 β e FNT- α , somente para os dentes de teste.

Metodologia bioquímica

A recolha e quantificação do volume de FCG foi efetuada em todos os dentes selecionados para exame. Nos dentes de teste, este procedimento foi efetuado antes da colocação dos separadores (T1), imediatamente após (T2), uma hora depois (T3) e uma semana mais tarde (T4). Nos dentes de controlo apenas T1 e T4.

O procedimento de recolha das amostras de FCG foi efetuado recorrendo ao uso de tiras de papel (Periopapers proflow coro, Amigynville, NY, EUA), inseridas na face mesio-vestibular do sulco dos dentes selecionados, sendo que todas as amostras subsequentes foram retiradas sempre da mesma localização.

As tiras de papel foram mantidas no sulco durante um tempo pré-estabelecido findo o qual as tiras foram colocados no Periotron® 8000 (Periotron Ide-interstate, NY, EUA), para quantificação do volume de FCG¹⁷. Uma vez terminada a quantificação as amostras foram imediatamente colocadas em tubos individualizados, que continham um filtro microporoso (Micro-spin Eppendorf Lida. Manufacturing Corp., NY, EUA) e congeladas até ao momento da análise bioquímica. Estas análises foram efetuadas usando os testes comerciais específicos Elisa Cytoscreen (Biosource International, CA, EUA) para cada citoquina (IL-1 β e FNT- α) utilizando o «double-antibody method».

Todas as amostras foram processadas duplicadamente de forma a reduzir os erros metodológicos.

Análise estatística

As comparações foram feitas entre dois grupos e, dentro de cada, ao longo do tempo e expresso em médias ($\pm$ desvio padrão).

Para as comparações inter-grupos, as variações nas quantidades e concentrações bioquímicas foram avaliadas recorrendo aos testes ANOVA. As comparações entre T1 e T4 foram igualmente efetuadas utilizando os testes *unpaired t-student* e o HSD Tukey. As comparações intra-grupo foram efetuadas através do teste *paired t-student*.

As variáveis clínicas categóricas foram analisadas através dos testes McNemar e Fisher's.

A análise estatística foi levada a cabo com o recurso ao SPSS 14.0, utilizando um intervalo de confiança de 95% ($p \leq 0,05$).

Resultados

Foram selecionados 26 pacientes, no entanto apenas 22 preenchiam os critérios de inclusão. A amostra selecionada apresentou uma média de idade de $30 \pm 8,1$ anos. Contudo, o Grupo II possuía uma média de idade inferior ao Grupo I ($p < 0,05$).

Os resultados clínicos (T1 e T4) estão demonstrados na tabela 1.

Em T1, fazia-se notar a presença de mais placa no Grupo II comparativamente com o Grupo I ($p < 0,05$). Entre T1 e T4, denotou-se um aumento de placa apenas no Grupo I.

Ainda em T1 não se verificou hemorragia após sondagem em nenhum dos locais examinados. Já em T4, 16,7% dos locais de controlo do Grupo I sangravam após a sondagem ($p > 0,05$).

As profundidades de sondagem foram significativamente mais elevadas no Grupo I do que no Grupo II ($p < 0,05$) em T1 e T4. No entanto, mudanças na profundidade de sondagem entre T1 e T4 foram estatisticamente significativas apenas no Grupo II, que apresentou maior profundidade de sondagem nos locais de teste, em T4.

A recessão gengival foi significativamente maior no Grupo I do que no Grupo II ($p < 0,05$) em T1 e T4. Contudo, as alterações entre T1 e T4 não foram estatisticamente relevantes para nenhum dos grupos.

O volume de FCG mostrou-se consistentemente similar ao longo do tempo em ambos os grupos ($p > 0,05$). Comparando as diferenças entre os grupos, não se verificou qualquer diferença

Tabela 1 – Resultados das variáveis clínicas: Placa, Hemorragia após sondagem (HS), Profundidade de sondagem (PS), Recessão gengival (RG) e volume de FCG.

