

UNIVERSIDADE DE UBERABA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO
MESTRADO ACADÊMICO EM ODONTOLOGIA

PRISCILA CARVALHO DA SILVA GONÇALVES

**AVALIAÇÃO DE CITOCINAS EM PACIENTE COM USO
DE APARELHO FIXO PARA CORREÇÃO DA MÁ
OCCLUSÃO**

UBERABA – MG

2023

PRISCILA CARVALHO DA SILVA GONÇALVES

**AVALIAÇÃO DE CITOCINAS EM PACIENTE COM USO
DE APARELHO FIXO PARA CORREÇÃO DA MÁ
OCCLUSÃO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia - Mestrado Acadêmico da Universidade de Uberaba, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração em Biopatologia.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues

UBERABA- MG

2023

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

G586a	<p>Gonçalves, Priscila Carvalho da Silva. Avaliação de citocinas em paciente com uso de aparelho fixo para correção da má oclusão / Priscila Carvalho da Silva Gonçalves. – Uberaba, 2023. 49 f. : il., p&b.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Pós-graduação em Odontologia. Área de Concentração em Biopatologia. Orientadora: Profa. Dra. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues.</p> <p>1. Ortodontia. 2. Citocinas. 3. Odontologia. I. Rodrigues, Denise Bertulucci Rocha. II. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Odontologia. Área de Concentração em Biopatologia. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 617.643</p>
-------	---

PRISCILA CARVALHO DA SILVA GONÇALVES

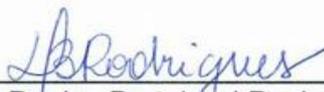
AVALIAÇÃO DE CITOCINAS EM PACIENTES COM USO DE APARELHO
ORTODÔNTICO FIXO PARA CORREÇÃO DE MÁ OCLUSÃO

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre
em Odontologia do Programa de Pós-
Graduação em Odontologia - Mestrado da
Universidade de Uberaba.

Área de concentração: Biopatologia

Aprovado (a) em: 16/05/2023

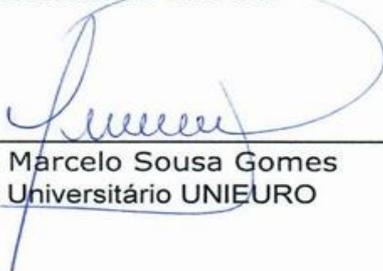
BANCA EXAMINADORA:



Prof^a. Dr^a. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues
Orientadora
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Cesar Penazzo Lepri
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Marcelo Sousa Gomes
Centro Universitário UNIEURO

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada.

A Universidade de Uberaba, por meio do Reitor Prof. Dr. Marcelo Palmério.

A Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Extensão por meio do Pró-Reitor Prof. Dr. André Luís Teixeira Fernandes.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos Professores do Programa de Mestrado, minha eterna gratidão pelos ensinamentos em todas as aulas ministradas e pelo apoio.

Aos Professores convidados para qualificação, Maria Angélica Hueb de Menezes Oliveira, Marcelo Sivieri de Araújo e César Penazzo Lepri pelos ensinamentos e por contribuírem com este trabalho.

À Flavia Michele por todo apoio, carinho, cuidado e prontidão que teve comigo, desde o primeiro momento em que nos falamos na inscrição. Pela competência com que faz seu trabalho na secretaria do mestrado.

À minha orientadora Denise Bertulucci Rocha Rodrigues por toda atenção, apoio, paciência e disponibilidade em me orientar.

Aos professores Marcelo Sousa Gomes, Virmondes Rodrigues Jr., Ruchele Dias Nogueira e ao Chamberttan Souza Desidério pelo apoio na elaboração deste estudo.

Ao meu esposo Fábio que nunca me recusou amor, apoio e incentivo. Obrigado, todo o amor do meu coração, por compartilhar os inúmeros momentos de ansiedade e estresse.

Agradeço aos meus filhos João Víttor e Esther por compreenderem as várias horas em que estive ausente por causa do desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais Alvacir e Cárta que sempre estiveram ao meu lado apoiando e incentivando em toda minha trajetória.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte de minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O tratamento ortodôntico visa o restabelecimento da oclusão e com isto o equilíbrio do sistema estomatognático. Os movimentos dentários, utilizados para o tratamento ortodôntico são apresentados de acordo com o tipo de presa do fio no acessório ortodôntico, que podem ser do tipo convencional e autoligados. O fenômeno da resposta física ao sistema de forças no ligamento periodontal é o resultado biomecânico do tratamento ortodôntico, que implica na velocidade e qualidade do movimento dentário. Esse movimento ortodôntico envolve uma resposta inflamatória aguda com a participação de citocinas inflamatórias em diferentes momentos do movimento dentário. Assim o objetivo desse estudo é analisar os níveis de IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α e IL-10 por CBA em fluido crevicular gengival de pacientes tratados ortodonticamente com aparelhos convencionais (C), autoligado passivo (AP) e autoligado interativo (AI). Foram avaliados 29 pacientes, entre 14 a 60 anos com indicação para tratamento ortodôntico sendo avaliados em dois tempos: no início do tratamento ortodôntico (G1), com o tratamento iniciado há 2 meses (G2). Estes pacientes foram examinados clinicamente e divididos em grupos e foram coletadas amostras de fluido crevicular gengival da região dos incisivos inferiores, estas amostras foram submetidas a teste para análise dos níveis de citocinas através da técnica de Cytometric Bead Array (CBA). Níveis de IL-8 foram significativamente maiores quando comparadas com as demais citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 e TNF- α), independente do grupo estudado. Desta forma, consideramos que independentemente do tipo de aparelho ortodôntico utilizado, os níveis de IL-8 significativamente maiores em relação as demais citocinas, independente do sistema de mobilização estudado.

Palavras Chave: citocinas, Citocinas pró-inflamatórias, Interleucina 8, Quimiocina, tratamento ortodôntico

ABSTRACT

Orthodontic treatment aims at restoring the occlusion and, as a consequence, the balance of the stomatognathic system. The tooth movements used in orthodontic treatment are presented according to the type of alloy of the wire used in the orthodontic accessory, which can be conventional and self-ligating. The phenomenon of physical response to the system of forces in the periodontal ligament is the biomechanical result of orthodontic treatment, which results in the speed and quality of tooth movement. This orthodontic movement involves an acute inflammatory response with the participation of inflammatory cytokines at different times of tooth movement. Therefore, the objective of this study is to analyze the levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α and IL-10 by Cytometric Bead Array (CBA) in gingival crevicular fluid of patients treated orthodontically with conventional (C), passive self-ligating (PSL) and interactive self-ligating (ISL) braces. A total of 29 patients, whose ages ranged from 14 and 60 years old, with indication for orthodontic treatment, were evaluated in two stages: at the beginning of the orthodontic treatment (G1), and 2 months after treatment has started (G2). These patients were clinically examined and divided into groups and samples of gingival crevicular fluid were collected from the region of the lower incisors, and these samples were submitted to testing for analysis of cytokine levels through the Cytometric Bead Array (CBA) technique. IL-8 levels were significantly higher when compared to the other cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and TNF- α), regardless of the studied group. Thus, we consider that, independent of the type of orthodontic braces used, IL-8 levels are significantly higher in comparison to other cytokines, regardless of the mobilization system studied.

Keywords: Cytokines, Pro-inflammatory Cytokines, Interleukin 8, Chemokine, Orthodontic Treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Níveis absolutos de IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 e TNF- α no FCG de pacientes submetidos a tratamento ortodôntico com os aparelhos: convencional, autoligado passivo e autoligado interativo no momento da coleta (tempo 0) e 60 dias (2 meses). Sem diferença significativa ($p > 0,05$; Wilcoxon)..... **Error! Bookmark not defined.**

Figura 2- Níveis de citocinas no FCG de pacientes submetidos a tratamento ortodôntico com os aparelhos: A) Grupos dos pacientes com aparelhos Convencional; B) Grupos dos pacientes com aparelhos autoligados passivos; C) Grupos dos pacientes com aparelhos autoligados interativos, após 2 meses **Error! Bookmark not defined.**

Figura 3 - Diferença entre o tempo 0 e 2 meses nos níveis de IL1- β , IL-6; IL-8, IL-10; IL-12 e TNF- α no FCG de pacientes submetidos a tratamento ortodôntico com os aparelhos: Convencional, Autoligado Passivo e Autoligado Interativo. Sem diferença significativa ($p > 0,05$; teste Kruskal Wallis). **Error! Bookmark not defined.**

Figura 4 - Razão entre os valores absolutos entre o tempo de 2 meses e 0 dias nos níveis de IL1- β , IL-6; IL-8, IL-10; IL-12 e TNF- α no FCG de pacientes submetidos a tratamento ortodôntico com os aparelhos: Convencional, Autoligado Passivo e Autoligado Interativo. Sem diferença significativa ($p > 0,05$; teste Kruskal Wallis). ... **Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Descrição do Tipo de Aparelho e média de idades .. **Error! Bookmark not defined.**

Tabela 2 - Frequência por Grupo (Tipo de Tratamento)29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IL1 β : Interleucina 1 β

IL 6: Interleucina 6

IL12: Interleucina 12

IL 10: Interleucina 10

IL8: Interleucina 8

CXCL: Quimiocina 8

FGC: Fluido Crevicular Gengival

TNF- α : Fator de Necrose Tumoral α

Kda: Quilodalton

C: convencional

AI: Autoligado interativo

AP: Autoligado Passivo

CBA: Cytometric Bead Array

Pg/ml: picograma por miligrama

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	Fluido Crevicular Gengival	13
2.2	Citocinas	13
2.3	Quimiocinas.....	15
2.4	Movimentação Ortodôntica e Tipos de Aparelhos Ortodônticos	15
3	JUSTIFICATIVA	18
4	HIPÓTESE.....	19
5	OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICO	20
6	ARTIGO	21
1	INTRODUCTION	23
2	METODOLOGY	Error! Bookmark not defined.
2.1	Group Design Study	Error! Bookmark not defined.
2.2	Clinical Examination	Error! Bookmark not defined.
2.3	Sample Collection	Error! Bookmark not defined.
2.4	Cytokine Analysis	Error! Bookmark not defined.
2.5	Type of Statistical Analysis.....	Error! Bookmark not defined.
3	RESULTS	Error! Bookmark not defined.
4	DISCUSSION AND CONCLUSION	Error! Bookmark not defined.
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ARTIGO	35
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
	ANEXO 1 - QUESTIONÁRIO	40
	ANEXO 2 – ODONTOGRAMA E ANÁLISE CEFALOMÉTRICA E RADIOGRÁFICA	42
	ANEXO 3- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	43

1. INTRODUÇÃO

A ortodontia tem como princípios fundamentais a estética facial, a estabilidade, a eficiência funcional e a saúde dos tecidos periodontais. A movimentação dentária ortodôntica, fenômeno que permeia a base fundamental do tratamento é regida por fatores biológicos e mecânicos, caracterizada por reações sequenciais no tecido periodontal em resposta às forças aplicadas (PROFITT *et al.*, 2007). Este tipo de movimentação que gera uma resposta biológica do ligamento periodontal e do osso, é considerado um processo inflamatório asséptico e iatrogênico que cria lesões reversíveis, se as forças aplicadas estiverem dentro de limites terapêuticos (MALÓ *et al.*, 2014).

