



UNIVERSIDADE
FERNANDO
PESSOA

Biomarcadores no tratamento ortodôntico: uma revisão sistemática para otimização da eficiência terapêutica

[Biomarkers in orthodontic treatment: a systematic review for the optimization of therapeutic efficiency]

Dissertação de Mestrado

[Mestrado Integrado em Medicina Dentária]

Débora Oliveira Almeida (42228)

Orientadora:

Doutora Mónica Morado Pinho

Junho/2025

Biomarcadores no tratamento ortodôntico: uma revisão sistemática para otimização da eficiência terapêutica

[Biomarkers in orthodontic treatment: a systematic review for the optimization of therapeutic efficiency]

Dissertação de Mestrado

[Mestrado Integrado em Medicina Dentária]

Débora Oliveira Almeida

Orientador:

Doutora Mónica Morado Pinho

Junho/2025

Agradecimentos

À Professora Doutora Mónica Pinho, orientadora deste trabalho, por me ter introduzido ao mundo da ortodontia de que tanto gosto e por tornar possível desenvolver o tema que escolhi.

A todos os que me acompanharam ao longo deste percurso, em especial à minha família e amigos, pela presença, compreensão e apoio incondicional.

Aos meus pais, por nunca me deixaram desistir do que verdadeiramente importa.

Ao meu irmão (e melhor amigo), que será para sempre a minha maior fonte de inspiração.

Aos colegas que tornaram o caminho mais leve e partilhado, em especial ao meu binómio Christophe, por me ensinar tanto.

Resumo

O movimento dentário induzido ortodonticamente pressupõe fenômenos controlados de inflamação e cicatrização, ocorrendo alterações como remodelação alveolar, reabsorção radicular e inflamação, acompanhadas de alterações nos biomarcadores.

A avaliação de biomarcadores durante a intervenção ortodôntica, via saliva ou fluido crevicular gengival (FCG) pode ser uma ferramenta para monitorizar a efetividade do tratamento, prever o resultado e otimizar o tratamento de acordo com a resposta do tecido às diferentes forças aplicadas.

Utilizou-se o sistema PICO: P (Pacientes saudáveis submetidos ao tratamento ortodôntico), I (Análise de biomarcadores no FCG ou na saliva), C (Variações de biomarcadores entre fases diferentes do tratamento) e O (Potencial dos biomarcadores para otimizar/ prever/ monitorizar o tratamento ortodôntico) para formular a questão: “Haverá aplicabilidade clínica de biomarcadores (detetados na saliva ou FCG) como ferramenta para prever, otimizar e monitorizar o tratamento ortodôntico?”

A pesquisa bibliográfica foi realizada nas plataformas B-on, *Wiley* e *Science Direct*, nas bases de dados BVS, Cochrane e PubMed e na revista *European Journal of Orthodontics*, com a seguinte chave: ("biomarkers" AND ("saliva" OR "gingival crevicular fluid")) AND ("orthodontic movement" OR "orthodontic treatment") AND ("prediction" OR "optimization"). Os critérios de inclusão utilizados foram: artigos originais, em que $n \geq 10$ e artigos em que a colheita de saliva ou FCG ocorreu em pelo menos dois momentos.

Obtiveram-se 21 artigos, 15 em que o meio de diagnóstico foi o FCG e seis a saliva. Em 11 artigos concluiu-se a utilidade do biomarcador estudado como ferramenta de predição, otimização e/ou monitorização do tratamento.

Embora a aplicação clínica permaneça limitada devido à heterogeneidade metodológica e à falta de validação, os dados sugerem um futuro promissor para uma ortodontia mais personalizada.

Palavras-chave: Biomarcadores; tratamento ortodôntico; otimização.

Abstract

Orthodontically induced tooth movement involves controlled processes of inflammation and healing, leading to changes such as alveolar remodeling, root resorption, and inflammation, accompanied by alterations in biomarker levels. The evaluation of biomarkers during orthodontic treatment—through saliva or gingival crevicular fluid (GCF)—may serve as a tool to monitor treatment effectiveness, predict outcomes, and optimize therapy according to the tissue response to the different forces applied.

The PICO system was used: P (healthy patients undergoing orthodontic treatment), I (biomarker analysis in GCF or saliva), C (biomarker variations across different phases of treatment), and O (potential of biomarkers to optimize, predict, or monitor orthodontic treatment) to formulate the following question: “*Do biomarkers (detected in saliva or GCF) have clinical applicability as a tool to predict, optimize, and monitor orthodontic treatment?*”

The literature search was conducted on the platforms B-on, Wiley, and Science Direct; in the databases BVS, Cochrane, and PubMed; and in the *European Journal of Orthodontics*, using the following search string: (“biomarkers” AND (“saliva” OR “gingival crevicular fluid”)) AND (“orthodontic movement” OR “orthodontic treatment”) AND (“prediction” OR “optimization”).

The inclusion criteria comprised: original studies with $n \geq 10$, and studies in which saliva or GCF collection occurred at a minimum of two different time points.

A total of 21 articles were obtained: 15 using GCF and 6 using saliva as the diagnostic medium. In 11 studies, the investigated biomarker was found to be useful as a tool for prediction, optimization, and/or monitoring of treatment.

Although clinical application remains limited due to methodological heterogeneity and lack of validation, the data suggest a promising future for a more personalized approach to orthodontics.

Keywords: biomarkers; orthodontic treatment; optimization

Índice Geral

I Introdução.....	1
1. Objetivos	1
II Desenvolvimento do corpo do texto	3
1. Enquadramento teórico.....	3
1.1 Movimento dentário induzido ortodonticamente	3
1.2 Principais complicações associadas ao TO:	4
1.3 Fluido crevicular gengival e saliva como meios diagnósticos	6
1.4 Biomarcadores	7
2. Metodologia.....	14
2.1 Critérios de inclusão e exclusão	14
2.2 Estratégia de pesquisa.....	15
2.3 Seleção dos dados	16
2.4 Avaliação da qualidade dos artigos	17
3. Resultados.....	17
3.1 Artigos selecionados.....	17
3.2 Avaliação da qualidade metodológica: risco de viés.....	18
3.3 Análise de <i>outcome</i>	21
3.4 Análise de controlos utilizados.....	23
3.5 Síntese dos artigos	24
4. Discussão	30
III Conclusão	37
Referências Bibliográficas.....	39
Apêndice A – PRISMA 2020 <i>checklist</i>	45

Índice de Figuras

Figura 1: PRISMA 2020	18
------------------------------------	----

Índice de gráficos

Gráfico 1: Tipos de controlos utilizados nos estudos incluídos na revisão.....	24
---	----

Índice de Quadros

Quadro 1: Estratégia PICO para formulação da questão clínica.....	14
Quadro 2: Critérios de inclusão e exclusão utilizados para avaliar a elegibilidade dos artigos incluídos na revisão	15
Quadro 3: Chave de pesquisa utilizada em cada base de dados/plataforma incluída no portfólio de busca.	16
Quadro 4: Estudos incluídos na revisão em que os autores concluíram a utilidade do(s) biomarcador(es) estudado(s) como ferramenta de predição, otimização ou monitorização do TO	22
Quadro 5: Estudos incluídos na revisão que concluíram a falta de significância dos resultados ou que não correlacionaram os achados com a utilidade do(s) biomarcador(es) estudados como ferramenta de predição, otimização ou monitorização do TO	23
Quadro 6: Sumário dos artigos que utilizam como meio diagnóstico o FCG.....	25
Quadro 7: Sumário dos artigos que utilizam como meio diagnóstico a saliva	28

Índice de Tabelas

Tabela 1: Ferramenta RoB 2	19
Tabela 2: Ferramenta ROBINS-I	19
Tabela 3: Ferramenta JBI para estudos cohort	20

Listas de Abreviaturas, Siglas, Símbolos ou Acrónimos

ALP- *Alkaline phosphatase*

BDNF- *Brain-Derived Neurotrophic Factor*

CASR- *Calcium-Sensing Receptor*

CBCT- *Cone Beam computer Tomography*

CIAA – controlo interno, arcada antagonista

CIC – controlo interno de colheita

CIDC – controlo interno, dente contralateral

CE – controlo externo

CEMP- *Cementum protein*

CGRP- *Calcitonin Gene-Related Peptide*

CTX- *C-telopeptide*

DPP- *Dentine phosphoprotein*

ELISA- *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

FCG- Fluido crevicular gengival

G-CSF- *Granulocyte colony stimulating factor*

GM-CSF- *Granulocyte-Macrophage colony stimulating factor*

HO- Higiene oral

HSP- *Heat shock protein*

IFN- *Interferon*

IG- Índice de gengivite

IGHV- *Immunoglobulin Heavy Variable*

IGJ- *immunoglobulin J*

IGKC- *Immunoglobulin Kappa Constant region*

IL- Interleucina

IR- Isolamento relativo

K2C- *Keratin, type 2 cytoskeletal*

LDH- *Lactate dehydrogenase*

LP- Ligamento periodontal

MCP- *Monocyte Chemotactic Protein*

MDIO- Movimento dentário induzido ortodonticamente

MIP- *Macrophage Inflammatory Protein*

miRNA- micro-RNA

MMP- metaloproteinase de matriz
NEUL- *Neurolysin*
NGAL- *Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*
OPG- Osteoprotegerina
OPN- Osteopontina
PGE- Prostaglandina E
PINP- *Procollagen type I N-propeptide*
PTHrP- *Parathyroid hormone-related protein*
RANK- *Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B*
RANKL- *Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand*
RRIIO- Reabsorção radicular inflamatória induzida ortodonticamente
TGF- *Transforming growth factor*
TNF- *Tumor necrosis factor*
TLR- *Toll like-receptor*
TO- Tratamento ortodôntico
TRAcP- *Tartrate-Resistant Acid Phosphatase*
TYMP- *Thymidine Phosphorylase*

I Introdução

Nos países desenvolvidos, a percentagem da população que recorre a tratamentos ortodônticos varia entre 10% a 35% (AlHudaithi & Alshammery, 2021). O movimento ortodôntico requer uma velocidade ótima, que maximize o rácio de movimento com o mínimo de comprometimento irreversível do periodonto (Al-khatieeb et al., 2018). A velocidade média corresponde a 24-28 meses, sendo que um aumento deste período pode provocar lesões de mancha branca, reabsorção radicular e gengivite (Krishna V et al., 2023).

O ortodontista tem como objetivo atingir condições ortodônticas ideais, bem como períodos de tratamento aceitáveis (Cazzolla et al., 2024). O biomecanismo do movimento ortodôntico tem a sua relevância como tema de estudo pois pode ajudar a melhorar a eficiência do tratamento e reduzir os efeitos secundários (Chen et al., 2024). Um exemplo prático da aplicação destes biomarcadores: dentro dos mecanismos de aceleração do movimento ortodôntico, tem sido estudada a fotobiomodulação – procedimento que permite modelar remodelação óssea em dentes estimulados mecanicamente. Para otimizar o protocolo deste procedimento, há estudos que monitorizam biomarcadores de remodelação óssea como fosfatase alcalina (ALP), osteoprotegerina (OPN) e *Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand* (RANK-L) (Gonçalves, Monteiro, et al., 2024). O interesse científico nesta área é relativamente recente, tendo-se intensificado na última década, em paralelo com os avanços na imunologia oral, genética aplicada e métodos de análise bioquímica de fluidos orais (Aziz & Singh, 2020; Lin et al., 2020).

Apesar do crescente número de evidência, a aplicabilidade clínica dos biomarcadores como ferramentas para prever, otimizar e monitorizar o tratamento ortodôntico enfrenta múltiplos desafios. Variáveis como a heterogeneidade dos métodos de análise e dos biomarcadores selecionados para estudo, diferenças no tipo de amostra e momentos de colheita, variedade de tratamentos ortodônticos aplicados e a ausência de consensos sobre valores de referência dificultam a tradução desses resultados para a prática clínica (Mohammed-Salih et al., 2023; Cazzolla et al., 2024).