Grupo	Dente	Placa (%)			HS (%)			PS (dp)			RG (dp)			volume FCG (dp)		
		T1	T4	p (intra grupo)	T1	T4	p (intra grupo)	T1	T4	p (intra grupo)	T1	T4	p (intra grupo)	T1	T4	p (intra grupo)
I	Teste	2 (11,1)	11 (61,1)	0,004	0	0	1,000	3,7 (0,8)	3,7 (0,8)	1,000	0,6 (0,8)	0,8 (0,9)	0,331	52,3 (37,3)	59,8 (25,5)	0,715
	Controlo	2 (11,1)	11 (61,1)	0,004	0	3 (16,7)	0,25	3,8 (1)	3,5 (0,9)	0,055	0,7 (1,1)	1	0,055	59,7 (32,5)	55,9 (28,1)	0,644
II	Teste	8 (40)	12 (60)	0,219	0	0	1,000	2,1 (0,4)	2,7 (0,6)	0,004	0	0	1,000	43 (20,4)	36,6 (18,8)	0,731
	Controlo	8 (40)	9 (45)	1,000	0	0	1,000	2,2 (0,7)	2,3 (0,6)	0,428	0	0	1,000	53,1 (33,5)	50,6 (20,4)	0,708
p (inter grupo)		0,043	0,685		1,000	1,000		<0,000	<0,000		0,002	<0,000		0,434	0,018	

em T1, T2, e T3. Apenas na última avaliação (T4), os dentes teste no Grupo I mostraram um volume de FCG significativamente mais elevado do que dentes teste do Grupo II.

As alterações nos níveis de Interleuquina-1 β encontram-se descritas na [tabela 2](#).

Os dentes teste do Grupo I apresentaram uma concentração de IL-1 β significativamente mais elevada ($p = 0,032$) entre T1 e T2 e entre T1 e T3; bem como entre T2 e T4 e entre T3 e T4. Nos dentes controlo, não existiram diferenças significativas ao longo do estudo ($p = 0,821$).

Dentro do Grupo II, todos os dentes teste, apresentaram elevadas concentrações de IL-1 β ($p = 0,002$) entre T2 e T4 e entre T3 e T4. Ao longo do estudo não se verificaram alterações significativas nas concentrações desta citocina nos dentes controlo ($p = 0,239$).

As alterações nos níveis de Fator de Necrose Tumoral- α encontram-se descritas na [tabela 3](#).

Este marcador não registou alterações significativas ao longo do estudo, em ambos os grupos ($p = 0,361$). De igual forma, os seus níveis não se mostraram significativamente diferentes ao longo do tempo ($p > 0,5$). No entanto, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas nos níveis de FNT- α entre os dentes teste do Grupo I e os dentes teste do Grupo II no início (T1) ($p = 0,002$), em T2 ($p = 0,012$) e em T3 ($p = 0,006$).

Em T4, as diferenças entre o Grupo I e o Grupo II ($p < 0,000$) foram significativas e o Grupo II mostrou-se consistentemente menor em termos dos níveis de FNT- α .

Discussão

A associação entre periodontite e placa subgengival está bem fundamentada na literatura^{18,19}. Similarmente, a presença de níveis elevados de citocinas encontrados no FCG tem sido fortemente associados ao processo destrutivo na periodontite^{20,21}, voltando este níveis à normalidade quando o tratamento periodontal é levado a cabo⁵. Por outro lado, as alterações nas concentrações de citocinas a nível FCG têm sido igualmente associadas ao movimento ortodôntico. *In vitro*, a presença destas citocinas têm sido associada à remodelação óssea⁸. *In vivo*, as alterações detetadas nestes marcadores bioquímicos no FCG durante o movimento ortodôntico^{6,22} levou a que alguns autores sugerissem que estas citocinas têm um papel preponderante no movimento dos dentes^{6,15}.

Uematsu et al. (1996) verificou que várias citocinas, como a IL-1 β e o FNT- α , mantêm os seus valores iguais em dentes não sujeitos a pressões mecânicas, enquanto que, nos dentes expostos a forças, estes níveis aumentam gradualmente¹⁵. Outros autores confirmaram estas descobertas, referindo a presença de níveis consideráveis de IL-1 β no FCG durante o movimento do dente²²⁻²⁵. Esta citocina tendencialmente aumenta passado uma hora da aplicação da força^{16,22,23}, atingindo o seu valor mais elevado às 24 h^{16,22,23} e mantendo-se elevado até ao quarto dia¹⁴, após o qual os valores tendem a diminuir aproximando-se dos iniciais no final de uma semana^{14,22}.