A força aplicada a um dente é transmitida aos tecidos periodontais circunjacentes, que por sua vez, iniciam a remodelação tecidual, permitindo que o dente se movimente através do osso alveolar. A fase inicial do movimento dentário ortodôntico envolve uma resposta inflamatória aguda caracterizada pela vasodilatação periodontal e a migração de leucócitos para fora dos capilares do ligamento periodontal (KRISHNAN *et al.*, 2006).

Sob pressão de forças ortodônticas, fibroblastos, osteoclastos e outras células do ligamento periodontal liberam moléculas de sinalização, as citocinas. Esses mediadores inflamatórios podem desencadear processos biológicos de reabsorção e aposição óssea (MEIKLE, 2006).

Uma vez liberados em diferentes estágios da movimentação dentária induzida os mediadores inflamatórios podem ser detectados no fluido crevicular gengival (FGC) dos dentes em movimento. Dentre esses mediadores podemos observar diferentes tipos de citocinas pró-inflamatórias tais como: interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), interleucina 12 (IL-12), fator de necrose tumoral (TNF- α) e quimiocina 8. Estas citocinas têm um papel crucial na fase aguda da resposta inflamatória durante à movimentação ortodôntica, principalmente nos mecanismos da remodelação óssea, uma vez que, o TNF- α colabora na vasodilatação, a IL-1 β e IL-6 na expressão das moléculas de adesão do endotélio, e a quimiocina 8 permitindo a exsudação e migração celular para líquido crevicular (MARCACCINI, *et al.* 2010; ZIEGLER *et al.*, 2010) e estão associadas em condições patológicas, quando níveis elevados estimulando a formação e ativação de osteoclastos, levando a reabsorção óssea ou radicular, durante os movimentos ortodônticos (REN Y. *et al.*, 2007; MARCACCINI, *et al.* 2010; VIECILLI R.F. *et al.*, 2009).

Observamos também a citocina anti-inflamatória a interleucina 10 (IL-10), que está envolvida no controle desse processo inflamatório, tendo ação inibitória nos macrófagos sendo importante no processo desativador da osteoclastogênese e conseqüentemente na reabsorção óssea (ANDRADE et.al., 2012).

As citocinas têm sido avaliadas na tentativa de esclarecer mecanismos moleculares que ocorrem durante a movimentação ortodôntica. O entendimento da biologia da movimentação dentária induzida auxilia na compreensão dos vários tipos de interferências e influências biológicas sobre a dinâmica ortodôntica, permitindo assim avaliar o tipo de aparelho que produz menor resposta inflamatória ao paciente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fluido Crevicular Gengival

O fluido crevicular gengival é o fluido sulcular e é considerado um exsudato inflamatório (ALFANO MC, 1974). Proteínas, citocinas, antígenos bacterianos, eletrólitos, pequenas moléculas orgânicas e enzimas tanto do hospedeiro quanto de origem bacteriana são as moléculas isoladas do fluido sulcular (MCCULLOCH CA., 1994).

A remodelação óssea causada pela movimentação ortodôntica envolve um processo de inflamação estéril. Esse processo inflamatório é caracterizado pela vasodilatação vascular e migração dos leucócitos para fora dos capilares sanguíneos. Pode-se esperar um aumento na produção de FGC, além da elevação na concentração de mediadores inflamatórios presentes no FGC.

O método para obtenção do FGC é simples, não invasivo e fornece informações dos eventos biológicos ao longo de todo o tempo de observação, uma vez que pode ser realizada em diversos estágios do tratamento (AUJLA *et al.*, 2009). Um dos métodos descritos na literatura consiste na inserção de tira de papel absorvente no sulco gengival, as principais vantagens deste método são: facilidade e rapidez, forma de coleta menos traumática e possível aplicação em todos os sítios (KAVALA *et al.*, 2002).

2.2 Citocinas

Os mediadores inflamatórios são importantes fatores para desencadear os processos biológicos associados à reabsorção e aposição óssea alveolar. Diversos estudos sugeriram que mediadores locais como as citocinas possuem um importante papel na remodelação óssea induzida pelo movimento ortodôntico (KRISHNAN *et al.*, 2012).

As citocinas são proteínas de baixo peso molecular, as quais regulam ou modificam a ação de outras células, uma vez que atuam como mediadores autócrinos e parácrinos locais da homeostasia do tecido.

Uma mesma citocina pode ser produzida por mais de um tipo celular ou até mesmo potencializar ou inibir o efeito de outra. Adicionalmente, uma mesma citocina pode

desencadear diferentes efeitos, que se convencionou em chamar de pleiotropismo, enquanto dá-se o nome de redundância ao fato de diferentes citocinas apresentarem a mesma função. Podem atuar em células presentes nas proximidades do sítio de sua produção, efeito parácrino, ou ainda agir sobre o próprio tipo celular que produziu, o efeito autócrino (BILATE, 2007).

Produzidas por células do tecido periodontal como fibroblastos e osteoblastos as citocinas estão envolvidas na remodelação óssea fisiológica e na remodelação óssea gerada pela movimentação ortodôntica (REN *et al.*, 2008).

As citocinas estão envolvidas em iniciar, ampliar, perpetuar e resolver a resposta inflamatória. Assim sendo, são classificadas como pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (ANDRADE *et al.*, 2012). Como pró-inflamatórias temos: interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), interleucina 12 (IL-12) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α); e anti-inflamatória a interleucina 10 (IL-10).

A citocina pró-inflamatória IL-1 β é responsável pela estimulação osteoclástica e atração de leucócitos e outras células mediadoras do processo de remodelação óssea, desta forma a elevação dos níveis desse mediador inflamatório pode indicar o aumento da reabsorção óssea local. Monócitos e macrófagos são a principal fonte de IL-1 β , mas outros tipos celulares podem produzir IL-1 β , como células endoteliais, fibroblastos, miócitos, células de Langherans e linfócitos B e T (DINARELLO C.A.,1989).

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), assim com a IL-1 β é um dos principais responsáveis por induzir reabsorção óssea e está relacionado à fase aguda da resposta inflamatória associada à movimentação ortodôntica. Esse mediador é liberado por monócitos e macrófagos durante a ativação de leucócitos (BASARAN G., *et al* 2006).

A interleucina 6 (IL-6) é considerada um mediador de grande relevância nas reações inflamatórias crônicas, ela regula o recrutamento celular na transição da inflamação aguda para crônica. Além disso, estimula a formação de osteoclasto e a reabsorção óssea pelos osteoclastos pré-formados (REN Y. *et al.*, 2007). Ela pode ser produzida por vários tipos celulares, sendo as células B, T e monócitos as principais fontes (ROTHERWELL N.J., 1991).

A IL-12 é uma citocina pró-inflamatória produzida por células dendríticas, macrófagos e células B em resposta a patógenos microbianos (MA.X *et al.*, 2001).

A interleucina 10 (IL-10) é uma citocina anti-inflamatória controlando a inflamação e a reabsorção óssea, é liberada no ligamento periodontal durante a movimentação

ortodôntica e sua principal função é inibir a osteoclastogênese e a reabsorção óssea (ANDRADE I. Jr. *et al.*, 2012). Ela é produzida principalmente por células CD8+ ativadas.

2.3 Quimiocinas

As quimiocinas formam uma grande família de pequenas citocinas, geralmente de baixo peso molecular, que varia entre 7 e 15 kDa. As quimiocinas e seus receptores são capazes de controlar a migração e a residência de todas as células imunes. Algumas quimiocinas são consideradas pró-inflamatórias e sua liberação pode ser induzida durante uma resposta imune em um sítio de infecção, enquanto outras são consideradas homeostáticas e estão envolvidas no controle da migração celular durante o desenvolvimento ou a manutenção dos tecidos. A importância fisiológica dessa família de mediadores é resultado de sua especificidade. Os membros da família das quimiocinas induzem ao recrutamento de subtipos bem definidos de leucócito.

A interleucina 8 (IL-8/CXCL8) é um membro exemplar da família das quimiocinas, é produzida principalmente por monócitos/macrófagos e em menor quantidade por fibroblastos, células endoteliais, queratinócitos, melanócitos, hepatócitos e condrócitos (BAGGIOLINI M. *et al.*, 1994). Ela regula o fluxo de leucócitos para os sítios inflamados, é um potente ativador de neutrófilos, possuindo assim importante papel na reabsorção óssea durante a movimentação dentária, já que está relacionada à resposta inflamatória inicial (REN Y. *et al.*, 2007).

2.4 Movimentação Ortodôntica e Tipos de Aparelhos Ortodônticos

A movimentação ortodôntica consiste na aplicação de forças mecânicas sobre um ou mais dentes, processo que induzirá metabolismo ósseo, causando o deslocamento do elemento dentário através do osso alveolar, e evoca resposta biológica da polpa dentária (MURSHID *et al.*, 2017) (VON BÖHL, *et al.*, 2012).

Ao ser aplicada uma força no dente cria-se um lado de pressão entre a superfície radicular e o osso adjacente, ocorrendo uma compressão do ligamento periodontal interposto e do líquido que o banha - o fluido gengival crevicular. No lado oposto, de tensão, ocorre

um estiramento das fibras do ligamento periodontal por deslocamento do dente em sentido de afastamento do osso alveolar, a compressão do ligamento periodontal leva à redução do fluxo sanguíneo induzindo necrose ou apoptose das células presentes, criando zonas de hialinização que serão removidas lentamente por macrófagos e outras células com capacidade fagocitária (ISOLA *et al.*, 2016).

Os aparelhos ortodônticos fixos mais comuns se baseiam na instalação de bráquetes e acessórios na superfície dentária, a fim de que os dentes possam se movimentar e alcançar a posição correta e restabelecer a oclusão e as funções estomatognáticas ideais. Existem variados tipos de sistemas sendo que bráquetes mais comum são os de aço inoxidável. Em decorrência da busca de tratamentos ortodônticos mais estéticos, surgiram os bráquetes construídos com materiais cerâmicos e mais recentemente, os alinhadores termoplásticos, que consistem em um conjunto de placas confeccionadas a partir de um escaneamento dos dentes do paciente e que é composto por moldeiras que cobrem todos os dentes incluindo a gengiva marginal, que pode ser removido para alimentação e higiene.