1. Objetivos

Neste contexto, a presente revisão sistemática visa sintetizar a evidência científica mais recente acerca dos biomarcadores identificados no fluido crevicular gengival e na saliva

Biomarcadores no tratamento ortodôntico: uma revisão sistemática para otimização da eficiência terapêutica

de pacientes submetidos a tratamento ortodôntico, fixo ou removível, avaliando o seu potencial de aplicabilidade clínica na otimização da eficiência terapêutica, na previsão de efeitos adversos e na monitorização do tratamento.

II Desenvolvimento do corpo do texto

1. Enquadramento teórico

1.1 Movimento dentário induzido ortodonticamente

O movimento dentário induzido ortodonticamente (MDIO) é definido como um processo dinâmico de reconstrução periodontal local sob força mecânica e tem como objetivo mover dentes desalinhados para o local adequado (Zhang et al., 2022). Pressupõe fenómenos controlados de inflamação – quer no ligamento periodontal (LP), quer no osso alveolar – provocados iatrogénicamente pelo dispositivo ortodôntico e seguidos por cicatrização desse mesmo tecido (De Aguiar et al., 2017; Kakali et al., 2022; Wazwaz et al., 2023).

Como resultado das forças ortodônticas, ocorre microtrauma no LP e ativação da cascata inflamatória: alteração da microvasculação periodontal (que consiste a primeira alteração local), migração de células inflamatórias e libertação de substâncias como: citocinas, interleucinas, fatores de crescimento, neurotransmissores, (...) (Ahuja et al., 2017; Gonçalves et al., 2024; Krishna V et al., 2023; Verma & Thakur, 2022). Estas substâncias, secretadas nos processos biológicos mencionados, são então libertadas para o fluido crevicular gengival e saliva (Wazwaz et al., 2023).

O MDIO conta com um balanço de zonas onde se ativa o ciclo de reabsorção e zonas onde ocorre formação de tecido, conforme a direção da deslocação (Gonçalves et al., 2024). A mecânica deste movimento ainda não é compreendida na sua totalidade, no entanto, a teoria mais sedimentada na comunidade científica é a teoria da tensão-pressão (Gonçalves et al., 2024). Esta teoria baseia-se no princípio de que os estímulos químicos vão criar 2 áreas distintas (Gonçalves et al., 2024; Zhang et al., 2022):

- Zona de compressão (ou pressão): défice acentuado de fluxo sanguíneo e reabsorção óssea.
- Zona de tensão: fluxo sanguíneo é mantido ou aumentado e os mediadores químicos promovem formação óssea nesta área.

Para além disto, segundo alguns autores, o movimento subdivide-se em 3 fases principais (Gonçalves et al., 2024):

1. Fase inicial – 24 a 48 horas após aplicação de força ortodôntica, caracterizada por movimento rápido e curto (Gonçalves et al., 2024). Esta fase é caracterizada por inflamação aguda, mais concretamente vasodilatação, quimiotaxia de células

inflamatórias e células precursoras de osteoclastos e osteoblastos (Verma & Thakur, 2022).

2. Fase de latência – dura 20 a 30 dias e é caracterizada por pouco ou nenhum movimento, aumento das zonas de hialinização e remoção de tecido necrótico. Nesta fase é atingido o limite máximo de extensão das fibras do LP (Cazzolla et al., 2024; Gonçalves et al., 2024).

3. Fase pós-latência ou fase de movimento – estende-se até à próxima ativação e caracteriza-se por novo aumento de movimento contínuo na direção da zona de reabsorção (Cazzolla et al., 2024; Gonçalves et al., 2024).

1.2 Principais complicações associadas ao TO:

Reabsorção radicular

A reabsorção radicular iatrogénica induzida pelo MDIO é um processo inflamatório e ocorre quando a velocidade de reabsorção é maior que a velocidade de cicatrização, e é considerado o mais significativo dano iatrogénico (Ahuja et al., 2017; Mohd Zain et al., 2022). Pode ter vários graus, sendo o mais ligeiro (0 a 2 mm) comum em quase 90% dos pacientes e o mais severo (superior a 4 mm) pouco frequente, afetando apenas 4% dos pacientes (Ahuja et al., 2017).

São vários os fatores apontados como influentes neste processo e na sua severidade, sendo eles raça, género, idade e fatores genéticos e locais (como hábitos, dentes traumatizados, reabsorção radicular pré-existente, periodonto hipofuncional, duração do tratamento e direção e intensidade das forças aplicadas (Ahuja et al., 2017).

Atualmente, a radiografia é utilizada como exame *gold standard* para determinar reabsorção óssea, especialmente pela frequente disponibilidade em consultório e facilidade de utilização. No entanto, esta pode ter um impacto negativo no doente, especialmente se utilizada com muita frequência (Mohd Zain et al., 2022). Apresenta como obstáculos da técnica a dificuldade na padronização, sobreposição de estruturas e ampliação (Mohd Nasri et al., 2020; Mohd Zain et al., 2022). Para além dos fatores enumerados, a radiografia não é considerada sensível o suficiente para diagnosticar reabsorção radicular em estádios iniciais, a bibliografia recente aponta a necessidade de perda de 30 a 60% de tecido mineralizado para possível identificação, através deste tipo de imagem (Huang et al., 2021). Por último, não apresenta a possibilidade de poder determinar se a reabsorção é ativa ou não (Mohammed-Salih et al., 2023).

O CBCT (*Cone Beam computer Tomography*) consegue ultrapassar estas barreiras, no entanto, devido à sua elevada radiação e custos associados, não é usado por rotina (Huang et al., 2021; Mohd Zain et al., 2022). Assim sendo, a identificação e utilização de biomarcadores presentes no FCG para monitorizar a reabsorção óssea pode ser uma alternativa não-invasiva (Mohd Nasri et al., 2020).

Inflamação gengival

A presença constante de *brackets* na cavidade oral dificulta a higiene adequada, aumenta a quantidade de locais de retenção de placa e provoca irritação na mucosa (Pregled et al., 2018). Estes pacientes apresentam (na sua maioria) gengivas hipertrofiadas/edemaciadas, inflamadas e sangrentas (Sioustis et al., 2021). Para além da presença de placa bacteriana, há outros fatores que provocam inflamação gengival nos pacientes ortodônticos, como a adesão dos *brackets* e a irritação mecânica da gengiva (Pregled et al., 2018).

Segundo Janošević et al. (2018), os parâmetros clínicos de inflamação gengival (sangramento e placa bacteriana) aumentam 3 a 6 meses após a colocação de aparelho ortodôntico, quando comparados com valores anteriores à colocação deste mesmo, comprovando assim a presença de inflamação e progressão da mesma.

Normalmente, o diagnóstico clínico de condições periodontais é feito através de parâmetros do periodontograma (como profundidade de sondagem, sangramento à sondagem, recessão gengival e índice de placa bacteriana) e radiografia. No entanto, os métodos acima apresentados apenas facultam informações acerca das consequências da doença e não da sua atividade (Pregled et al., 2018).

Uma das consequências desta inflamação é a hiperplasia gengival, que se caracteriza por aumento notável de volume gengival. Quando ocorre na zona anterior compromete a estética, alterando a configuração dentária. Quando ocorre no setor posterior dificulta a remoção eficaz de placa e exacerba a condição, podendo levar à cobertura completa das coroas dentárias (Debnath et al., 2024).

Dor

A dor é a sensação mais desagradável e comum em pacientes ortodônticos (Bhat et al., 2023). Representa um dos maiores receios prévio ao início do tratamento. Intervenções como a colocação de separadores, aplicação de força ortopédica, colocação de arcos ortodônticos e remoção de aparelhos, causam dor aos pacientes (Maan & Patil, 2019). Esta sensação é afetada por fatores como idade, género, status emocional e ansiedade. A dor associada ao tratamento ortodôntico (TO) foi descrita em 1962 por Burstone e

engloba: hiperalgesia no LP e aumento da sensibilidade deste tecido a estímulos nocivos como prostaglandina E, substância P e histamina, os quais diminuem o limiar de dor (Bhat et al., 2023). Um dos tratamentos mais frequentemente utilizado para esta condição é a utilização de analgésicos (Raghupathy et al., 2024).

A seleção e aprovação de biomarcadores de dor é particularmente importante pelo facto de permitir a monitorização deste sintoma em pacientes especiais que apresentam dificuldade em exprimi-la em escalas subjetivas convencionais (Bhat et al., 2023).

1.3 Fluido crevicular gengival e saliva como meios diagnósticos

O FCG é um exsudado biológico que se acumula no sulco gengival e que reflete os processos biológicos a decorrer *in situ* através da sua composição e fluxo (Lin et al., 2020; Mohammed-Salih et al., 2023). Contém uma grande diversidade de elementos como: células do epitélio descamativo, iões orgânicos e inorgânicos, enzimas e bactérias provenientes da placa adjacente (Mohd Nasri et al., 2020). Contém também proteínas envolvidas em fenómenos patológicos como gengivite, periodontite, cáries e reabsorção radicular (Chen et al., 2024).

Existe na literatura um grau de evidência considerável de que o FCG reflete a atividade celular durante o MDIO, sendo constituído por mediadores responsáveis pela remodelação de tecidos moles e duros (Institutet, 2018). Este biofluido é efetivo na monitorização não-invasiva da expressão molecular no periodonto, e serve como parâmetro de avaliação do pico de crescimento individual, crucial em certos planos de tratamento ortodôntico (Chen et al., 2024; Verma & Thakur, 2022).

Apresenta como vantagens a colheita não-invasiva e facilidade de armazenamento até posterior análise (Bozkaya et al., 2021). Em contrapartida, apresenta como limitações o facto de apenas se conseguir colher pequenos volumes, possibilidade de evaporação e desnaturação proteica rápida (Mohammed et al., 2023). O incisivo maxilar superior é o dente mais acessível para colheita deste fluido, e é o que apresenta maior reabsorção radicular quando submetido ao tratamento ortodôntico (Megat et al., 2017).

A saliva é constituída por secreções de glândulas salivares *major* e *minor*, constituintes do liquido crevicular, microbioma oral e elementos provenientes da dieta (Wazwaz et al., 2023). Holisticamente, apresenta na sua composição água, proteínas e diferentes eletrólitos como sódio, potássio, magnésio, cálcio e fosfato, e os últimos dois elementos aumentam com a idade (AlHudaithi & Alshammery, 2021). Neste fluido já foram identificadas diversas enzimas – nas quais constam a amílase salivar, a anidrase

carbônica, a catalase e proteases (abrangendo esta última uma vasta família) – e hormonas, anticorpos, citocinas e substâncias antimicrobianas (Popović et al., 2020; Wazwaz et al., 2023).

A saliva desempenha um papel fundamental na manutenção da higiene oral. Quanto maior o fluxo salivar, maior a capacidade da saliva de higienizar a cavidade oral, dado o aumento de pH e da concentração de proteína, sódio, cálcio, cloro e bicarbonato e diminuição da concentração de fosfato inorgânico e magnésio (AlHudaihi & Alshammery, 2021).

Como amostra, a saliva apresenta a vantagem de ser de dimensão pequena, fácil colheita, armazenamento e transporte, elevada sensibilidade, baixo custo e correlação com valores sanguíneos (Sookhakian et al., 2022). Para além disto, o seu processamento não requer equipamento específico para análise em laboratório (Al-khatieeb et al., 2018). É um amostra particularmente útil em crianças devido à sua natureza não-invasiva (Cazzolla et al., 2024). Por estes motivos, nos últimos anos tem sido um foco de pesquisa (Popović et al., 2020; Zhang et al., 2022).

A dinâmica circadiana, o volume e a composição da saliva podem variar na presença de condições fisiológicas ou fisiopatológicas - sistémicas ou locais (Kazanopoulos et al., 2025; Popović et al., 2020), incluindo alterações de tipo emocional, endócrino, metabólico e nutricional. Facto que ajuda a justificar a importância deste fluido corporal na deteção do estado de saúde geral e não só referente à cavidade oral (Popović et al., 2020).