O volume de FCG foi semelhante dentro do mesmo grupo nos quatro momentos de avaliação, embora em pacientes com

Tabela 2 – Diferenças intra e inter-grupos nos níveis de Interleuquina-1 β ao longo do tempo.

Grupo	Dentes	Momentos de avaliação	Total	Interleuquina-1β			
				n (%)	média (dp)	mediana	min.-máx.
I	TESTE	T1	18 (100)	0,0026905 ^a (0,0019727)	0,0021406	0,0003273–0,0085595	
		T2	18 (100)	0,001457 ^b ^b (0,0017329)	0,0010542	0,0001161–0,0079908	
		T3	18 (100)	0,0013065 ^b ^b (0,0011423)	0,0008864	0,0001439–0,0038333	
		T4	18 (100)	0,0031638 ^a (0,0028698)	0,0022225	0,0002972–0,0117778	
	CONTROLO	T1	17 (100)	0,0028684 (0,0021636)	0,0021464	0,0000915–0,0071875	
		T4	17 (100)	0,0031362 (0,0031469)	0,0021226	0,0003043–0,0129492	
II	TESTE	T1	20 (100)	0,0025914 ^{ab} (0,0021414)	0,0023072	0,0002168–0,0078502	
		T2	20 (100)	0,0016261 ^b (0,0009143)	0,0014641	0,0004302–0,0037538	
		T3	20 (100)	0,0018287 ^b (0,0015623)	0,0015915	0,0004487–0,0071273	
		T4	20 (100)	0,0038277 ^a (0,0031762)	0,0030293	0,0002277–0,0108588	
	CONTROLO	T1	20 (100)	0,0038476 (0,0032753)	0,003009	0,0003438–0,0130308	
		T4	20 (100)	0,0048171 (0,0029827)	0,0042919	0,0006399–0,0118377	
		Momentos de avaliação	Grupo	TESTE/CONTROLO	Interleuquina-1β		
					n (%)	média (dp)	mediana
T1	I	TESTE	17 (100)	0,0026905 (0,0019727)	0,0021406	0,0003273–0,0085595	
		CONTROLO	17 (100)	0,0028684 (0,0021636)	0,0021464	0,0000915–0,0071875	
	II	TESTE	20 (100)	0,0025914 (0,0021414)	0,0023072	0,0002168–,0078502	
		CONTROLO	20 (100)	0,0038476 (0,0032753)	0,003009	0,0003438–0,0130308	
T2	I	TESTE	17 (100)	0,001457 (0,0017329)	0,0010542	0,0001161–0,0079908	
		CONTROLO	–	–	–	–	
	II	TESTE	20 (100)	0,0016261 (0,0009143)	0,0014641	0,0004302–0,0037538	
		CONTROLO	–	–	–	–	
T3	I	TESTE	17 (100)	0,0013065 (0,0011423)	0,0008864	0,0001439–0,0038333	
		CONTROLO	–	–	–	–	
	II	TESTE	20 (100)	0,0018287 (0,0015623)	0,0015915	0,0004487–0,0071273	
		CONTROLO	–	–	–	–	
T4	I	TESTE	17 (100)	0,0031638 (0,0028698)	0,0022225	0,0002972–0,0117778	
		CONTROLO	17 (100)	0,0031362 (0,0031469)	0,0021226	0,0003043–0,0129492	
	II	TESTE	20 (100)	0,0038277 (0,0031762)	0,0030293	0,0002277–0,0108588	
		CONTROLO	20 (100)	0,0048171 (0,0029827)	0,0042919	0,0006399–0,0118377	
a,b – letras diferentes significam grupos homogêneos com diferenças estatisticamente significativas.							

^{a,b} – letras diferentes significam grupos homogêneos com diferenças estatisticamente significativas.

histórico de periodontite, na última avaliação (T4), o volume apresentou-se bastante mais elevado quando comparado os dentes teste do Grupo I (pacientes saudáveis).