O aparelho ortodôntico convencional utiliza bráquetes de aço inoxidável associados ao uso de ligadura elastomérica ou de aço inoxidável para manter o fio ortodôntico dentro do slot (FORSBERG *et al.*, 1991).

O aparelho autoligado foi desenvolvido com o objetivo de diminuir a fricção existente entre o fio e a canaleta dos bráquetes. Apresenta várias vantagens como menos atrito, menor tempo de tratamento ortodôntico e favorece a saúde periodontal (TREVISI *et al.*, 2006). Eles possuem um mecanismo próprio para abertura e fechamento do slot e não necessitam de ligadura metálica ou elastomérica como método de ligadura do fio (CACCIAFESTA *et al.*, 2003).

Quanto ainda a indicação de uso, o sistema autoligado possibilita a opção de ser passivo ou interativo conforme a necessidade do profissional (MALTAGLIATI, 2010; ZUCCHI *et al.*, 2014). A forma de como ocorre o fechamento do clipe diferencia estas opções dentro dos sistemas autoligados (ZUCCHI *et al.*, 2014).

Nos bráquetes passivos, a canaleta do bráquetes é fechada por meio de uma trava que desliza na superfície externa das aletas, transformando todos os bráquetes em tubos e criando quatro paredes nas canaletas, rígidas e passivas (MALTAGLIATI, 2010). Ou seja, nestes bráquetes não há interação do clipe com o fio ortodôntico, ele tem apenas a função de manter o fio no interior da canaleta proporcionando maior liberdade entre fio e slot (ZUCCHI *et al.*, 2014). Por este motivo o aparelho passivo é mais indicado nos casos em que o fio retangular

permanece por mais tempo, como nos casos com extração dentária, pois o aparelho passivo é o que gera menor atrito na mecânica de deslize (MARTINS NETO *et al.*, 2014).

No sistema interativo ou ativo o fechamento se dá por um clipe que invade uma parte da canaleta, em uma das paredes, superior ou inferior. Além de manter o fio no interior do slot, interage com ele em determinadas situações, principalmente com fios mais calibrosos, dissipando a força (MALTAGLIATI, 2010; MARTINS NETO *et al.*, 2014; ZUCCHI *et al.*, 2014), sendo indicado para casos sem extração dental, no qual o atrito ajuda no controle tridimensional. Os bráquetes autoligáveis ativos geram maiores níveis de atrito do que os passivos, justamente por exercerem pressão determinada sobre o fio ortodôntico (CASTRO, 2009; MARTINS NETO *et al.* 2014).

De modo geral, mesmo com as mudanças nos tipos modernos de bráquetes e aparelhos ortodônticos a movimentação dentária que estes induzem causam inflamação nos tecidos periodontais portanto avaliar e esclarecer os mecanismos moleculares, as citocinas envolvidas neste processo permitem avaliar qual aparelho irá induzir uma menor resposta inflamatória.

3. JUSTIFICATIVA

A força ortodôntica aplicada induz a uma movimentação ortodôntica fazendo com que células do sistema imune migrem para fora dos capilares liberando mediadores inflamatórios (citocinas e quimiocina) que se encontram presentes no líquido crevicular gengival em diversas fases do tratamento ortodôntico; estes mediadores induzem os processos de reabsorção e aposição óssea. Portanto conhecer esta resposta imune modulada por diferentes tipos de citocinas e diferentes tipos de aparelhos ortodônticos permite identificar qual aparelho (convencional, autoligado passivo ou autoligado interativo) induz uma menor resposta inflamatória.

4. HIPÓTESE

O presente estudo tem como hipótese pacientes com o uso de aparelho ortodôntico fixo autoligado passivo, pacientes com o uso de aparelho ortodôntico fixo convencional e com o uso de aparelho ortodôntico fixo autoligado interativo terão diferentes respostas inflamatórias quando comparados entre si.

5. OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICO

O objetivo do estudo é avaliar citocinas e quimiocinas no FGC em diferentes tipos de aparelhos ortodônticos na fase biomecânica inicial do movimento dentário.

Os objetivos específicos incluem analisar os níveis de interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), quimiocina 8, interleucina 12 (IL-12), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 10 (IL-10) por CBA em fluido crevicular gengival de pacientes tratados ortodonticamente com aparelhos convencionais, autoligado interativo, autoligado passivo.

6. ARTIGO

Artigo a ser submetido a revista The Angle Orthodontist. Adequado de acordo com as normas da Revista.

EVALUATION OF CYTOKINE IN A PATIENT USING BRACES FOR CORRECTION OF MALOCCLUSION

Priscila Carvalho da Silva Gonçalves, Denise Bertulucci Rocha Rodrigues, Chamberttan Souza Desidério, Marcelo Gomes, Virmondes Rodrigues Jr, Ruchele Dias Nogueira.

¹UNIVERSITY OF UBERABA, UBERABA, MINAS GERAIS, BRAZIL ²LABORATORY OF IMMUNOLOGY, DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES, AND CEFORES, TRIÂNGULO MINEIRO FEDERAL UNIVERSITY, UBERABA, MINAS GERAIS, BRAZIL.

Corresponding author:

Denise Bertulucci Rocha Rodrigues

Universidade de Uberaba

Av. Nenê Sabino, 1801, Bairro Universitário, CEP 38.055-500

Uberaba MG, Brazil

Telephone: +55 34 3319 8815

Fax: +55 34 3314 8910

E-mail: denise.rodrigues@uniube.br

ABSTRACT

Introduction: Orthodontic treatment aims at restoring the occlusion and, as a consequence, the balance of the stomatognathic system. The tooth movements used in orthodontic treatment are presented according to the type of alloy of the wire used in the orthodontic accessory, which can be conventional and self-ligating. The phenomenon of physical response to the system of forces in the periodontal ligament is the biomechanical result of orthodontic treatment, which results in the speed and quality of tooth movement. This orthodontic movement involves an acute inflammatory response with the participation of inflammatory cytokines at different times of tooth movement. **Objective:** Therefore, the objective of this study is to analyze the levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α and IL-10 by Cytometric Bead Array (CBA) in gingival crevicular fluid of patients treated orthodontically with conventional (C), passive self-ligating (PSL) and interactive self-ligating (ISL) braces. **Methodology:** A total of 23 patients, whose ages ranged from 14 and 60 years old, with indication for orthodontic treatment, were evaluated in two stages: at the beginning of the orthodontic treatment (G1), and 2 months after treatment has started (G2). These patients were clinically examined and divided into groups and samples of gingival crevicular fluid were collected from the region of the lower incisors, and these samples were submitted to testing for analysis of cytokine levels through the Cytometric Bead Array (CBA) technique. **Results:** IL-8 levels were significantly higher when compared to the other cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and TNF- α), regardless of the studied group. **Conclusion:** Thus, we consider that, independent of the type of orthodontic braces used, IL-8 levels are significantly higher in comparison to other cytokines, regardless of the mobilization system studied.

Keywords: Cytokines, Pro-inflammatory Cytokines, Interleukin 8, Chemokine, Orthodontic Treatment.

RESUMO

Introdução: O tratamento ortodôntico visa o restabelecimento da oclusão e com isto o equilíbrio do sistema estomatognático. O movimento dentário, utilizados para o tratamento ortodôntico são apresentados de acordo com o tipo de presa do fio no acessório ortodôntico, que podem ser do tipo convencional e autoligados. O fenômeno da resposta física ao sistema de forças no ligamento periodontal é o resultado biomecânico do tratamento ortodôntico, que implica na velocidade e qualidade do movimento dentário. Esse movimento ortodôntico envolve uma resposta inflamatória aguda com a participação de citocinas inflamatórias em diferentes momentos do movimento dentário. **Objetivo:** Assim o objetivo desse estudo é analisar os níveis de IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α e IL-10 por CBA em fluido crevicular gengival de pacientes tratados ortodonticamente com aparelhos convencionais (C), autoligados passivo (AP) e autoligados interativo (AI). **Metodologia:** Foram avaliados 29 pacientes, entre 14 a 60 anos com indicação para tratamento ortodôntico sendo avaliados em dois tempos: no início do tratamento ortodôntico (G1), com o tratamento iniciado há 2 meses (G2). Estes pacientes foram examinados clinicamente e divididos em grupos e foram coletadas amostras de fluido crevicular gengival da região dos incisivos inferiores, estas amostras foram submetidas a teste para análise dos níveis de citocinas através da técnica de Cytometric Bead Array (CBA). **Resultados:** Níveis de IL-8 foram significativamente maiores quando comparadas com as demais citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 e TNF- α), independente do grupo estudado. **Conclusão:** Desta forma, consideramos que independentemente do tipo de aparelho ortodôntico utilizado, os níveis de IL-8 significativamente maiores em relação as demais citocinas, independente do sistema de mobilização estudado.

Palavras Chave: Citocinas anti-inflamatórias, Citocinas pró-inflamatórias, Interleucina 8, Quimiocina.

1- INTRODUCTION

Orthodontics has as fundamental principles to establish facial aesthetics, functional efficiency, always worrying about the health of periodontal tissues (PROFITT et al., 2007). The initial phase of the orthodontic tooth movement involves an acute inflammatory response characterized by periodontal vasodilation and migration of leukocytes to the periodontal ligament (KRISHNAN et al., 2006). Thus, inflammatory cytokines such as IL-1, IL-6, IL-17, TNF- α and IL-8 have been detected in gingival crevicular fluid (GCF) at different times of tooth movement (DINARELLO C.A., 1989; KENNEDY J., 1996; BASARAN G., et al 2006). These cytokines play a crucial role in the acute phase of the inflammatory response during the orthodontic movement, mainly in the mechanisms of bone remodeling, since TNF- α collaborates on vasodilation, IL-1 and IL-6 on the expression of adhesion molecules of the endothelium, and IL-8 allows exudation and cell migration to the crevicular fluid (MARCACCINI et al., 2010). These cytokines are associated in pathological conditions, when high levels stimulate the formation and activation of osteoclasts, leading to bone or root resorption, during orthodontic movements (REN Y. et. al., 2007, MARCACCINI et al., 2010). In an attempt to maintain control of this inflammatory process, the inhibitory action of IL-10 on macrophages is important in the process of deactivating osteoclastogenesis and, consequently, in bone resorption (ANDRADE I. Jr. et.al., 2012). As all these cytokines are found in the gingival crevicular fluid (GCF), bone remodeling caused by orthodontic movement must involve a sterile inflammatory process, characterized by an increase in the production and elevation in the concentration of these pro- and anti-inflammatory cytokines in the GCF (ALFANO MC., 1974; MCCULLOCH CA., 1994).