Para além do referido, as concentrações de biomarcadores neste fluido podem ser afetadas pela presença de sangue na cavidade oral, pelo consumo de drogas ou pela presença de doenças sistémicas capazes de interferir com as glândulas salivares (Cazzolla et al., 2024).

Por fim, o MDIO é também apontado como um dos responsáveis pela alteração na composição salivar relacionada com atividade microbiana, iões metálicos libertados pelo aparelho ortodôntico ou fatores relacionados com a experiência de dor durante o tratamento (Zhang et al., 2022).

1.4 Biomarcadores

Um biomarcador é uma substância biologicamente ativa que pode ser uma hormona, citocina, fator de crescimento, molécula inflamatória ou qualquer outro composto associado a uma condição particular (Cazzolla et al., 2024; Zhang et al., 2022). Estes

podem ser detetados em vários fluidos corporais como o soro, o sangue, a urina, a saliva e o FCG (Zhang et al., 2022) e podem-se medir e avaliar objetivamente (Cazzolla et al., 2024).

As características dos biomarcadores como a sensibilidade e especificidade fazem com que estes sejam analisados no diagnóstico de determinadas doenças e condições (Zhang et al., 2022). No contexto de MDIO, um bom biomarcador será aquele que tem a capacidade de descrever a condição biológica do LP, relacionando-a com as diferentes fases do TO, sendo sensível às alterações (Maan & Patil, 2019).

Para a mesma condição podem haver vários tipos de biomarcadores, por exemplo, os marcadores de *turnover* ósseo podem ser subprodutos de proteínas ósseas como o colagénio tipo 1 que sofre alterações durante a biossíntese de osso ou podem ser produtos de células ósseas e traduzir a afluência de osteoclastos e osteoblastos no local (Cazzolla et al., 2024).

Citoquinas

São proteínas de baixo peso molecular e as primeiras moléculas a chegar ao local durante a inflamação aguda da fase inicial (Nunes et al., 2017; Verma & Thakur, 2022). Estas são subclassificadas em dois grupos: pró-reabsortivas e anti-reabsortivas. O primeiro grupo é composto por: família interleucina (IL)-1, IL-6, IL-7, IL-8 e TNF. TNF- α e IL-1 β induzem diretamente osteoclastogênese e promove função osteoclástica (Ahuja et al., 2017). IL-6, IL-1 e TNF- α atuam sinergicamente na osteoclastogênese. IL-7 funciona de maneira indireta, induzindo a TNF- α , um importante propulsor da ativação de osteoclastogênese mediada pelo recetor do fator nuclear Kappa-B (RANKL), sendo que o IL-8 é responsável pelo aumento da expressão deste mesmo recetor (Ahuja et al., 2017). Quanto ao segundo grupo, este inclui IL-4 e IFN- γ , que suprimem a osteoclastogênese. Outras moléculas que atuam como anti-reabsortivas são GM-CSK, IL-4, IL10, IL-13, IL-18 (Ahuja et al., 2017).

Uma das citocinas mais frequentemente mencionadas é a IL-1. Existe em 2 formas: α e β , sendo a segunda de maior interesse na área devido ao seu papel preponderante na regulação de metabolismo ósseo em fases precoces do MDIO - controlo de diferenciação dos osteoblastos em osteoclastos (Aziz & Singh, 2020). A IL-1 β tem um papel no metabolismo ósseo, suprimindo a formação de osso e estimulando a sua reabsorção e, acredita-se ser o primeiro marcador de reabsorção óssea durante o TO (Maan & Patil, 2019). É inicialmente secretado por osteoclastos como resposta imediata e é mais tarde secretado por macrófagos, monócitos e fibroblastos (Bozkaya et al., 2021). De acordo

com Luppapornlap et al., referenciado em Maan e Patil (2019), IL-1 β aumenta quando aplicadas forças ortodônticas e correlaciona-se com a intensidade de dor.

A IL-6 é uma citocina multifatorial, com funções no sistema imunitário, processos regenerativos, regulação do metabolismo, homeostase óssea, promove diferenciação osteoclástica e apresenta funções neurológicas (Padisar et al., 2018).

O tumor necrosis factor- α (TNF- α) é uma das principais citocinas pró-inflamatórias. Está envolvida na reabsorção óssea através da estimulação de formação osteoclástica. Aumenta no FCG durante o processo de MDIO e é apontado como responsável pela reabsorção em zonas de pressão (Marahleh et al., 2021; Padisar et al., 2018).

A citocina IL-10 tem sido descrita como anti-inflamatória, desempenhando um papel na inibição de: reabsorção óssea, diferenciação osteoclástica e das citocinas IL-1 β e TNF- α (Nunes et al., 2017).

O interferon- γ (IFN- γ) exibe função anti-osteoclástica (Nunes et al., 2017).

Entre as citocinas envolvidas em doenças inflamatórias, a IL-17 e a IL-23 têm despertado interesse. A IL-17 está associada a várias patologias, incluindo periodontite, tem capacidade de modular os níveis ósseos em contextos inflamatórios, e pode estar envolvida em processos de movimentação dentária. A IL-23 é produzida por macrófagos tipo 1, monócitos e células dendríticas ativadas, e tem papel importante na diferenciação e expansão de células T de memória. A atuação conjunta da via IL-17/IL-23 representa um mecanismo potente de recrutamento de células da imunidade inata, e parece ter um papel importante na inflamação periodontal (Allgayer et al., 2019).

O Transforming growth factor- β (TGF- β) é uma citocina com propriedades pleiotrópicas que é pró-inflamatória e anti-inflamatória ao mesmo tempo. Apesar do seu papel como destrutor ósseo, a sua função é mais complexa face ao facto de aumentar tanto em locais de tensão como de pressão (Castroflorio et al., 2017).

Granulocyte e Granulocyte-Macrophage colony stimulating factor (G-CSF) e GM-CSF)) são os fatores estimuladores de colónias são moléculas que participam ativamente na hematopoiese e na resposta imunitária do organismo contra infeções. O GM-CSF tem uma função mais ampla que G-CSF e ajuda na sobrevivência, maturação e ativação de macrófagos, neutrófilos e eosinófilos e é produzido por diversos tipos de células como: fibroblastos, células endoteliais e macrófagos. O G-CSF tem função essencial na granulopoiese, ou seja, na produção e maturação dos neutrófilos e é produzido por macrófagos, células T, células endoteliais e fibroblastos em resposta a estímulos como IL-1, IL-6 e TNF- α (Mehta et al., 2015).

Quimiocinas:

Macrophage Inflammatory Protein-1 β (MIP-1 β): tem funções quimiotáticas - ativação e recrutamento de linhagens celulares de macrófagos/monócitos (Chami et al., 2018).

Monocyte Chemotactic Protein-1 (MCP-1): também conhecido como CCL2, é uma quimiocina da família CC com papel fulcral na resposta inflamatória. A principal função é atrair monócitos, macrófagos e outras células inflamatórias para os locais de inflamação, promovendo a sua migração e infiltração. Também estimula a produção de outras citocinas inflamatórias, agrava processos inflamatórios crônicos e agudos e contribui diretamente para o desenvolvimento e progressão de várias patologias (Singh et al., 2020).

Proteínas:

Alkaline Phosphatase (ALP): crucial para a mineralização óssea. Aumenta a concentração no sangue durante a adolescência, por isso presume-se o aumento também no FCG (Trehan & Patil, 2021). É uma enzima que participa no *turnover* periodontal – cemento e osso – pois é produzida por diversas células como fibroblastos, osteoblastos, cementoblastos e neutrófilos (Al-khatieeb et al., 2018).

Lactate Dehydrogenase (LDH): é uma enzima citoplasmática envolvida no metabolismo anaeróbico e é libertada na destruição celular e necrose, fenómenos que foram demonstrados durante movimentos dentários ortodônticos intensos (Al-khatieeb et al., 2018; Vijay et al., 2017).

O eixo Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B (RANK) - Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand (RANKL) – Osteoprotegerin (OPG) representa a sinalização chave para a resposta do LP e do osso alveolar à carga ortodôntica, regulando a diferenciação de osteoblastos em osteoclastos (Otero et al., 2016). A remodelação óssea depende do equilíbrio entre a ligação RANK-RANKL e produção de OPG, especialmente em estádios iniciais (Castroflorio et al., 2017).

OPG: recetor produzido por osteoblastos e que interfere com estádios terminais de diferenciação em osteoclastos, inibe ativação de osteoclastos da matriz e compete com o RANK para a ligação a RANKL, acelerando a apoptose osteoclástica (Castroflorio et al., 2017; Otero et al., 2016; Przerwa et al., 2023).

RANKL: molécula libertada em quantidades aumentadas por células do ligamento periodontal quando este está sobre *stress* induzido por força ortodôntica, contribuindo

para a estimulação osteoclástica e consequente reabsorção ossea nas zonas de pressão (Polizzi et al., 2024).

S100A9: proteína de ligação ao cálcio e zinco. Tem um papel na regulação de processos inflamatórios e respostas imunes: indução da quimiotaxia e adesão de neutrófilos e aumenta a sua capacidade bactericida (fagocitose) (Mohd Nasri et al., 2020).

Calcium-Sensing Receptor (CASR): é um recetor acoplado à proteína G que deteta os níveis de cálcio extracelular e está presente em células do LP, onde exerce função na migração de precursores osteoclásticos, proliferação celular e sinalização inflamatória (Tang et al., 2016).

Imunoglobulin J (IGJ): molécula de ligação a imunoglobulinas. Esta proteína é essencial para a formação de Imunoglobulina A dimérica e Imunoglobulina M multimérica, ajudando na sua ligação a componentes secretores e na exocitose das imunoglobulinas. A expressão do gene IGJ ocorre especialmente durante a diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos, altura em que a cadeia J é produzida em grande quantidade (Mohd Nasri et al., 2020; Wang et al., 2023).

Immunoglobulin Kappa Constant region (IGKC): subunidade das imunoglobulinas e atua como potenciador da resposta imunitária adaptativa, modulando a microbiota oral através da interferência na adesão/metabolismo bacteriano (Mohammed-Salih et al., 2023).

Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL): é uma proteína com capacidade de mediar a resposta imunitária inata, gerando um complexo com a MMP-9 bacteriana (Mohammed-Salih et al., 2023).

Keratin, type 2 cytoskeletal 1 (K2C1): é uma queratina citosquelética do tipo 2 presente em células epiteliais. Nos estudos FCG, esta proteína aumentada foi associada à destruição do epitélio juncional e à inflamação, especialmente em casos de periodontite e sujeito a força ortodôntica intensa (Mohammed-Salih et al., 2023).

Brain-Derived Neurotrophic Factor e calcitonin Gene-Related Peptide (BDNF e CGRP): são dois péptidos que têm um papel no desenvolvimento de dor e hiperalgesia. Estão associados a dor de cabeça e enxaqueca, com aumentos significativos de concentração na saliva durante picos de dor (Bhat et al., 2023).

Proteínas específicas:

Osteopontina (OPN): Proteína óssea não colagenosa. Participa na diferenciação osteoblástica precoce e pode inibir actividade osteoclástica (Castroflorio et al., 2017).

Cementum protein-1 (CEMP-1): é uma molécula que compõe o cimento e cuja secreção está restringida a cementoblastos e às suas células precursoras. Regula o *pool* de *stem*

cells mesenquimais no LP para induzir formação de cementoblastos, atuando na mineralização, proliferação, diferenciação e maturação celular (Huang et al., 2021).

Dentine phosphoprotein (DPP): é um subproduto da quebra do c-terminal de DSPP e é considerado um biomarcador específico de dentina (Huang et al., 2021).

C-telopeptide (CTX-I): fragmento de colagénio tipo 1, que representa 98% do conteúdo proteico do osso. A quantidade deste biomarcador é proporcional à atividade osteoclástica, refletindo a reabsorção óssea. Este biomarcador é utilizado para determinar estadios de MRONJ (Huang et al., 2021).