Neste estudo avaliamos os níveis de IL-1 β e FNT- α no FCG. Com o objetivo de eliminar a presença destes mediadores bioquímicos devido à inflamação provocada por placa bacteriana, os pacientes de ambos os grupos foram motivados e instruídos para uma correta higiene oral. No entanto, o Grupo I demonstrou níveis inferiores de placa, quando comparado com o Grupo II, devendo-se este facto, provavelmente, a um maior conhecimento acerca da patologia periodontal e dos métodos de higiene oral decorrente de consultas de tratamento de suporte periodontal anteriores ao início do estudo.

Apesar destas alterações na presença de placa, os níveis de IL-1 β no FCG não demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, independentemente de se tratar de dentes teste e de dentes controlo. Contrariamente, os níveis de FNT- α no FCG foram significativamente inferiores em pacientes do Grupo I quando comparados com o Grupo II, nos dentes teste e nos dentes de controlo negativo. Estas diferenças entre grupos podem ser explicadas pelo excelente controlo de placa e condições de saúde periodontal presentes nos pacientes do Grupo I.

Este estudo demonstrou a tendência para um aumento dos níveis de citoquinas no FCG, em dentes sujeitos a forças mecânicas. O pequeno tamanho da amostra e variabilidade inerente dos níveis de citoquinas no FCG, nem sempre demonstrou um aumento claro e consistente dos níveis de IL-1 β e FNT- α após a aplicação de força. Contrariamente, as concentrações dos 2 mediadores foram bastante estáveis, demonstrando uma curva plana linear, nos dentes onde não foram aplicados separadores (dentes controlo), para ambos os grupos de pacientes. Estes resultados estão de acordo com os resultados de outros estudos que demonstraram que o movimento leva ao aumento nas concentrações dessas citoquinas^{6,15,22}. Neste estudo, os dentes submetidos a forças (dentes de teste) apresentaram um aumento constante de IL-1 β de T1 e T2 para T3. Depois denotou-se um declínio de T3 para T4, onde atingiram valores muito semelhantes aos iniciais. Esta tendência também foi verificada previamente por outros autores, os quais também comprovaram que o pico mais elevado ocorre 24 h após a aplicação da força^{16,22,23}. Contudo, o nosso estudo apenas avalia as alterações decorridas entre 1 h e uma semana após a aplicação de força, pelo que não foi possível confirmar este pico às 24 h. Estes resultados indicam que a aplicação dos separadores ortodônticos leva a uma reação inflamató-

Tabela 3 – Diferenças intra e inter-grupos nos níveis de Factor de necrose tumoral - α ao longo do tempo.

Grupo	Dentes	Momentos de avaliação	Total	Factor de necrose tumoral -α				
				n (%)	média (dp)	mediana	min.-máx.	
I	TESTE	T1	18 (100)	0,0016473 (0,0015658)	0,0012591	0,0001361–0,0059921		
		T2	18 (100)	0,0022623 (0,003774)	0,0008876	0,0000767–0,0161766		
		T3	18 (100)	0,0017794 (0,0018166)	0,0009424	0,0001281–0,0064127		
		T4	18 (100)	0,0008425 (0,0004024)	0,0008014	0,0000587–0,0014144		
	CONTROLO	T1	18 (100)	0,0017412 (0,002355)	0,0010342	0,0000658–0,0098553		
		T4	18 (100)	0,0010038 (0,0006808)	0,0008504	0,0001591–0,0022803		
		II	TESTE	T1	20 (100)	0,0075487 (0,007452)	0,0050569	0,0001339–0,0207299
				T2	20 (100)	0,0072424 (0,0073285)	0,0068763	0,0002391–0,023698
T3	20 (100)			0,0055793 (0,0052523)	0,0051948	0–0,0201018		
T4	20 (100)			0,0071056 (0,0064063)	0,0052579	0,0001381–0,0185565		
CONTROLO	T1		20 (100)	0,005078 (0,0052673)	0,004443	0,0001726–0,0175246		
	T4		20 (100)	0,0048887 (0,0045153)	0,0041714	0–0,0145443		
	Momentos de avaliação		G	TESTE/CONTROLO	Factor de necrose tumoral -α			
					n (%)	média (dp)	mediana	min.-máx.
T1	I	TESTE	17 (100)	0,0016473 ^b (0,0015658)	0,0012591	0,0001361 - 0,0059921		
		CONTROLO	17 (100)	0,0017412 ^{ab} (0,002355)	0,0010342	0,0000658 - 0,0098553		
	II	TESTE	20 (100)	0,0075487 ^a (0,007452)	0,0050569	0,0001339 - 0,0207299		
		CONTROLO	20 (100)	0,005078 ^{ab} (0,0052673)	0,004443	0,0001726 - 0,0175246		
T2	I	TESTE	17 (100)	0,0022623 ^b (0,003774)	0,0008876	0,0000767 - 0,0161766		
		CONTROLO	–	–	–	–		
	II	TESTE	20 (100)	0,0072424 ^a (0,0073285)	0,0068763	0,0002391 - 0,023698		
		CONTROLO	–	–	–	–		
T3	I	TESTE	17 (100)	0,0017794 ^b (0,0018166)	0,0009424	0,0001281 - 0,0064127		
		CONTROLO	–	–	–	–		
	II	TESTE	20 (100)	0,0055793 ^a (0,0052523)	0,0051948	0 - 0,0201018		
		CONTROLO	–	–	–	–		
T4	I	TESTE	17 (100)	0,0008425 ^b (0,0004024)	0,0008014	0,0000587 - 0,0014144		
		CONTROLO	17 (100)	0,0010038 ^b (0,0006808)	0,0008504	0,0001591 - 0,0022803		
	II	TESTE	20 (100)	0,0071056 ^a (0,0064063)	0,0052579	0,0001381 - 0,0185565		
		CONTROLO	20 (100)	0,0048887 ^a (0,0045153)	0,0041714	0 - 0,0145443		
^{a,b} – letras diferentes significam grupos homogéneos com diferenças estatisticamente significativas.								