For orthodontic movement, fixed dental braces are used. They are based on the installation of brackets and accessories on the tooth surface, so that the teeth can move and reach the correct position, restoring ideal occlusion and stomatognathic functions. Conventional brackets are associated with the use of elastomeric or stainless steel ligature to keep the orthodontic wire inside the slot (FORSBERG et al., 1991); however, in search of more aesthetic orthodontic treatments, brackets with ceramic materials and thermoplastic aligners have emerged, which consist of a set of plates made from a scan of the patient's teeth and which is composed of trays that cover all teeth, including the marginal gingiva, which can be removed

for feeding and hygiene. The self-ligating braces were developed with the aim of reducing the friction between the wire and the bracket slot. For this reason, they have several advantages such as less friction, shorter orthodontic treatment time and favors periodontal health (TREVISI et al., 2006). They have their own mechanism for opening and closing the slot and do not require metallic or elastomeric ligation as a wire ligation method (CACCIAFESTA et al., 2003). The self-ligating system allows the option of being passive and interactive, according to the needs of the professional (MALTAGLIATI, 2010; ZUCCHI et al., 2014). The way in which clip closure occurs differentiates these options within self-ligating systems (ZUCCHI et al., 2014). In passive brackets, the channel is closed by means of a lock that slides on the external surface of the channel, transforming all brackets into tubes and creating four walls in the channels, rigid and passive (MALTAGLIATI, 2010). That is, in these brackets there is no interaction between the clip and the orthodontic wire, it only has the function of keeping the wire inside the slot, providing greater freedom between the wire and the slot (ZUCCHI et al., 2014). For this reason, the passive braces are more indicated in cases where the rectangular wire remains for a longer time, such as in cases with tooth extraction, since the passive braces generate less friction in the sliding mechanics (MARTINS NETO et al., 2014).

In the interactive or active system, the closing is done by a clip that invades a part of the channel, on one of the walls, upper or lower. In addition to keeping the wire inside the slot, it interacts with it in certain situations, especially with thicker wires, dissipating the force (MALTAGLIATI, 2010; MARTINS NETO et al. 2014; ZUCCHI et al., 2014), being indicated for cases without any tooth extraction, in which friction helps with the three-dimensional control. Active self-ligating brackets generate higher levels of friction than the passive ones, since they exert certain pressure on the orthodontic wire (CASTRO, 2009; MARTINS NETO et al. 2014).

In general, even with the changes in modern types of brackets and orthodontic braces, the tooth movement they induce causes inflammation in the periodontal tissues. Thus, it is important to assess whether there are changes in the production of cytokines in this inflammatory process as a result of the different types of orthodontic braces tested. So, the objective of this study is to analyze the levels of IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α and IL-10 by Cytometric Bead Array (CBA) in gingival crevicular fluid of patients orthodontically treated with conventional, passive self-ligating and interactive braces.

2- METHODOLOGY

2.1- Group Design Study

In the present study, we had the participation of 29 volunteers whose ages ranged from 14 and 60, attended to by the Specialization Clinic in Orthodontics at the University of Uberaba (UNIUBE); 29 of them with indication for the initiation of orthodontic treatment (G1) and the same 29 patients reassessed after 2 months (G2). At the beginning of the study, the volunteers or their guardians became aware of the study and those who agreed to participate signed the Free Prior and Informed Consent Form (FPICF - ANNEX 3) authorizing the clinical examination and sample collection, as well as the gathering of information regarding their health, socioeconomic status and behavioral habits through a questionnaire they have answered (ANNEX 1). Study participants were guaranteed the right to interrupt and ask for clarification of the study at any time, as well as access to the results of clinical and complementary tests, confidentiality about them and guidance and referrals for specialized evaluation when necessary. This project was approved by the UNIUBE Ethics Research Committee, under the following protocol number - CAI: 16594919.2.0000.5145.

Based on the data collected in the clinical examination, volunteers were selected to participate in this study. Patients with: (1) poor general health or systemic diseases, (2) use of medications such as antibiotics, corticoids or anti-inflammatories in the last 3 months were excluded; (3) smokers and drinkers; (4) absence of braces maintenance for more than 1 month; (5) pregnant women, (6) patients with gingivitis or periodontitis.

2.2- Clinical Examination

Samples were collected from 29 patients in two different moments: at the beginning of the study (T0), and 2 months after the placement of orthodontic braces (T1). Based on the clinical examination, and having established the eligibility criteria, these patients were divided into three groups:

- G1.C: patients with indication for conventional orthodontic braces (n=4)
- G1.PSL: patients with indication for passive self-ligating orthodontic braces (n=9)
- G1.ISL: patients with indication for interactive self-ligating braces (n=16)

The present study did not present risks to the participants because of its safe, non-invasive and painless collections. After carrying out the collections, prophylaxis and adequacy of the oral environment were performed, with the aid of rubber cups and fluoridated toothpaste. Patients who presented cavities or periodontal disease during the clinical examination were referred for treatment at the Integrated Clinic of the University of Uberaba.

2.3- Sample Collection

Samples of gingival crevicular fluid were collected from the mesial region of the lower left incisor (tooth 31), due to the fact that the anterior region is the site of greatest movement in the initial phase of treatment. The collection was a non-invasive procedure; in the initial collection (T0), prophylaxis was performed with a rubber cup and pumice stone only at the bracket bonding site (center of the clinical crown). The first collection was performed using an absorbent paper cone which was inserted into the gingival sulcus in the mesial region of tooth 31 (a region that did not contain visually detectable biofilm), where it was kept for 30 seconds. In the second collection (T1), none of the patients had their orthodontic wires changed and no accessories were loosened, the elastics of the conventional braces were changed and the self-ligating braces were not opened, nor the covers were handled. A single cone was collected from each patient at each collection time, and placed in an Eppendorf tube with 150µl of buffer solution containing 1X PBS, TLCK and NP40; and then frozen in a freezer at -70°C. After the collection, the material was sent to the Laboratory of Biopathology at UNIUBE, and transported in dry ice. After laboratory tests, the samples were autoclaved for decontamination and, subsequently, discarded.

2.4- Cytokine Analysis

Cytokine dosage was performed using the Cytometric Bead Array (CBA) technique, using the CBA Human Inflammatory Cytokine Kit (BD Biosciences), and according to the manufacturer's instructions, the following cytokines were measured: CXCL8 / IL-8, IL-1β, IL-6, IL-10, TNF-α and IL-12p70. BD CBA assays provide a method of capturing a soluble analyte or pool of analytes with beads of known size and fluorescence, making it possible to detect analytes using flow cytometry. Each capture bead in the kit was conjugated with a specific antibody. The detection reagent provided in the kit is a mixture of antibodies conjugated with

phycoerythrin (PE), which provides a fluorescent signal that is proportional to the amount of analyte bound. Briefly, patients' crevicular fluid was incubated with beads coupled with specific monoclonal antibodies and PE-conjugated secondary antibodies for 4 hours at room temperature. Afterwards, the beads were washed and the acquisition performed on a BD FACSCanto™ flow cytometer (BD Immunocytometry Systems, BD Biosciences, San Jose, CA, USA). The sample concentration was estimated by comparing it to the PE fluorescence obtained from the standard curve achieved by the serial dilution of recombinant human cytokines. The results were analyzed by 5 Parameter Logistic Regression in the FCAP Array software and expressed in pg/ml.

2.5 – Type of Statistical Analysis

All data were tabulated on Excel and exported to GraphPad Prism 8.1. Normal distribution and homogeneous variance were tested for all study variables, through the D'Agostino-Pearson test to assess normality. Multiple comparisons of median values for more than two groups were performed using the non-parametric Kruskal-Wallis test. To compare each pair of samples in order to verify whether there are significant differences among their results, the Wilcoxon non-parametric test was used. The differences were considered statistically significant when the probability of their occurrence was less than $p < 0.05$ (5%). A statistical analysis was performed using the GraphPad Prism software (GraphPad Software 8.0, La Jolla, CA, USA). The SPSS program (SPSS for Windows - Version 11.0 – SPSS Inc.) was also used. Once the distribution was considered normal and the variance homogeneous, the ANOVA parametric tests were used, with Tukey's multiple comparison post-tests. The observed differences were considered significant when $p < 0.05$ (5%).

3- RESULTS

In this study, the average age was 29.4 years old. The average age of the groups is also demonstrated (table 1).

Table 1: Description of the type of braces and the average age.

Group (treatment type)	N	Average	SD	Minimum	Maximum
Passive self-ligating	16	29,1	12,83	14,0	58,0
Active self-ligating	9	29,6	14,10	15,0	60,0
Conventional	4	30,5	9,68	19,0	39,0

Approximately 69% of the patients were female. We can observe the distribution of patients of each gender in Table 2, where we see that in all treatment groups, there is a predominance of female patients.

Table 1 – Gender frequency per group (Type of Treatment)

Group (Type of Treatment)	Female	Male
Passive self-ligating	12	4
Active self-ligating	5	4
Conventional	3	1

Absolute levels (pg/ml) of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and TNF- α were evaluated in the GCF of patients undergoing orthodontic treatment with the following braces: conventional, (C), passive self-ligating (PSL) and interactive self-ligating (ISL) at the time of collection (T0) and 60 days after that (T1). When comparing the levels of these cytokines between the three groups, there was no significant difference ($p > 0.05$; Wilcoxon); however, an increase in IL-8 in group C was observed. Likewise, albeit not significant, an increase in IL-1 β was observed in the PSL group (Figure 1).

IL-8 levels were significantly higher when compared to the other cytokines, and IL-1 β levels when compared to the other cytokines, regardless of the self-ligating groups (Kruskal Wallis, Passive Self-ligating, p-values: IL-12 vs. IL-1 $p = 0.0067$; IL-12 vs. IL-8 $p = 0.0008$; TNF vs. IL-1 $p = 0.0142$; TNF vs. IL-8 $p = 0.0018$; IL-10 vs. IL-1 $p = 0.0043$; IL-10 vs. IL-8 $p = 0.0005$; IL-6 vs. IL-1 $p = 0.0043$; IL-6 vs. IL-8 $p = 0.0005$), Self-ligating Interactive, p-values: IL-12 vs. IL-1 $p = 0.0067$; IL-12 vs. IL-8 $p = 0.0008$; TNF vs. IL-1 $p = 0.0142$; TNF vs. IL-8 $p = 0.0018$; IL-10 vs. IL-1 $p = 0.0043$; IL-10 vs. IL-8 $p = 0.0005$; IL-6 vs. IL-1 $p =$

0.0043; IL-6 vs. IL-8 $p = 0.0005$), the conventional group showed a significant difference of IL-8 only in relation to the cytokine IL-10 (Kruskal Wallis IL-10 vs. IL-8, $p = 0.0202$) (Figure 2).