Procollagen type I N-propeptide (PINP): é produzido por osteoblastos durante a osteogénese - a sua concentração reflete diretamente a atividade osteoblástica e é proporcional à quantidade de colagénio incorporado na matriz óssea (Cazzolla et al., 2024).

Tartrate-Resistant Acid Phosphatase (TRAcP): é uma glicoproteína e isoenzima de fosfatase ácida (ACP) que é produzida por osteoclastos e libertada na zona de reabsorção. Participa na migração osteoclástica e participa na degradação de colagénio tipo 1. TRACP-5b reflete o número de osteoclastos e não a atividade (Cazzolla et al., 2024).

Parathyroid hormone-related protein (PTHrP): é referente a atividade hormonal autocrina e parácrina, como a regulação da formação óssea, expressa exclusivamente em células da polpa dentária (Cazzolla et al., 2024). É importante na maturação dentária sendo que é responsável pelo arranjo espacial ósseo (Cazzolla et al., 2024).

Metaloproteínas

São sintetizadas de forma inativa e podem ser ativadas, através de proteólise na matriz extracelular. Têm como funções a remodelação fisiológica do periodonto (Sioustis et al., 2021). A metaloproteinase de matriz 8 (MMP-8) é uma metaloproteína do grupo collagenase, responsável pela hidrolisação do colagénio tipo 1. Presentes em grânulos de neutrófilos polimorfonucleados, responsáveis pela regulação da sua libertação, no entanto, também pode ser libertado por células não pertencentes a esta linhagem como fibroblastos gengivais, osso e células do plasma (Sioustis et al., 2021). Representa a principal collagenase presente na gengiva humana inflamada (Sioustis et al., 2021). Tem um papel importante na destruição tecidual em doenças periodontais (Kredig et al., 2025). A metaloproteinase de matriz 9 (MMP-9) é uma metaloproteína do grupo gelatinase, expressa em osteoclastos para controlo da proteólise em reabsorção óssea (Sioustis et al., 2021) e é uma das proteinases mais bem estudadas quanto ao seu papel na periodontite e na sua ativação em infeções (Luchian et al., 2021).

Heat shock protein (HSP70): proteína que atua como "protetor celular" contra o stress mecânico, ajudando a modular a resposta inflamatória e a proteger os tecidos contra danos excessivos (Bozkaya et al., 2021).

Toll like-receptor 4 (TLR-4): recetor pertencente à família *toll-like receptor*, que são recetores transmembranares tipo 1. Está diretamente ligado à ativação de respostas inflamatórias inatas, ao reconhecer sinais de dano ou alterações no periodonto. Este sinalizador induz a produção de mediadores pró-inflamatórios e coordena esta secreção, de forma a prevenir uma resposta exuberante. A secreção de IL-1 β é controlada pela via de sinalização intracelular HSP70/TLR4 (Bozkaya et al., 2021).

A Neurolysin (NEUL): endopeptidase dependente de zinco envolvida na degradação de neuropéptidos bioativos, como neurotensina e bradicinina. Regula funções como a dor, pressão arterial e metabolismo, e está associada a processos patológicos como sépsis, AVC, angiogénese tumoral e reabsorção óssea por mediação da via RANKL/OPG (Mohammed-Salih et al., 2023; Wangler et al., 2012).

Lípidos

Prostaglandina E2 (PGE): é uma molécula eucosanoide, mais concretamente um derivado do ácido araquidónico. É o mediador lípido mais bem conhecido associado à experiência de dor (Raghupathy et al., 2024). Este biomarcador aumenta a reabsorção óssea através dos seguintes mecanismos: estimulação da diferenciação osteoclástica, propriedades quimiotáticas e promove a permeabilidade vascular por vasodilatação.

Shetty et al. identificou medicamentos que são usados frequentemente como analgésicos, como ibuprofeno, que inibem a produção de PGE2 durante o MO inicial.

Nucleótidos

Micro-RNA (mi-RNA): pequena porção não codificante de ácido ribonucleico (RNA), composta por cerca de 22 nucleótidos e envolvida na regulação genética. Tem a capacidade de inibir mRNA por ligação complementar imperfeita. Apesar de já terem sido identificados como biomarcadores de algumas patologias, os miRNAs derivados de exossomas têm sido explorados na sua relação com o MDIO. Estão envolvidos no desenvolvimento dentário, remodelação óssea (através da inibição/estimulação epigenética de osteoblastos e osteoclastos) e diferenciação de *stem cells* dentárias (Kazanopoulos et al., 2025; Polizzi et al., 2024). Estas moléculas apresentam como grande vantagem o facto de serem capazes de passar através da barreira epitelial, ou seja, é possível encontrar na saliva informação referente aos tecidos circundantes (Kazanopoulos et al., 2025).

Immunoglobulin Heavy Variable 4-34 (IGHV4-34): é um segmento do gene da região variável da cadeia pesada de imunoglobulinas, que codifica a porção responsável pelo reconhecimento e ligação a antígenos. Frequentemente envolvido em respostas imunitárias adaptativas, este gene é também comumente utilizado por anticorpos associados a patologias como a leucemia linfocítica crônica (National Center for Biotechnology Information, 2025a).

Thymidine Phosphorylase (TYMP): codifica a enzima timidina fosforilase, que desempenha um papel essencial na homeostase de nucleotídeos, angiogênese e manutenção da integridade vascular (National Center for Biotechnology Information, 2025b).

2. Metodologia

A presente revisão sistemática foi registrada na plataforma PROSPERO, com o ID 1082618. A pergunta que se procurou responder foi: “Haverá aplicabilidade clínica de biomarcadores (detetados na saliva ou FCG) como ferramenta para prever, otimizar e monitorizar o tratamento ortodôntico?”. A ferramenta utilizada para formular a questão nesta revisão sistemática foi a estratégia PICO, descrito no quadro 1.

Quadro 1

Estratégia PICO para formulação da questão clínica.

Parâmetro	
População (P)	Pacientes saudáveis submetidos ao tratamento ortodôntico
Intervenção (I)	Análise de biomarcadores (num mínimo de dois momentos distintos) no FCG ou na saliva
Comparação (C)	Variações de biomarcadores entre diferentes fases do tratamento
Outcome (O)	Potencial dos biomarcadores para otimizar/ prever/ monitorizar o tratamento ortodôntico

2.1 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão e exclusão dos artigos elegidos para a presente revisão apresentam-se descritos no quadro 2.

Quadro 2

Crítérios de inclusão e exclusão.

Crítérios de inclusão	Crítérios de exclusão
1) Artigos originais; 2) Número de indivíduos saudáveis considerados para amostra (n) ≥ 10; 3) Fluido considerado para amostragem seja FCG ou saliva; 4) Ocorrência de colheita em pelo menos 2 momentos ao longo do estudo.	1) Artigos que consideram doenças sistêmicas ou patologias orais como variantes do estudo; 2) Estudos realizados <i>in vitro</i> ou em animais; 3) Metodologia de análise de biomarcadores noutros fluidos como sangue e urina; 4) Estudos que utilizam biomarcadores para comprar e/ou testar outras variáveis (como tipo de tratamento ortodôntico ou métodos de aceleração do tratamento).

2.2 Estratégia de pesquisa

Para a obtenção dos dados incluídos na presente revisão foi efetuada pesquisa por dois investigadores independentes (DA e MMP) nas plataformas B-on, *wiley* e *Science Direct*, nas bases de dados biblioteca virtual em saúde (BVS), Cochrane Library e PubMed e na revista científica *European Journal of Orthodontics* (EJO). Não foram realizadas buscas manuais.

A pesquisa foi orientada por palavras-chave em inglês, conjuntamente com operadores booleanos e *MeSH terms* para refinar os resultados e restringir a busca ao tema pretendido - ("biomarkers" AND ("saliva" OR "gingival crevicular fluid")) AND ("orthodontic movement" OR "orthodontic treatment") AND ("prediction" OR "optimization"). As combinações de palavras-chave e *MeSH terms* foram adaptadas aos motores de busca de cada plataforma de modo a adquirir uma seleção de artigos ajustada ao pretendido, mantendo a transparência científica através do registo da chave de pesquisa utilizada em cada plataforma, disponível para consulta no quadro 3.

O intervalo temporal dos artigos triados é compreendido entre 01/01/2017 e 15/03/2025, de modo a obter a informação mais atual sobre o tema. A última data diz respeito à data de conclusão da pesquisa de artigos para subsequente análise.

Quadro 3

Chave de pesquisa utilizada em cada plataforma/base de dados/revista incluída no portfólio da pesquisa.

Base de dados/plataforma	Chave de pesquisa
B-on	TI biomarker* AND TI orthodont*
Wiley	"biomarker" in Title and "orthodont*" in Abstract, applied filters: 2017-2025
Science direct	Title, abstract, keywords: biomarker AND orthodontic, applied filters: 2017-2025
BVS Colômbia	(ab:(biomarker)) AND (ti:(orthodont*)) AND (saliva) OR (gingival crevicular fluid) AND (year cluster: [2017 TO 2025]) AND instance:"regional" (28); (ab:(biomarkers)) AND (ti:(orthodont*)) AND (saliva) OR (gingival crevicular fluid) AND (year cluster: [2017 TO 2025]) AND instance:"regional"
Cochrane Library	MeSH descriptor: [Biomarkers] explode all trees AND MeSH descriptor: [Tooth Movement Techniques] explode all trees, applied filters: 2017-2025
PubMed	"Biomarkers"[Mesh] AND "Tooth Movement Techniques"[Mesh], filters: from 2017-2025 (48); (Orthodont*[title/Abstract]) AND (Biomarker*[Title/Abstract]), filters: from 2017-2025 (160); ("biomarkers" AND ("saliva" OR "gingival crevicular fluid")) AND "Tooth Movement Techniques"[Mesh], filters: from 2017-2025
EJO	Abstract: BIOMARKER, Published: January 2017 to December 2025

2.3 Seleção dos dados

Primeiramente, os artigos obtidos após a pesquisa foram descarregados para a ferramenta automatizada *Rayyan*, para que se procedesse à triagem por leitura do título e *abstract*, avaliando a sua adequação ao tema. Após eliminação automática de artigos duplicados, os artigos foram categorizados como “incluídos” e “excluídos”, complementando com o motivo de exclusão.

Uma vez terminada a triagem, procurou-se o acesso ao texto completo de todos os artigos incluídos, importando estes mesmos para o software de gerenciamento de referências *Mendeley* e conferindo o total cumprimento dos critérios de inclusão e exclusão previamente definidos e descritos no quadro 2. Foi utilizado o fluxograma *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyse* (PRISMA) para organizar a pesquisa e aplicar os filtros dos artigos.

As informações extraídas dos artigos foram alocadas numa tabela de Microsoft Office Excel com os seguintes 15 separadores: autor, ano de publicação e país; *design* do estudo e controlos utilizados, biomarcadores estudados, principais funções dos biomarcadores estudados; objetivo do estudo; tratamento ortodôntico aplicado; constituição da amostra (n): nº de indivíduos do sexo feminino, nº de indivíduos do sexo masculino, intervalo de idades da amostra, média de idades; grupos de estudo; critérios de inclusão dos

indivíduos; critérios de exclusão dos indivíduos; nº de colheitas e momentos em que são feitas essas colheitas; método de colheita; método de processamento da amostra; resultados e conclusões. A extensa compartimentarização do conteúdo dos artigos incluídos teve como objetivo facilitar a análise e comparação dos mesmos. A tabela foi posteriormente sintetizada e alocada na secção dos resultados, separada de acordo com o meio de diagnóstico utilizado: FCG (quadro 6) ou saliva (quadro 7).