^{a,b} – letras diferentes significam grupos homogêneos com diferenças estatisticamente significativas.

ria, aumentando os níveis de IL-1 β em pacientes tratados de periodontite, assim como em pacientes saudáveis.

Contrariamente ao que era afirmado por Dudic et al. (2006)²³, os nossos resultados sugerem que a irritação mecânica não provém da colocação dos separadores, uma vez que a avaliação efetuada em T2, na maioria dos casos, apresentou níveis de IL-1 β mais baixos do que os iniciais. Este facto foi igualmente suportado por outros autores^{16,25}.

Basaran et al. (2006) verificaram que a distalização e o nivelamento de dentes aumentam significativamente os níveis de IL-1 β e FNT- α no FCG ($p > 0,05$)⁶. Este estudo também demonstra que o FNT- α pode surgir durante movimentos muito pequenos, o que se encontra de acordo com outros estudos^{22,24,25}, mas não foi notada qualquer alteração significativa ao longo do período experimental.

Verificamos que a aplicação de separadores ortodônticos em pacientes saudáveis ou tratados de doença periodontal não conduz a alterações significativas nos parâmetros clínicos periodontais desde de que sejam mantidos baixos níveis de placa bacteriana. No entanto, a aplicação de força conduz a uma resposta local caracterizada pelo aumento dos níveis de IL-1 no fluido crevicular gengival.

São necessários mais estudos para determinar o papel das citocinas no tratamento ortodôntico.

Conclusão

Concluindo, podemos sugerir que a força aplicada usando separadores elásticos não conduz a qualquer inflamação periodontal ou à alteração em qualquer outro parâmetro periodontal detetável clinicamente. No entanto, os elásticos provocaram alterações significativas nos níveis de IL- β em ambos os grupos de pacientes, independentemente do seu histórico periodontal.

Responsabilidades éticas

Proteção de pessoas e animais. Os autores declaram que os procedimentos seguidos estavam de acordo com os regulamentos estabelecidos pelos responsáveis da Comissão de Investigação Clínica e Ética e de acordo com os da Associação Médica Mundial e da Declaração de Helsinki.

Confidencialidade dos dados. Os autores declaram ter seguido os protocolos de seu centro de trabalho acerca da publicação dos dados de pacientes e que todos os pacientes incluídos no estudo receberam informações suficientes e deram o seu consentimento informado por escrito para participar nesse estudo.

Direito à privacidade e consentimento escrito. Os autores declaram ter recebido consentimento escrito dos pacientes e/ou sujeitos mencionados no artigo. O autor para correspondência deve estar na posse deste documento.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Agradecimentos

Dra. Itziar Gonzalez e Dra. Ana O'Connor do Laboratório de Microbiologia da *Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid* pela execução das análises imunológicas.