When comparing the difference between T0 and T1 in levels of IL-1 β , IL-6; IL-8, IL-10, IL-12 and TNF- α , there was no significant difference in the GCF of patients undergoing orthodontic treatment with the following braces: Conventional, Passive Self-ligating and Interactive Self-ligating- ($p > 0.05$; Wilcoxon test).

Likewise, when evaluating the ratio among the absolute values between T1 and T0, there was no significant difference in the levels of IL-1 β , IL-6; IL-8, IL-10; IL-12 and TNF- α in the GCF of patients undergoing orthodontic treatment with the following braces: Conventional, Passive Self-ligating and Interactive Self-ligating ($p > 0.05$; Kruskal Wallis test).

4- DISCUSSION AND CONCLUSION

It is not simple to explain the different mechanisms of activation of the host's immune response against the various types of aggressor agents. In this very study, the levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α and IL-10 were evaluated in gingival crevicular fluid (GCF) of patients orthodontically treated with conventional, passive self-ligating and interactive self-ligating braces. Our results showed that, regardless of the type of braces used during the orthodontic treatment, the host response was associated by pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. In our results, IL-8 levels were significantly higher than the other cytokines, regardless of the mobilization system used. IL-8 is expressed by gingival keratinocytes, leukocytes and microvascular endothelial cells (SFAKIANAKIS, et al., 2002) and several stimuli can induce its production, such as cytokines and lipopolysaccharides (GAMONAL et al., 2000). The increase in the levels of this cytokine in the GCF is proportional to the severity of periodontal disease and inflammation, as IL-8 stimulates the continuous migration of neutrophils through the periodontal tissues to the GCF (ERTUGRUL et al., 2013). In our study, in the absence of periodontal disease, the increase in IL-8 may be associated with mobilization of the dental element, regardless of the system used. Inflammatory activity may occur because of an infectious process or physical stress due to the forces implemented during dental mobilization. Independent of the cause, the biological activities of IL-8 are associated with chemotaxis, the attraction of more immune system cells to the site.

Regarding IL-1 β and IL-6 and TNF- α , although there was no difference between the studied groups, an increase in absolute levels of IL-1 β was observed in the passive self-ligated group. During orthodontic movement, high levels of IL-1 α , IL-1- β and IL-6 were identified on the side of pressure exerted by the bracket (IWASAKI, et al,2001; SALLA, et al., 2012; ZAINAL A .SH. et.al., 2011). Studies in experimental models with ligature-induced periodontitis showed no difference in IL-6 expression (MATSUDA et al., 2016). However, it has been shown that the IL-6 levels in the saliva and in the GCF increase with the severity of periodontal destruction, and that IL-6 acts in synergism with IL-1, intensifying inflammation (SAWADA et al., 2013; EBERSOLE et al., 2015; ZHANG et. al., 2016). Thus, according to our results, despite presenting a greater production of IL-1 β in the PSL group, these cytokines are collaborating to the momentary inflammation of orthodontic movement as the mechanical agent that requires a homeostasis response to this stimulus, which may contribute to tissue remodeling.

The IL-12 in the present study did not show significant levels in the GCF. Contradictory results have been found in literature, as some studies have identified the presence of IL-12 in samples obtained from patients with periodontal disease and its expression increases with the severity of the disease (SANCHEZ-HERNANDEZ et al., 2011; TARANNUM F. et al., 2017). While low levels of IL-12 may be associated with the ability to hydrolyze and inactivate IL-12 by the gingipain proteinase produced by *P. gingivalis* (YUN et al., 2001). IL-12 is associated with the inhibition of bone resorption and reduction of orthodontic movement by inhibiting osteoclastogenesis (SHADDOX et al., 2011). Thus, in the present study, IL-12 did not suffer interference in its production, regardless of the device used.

Studies demonstrate the ability of IL-10 to inhibit bone resorption, and also to negatively regulate the production of IL-1 β , IL-6 and TNF- α , and of the osteoclastogenic marker RANKL (ZHANG et al., 2016; FOEY et al., 2017; YU et al., 2017). However, the IL-10 in this study showed no difference among the studied groups.

In the present study, the presence of gingivitis and periodontitis was not found; however, studies have shown that the GCF volume and the plaque index increase 2 months after bracket bonding, which may result in an increase in pro-inflammatory cytokines and consequently an increase in the gingival inflammatory process (BÉRGAMO et al., 2016). In this study, regardless of the appearance of inflammatory gingival diseases, the increase in IL-8 was associated with the forces implemented during dental mobilization, apart from the type of orthodontic braces used.

It is reasonable to assume that many factors, acting alone or in combination, contribute to the health of the oral environment during orthodontic treatment.

Thus, we consider that independent of the type of orthodontic braces used, the inflammatory scenario does not differ among the various mobility mechanisms used, with IL-8 levels being significantly higher in relation to the other cytokines, regardless of the mobilization system studied.

Figure 1 - Absolute levels of IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 and TNF- α in the GCF of patients undergoing orthodontic treatment with the following braces: conventional, passive self-ligating and interactive self-ligating at the time of collection (T0) and 60 days later (T1). No significant difference ($p > 0.05$; Wilcoxon).

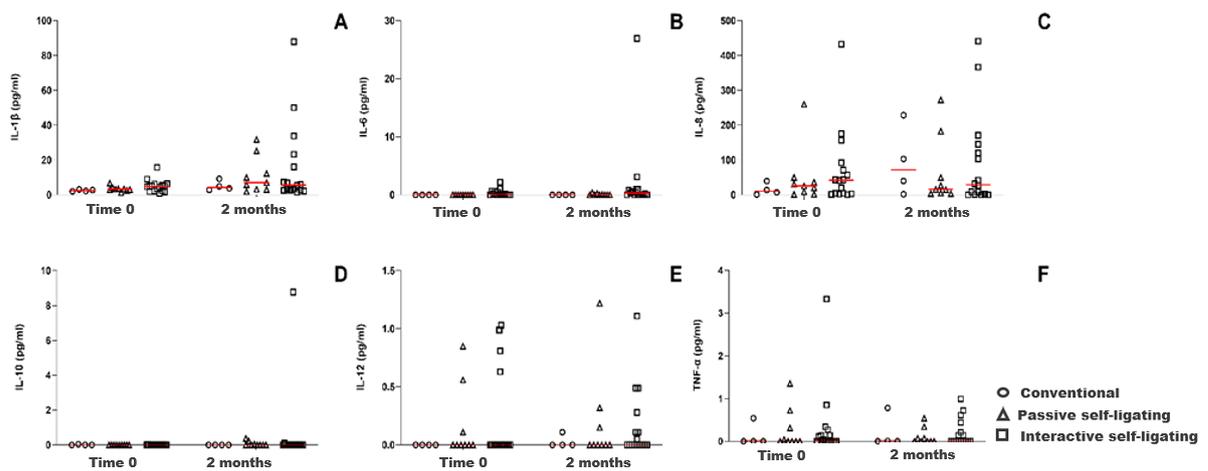


Figure 2- Cytokine levels in the GCF of patients undergoing orthodontic treatment with the following braces: A) Groups of patients with conventional braces; B) Groups of patients with passive self-ligating braces; C) Groups of patients with interactive self-ligating braces after 2 months.

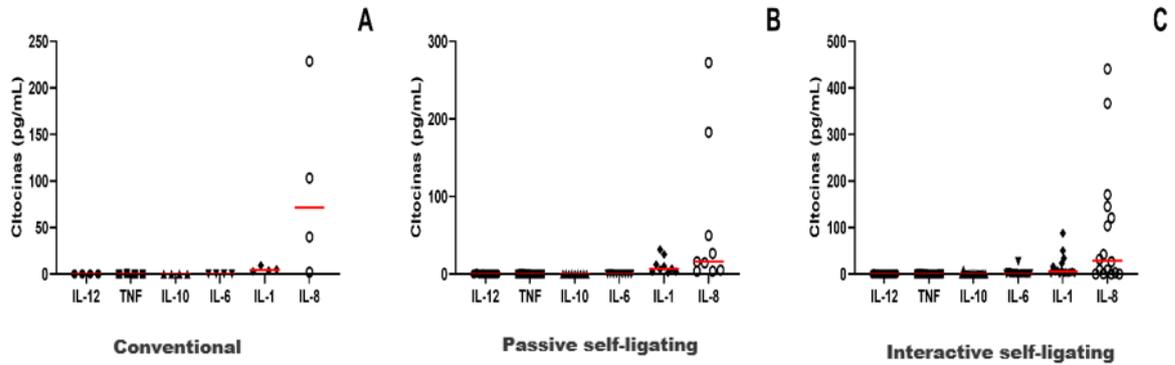


Figure 3 - Difference between T0 and T1 in levels of IL1-β, IL-6; IL-8, IL-10; IL-12 and TNF-α in the GCF of patients undergoing orthodontic treatment with the following braces: Conventional, Passive Self-ligating and Interactive Self-ligating. No significant difference ($p > 0.05$; Kruskal Wallis test).