2.4 Avaliação da qualidade dos artigos

Para determinar o risco de viés dos 21 estudos incluídos na presente revisão, foram utilizadas 3 ferramentas, aplicadas de acordo com a natureza do estudo:

1. A ferramenta *Revised Cochrane Risk of Bias Tool*, versão 2019 (RoB 2) para ensaios clínicos randomizados, avaliados em 5 domínios (tabela 1) – aplicada em 5 estudos;
2. A ferramenta *Risk Of Bias In Non-randomized Studies - of Interventions* (ROBINS-I) para ensaios clínicos não randomizados, avaliados em 7 domínios (tabela 2) - aplicada em 7 estudos.
3. O questionário Joanna Briggs Institute (JBI) com 11 questões para estudos cohort (tabela 3) - aplicada em 9 estudos;

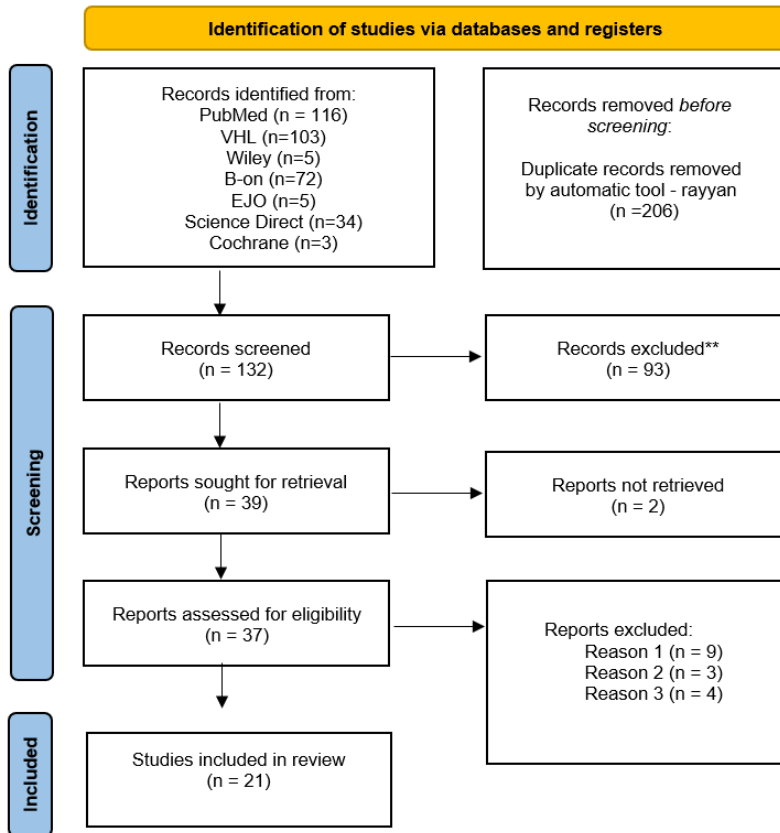
3. Resultados

3.1 Artigos selecionados

Apresenta-se no diagrama PRISMA (diagrama 1), o resultado da pesquisa, identificação e *screening* de artigos das 7 plataformas/bases de dados utilizadas. A razão 1 para exclusão dos artigos foi utilização de técnicas de aceleração do movimento ortodôntico, a razão número 2 foi utilização de amostras de sangue para o estudo e a razão número 3 foi de haver apenas uma colheita de FCG ou saliva, não explicito no *abstract*.

Figura 1

PRISMA 2020



3.2 Avaliação da qualidade metodológica: risco de viés

As tabelas 1, 2 e 3 dizem respeito à avaliação qualitativa dos estudos, e cada tabela está legendada com uma breve descrição da ferramenta e a respectiva referência, com a informação complementar.

Tabela 1

Ferramenta RoB 2

	D1	D2	D3	D4	D5	Classificação geral
Polizzi et al. (2024)						
Padisar et al. (2018)						
Al-Khatieeb et al. (2018)						
Castroflorio et al. (2017)						
Mohammed-Salih et al., (2023)						

Nota. D1: viés no processo de randomização; D2: viés devido a desvios da intervenção pretendida; D3: viés devido a dados ausentes; D4: viés na medição do desfecho; D5: viés na seleção dos resultados reportados. Esta ferramenta aloca os domínios em 3 níveis: baixo risco (verde), algumas preocupações (amarelo) e alto risco (vermelho) (Pt Higgins et al., 2019)

Tabela 2










Ferramenta ROBINS-I

	1	2	3	4	5	6	7	Classificação geral
Huang et al. (2021)								
Bozkaya et al. (2021)								
Cazzola et al. (2024)								
Sioustis et al. (2021)								
Nunes et al. (2017)								
Aziz et al. (2020)								
Lin et al. (2020)								

Nota. Os domínios são: 1.Confusão; 2.Seleção dos participantes; 3.Classificação das intervenções; 4.Desvios da intervenção; 5.Dados em falta; 6.Mensuração dos desfechos; 7.Seleção dos resultados reportados. Os domínios são classificados em 4 níveis: baixo (verde), moderado(amarelo), sério (cor-de-laranja) e crítico (vermelho) (ROBINS-I, 2024).

Tabela 3

Ferramenta JBI para estudos cohort

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Classificação geral
Chami et al. (2018)	Y	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	Y	NA	Y	
Silva Andrade et al. (2018)	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	Y	Y	NA	Y	
Mohd Nasri et al. (2020)	Y	Y	Y	Y	P	P	Y	Y	Y	NA	P	
Kumar et al. (2022)	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	NA	Y	NA	P	
Raghupathy et al. (2023)	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	NA	Y	
S. Bhat et al. (2023)	Y	Y	Y	Y	P	N	Y	Y	Y	NA	Y	
Debnath et al. (2024)	Y	Y	Y	Y	Y	Y	P	Y	Y	NA	Y	
Kazanopoulos et al. (2025)	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	NA	Y	
Kredig et al. (2025)	Y	Y	Y	Y	Y	P	Y	Y	Y	Y	Y	

Nota. 1.Os dois grupos eram semelhantes e recrutados da mesma população?; 2.As exposições foram medidas de maneira semelhante para atribuir exposição a cada grupo?; 3.A exposição foi medida de forma válida e confiável?; 4.Os fatores de confusão foram identificados?; 5.Os fatores de confusão foram tratados de forma adequada?; 6.Os participantes estavam livres do desfecho no início do estudo?; 7.O desfecho foi medido de forma válida e confiável?; 8.O tempo de seguimento foi suficiente para que o desfecho ocorresse?; 9.O seguimento foi completo, e se não, os motivos da perda foram descritos?; 10. O estudo utilizou métodos apropriados para lidar com perdas ao seguimento?; 11.As análises foram realizadas usando métodos apropriados?; Siglas: Y – ‘sim’, N – ‘não’, P – ‘parcialmente’, NA – ‘não aplicável’ (Moola et al., 2017).

A questão 1 da ferramenta JBI (tabela 3) foi interpretada da seguinte maneira: apesar da maioria dos estudos analisados por esta ferramenta não apresentarem grupos paralelos, existe controlo da amostra intraindividual fornecido pela primeira colheita, realizada antes da intervenção em questão (tratamento ortodôntico), assim sendo, os grupos que apresentem este controlo são alocados com ‘Y’. Caso a primeira colheita seja efetuada apenas após a intervenção, a questão 1 é considerada ‘NA’.

Dos estudos avaliados quanto ao risco de viés obteve-se:

- 14 com baixo risco de viés, nomeadamente: Lin et al. (2020), Nunes et al. (2017), Cazzola et al. (2024), Huang et al. (2021), Silva Andrade et al. (2018), Kredig et al. (2025), Chami et al. (2018), Kazanopoulos et al. (2025), Sagar S. Bhat et al. (2023), Mohammed-Salih et al., (2023), Raghupathy et al. (2023), Al-Khatieeb et al. (2018), Debnath et al. (2024), Polizzi et al. (2024);

- 7 com moderado risco de viés: Castroflorio et al. (2017), Padisar et al. (2018), Bint Aziz et al. (2020), Mohd Nasri et al. (2020), Bozkaya et al. (2021), Sioustis et al. (2021), Kumar et al. (2022);
- 0 com alto risco de viés;
- 0 com risco crítico de viés.

3.3 Análise de *outcome*

Analisando individualmente cada estudo e os resultados obtidos pelos autores, foi possível alocar os resultados em dois grandes grupos, segundo o *outcome*:

1. Estudos em que os autores concluíram a utilidade dos biomarcadores estudados como ferramenta de predição, otimização ou monitorização do TO – correspondem a 11 artigos, listados no quadro 4 e categorizados pela utilidade clínica proposta pelos autores.
2. Estudos em que os autores concluíram a falta de significância dos resultados, ou que não correlacionaram os achados com a utilidade dos biomarcadores estudados como ferramenta de predição, otimização ou monitorização do TO – correspondem a 10 artigos, alocados no quadro 5.

Quadro 4

Estudos incluídos na revisão em que os autores concluíram a utilidade dos biomarcadores estudados como ferramenta de predição, otimização ou monitorização do TO.

Al-Khatieeb et al. (2018)	Biomarcador de otimização	<ul style="list-style-type: none">• ALP e LDH alteram-se com a remodelação óssea, sendo que podem ser utilizados para determinar a magnitude da remodelação e a maturidade esquelética em jovens na fase inicial e intermédia da puberdade (9-12).
Mohd Narsi et al. (2020)	Biomarcador preditivo	<ul style="list-style-type: none">• As proteínas S100A9, IGJ, HSPA1A, IGHV4-34, TYMP e VTN aumentaram na fase inicial do TO. Essas proteínas destacam-se como potenciais biomarcadores para a deteção precoce da RRIO.
Huang et al. (2021)	Biomarcador preditivo	<ul style="list-style-type: none">• CEMP-1 e DPP podem ser usados para detetar precocemente RRIO;• Indivíduos com níveis elevados de CEMP-1 em fases iniciais do TO podem ser mais sujeitos a RRIO.
Siousitis et al. (2021)	Biomarcador de monitorização	<ul style="list-style-type: none">• MMP-8 e MMP-9 mostraram correlações positivas significativas com o sangramento à sondagem e podem ser usados para monitorizar o estado periodontal em pacientes em TO.
Kumar et al. (2022)	Biomarcador de monitorização	<ul style="list-style-type: none">• A concentração de IL-1β aumentou nas primeiras 24h após o TO.• Adolescentes tem níveis superiores de IL-1.• A eficiência do TO pode ser monitorizada por análise de IL-1.
Mohammed-Salih et al. (2023)	Biomarcador preditivo	<ul style="list-style-type: none">• O aumento dos biomarcadores IGKC, NGAL, NEUL, K2C1, S100-A9 e CASR relacionou-se com RRIO.
S. Bhat et al. (2023)	Biomarcador de monitorização	<ul style="list-style-type: none">• BDNF correlacionou-se com as escalas de dor utilizadas (VAS, VRS, NRS e MPQ).
Cazzolla et al. (2024)	Biomarcador de otimização	<ul style="list-style-type: none">• Todos os biomarcadores avaliados aumentaram significativamente a concentração, TRAcP aumentou mais rápido, enquanto P1NP aumentou mais tarde.• Pode ajudar a selecionar a carga mais adequada, ajustando o tempo de tratamento.
Polizzi et al. (2024)	Biomarcador preditivo	<ul style="list-style-type: none">• Os biomarcadores miRNA -7, -21, -100, -125 e -200 correlacionaram-se com a quantidade geral de MDIO;• Níveis basais elevados de miRNA -7a23p, -21-5p, -200b3p e reduzidos de -125b-2-3p são preditivos de maior MDIO (em 3 meses de follow-up).
Kazanopoulos et al. (2025)	Biomarcador de monitorização	<ul style="list-style-type: none">• A diminuição de hsa-miR-4634 modula a função osteoclástica, podendo ser usado para monitorizar a remodelação óssea.
Kredig et al. (2025)	Biomarcador de monitorização	<ul style="list-style-type: none">• MMP8 correlaciona-se com a inflamação gengival (Índice Lõe Silness).