Dr. Álvaro Azevedo e Prof. Conceição Manso pela execução da análise estatística.

A todos os voluntários que colaboraram que participaram neste estudo.

BIBLIOGRAFIA

- Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal disease. *Periodontol.* 2000;1994:78-111.
- Lindhe J. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 5ª ed. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008.
- Løe H, Anerud A, Boyse H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man, Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan labourers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol.* 1986;13:431-40.
- Papapanou PN, Wennstrom JL, Grondhal K. Periodontal status in relation to age and tooth type. A cross-sectional radiographic study. *J Clin Periodontol.* 1988;15:469-78.
- Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinante of periodontal disease expression. *J Clin Periodontol.* 1993;64:432-44.
- Basaran G, Özer T, Kaya FA, Kaplan A, Hamamci O. Interleukine-1beta and tumor necrosis factor-alpha levels in the human gingival sulcus during orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 2006;76:830-6.
- Bletsa A, Berggreen E, Brudvik P. Interleukin-1alpha and tumor necrosis factor-alpha expression during the early phases of orthodontic tooth movement in rats. *Eur J Oral Sci.* 2006;114:423-9.
- Davidovitch Z, Nicolay OF, Ngan PW, Shanfield JL. Neurotransmitters, cytokines and the control of alveolar bone remodeling in orthodontics. *Dent Clin North Am.* 1988;32:411-35.
- Griffiths GS, Moulson AM, Petrie A, James IT. Evaluation of osteocalcin and pyridinium crosslinks of bone collagen as markers of bone turnover in gingival crevicular fluid during different stages of orthodontic treatment. *J Clin Periodontol.* 1998;25:492-8.
- Iwasaki LR, Haack JE, Nickel JC, Reinhardt RA, Petro TM. Human interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist secretion and velocity of tooth movement. *Arch Oral Biol.* 2001;46:185-9.
- Meikle MC. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *Eur J Orthod.* 2006;28:221-40.
- Sandy JR, Farndale RW, Meikle MC. Recent advances in understanding mechanically induced bone remodelling and their relevance to orthodontic theory and practice. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1993;103:212-22.
- Tatakis DN. Interleukin-1 and bone metabolism: A review. *J Periodontol.* 1993;64:416-31.
- Tzannetou S, Efstratiadis S, Nicolay O, Grbic J, Lamster I. Interleukin-1beta and beta-glucuronidase in gingival crevicular fluid from molars during rapid palatal expansion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999;115:686-96.
- Uematsu S, Mogi M, Deguchi T. Interleukin (IL)-1 beta, IL-6, tumor necrosis factor-alpha, epidermal growth factor, and beta 2-microglobulin levels are elevated in gingival crevicular

- fluid during human orthodontic tooth movement. *J Dental Res.* 1996;75:562-7.
16. Yamaguchi M, Yoshii M, Kasai K. Relationship between substance P and interleukin-1beta in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement in adults. *Eur J Orthod.* 2006;28:241-6.
 17. L   H, Holm-Pedersen P. Absence and presence of fluid from normal and inflamed gingivae. *Periodontics.* 1965;3:171-7.
 18. L   H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1965;36:177-87.
 19. Theilade E, Wright WH, Jensen BS, L   H. Experimental gingivitis in man, II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodontal Res.* 1966;1:1-13.
 20. Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Annals of Periodontology.* 1997;2:123-7.
 21. Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1alpha and interleukin-1beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1990;25:156-63.
 22. Grieve W, Johnson GK, Moore RN, Reinhardt RA, DuBois L. M. PGE and IL-1b levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1994;105:369-74.
 23. Dudic A, Kiliaridis S, Mombelli A, Giannopoulou C. Composition changes in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement: comparisons between tension and compression sides. *Eur J Oral Sci.* 2006;114:416-22.
 24. Insoft M, King GJ, Keeling SD. The measurement of acid and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1996;106:287-96.
 25. Lee KJ, Park YC, Yu HS, Choi SH, Yoo YJ. Effects of continuous and interrupted orthodontic force on interleukin-1beta and prostaglandin E2 production in gingival crevicular fluid. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2004;125:168-77.