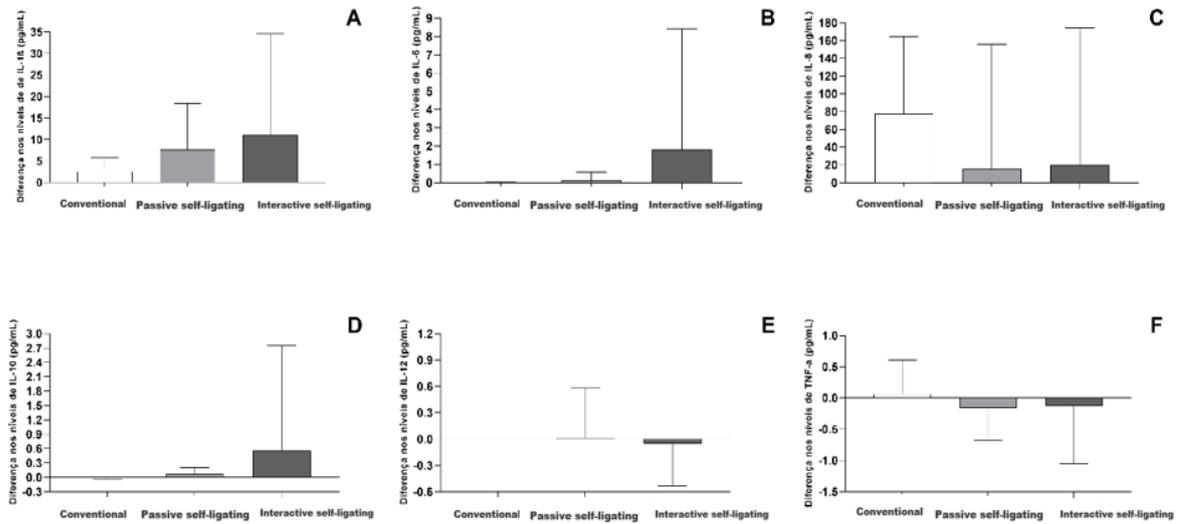
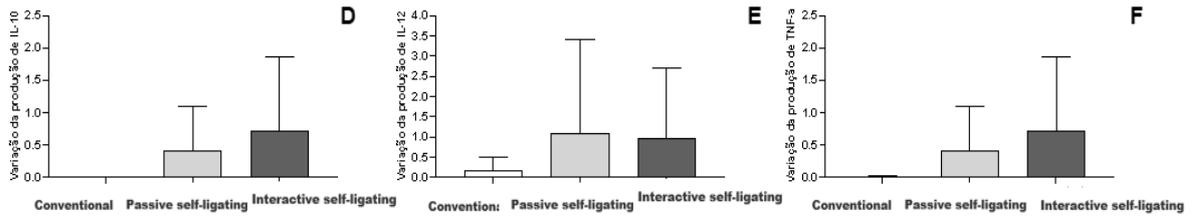
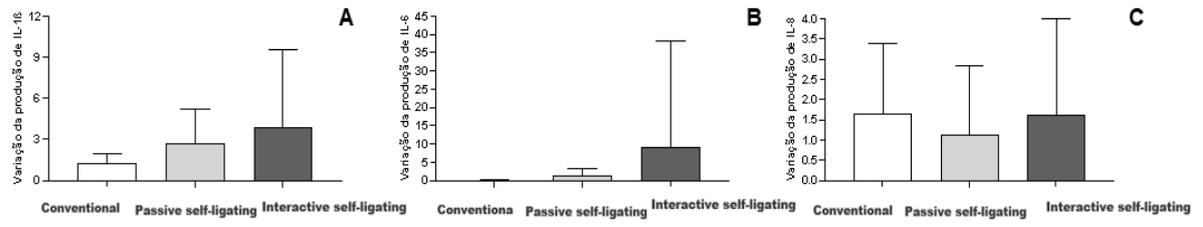


Figure 4 - Ratio among the absolute values between T1 and T0 days in the levels of IL1-β, IL-6; IL-8, IL-10; IL-12 and TNF-α in the GCF of patients undergoing orthodontic treatment with the following braces: Conventional, Passive Self-ligating and Interactive Self-ligating. No significant difference ($p > 0.05$; Kruskal Wallis test).



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ARTIGO

- ANDRADE I, JR., TADDEI SRA, SOUZA PEA. Inflammation and tooth movement: the role of cytokines, chemokines, and growth factors. *Seminars in Orthodontics*. 2012 december;18(4):257-69.
- ALFANO MC. A origem do fluido gengival. *J Theor Biol*. 1974;47: 127– 136
- BAŞARAN G, OZER T, KAYA FA, HAMAMCI O. Interleukins 2, 6, and 8 levels in human gingival sulcus during orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006 Jul;130(1):7. e1-6.
- BERGAMO AZ, NELSON-FILHO P, ROMANO FL, DA SILVA RA, SARAIVA MC, DA SILVA LA, MATSUMOTO MA. Gingival crevicular fluid volume and periodontal parameters alterations after use of conventional and self-ligating brackets. *J Orthod*. 2016 Dec;43(4):260-267.
- CACCIAFESTA, V. et al. Evaluation of friction of stainless steel and esthetic self-ligating brackets in various bracket-archwire combinations. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, v. 124, n. 4, p. 395-402, Oct 2003.
- CASTRO, R. Braquetes autoligados: eficiência x evidências científicas. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial*, Maringá, v. 14, n. 4, p. 20-24, jul./ago. 2009.
- DINARELLO C.A. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1989;87(6):2095-2147.
- EBERSOLE JL, NAGARAJAN R, AKERS D, MILLER CS. Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Front Cell Infect Microbiol*. 2015 Aug 19; 5:62.
- ERTUGRUL AS, DIKILITAS A, SAHIN H, ALPASLAN N, BOZOGLAN A, TEKIN Y. Gingival crevicular fluid levels of human beta-defensins 1 and 3 in subjects with periodontitis and/or type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study. *J Periodontal Res*. 2013 Aug;48(4):475-82.
- FOEY AD, HABIL N, AL-SHAGHDALI K, CREAN S. Porphyromonas gingivalis-stimulated macrophage subsets exhibit differential induction and responsiveness to interleukin-10. *Arch Oral Biol*. 2017 Jan; 73:282-288.
- FORSBERG, C. M. et al. Ligature wires and elastomeric rings: two methods of ligation, and their association with microbial colonization of Streptococcus mutans and lactobacilli. *Eur J Orthod*, v. 13, n. 5, p. 416-20, Oct 1991.
- GAMONAL J, ACEVEDO A, BASCONES A, JORGE O, SILVA A. Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J Periodontol*. 2000 Oct.
- 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 Feb.
- KENNEDY J. Mouse IL-17: a cytokine preferential-ly expressed by alpha beta TCR+CD4+ CD8-T cells. *J Interferon Citokine Res*. 1996; 16(8):611-617.
- KRISHNAN V, DAVIDOVITCH Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006; 129: 469 e1-32.

MALTAGLIATI, L. A. Braquetes autoligados ativos x passivos. *Rev. Clín. Ortodon. Dental Press, Maringá*, v. 9, n. 2, p. 6-11, abr./maio 2010.

MARCACCINI AM, AMATO PA, LEÃO FV, GERLACH RF, FERREIRA JT. Myeloperoxidase activity is increased in gingival crevicular fluid and whole saliva after fixed orthodontic appliance activation. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010 Nov;138(5):613-6.

MARTINS NETO, E. N.; SOBREIRO, M. A.; ARAÚJO, E. X.; MOLINA, O. F. Braquetes autoligáveis: vantagens do baixo atrito. *Revista Amazônia*, v. 2, n. 1, p. 28-34, 2014.

MATSUDA S, MOVILA A, SUZUKI M, KAJIYA M, WISITRASAMEEWONG W, KAYAL R, HIRSHFELD J, AL-DHARRAB A, SAVITRI IJ, MIRA A, KURIHARA H, TAUBMAN MA, KAWAI T. A novel method of sampling gingival crevicular fluid from a mouse model of periodontitis. *J Immunol Methods*. 2016.

MCCULLOCH CA. Enzimas hospedeiras no fluido crevicular gengival como indicadores diagnósticos de periodontite. *J Clin Periodontol*. 1994;21: 497– 506.

PROFITT WR, FIELDS JR HW, SARVER DM. *Ortodontia Contemporânea*. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007.

REN Y, HAZEMEIJER H, DE HAAN B, QU N, DE VOS P. Cytokine profiles in crevicular fluid during orthodontic tooth movement of short and long durations. *J Periodontol*. 2008; 78(3): 453–58.

SHADDOX LM, WIEDEY J, CALDERON NL, MAGNUSSON I, BIMSTEIN E, BIDWELL JA, ZAPERT EF, AUKHIL I, WALLET SM. Local inflammatory markers and systemic endotoxin in aggressive periodontitis. *J Dent Res*. 2011 Sep;90(9):1140-4.

SALLA JT, TADDEI SR, QUEIROZ-JUNIOR CM, ANDRADE JUNIOR I, TEIXEIRA MM, SILVA TA. The effect of IL-1 receptor antagonist on orthodontic tooth movement in mice. *Arch Oral Biol*. 2012 May;57(5):519-24.

SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ PE, ZAMORA-PEREZ AL, FUENTES-LERMA M, ROBLES-GÓMEZ C, MARIAUD-SCHMIDT RP, GUERRERO-VELÁZQUEZ C. IL-12 and IL-18 levels in serum and gingival tissue in aggressive and chronic periodontitis. *Oral Dis*. 2011 Jul.

SFAKIANAKIS A, BARR CE, KREUTZER DL. Localization of the chemokine interleukin-8 and interleukin-8 receptors in human gingiva and cultured gingival keratinocytes. *J Periodontal Res*. 2002 Apr;37(2):154-60.

SAWADA S, CHOSA N, ISHISAKI A, NARUISHI K. Enhancement of gingival inflammation induced by synergism of IL-1 β and IL-6. *Biomed Res*. 2013 Feb;34(1):31-40. doi: 10.2220/biomedres.34.31.

TARANNUM F, FAIZUDDIN M. Association between lipoxin A4 and interleukin-12 in gingival crevicular fluid: a preliminary investigation. *J Periodontal Res*. 2017 Apr;52(2):210-217.

TREVISI, H. J. ZANELATO, A. C. T.; VELLINI-FERREIRA, F.; BARBOSA, J. A.; ZANELATO, R. C.; MORESCA, R. Entrevista. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial, Maringá*, v. 11, n. 5, p. 16-20, set./out. 2006.

ZAINAL ARIFFIN SH, YAMAMOTO Z, ZAINOL ABIDIN IZ, MEGAT ABDUL WAHAB R, ZAINAL ARIFFIN Z. Cellular and molecular changes in orthodontic tooth movement. *ScientificWorldJournal*. 2011; 11:1788-803.

ZHANG M, GU J, ZHANG C. Hepatitis B virus X protein binding to hepsin promotes C3 production by inducing IL-6 secretion from hepatocytes. *Oncotarget*. 2016 Feb 16;7(7):7780-800.

ZUCCHI, T. U.; JANOVICH, C. A. Conceito de um bráquete ortodôntico autoligado ideal. *Orthod. Sci. Pract.*, v. 7, n. 28, p. 464-68, set. 2014.