Quadro 5

Estudos incluídos na revisão que concluíram a falta de significância dos resultados ou que não correlacionaram os achados com a utilidade dos biomarcadores estudados como ferramenta de predição, otimização ou monitorização do TO.

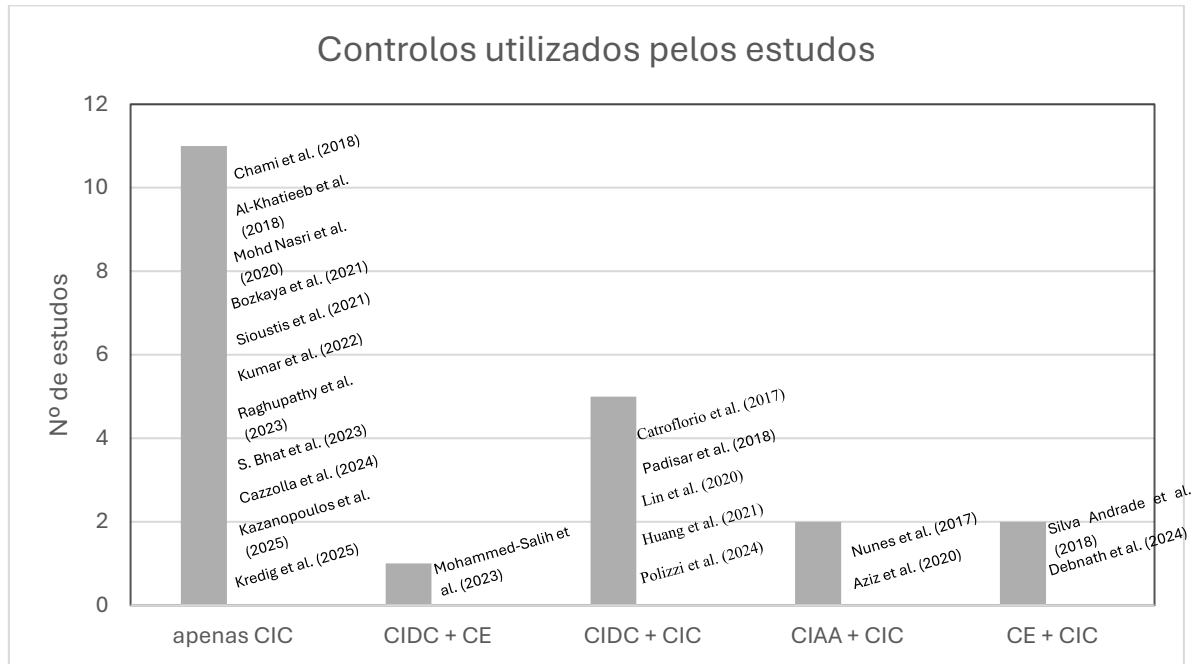
Catroflorio et al. (2017)	<ul style="list-style-type: none">O estudo relacionou RANKL, OPG, OPN, IL-1β e TGF-β1 com o processo biológico associado ao MDIO com alinhadores, no entanto, não concluiu a sua utilidade como biomarcadores.
Nunes et al. (2017)	<ul style="list-style-type: none">Os dentes do GT não mostraram mudanças significativas nos biomarcadores IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17, IFN-g, GM-CSF, MCP-1, MIP-1b e TNF-a ao longo do tempo.
Chami et al. (2018)	<ul style="list-style-type: none">Não foram tiradas conclusões acerca da possível utilidade de (IL)-β, (IL)-7, (IL)-8, (IL)-17, G-(CSF), GM-(CSF), (MCP)-1, (MIP)-1β e (TNF)-α como biomarcadores.
Padisar et al. (2018)	<ul style="list-style-type: none">O estudo concluiu a imprecisão de analisar separadamente locais de pressão e tensão.
Silva Andrade et al. (2018)	<ul style="list-style-type: none">A correlação entre capacidade mastigatória e dor (escala VAS) com os biomarcadores salivares estudados (cortisol, cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio) não foi significativa, exceto para α-amilase às 24h, no entanto, os autores assumem <i>a priori</i> o seu valor como biomarcador de dor.
Aziz et al. (2020)	<ul style="list-style-type: none">Os autores não esclareceram o papel de IL-1β como biomarcador.
Lin et al. (2020)	<ul style="list-style-type: none">O estudo demonstra o envolvimento de células Th17 (produtoras de IL-17, IL-23 e IL-27) no MDIO, nomeadamente no sistema RANK/RANKL/OPG, não esclarecendo a função como biomarcadores.
Bozkaya et al. (2021)	<ul style="list-style-type: none">HSP70, TLR-4 e IL-1β aumentaram, mas autores do estudo não concluem função de biomarcador.
Raghupathy et al. (2023)	<ul style="list-style-type: none">Não foi encontrada correlação estatística entre PGE2 e escala VAS (intensidade de dor) na fase inicial do TO.
Debnath et al. (2024)	<ul style="list-style-type: none">TNF-α, MMP-9, IL-6, TGF-β1 e PGE2 tem fraco valor preditivo para hiperplasia gengival.

3.4 Análise de controlos utilizados

Os estudos incluídos nesta revisão apresentam abordagens heterogêneas em relação ao tipo de controlo utilizado. Apenas um artigo - Mohammed-Salih et al. (2023) - não possui controlo interno de colheita (CIC), ou seja, não foi feita avaliação do FCG/saliva antes da aplicação do TO, no entanto tinha controlo externo (CE) e controlo interno – dente contralateral (CIDC). Dos restantes que apresentam CIC, a separação foi feita em mais 4 categorias; os que apenas incluem CIC (11), os que incluem CIC e CIDC (5), os que incluem CIC e controlo interno – arcada antagonista (CIAA) (2) e os que incluem CE e CIC (2). As categorizações descritas e o nome dos artigos alocados em cada categoria encontram-se disponíveis no gráfico 1.

Gráfico 1

Tipos de controlo utilizados nos estudos incluídos na revisão



Nota. CIC: controlo interno de colheita (colheita antes do TO), CE: controlo externo, CIDC: controlo interno - dente contralateral (“split-mouth”), CIAA: controlo interno - arcada antagonista.

3.5 Síntese dos artigos

Os seguintes quadros dizem respeito à síntese dos 21 artigos: o quadro 6 é referente aos artigos que utilizam FCG como meio diagnóstico e o quadro 7 aos que utilizaram a saliva como meio diagnóstico. Ambos os quadros estão ordenados primariamente por ano de publicação e secundariamente por autor principal, por ordem alfabética.

Quadro 6

Sumário dos artigos que utilizam como meio diagnóstico o FCG

Título / país	Tipologia controle	Biomarcadores estudados	TO aplicado	Composição da amostra	Grupos	Colheitas: n° e momentos	Método de colheita	Método de processamento	Resultados
Catrorflorio et al. (2017) Itália	ensaio clínico randomizado controle: CIC + CIBC	RANKL OPG OPN IL-1β TGF-β1	Alinhadores invisíveis - Invisalign®, Align Technology, USA. No período de estudo, distalizou-se apenas um 2º molar (GT), 0,25 mm - 1 alinhador por 3 semanas.	n=10 (5 ♀/5 ♂) dade: [-], média 22.3	GT: um 2º molar sup. (aleatório) distalizado GC: 2º molar contralateral	4 T0: 1h antes do TO T1: 1h após colocação do alinhador T2: 7 dias T3: 21 dias	2 semanas antes de T0: profilaxia + instruções de HO. A cada visita foi determinada inflamação gengival. Protocolo: IR; jato de ar; inserção de Perio-Paper™ (OraFlow, NY, USA) em MV (tensão) e DV (pressão) de GT e GC (1mm, 30").	O volume foi calculado com um calibrador. Dissolução em tampão; centrifugação (13000g, 15', a 4°C). Armazenamento a -80°C. Kits ELISA comerciais - em duplicado.	<ul style="list-style-type: none"> • Não houve alterações periodontais, nem ao logo do tempo, nem entre GC e GT • Não houve variação de volume entre GT e GC e entre D e M. • IL-1β aumentou em local de P em T2 e T3. TGF-1β e OPN aumentaram no GT, em local de T em T3. OPG diminuiu (em T e P) no GT em T2 e T3. RANKL aumentou em T e P em T1 e T2
Nunes et al. (2017) Brasil	ensaio clínico, NR controle: CIAA + CIC	IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17 IFN-g, GM-CSF MCP-1 MIP-1b TNF-a	Foi utilizado um sistema multibrackets de Roth, em ambas as arcadas, sendo que só a arcada superior levou elásticos modulares. Estas condições foram mantidas até ao fim do estudo.	n=15 (6 ♀/9 ♂) dade: [11,17], média 13.9	GT: dentes anteriores inferiores GC: dentes anteriores superiores	4 T0: antes do TO; T1: 1 dia após T2: 7 dias após T3: 21 dias após	Instruções de HO 1 semana antes de T0. Avaliações periodontais rigorosas em todos os T's. Protocolo: remoção de placa; IR; jato de ar; inserção de Periopaper (IDE, NY, EUA) a vestibular de todos os IC e um IL por arcada (1-2 mm profundidade, 30"). Armazenadas a -80°C.	Dissolução em tampão; centrifugação (8000 rpm, 5'). Imunoensaio por microesferas com leitura por citometria de fluxo (Luminex).	<ul style="list-style-type: none"> • Os níveis de IL-12 não sofreram alterações entre os grupos e ao longo do tempo • No GC, observou-se diminuição ao longo do tempo dos biomarcadores, especialmente em T2. No GT não ocorreram mudanças significativas nos biomarcadores ao longo do tempo • Em T2, o GT apresentou níveis maiores de IL-6, GM-CSF, MCP-1 e TNF-α, enquanto nos outros momentos não houve diferença entre grupos.
Chami et al. (2018) Brasil	estudo observacional, NR controle: CIC	(IL)-β, (IL)-7, (IL)-8, (IL)-17 G-(CSF) GM-(CSF) (MCP)-1 (MIP)-1β (TNF)-α	Alinhadores invisíveis - Invisalign®, Align Technology, USA. Usou-se apenas 1 alinhador durante as 3 semanas e não houve adesão nem desgaste interproximal.	n=11 (6 ♀/5 ♂) dade: [-], média 23		4 T0: antes do TO; T1: 24h após colocação do alinhador T2: 7 dias após T3: 21 dias após	Instruções de HO: 1 semana antes e durante o estudo. Foi feita avaliação periodontal em dias de colheita. Protocolo: Remoção de placa; IR; jato de ar; inserção de Periopaper (IDE, NY, EUA) a V do 31, 41 e 42 (1-2 mm, 30"). Colheita duplicada e armazenada a -80°C.	Tecnologia multi-análises Luminex - imunoensaio semelhante a ELISA que utiliza micropartículas coloridas, anticorpos específicos e fluorescência para detetar várias moléculas ao mesmo tempo.	<ul style="list-style-type: none"> • A percentagem de locais com placa visível e BoP diminuíram ao longo dos 21 dias do estudo • Não houve alterações significativas ao longo do tempo para todos os biomarcadores exceto para o MIP-1β, que atingiu o pico em T2 • Houve diminuição (não significativa) de todos os restantes biomarcadores
Padisar et al. (2018) Irão	Ensaio clínico randomizado controle: CIC + CIBC	TNF-α IL-6	TO fixo com extração do 14 e 24: banda nos molares sup. e arco transpalatino; brackets nos 2ºs PMS e caninos: distalzação dos caninos no GT: 150g de força com modificações - dobras gable e anti-rotação - para evitar inclinação e rotação.	n=10 (6 ♀/4 ♂) dade: [10,21], média 16.1	GT: canino sujeito ao MDIO GC: canino contralateral, não sujeito ao MDIO	3 T0: 1 semana após as extrações e antes da aplicação do TO T1: 1h após T2: 28 dias após	Instruções: Antes do estudo, todos os participantes foram submetidos à fase I do tx periodontal e fizeram bochechos de CHX por 2 semanas. Instruções de HO: técnica de escovagem Bass e uso correto de fio dental. Protocolo: IR; jato de ar; inserção de Perio-Paper™ (OraFlow, NY, USA) no sulco M + D (até ligeira resistência, 30"). Armazenadas a -20°.	Dissolução em solução tampão; centrifugação (2000g, 4°C, 5'); divisão do sobrenadante em 2 alíquotas e análise por Kits comerciais ELISA; coloração; determinação da DO a 450nm e concentração de cada citoquina.	<ul style="list-style-type: none"> • Não se verificaram alterações estatisticamente significativas ao longo do tempo em nenhum dos momentos • Apesar de não se tirar conclusões estatisticamente significativas, ambas as citoquinas aumentaram em T2 no local de tensão do T (comparado com o local de P), demonstrando a sua importância no processo de remodelação
Aziz et al. (2020) Índia	estudo clínico, NR controle: CIAA + CIC	IL-1β	Alinhadores invisíveis K line Europe®: apenas 1 alinhador durante as 3 semanas (sem adesão ou desgaste interproximal)	n=10 (- ♀/- ♂) dade: [-], média -	GT: arcada inf. (TO aplicado) GC: arcada sup. (sem TO).	5 T0: antes do TO; T1: 1 dia após T2: 3 dias T3: 7 dias T4: 21 dias	4 semanas antes do início foi feita profilaxia e avaliação periodontal. Instruções de HO. Instruções: secagem; IR; inserção de periopaper a DV dos incisivos a uma (1mm, 60").	Centrifugação da amostra com tampão; sobrenadante utilizado pelo kit comercial ELISA.	<ul style="list-style-type: none"> • O pico de aumento de IL-1β foi entre T0 e T1, sendo que se manteve elevado até T3 • Aumento significativo de T0 para os restantes T's de colheita, (comparamos com GC)
Lin et al. (2020) China	Ensaio clínico, NR controle: CIC + CIBC	citoquinas TH17: IL-17 IL-23 IL-27	TO fixo com extração do 14 e 24. Distalzação do 13 ou 23: carga de 150g.	n=30 (23 ♀/7 ♂) dade: [12,20], média -	GT: canino sujeito ao MDO GC: canino contralateral, não sujeito ao MDO	6 T0: aplicação TO T1: 1 hora após T2: 24h após T3: 1 sem. após T4: 4 sem. T5: 12 sem.	Protocolo: remoção de placa; IR; inserção de Periopaper (NY, EUA), de ambos os lados do dente (pressão e tensão), 30". Após calculado o volume, a amostra foi colocada a -80°C.	Kits comerciais ELISA - análises feitas em duplicado.	<ul style="list-style-type: none"> • IL-17A e RANKL aumentaram progressivamente entre T2 e T4 em P e T e IL-27 diminuiu de T1 a T4 (comparando com níveis basais) • Em T5, todos os valores de biomarcadores retornaram aos níveis iniciais. No GC, as citoquinas não se alteraram. • IL-17A, IL17F e IL-23 estão positivamente correlacionadas com o RANKL e IL-27 apresenta uma correlação negativa. • Isto sugere que as citoquinas TH17 poderão ter um papel importante no sistema RANK/RANKL/OPG