YU Y, CHEN Y, WANG FL, SUN J, LI HJ, LIU JM. Cytokines Interleukin 4 (IL-4) and Interleukin 10 (IL-10) Gene Polymorphisms as Potential Host Susceptibility Factors in Virus-Induced Encephalitis. *Med Sci Monit*. 2017 Sep 22; 23:4541-4548

YUN PL, DECARLO AA, COLLYER C, HUNTER N. Hydrolysis of interleukin-12 by *Porphyromonas gingivalis* major cysteine proteinases may affect local gamma interferon accumulation and the Th1 or Th2 T-cell phenotype in periodontitis. *Infect Immun*. 2001 Sep;69(9):5650-60.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE I, JR., TADDEI SRA, SOUZA PEA. Inflammation and tooth movement: the role of cytokines, chemokines, and growth factors. *Seminars in Orthodontics*. 2012 december;18(4):257-69.
- ALFANO MC. A origem do fluido gengival. *J Theor Biol*. 1974;47: 127– 136
- AUJLA, S. J.; KOLLS, J. K. IL-22: a critical mediator in mucosal host defense. *J Mol Med (Berl)*, v. 87, n. 5, p. 451-4, 2009.
- BAGGIOLINI M, DEWALD B, MOSER B. Interleukin 8 and related chemotactic cytokines – CXC and CC chemokines. *Adv Immunol*. 1994; 55:97-179.
- BAŞARAN G, OZER T, KAYA FA, HAMAMCI O. Interleukins 2, 6, and 8 levels in human gingival sulcus during orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006 Jul;130(1):7. e1-6.
- BILATE AMB. Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas. *Temas de reumatologia clínica*. 2007; 8(2): 47-51.
- CACCIAFESTA, V. et al. Evaluation of friction of stainless steel and esthetic self-ligating brackets in various bracket-archwire combinations. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, v. 124, n. 4, p. 395-402, Oct 2003.
- CASTRO, R. Braquetes autoligados: eficiência x evidências científicas. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial*, Maringá, v. 14, n. 4, p. 20-24, jul./ago. 2009.
- DINARELLO C.A. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1989;87(6):2095-2147.
- FORSBERG, C. M. et al. Ligature wires and elastomeric rings: two methods of ligation, and their association with microbial colonization of *Streptococcus mutans* and *lactobacilli*. *Eur J Orthod*, v. 13, n. 5, p. 416-20, Oct 1991.
- ISOLA, G., MATARESE, G., CORDASCO, G., PERILLO, L., RAMAGLIA, L. Mechanobiology of the tooth movement during the orthodontic treatment: a literature review. *Minerva Stomatologica*, 2016; 65(5), 299–327.
- KAVALA-TSATALA S, KAKLAMANOS E, TSALIKIS L. Effects of orthodontic treatment on gingival crevicular fluid flow rate and composition: clinical implications and applications. *Int J Adult Orthod Orthognath Surg*. 2002; 17: 191-205.
- KRISHNAN V, DAVIDOVITCH Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006; 129: 469 e1-32.
- KRISHNAN V, NAIR A, RANJIT A, DAVIDOVITCH Z. Research in tooth movement biology: the current status. *Semin Orthod*. 2012; 18: 308-316.
- MALÓ, L., CABRITA, A. E RAFAEL, A. Movimento ortodôntico; avaliação do ligamento periodontal num estudo experimental em ratas Wistar adultas, *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 55(3), pp. 152-158; 2014.
- MALTAGLIATI, L. A. Braquetes autoligados ativos x passivos. *Rev. Clín. Ortodon. Dental Press*, Maringá, v. 9, n. 2, p. 6-11, abr./maio 2010.

- MARCACCINI AM, AMATO PA, LEÃO FV, GERLACH RF, FERREIRA JT. Myeloperoxidase activity is increased in gingival crevicular fluid and whole saliva after fixed orthodontic appliance activation. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010 Nov;138(5):613-6.
- MARTINS NETO, E. N.; SOBREIRO, M. A.; ARAÚJO, E. X.; MOLINA, O. F. Braquetes autoligáveis: vantagens do baixo atrito. *Revista Amazônia*, v. 2, n. 1, p. 28-34, 2014.
- MA.X. & TRINCHIERI, G. Regulação da produção de interleucina-12 em células apresentadoras de antígenos. *Adv. imunol.* 79, 55-92 (2001).
- MCCULLOCH CA. Enzimas hospedeiras no fluido crevicular gengival como indicadores diagnósticos de periodontite. *J Clin Periodontol.* 1994;21: 497– 506.
- MEIKLE MC. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *Eur J Orthod.* 2006 Jun;28(3):221-40.
- MOUTSOPOULOS, N. M. et al. Porphyromonas gingivalis promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *J Autoimmun.* v. 39, n. 4, p. 294-303, 2012.
- MURSHID, Sakhr A. The role of osteocytes during experimental orthodontic tooth movement: A review. *Archives of oral biology*, v. 73, p. 25-33, 2017.
- PROFITT WR, FIELDS JR HW, SARVER DM. *Ortodontia Contemporânea*. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007.
- REN Y, HAZEMEIJER H, DE HAAN B, QU N, DE VOS P. Cytokine profiles in crevicular fluid during orthodontic tooth movement of short and long durations. *J Periodontol.* 2008; 78(3): 453–58.
- ROTHERWELL NJ. Functions and mechanisms of interleukin 1 in the brain. *Trends Pharmacol Sci.* 1991; 12:430-436.
- TREVISI, H. J. ZANELATO, A. C. T.; VELLINI-FERREIRA, F.; BARBOSA, J. A.; ZANELATO, R. C.; MORESCA, R. Entrevista. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial*, Maringá, v. 11, n. 5, p. 16-20, set./out. 2006.
- VIECILLI RF, KATONA TR, CHEN J, HARTSFIELD JK JR, ROBERTS WE. Orthodontic mechanotransduction and the role of the P2X7 receptor. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009 Jun;135(6):694.e1-16.
- VON BÖHL, Martina et al. Pulpal reactions to orthodontic force application in humans: a systematic review. *Journal of Endodontics*, v. 38, n. 11, p. 1463-1469, 2012.
- ZUCCHI, T. U.; JANOVICH, C. A. Conceito de um bráquete ortodôntico autoligado ideal. *Orthod. Sci. Pract.*, v. 7, n. 28, p. 464-68, set. 2014.

ANEXO 1 - QUESTIONÁRIO

Nome:	
Data de nascimento:	Idade:
CPF	
Atividade (profissão):	
Endereço:	
Telefone residencial:	Celular:
Email:	
Responsável:	Celular:

História Médica		
Asma	Doenças da infância	Herpes
Hepatite	Epilepsia	Diabetes
Anemia	Doenças cardíacas	Febre reumática
Alergia	Distúrbios auditivos	Fraturas ósseas
Doenças sanguíneas	Problemas endócrinos	Distúrbios respiratórios
Doenças ósseas	Problemas emocionais	Outros:

Tratamento médico:
Usa ou está usando algum medicamento sistêmico:
Cirurgia Anterior:
História de trauma de face:
Outro:

Informações Ortodônticas	
Tipo de tratamento:	() inicial () iniciado/ Tempo:
Tipo de Aparelho	

Queixa Principal para o uso do aparelho:

Estruturas faciais <input type="checkbox"/> Simétricas <input type="checkbox"/> Assimétricas	Linha Mediana dentária <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Desviada Sup <input type="checkbox"/> dir esq <input type="checkbox"/> _____ mm
Perfil <input type="checkbox"/> Reto <input type="checkbox"/> Concavo <input type="checkbox"/> Convexo	Inf <input type="checkbox"/> dir esq <input type="checkbox"/> _____ mm
Tipologia muscular <input type="checkbox"/> () Meso <input type="checkbox"/> Braqui <input type="checkbox"/> Dé	Periodonto <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Gengivite Local: <input type="checkbox"/> Periodontite Local:
Terços faciais . (Médio em relação ao inferior) - Médio <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Diminuído - Inferior <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Diminuído	<input type="checkbox"/> Perda Óssea Local: <input type="checkbox"/> Lesão Local: <input type="checkbox"/> Recessão Local:
Lábio Superior (relação ao filtro labial superior) <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> hipotônico <input type="checkbox"/> hipertônico	<input type="checkbox"/> Gengiva inserida Local:
Lábio Inferior (relação ao filtro labial superior) <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> hipotônico <input type="checkbox"/> hipertônico <input type="checkbox"/> evertido <input type="checkbox"/> interposição na deglutição	Inserções musculares alteradas <input type="checkbox"/> Freio labial superior <input type="checkbox"/> Freio labial inferior <input type="checkbox"/> Freio lingual <input type="checkbox"/> Bridas posteriores superiores <input type="checkbox"/> Bridas posteriores inferiores
Espaço interlabial mm	
Exposição de Incisivos (relação ao labial superior) Em repouso mm Sorrindo mm	Deglutição <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Interposição lingual simples

ANEXO 3- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Uberaba 25 de abril de 2019.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nome do participante da pesquisa: _____

Nome do responsável: _____

Título do projeto: **Avaliação das alterações do ambiente bucal após colocação de aparelho ortodôntico fixo para o tratamento da má oclusão**

Instituição onde será realizado: *Universidade de Uberaba*; Avenida Nenê Sabino, 1801 - (34)33198913

Responsável: *Ruchele Dias Nogueira Geraldo Martins, CRO/MG 51079 - ruchele.nogueira@uniube.br.*

CEP-UNIUBE: Av. Nenê Sabino, 1801, 38055-500-Uberaba/MG, tel: 34-3319-8816 e-mail: cep@uniube.br

Você está sendo convidado para participar do projeto “**Avaliação das alterações do ambiente bucal após colocação de aparelho ortodôntico fixo para o tratamento da má oclusão**”, de responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). Ruchele Dias Nogueira Geraldo Martins, cirurgiã dentista registrada no Conselho Regional de Odontologia de Minas Gerais com o nº 51079.

Este projeto tem como objetivos avaliar a diversidade de bactérias acumuladas no dente e gengiva, a resposta imunológica, componentes bioquímicos da saliva e a presença de cárie e doenças periodontais em pacientes tratados ortodonticamente com aparelhos convencionais, auto-ligados e alinhadores termoplásticos.

Este projeto se justifica pela necessidade de se investigar as mudanças ocasionadas na cavidade bucal em decorrência do uso de aparelhos ortodônticos. Os efeitos adversos intra-orais sobre os dentes e o periodonto fornecem um ambiente adequado para que micro-organismos se acumulem causem doenças e estimulem uma resposta imune do hospedeiro. O acúmulo microbiano sobre as superfícies dentais pode levar a processos de desmineralização dentária, bem como o surgimento de doenças periodontais, por meio da formação de biofilmes subgengivais. Se por um lado, o tratamento ortodôntico pode

contribuir para a ancoragem microbiana, por outro, o alinhamento dentário pode ajudar na higiene, restaurar a estética, a função mastigatória e a boa oclusão futura. Vários modelos de aparelhos ortodônticos vêm sendo indicados pelos profissionais, a fim de reduzir o acúmulo microbiano ocasionados pelos aparelhos convencionais, como por exemplo os sistemas auto-ligados e os alinhadores termoplásticos, no entanto, há controvérsias sobre a diversidade microbiana dos biofilmes formados durante o tratamento ortodôntico, especialmente sobre o envolvimento dos micro-organismos recentemente associados a cárie precoce com o uso destes aparelhos mais atuais.