Biomarcadores no tratamento ortodôntico: uma revisão sistemática para otimização da eficiência terapêutica

Título / país	Tipologia de controle	Biomarcadores estudados	TO aplicado	Composição da amostra	Grupos	Colheitas: nº e momentos	Método de colheita	Método de processamento	Resultados
Mohd Nasri et al. (2020)	estudo observacional, NR	Abundância proteica	Todos os participantes já utilizavam aparelho fixo <i>multibrackets</i> superior e inferior.	n=10 (9 ♀/1 ♂) idade: - média -		4 T0: antes do início do TO T1: 1 mês após T3: 3 meses após T6: 6 meses após	Protocolo: IR; jato de ar; inserção de PerioPaper (ProFlow, NY, EUA) no sulco gengival a distal do ICS (1-2 mm de profundidade, 60°) - procedimento repetido 3x com intervalos de 60". As tiras foram alocadas com inibidores de protease. Radiografias foram tiradas em T0 e T6.	Processo de centrifugação, extração, digestão das proteínas (com tripsina) e separação, seguido de eletroforese, espectrofotometria e identificação por software, separando as proteínas por função.	<ul style="list-style-type: none"> Foram identificadas, no total, 815 proteínas no FCG, das quais 186 foram comuns a todos os T's Da análise estatística, 16 proteínas alteraram significativamente S100A9, AZGP1 e IGF aumentaram progressivamente de T0 a T6 e HSPA1A, IGHV4-34, TYMP e VTN também aumentaram no período de estudo Essas proteínas destacam-se como potenciais biomarcadores para a detecção precoce da RRIO As restantes (dentro das 16), diminuiram
Bozkaya et al. (2021)	ensaio clínico, NR	HSP70 TLR-4 IL-1β	Bandas de prescrição <i>Roth</i> foram colocadas no 16 e 26 e <i>brackets</i> de metal no 13,15, 23 e 25 (sem ativação). No mesmo dia, extraiu-se o 14 e o 24. Após 1 mês, molas de retração canina foram ativadas: 100g de força (única ativação)	n=20 (12 ♀/8 ♂) idade: [12,18], média 14,75		6 T1: antes do início do TO T2: 30 dias após a extração e 1h após ativação do TO T3: 4 dias após T4: 7 dias após T5: 14 dias após T6: 30 dias após	Instruções: não comer, beber ou usar produtos de HO 1h antes. A cada colheita é feita avaliação da HO. Protocolo: IR; secagem ao ar; inserção de PerioPaper (ProFlow, NY, EUA) no sulco gengival a distal do 13 (1mm de profundidade, 30°). Foram descartadas tiras contaminadas com sangue/saliva.	O volume do fluido foi calculado com um calibrador. Foram utilizados kits comerciais ELISA, seguido de medição da densidade ótica.	<ul style="list-style-type: none"> Os níveis de HSP70 aumentaram progressivamente de T1 a T6, sendo que comparando com T1, T5 aumentou para 2x e T6 para 3x TLR4 aumentou de T1 a T3 e depois manteve-se relativamente constante. IL-1β aumentou progressivamente de T1 a T6
Huang et al. (2021)	ensaio clínico, NR	CEMP-1 DPP CTX-I	Ao GT foi aplicada uma força de inclinação vestibular de 100g. O MDIO foi realizado com uma mola tipo cantilever, com uma extremidade presa à face V do GT e a outra a um mini-implante. Bite blocks foram utilizados nos 1ºs molares para evitar interferências oclusais.	n=11 (7 ♀, 4 ♂) idade: [18,3,37,7], média 23,5	GT: PM submetido a MDO GC: PM contralateral sem MDIO	6 T0: antes da colocação do TO T1: após 1 dia T2: após 1 sem. T3: após 2 sem. T4: após 4 sem. T5: após 8 sem.	A cada colheita é feita a avaliação periodontal. Protocolo: remoção de saliva e placa; IR; jato de ar; inserção de PerioPaper (Oraflow, NY, EUA) no sulco gengival em 4 locais (até sensação de ligeira resistência, 30°) - procedimento repetido 2x com intervalos de 5'.	Foram utilizados kits comerciais ELISA para determinar concentração de cada biomarcador. Foi feito um scan MICRO-CT para avaliar extensão da reabsorção radicular. Foi feita observação histológica com H&E e coloração IHQ, cuja intensidade de coloração foi calculada por software. Também foram obtidos modelos 3D em T0 e T5 para medir o movimento dentário.	<ul style="list-style-type: none"> CEMP-1 aumentou até T5, onde atingiu o pico; DPP diminuiu em T2 e CTX-I aumentou em T4 Alterações de CEMP-1 e DPP relacionaram-se com o volume de RRE - os níveis de CEMP-1 estavam mais fortemente associados. O MDIO foi superior no GT, bem como o volume de RRE (lacunas maiores), no entanto, em ambos os grupos o volume de RRE foi <1mm3 A nível histológico, foi possível detectar reparação pelos cementócitos em ambos os grupos IHQ: observou-se concentração de CEMP-1 no LP, perto das crateras de reabsorção, DPP em tubulos dentinários, especialmente em áreas onde a RRE atinge a dentina e CTX-I apresentou distribuição homogênea entre GC e GT
Kumar et al. (2022)	estudo observacional, NR	IL-1 IL-6	Sistema <i>multibrackets</i> , desenhado de acordo com a maloclusão em causa.	n=20 (10 ♀/10 ♂) idade: [11,28], média -	A: grupo de adolescentes (11 - 16 anos) AJ: grupo de adultos jovens (17 - 28 anos)	2 T0: 24h antes de aplicar o TO T1: 24h após aplicação do TO.	A colheita foi realizada a D do canino. Foi determinado o volume de FCG e as tiras contaminadas foram descartadas.	kits comerciais ELISA.	<ul style="list-style-type: none"> os níveis de IL-6 detetados foram inferiores a IL-1β e não foram considerados pois há muitos valores abaixo do nível de detecção Tanto o volume de FCG como a concentração de IL-1β aumentaram em T1 (comparado com T0) Tanto o volume do FCG como a concentração de IL-1 aumentaram em T1 e os valores foram sempre superiores no grupo mais jovem, sugerindo maior propensão a mobilidade dentária
Mohammed-S alih et al. (2023)	ensaio clínico randomizado	Nenhum <i>target</i> específico. Incluem-se IGKC, NGAL, NEUL, K2C1, S100-A9, CASR.	TO fixo com molas cantilever entre o 1º molar e o 1º PM e um arco transpalatino para estabilização, aplicando forças leves ou pesadas. A mordida foi levemente aberta para evitar pressões extra. Nada foi colado na arcada inferior durante o estudo.	n=36 (OG: 11; CP: 8 ♀/OG: 7; CP: 10 ♂) idade: [18,32], média OG: 21,1; CP: 46,5	OG: grupo ortodôntico (n=18) [2 subgrupos: HF e LF] CP: pacientes com periodontite (n=18).	6 T1: 1h T2: 1 dia T3: 7 dias T4: 14 dias T5: 21 dias T6: 28 dias.	Método de colheita infracavicular, no período entre as 9h e as 14h30. Usou-se tiras Perio-Paper™ para pacientes saudáveis e PerioColpaper™ para pacientes periodontais (OraFlow Inc. New York, USA). A colheita foi realizada em 4 locais por dente (MB, DB, MP, DP).	As tiras processadas, armazenadas e analisadas: Ensaio de Bradford para quantificação de proteínas; SDS-PAGE para verificar a integridade das proteínas; Eletroforese bidimensional + espectrometria de massa para identificação das proteínas presentes. Em T6: 14 e 24 extraídos para determinar área de RRE: HR ou LR.	<ul style="list-style-type: none"> No grupo HF houve maior reabsorção em BA, PC, PA e BC (sendo os 2 últimos os locais com percentagem de reabsorção mais significativa - 37 e 29%, respetivamente) No grupo LF estes locais apresentaram reabsorção inferior a 2% Quanto à concentração proteica no FCG, o pico foi aos 14 dias (T4) para o grupo HR e aos 21 dias (T5) para o LR As concentrações mais baixas para ambos os grupos foram em T2 e T6 As proteínas identificadas em ambos os grupos foram IGKC, IGKC isoforma, NGAL, NEUL, K2C1, K2C1 isoforma, S100-A9, CASR. As proteínas em que se identificaram alterações estão envolvidas na defesa, reconhecimento celular, resposta imune inata, metabolismo de peptídeos (...)
Raghupathy et al. (2023)	Estudo observacional, NR	PGE2	O 14 e o 24 foram extraídos no mesmo dia. Os <i>brackets</i> foram aderidos 7 dias após extração, precedidos de profilaxia. Uma força distal padronizada de	n=22 (15 ♀/7 ♂) idade: [14,24], média 21		4 T0: 1h antes T1: 24h após TO T2: 48h após T3: 72h após	Instruções: não comer, beber (exceto água) ou efetuar HO 1h antes. Protocolo: IR; remoção de placa supragengival com algodão; secagem ao ar; colheita com pipetas microcapilares calibradas (5 µl) -	Dissolução em tampão; centrifugação (1000rpm, 15'). kit comercial ELISA (PGE2); DO calculada para 450nm.	<ul style="list-style-type: none"> A concentração de PGE2 aumentou até T2 (pico) e sofreu um declínio em T3 VAS também aumentou de T0 a T2 (pico) e diminuiu em T3 A análise de correlação entre as variáveis mostrou correlação fraca de T0 para T1, no entanto, nos outros intervalos não se verificou correlação