Se aceitar participar desse projeto, você autoriza que, durante a sua visita ao dentista, pesquisadores envolvidos no projeto realizem coleta de saliva por sucção com auxílio de uma pipeta, de amostras bacterianas nas superfícies dentárias e que, em seguida, realizem um exame clínico. Estas amostras serão encaminhadas para análises laboratoriais para detecção de bactérias e componentes imunológicos e bioquímicos da saliva. Os resultados destas análises ficarão a sua disposição para seu conhecimento. Após as coletas você será entrevistado e um questionário sobre sua saúde geral e odontológica. Após esta entrevista, o pesquisador lhe dará instruções sobre higiene e prevenção de doenças orais como a cárie e doença periodontal. Os desconfortos serão mínimos, pois as coletas não causarão dor e não serão invasivas. Os materiais serão coletados por pessoas experientes e que tomarão todo o cuidado para que nenhum risco ocorra. Se ocorrerem, serão passageiras. Os seus dados serão mantidos em sigilo e utilizados apenas com fins científicos, tais como apresentações em congressos e publicação de artigos científicos. Seu nome ou qualquer identificação sua (voz, foto, etc) jamais aparecerá. Os seus dados serão confidenciais e repassados para terceiros, somente após a devida anonimização por codificação. Os bancos de dados terão senhas e somente os responsáveis pela pesquisa terão acesso às informações do questionário assegurando-se o compromisso profissional com o sigilo absoluto das informações no TCLE.

Pela sua participação no estudo, você não receberá nenhum pagamento e também não terá nenhum custo. Você pode parar de participar a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo para você ou para seu tratamento/atendimento. Sinta-se à vontade para solicitar, a qualquer momento, os esclarecimentos que você julgar necessários. Caso decida-se por não participar, ou por não ser submetido a algum procedimento que lhe for solicitado, nenhuma penalidade será imposta a você, nem seu tratamento ou atendimento será alterado ou prejudicado.

Você receberá uma cópia desse termo, assinada pelo responsável pela pesquisa, onde consta a identificação e os telefones da equipe de pesquisadores, caso você queira entrar em contato com eles.

Nome do paciente/responsável e assinatura

Prof. Dra Ruchele Dias Nogueira Geraldo Martins – CRO-MG 51079

ANEXO 4 – PARECER CONSUBSTÂNCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE DE UBERABA -
UNIUBE

PARECER CONSUBSTANCiado DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**Título da Pesquisa:** Avaliação das alterações do ambiente bucal após colocação de aparelho ortodôntico fixo para o tratamento da má oclusão**Pesquisador:** Ruchele Dias Nogueira**Área Temática:****Versão:** 2**CAAE:** 16594919.2.0000.5145**Instituição Proponente:** SOCIEDADE EDUCACIONAL UBERABENSE**Patrocinador Principal:** SOCIEDADE EDUCACIONAL UBERABENSE**DADOS DO PARECER****Número do Parecer:** 3.526.349**Apresentação do Projeto:**

Retira-se da proposta a seguinte apresentação: “Aparelhos ortodônticos podem estar associados a efeitos adversos intra-orais sobre os dentes e o periodonto, pois fornecem um ambiente adequado para que microorganismos se acumulem em biofilmes e estimulem uma resposta imune do hospedeiro. O acúmulo de biofilmes sobre as superfícies dentais pode levar a processos de desmineralização dentária, bem como o surgimento de doenças periodontais, por meio da formação de biofilmes subgingivais. Se por um lado, o tratamento ortodôntico pode contribuir para a ancoragem microbiana, por outro, o alinhamento dentário pode ajudar na higiene, restaurar a estética, a função mastigatória e a boa oclusão. Vários modelos de aparelhos ortodônticos vêm sendo indicados pelos profissionais, a fim de reduzir o acúmulo microbiano ocasionados pelos aparelhos convencionais, como por exemplo os sistemas auto-ligados e os alinhadores termoplásticos. Há controvérsias e pouca informação sobre a diversidade microbiana dos biofilmes formados durante o tratamento ortodôntico, especialmente sobre o envolvimento dos micro-organismos recentemente associados a cárie

precoce. Diante disto, são objetivos do estudo avaliar a presença de micro-organismos orais em biofilmes supra e subgengivais, quantificar mediadores inflamatórios e componentes salivares e comparar dados clínicos, como presença de manchas brancas e doenças periodontais em pacientes tratados ortodonticamente com aparelhos convencionais, auto-ligados e alinhadores termoplásticos. Para isto, serão avaliados 100pacientes, sendo 50 entre 12 a 45 anos com indicação para tratamento ortodôntico (G1) e 50 pacientes com tratamento já iniciado por 6 meses (G2). Serão examinados clinicamente e divididos em grupos, de acordo com as condições periodontais, presença de lesões de cáries e tipo de aparelho ortodôntico indicado para correção da má oclusão. Serão coletadas amostras de fluido crevicular gengival da região dos incisivos inferiores, amostras salivares não estimuladas e biofilmes nos molares. Estas amostras serão encaminhadas para análise dos níveis de mediadores pro-inflamatórias através de Ensaio Elisa e a diversidade microbiana por ensaios de PCR quantitativo. Os resultados elucidarão os efeitos dos diversos tipos de aparelhos ortodônticos na colonização oral, na resposta do hospedeiro e evolução clínica".

Objetivo da Pesquisa:

A proposta descreve os seguintes objetivos primários: "O objetivo geral do estudo é o de avaliar as modificações microbiológicas, bioquímicas e imunológicas do ambiente oral em decorrência do tratamento ortodôntico de diferentes tipos de bráquetes. Os objetivos específicos incluem analisar a presença de micro-organismos orais em biofilmes supra e subgengivais e mediadores inflamatórios em pacientes com doença periodontal e lesões cariosas incipientes tratados ortodonticamente com aparelhos convencionais, autoligados e alinhadores termoplásticos e observar os efeitos clínicos do tratamento ortodôntico no restabelecimento das doenças associadas. Além de divulgar e publicar os resultados encontrados em revistas de bom impacto, formar alunos de mestrado e doutorado em várias áreas de conhecimento

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A proposta descreve os seguintes riscos e benefícios:

"Riscos: O presente projeto não apresenta riscos aos participantes por se tratar de coletas seguras, não invasivas e indolores".

"Benefícios: Os benefícios aos participantes concentrar-se-ão nas instruções individuais realizadas pelos pesquisadores sobre a prevenção de doença oral (cárie e doenças periodontais) durante o tratamento ortodôntico. Após a realização das coletas será realizado profilaxia e adequação do meio bucal, com auxílio de taças de borracha e pasta dentária fluoretada. Os pacientes que apresentarem cárie ou doença periodontal durante o exame clínico serão encaminhados para tratamento na Clínica Integrada da Universidade de Uberaba".

Foi solicitado no último parecer que os autores se atentassem para complementar as informações dos riscos e dos benefícios com dados sobre o risco da perda de confidencialidade sobre o benefício indireto da proposta.

Nessa última versão do PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1389701, estas informações continuam ausentes. Tais informações foram corrigidas/adicionadas apenas nos

seguintes documentos: 1-TCLE (TERMO_DE_CONSENTIMENTO_ORTO CORRIGIDO), 2-Projeto completo (Projeto_ORTO_corrigeido) e 3-Carta de resposta ao CEP-UNIUBE (carta_resposta_CEP_UNIUBE_2019_ORTO);

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

No presente projeto, os autores visam a realização de um estudo laboratorial, do tipo experimental, de natureza qualitativa, com finalidade aplicada, e com temporalidade transversal. Afim de avaliar a presença de micro-organismos orais em biofilmes supra e subgingivais, quantificar mediadores inflamatórios e componentes salivares e comparar dados clínicos, como presença de manchas brancas e doenças periodontais em pacientes tratados ortodonticamente com aparelhos convencionais, autoligados e alinhadores termoplásticos.

Após análise dos documentos enviados, constata-se que o presente projeto de pesquisa apresenta todos os componentes necessários, tendo objetivos, metodologia, hipóteses e justificativas pertinentes a pergunta/ problema de pesquisa. Dessa forma, o presente projeto está de acordo com todos os quesitos legislados pela Resolução 466/12.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os autores apresentam os seguintes documentos:

- 1- Projeto preenchido na Plataforma Brasil (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1389701);
- 2- Projeto Detalhado / Brochura Investigador (Projeto_ORTO_corrigeido.doc);
- 3 - TCLE/Termos de Assentimento/Justificativa de Ausência (Projeto_ORTO_corrigeido.doc);
- 4- Carta de autorização assinada pelos Coordenadores Clínicos da Policlínica Getúlio Vargas (carta_autorizacao_orto.pdf);
- 5- Declaração do conhecimento e anuência a Resolução 466/12 (DECLARACAO_ORTO.pdf);
- 6- Folha de rosto - Plataforma Brasil assinada pelo Pro-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação da UNIUBE (pagina_rosto.jpeg);
- 7- Carta de Resposta ao CEP-UNIUBE (carta_resposta_CEP_UNIUBE_2019_ORTO.pdf).

Recomendações:

Nada digno de nota.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Salvo melhor entendimento dos componentes desta Plenária, o presente projeto pode ser aprovado em razão que nesta versão foi apresentada todas as correções sugeridas anteriormente. Nesta versão, o presente projeto está de acordo com todos os quesitos legislados pela Resolução 466/12.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em 22/08/2019, a plenária votou de acordo com o relator, pela aprovação da proposta. O CEP-UNIUBE lembra o pesquisador responsável pelo projeto do seu compromisso com a

Resolução 466/12, especialmente no tocante à proteção do participante da pesquisa e da entrega do relatório parcial/final através de Emenda, na Plataforma Brasil

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1389701.pdf	30/07/2019 14:30:21		Aceito
Outros	carta_resposta_CEP_UNIUBE_2019_ORTO.pdf	30/07/2019 14:29:53	Ruchele Dias Nogueira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_ORTO_corrigeido.docx	30/07/2019 14:29:34	Ruchele Dias Nogueira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_ORTO_CORRIGIDO.doc	30/07/2019 14:28:06	Ruchele Dias Nogueira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARAcAOORTO.pdf	01/07/2019 11:54:54	Ruchele Dias Nogueira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta_autorizacao_orto.jpeg	01/07/2019 11:49:39	Ruchele Dias Nogueira	Aceito
Folha de Rosto	pagina_rosto.pdf	01/07/2019 11:48:04	Ruchele Dias Nogueira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UBERABA, 22 de agosto de 2019

**Assinado por:
Geraldo Thedei Junior
(Coordenador(a))**

Endereço: Av. Nenê Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8816

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br