Biomarcadores no tratamento ortodôntico: uma revisão sistemática para otimização da eficiência terapêutica

Titulo / país	Tipologia de controle	Biomarcadores estudados	TO aplicado	Composição da amostra	Grupos	Colheitas: nº e momentos	Método de colheita	Método de processamento	Resultados
	CIC		100g foi aplicada aos caninos sup. por meio de molas.				<i>Sigma-Aldrich Chemical Company</i> (St. Louis, MI). A ponta da micropipeta capilar foi colocada extracrevicularmente por 5" e 3 µl de GCF foram coletados a DV do 13.	A intensidade subjetiva de dor foi avaliada pela escala VAS (0-10) em cada T.	<ul style="list-style-type: none"> As concentrações de PGE2 tem uma relação fraca com as classificações na escala VAS
Debnath et al. (2024)	ensaio observacional, NR	Nenhum target específico. Incluem IL-6, TGF-1β, TNF-α, MMP-9, PGE2.	TO fixo.	n=129 (65 ♀/64 ♂) idade: [18,30], média 25.1 G1, 28.5 G2, 27.68 G3	1: GC (n=18) 2: TO sem HG (n=89); 3: TO com HG (n=22).	2 T0: antes do início do TO T1: 1 ano após o início do TO.	Instruções: não comer 8h antes. Protocolo: isolamento relativo; jato de ar; inserção de PerioPaper (Mani Inc., Utsunomiya, Japan), em distal de todos os dentes maxilares a partir dos 1ºs PM (10 total), 30". Foram descartadas amostras contaminadas de sangue/saliva.	A tira foi colocada num tubo com uma solução tampão, seguindo-se a centrifugação. O precipitado foi armazenado a -80°C para posterior avaliação com ELISA.	<ul style="list-style-type: none"> A maioria dos casos de HG foi na região do 2º PM em T1 houve diferenças significativas entre todos os grupos, tanto de biomarcadores como de índices (gingival e periodontal) PI e Gi e concentração de biomarcadores foram mais altos no G3, seguido de G2, apresentando G1 os valores mais baixos. O Gi demonstrou a relação mais robusta com HG, enquanto os biomarcadores mostraram fraco valor preditivo.
Polizzi et al. (2024)	Ensaio clínico randomizado	microRNAs	Aparelho fixo tipo Roth: aplicação de força ortodôntica controlada por meio de molas fechadas: 150g de força para distalização de um dos caninos (seleção aleatória)	n=21 (11 ♀/10 ♂) idade: [10,18], média 13.2	GT: canino submetido a distalização GC: canino contralateral sem MDIO	5 T0: antes do OTM; T1: 1 h após T2: 1 dia T3: 1 mês T4: 3 meses	Colheita entre as 9 e 11h. Instruções: não comer, beber e/ou lavar os dentes 6h antes. Protocolo: avaliação periodontal, remoção de saliva e placa; IR; jato de ar; inserção de Periapaper (Orflow, NY, EUA), 30". As amostras foram armazenadas a -80°C.	Extração de RNA total com kit TRIzol, síntese de cDNA (transcrição reversa) com miRCURY LNA RT kit e quantificação dos miRNAs por RT-PCR.	<ul style="list-style-type: none"> os níveis de miRNAs foram significativamente alterados após o MDIO, com mudanças expressivas no lado da tensão e compressão já em T1 e T2 Associou-se o aumento da expressão de miR-7a-3p, miR-21-5p e miR-200b-3p e níveis baixos de -125b-2-3p com o aumento do MDIO aos 3 meses
Kredig et al. (2025)	estudo observacional, NR	MMP8	Invisalign® (Teen, Align Technology, USA): utilização mínima de 22h/dia, 7 dias por alinhador. Higiene feita com água corrente ou escova.	n=50 (23 ♀/27 ♂) idade: [11,17], média 13.3		6 T0: antes do TO T1: 4 sem. após T2: 6 meses T3: 12 meses T4: 18 meses T5: 1 ano após fim do TO	Instruções: 24h antes das colheitas não fazer HO. Destarizações a cada T. Colheita em dentes Ramfjord (16, 12, 24, 36, 32, 44), inserção de tiras de papel (30"), em M para detetar as 11 bactérias e em D para determinar MMP-8.	ensaio imunoenzimático "dentoELISA aMMP-8"	<ul style="list-style-type: none"> O IG Lõe-Silness apresentou uma associação significativa com MMP8. MMP-8 não alterou significativamente a sua concentração ao longo do estudo. Os autores apontam como possível justificação o facto de o aparelho não restringir HO A concentração de MMP8 não se relacionou com a predisposição genética A inflamação periodontal não aumenta em adolescentes que estão a fazer TO com alinhadores

Nota. BoP- *bleeding on probing*; CIC – controlo interno de colheita; CIAA – controlo interno, arcada antagonista; CIDC – controlo interno, dente contralateral; CE – controlo externo; D – distal; g – grama-força; GC – grupo controle; GT – grupo teste; H&E – coloração histológica de hematoxilina-eosina; IHQ – imunohistoquímica; IG – índice gengival; M – mesial; NR – não randomizado; P – local de pressão; PM – pré-molar; rpm – rotações por minuto; T – local de tensão; V – vestibular.

Biomarcadores no tratamento ortodôntico: uma revisão sistemática para otimização da eficiência terapêutica

Quadro 7

Sumário dos artigos que usam como meio diagnóstico a saliva.

Título / país	Tipologia de controle	Biomarcadores estudados	TO aplicado	Composição da amostra	Grupos	Colheitas: nº e momentos	Método de colheita	Método de processamento	Resultados
Kazanopoulos et al. (2025)	Estudo observacional, NR	microRNAs (miRNAs) derivados de exossomas salivares, com foco especial no <i>hsa-miR-4634</i>	TO fixo pré-ajustado a unir 4 incisivos maxilares e 2 1 ^{os} molares maxilares.	n=15 (6 ♀/9 ♂)		3 T0: antes do início do TO T1: dia 7 após o TO T2: dia 40	Os pacientes mastigaram parafilm para estimular a produção de saliva; fluido recolhido em intervalos de 30", até obter 5ml. A colheita foi feita à mesma hora para todos os participantes. Instruções: não mastigar pastilha elástica, lavar os dentes, comer ou beber 1h30 antes.	Centrifugação em diferentes velocidades para remoção de detritos, armazenamento a -80°C, isolamento de exossomas e sequenciamento de miRNA (Illumina NextSeq 500/550)	<ul style="list-style-type: none"> Foi detetada a redução significativa do miRNA <i>hsa-miR-4634</i> após 40 dias de tratamento ortodôntico Outras alterações em miRNAs foram observadas, mas não foram estatisticamente significativas Análises de enriquecimento genômico indicaram envolvimento de miRNAs no processo de diferenciação osteoblástica e osteoclástica.
S. Bhat et al. (2023)	Estudo observacional, NR	CGRP e BDNF	TO fixo - <i>multibrackets</i> . Após a realização de extrações de PM's, foi colado um arco na fase de alinhamento e nivelamento.	n=40 (32 ♀/8 ♂)		5 T0: antes do TO T1: 24h após TO T2: 48h após TO T3: 72h após TO T4: 168h após TO	Todos os participantes foram aconselhados a não comer, beber ou lavar os dentes 1h antes da colheita e não consumir álcool ou alimentos ricos em trptofano 24h antes. Foram dadas instruções detalhadas de HO e uma solução de CHX a 0,2% para uso bidário. A amostra colhida foi saliva não-estimulada.	Kits comerciais ELISA, seguido de medição da densidade ótica.	<ul style="list-style-type: none"> Houve mudança significativa na intensidade da dor ao longo do tempo Não houve diferença significativa de CGRP entre os diferentes períodos testados. Comparando com escalas de dor, o biomarcador BDNF correlacionou-se negativamente com a escala NRS, VRS e VAS em T3 e T4 e com a escala MPQ em T1. O gráfico da concentração média de BDNF mostrou um padrão semelhante à escala de intensidade de dor subjetiva.
Cazzolla et al. (2024)	Ensaio clínico, NR	PINP, TRAcP e PTHrP	TO fixo - técnica de Roth. A força de ativação foi de 80g e não foi alterada.	n=25 (10 ♀/15 ♂)		3 T1: antes do TO T2: 25 dias após TO T3: 45 dias após TO	Salivette® (Sarstedt) com zaragatoa; salivação passiva. Amostras colhidas com supervisão e após 2h de jejum, lavagem da boca sem desinfetantes/culatórios e exame oral. Foram excluídas amostras que na espetofotometria apresentassem Hgb.	PTHrP e TRAcP (isoforma 5b) ELISA competitivo; PINP: ensaio de quimioluminescência. Em T1 e T2: scans intraorais digitais para avaliar a correção do apinhamento dentário. Pacientes com melhora do apinhamento >0,5 mm foram excluídos pois este valor ultrapassa a precisão do scanner.	<ul style="list-style-type: none"> Todos os biomarcadores avaliados aumentaram significativamente a concentração de T1 para T3 em 24 sujeitos TRAcP aumentou mais rapidamente (T1 para T2), enquanto PINP alterou a sua concentração mais tarde como consequência de nova formação óssea Ausência de variação regular e específica do PTHrP. A variação inespecífica e inter-indivuos suporta a hipótese de uma secreção parácrina da hormona, com ação reguladora local em vez de ação direta sobre o osso
Sioustis et al. (2021)	Ensaio clínico, NR	MMP-8 e MMP-9	TO fixo - <i>multibrackets</i>	n=111 (- ♀/- ♂)	GS: saudáveis (BOP<10%) GL: gengivite local (10%≤ BOP<30%) GG: gengivite generalizada (BOP>30%).	3 T1: antes do TO T2: 1 semana após TO T3: 1 mês após TP não-cirúrgico	Instruções de HO. Avaliação periodontal em 6 locais. Colheita: saliva não estimulada (pela manhã e antes de qualquer outro procedimento), instruindo participantes a não efetuarem HO antes. Armazenamento a -80°C.	Centrifugação e extração do sobrenadante; análise por kits comerciais ELISA.	<ul style="list-style-type: none"> Para ambos os biomarcadores, o pico foi em T2, enquanto o valor mais baixo foi em T1. MMP-8 correlacionou-se positivamente com BoP: correlação forte em T2 e T3 e média em T1 MMP-9 apresenta correlação moderada com PS em T2 e T3 Grupo GG teve níveis superiores de BOP, MMP-8 e MMP-9, seguindo-se por ordem decrescente o grupo GL e o GS. MMP-8, MMP-9 e BOP podem ser usados para avaliar o status periodontal de pacientes sujeitos a TO
Silva Andrade et al. (2018)	Estudo observacional, NR	α-amilase, cortisol, cálcio, fósforo, Magnésio, Sódio, Potássio	TO fixo	GT: n=20 (10 ♀/10 ♂) GC: n=15 (- ♀/- ♂)	GT: indivíduos com maloclusão, sujeitos a TO (n=20) GC: ausência de maloclusão (n=15).	3 T0: antes do TO T1: 24h após TO T2: 30 dias após TO	Foi colhida saliva estimulada através da mastigação, durante 2', de um rolo de algodão, que depois foi transferida para um tubo de plástico Salivette® (Sarstedt). As colheitas ocorreram entre as 8 e as 10h. Instruções: 2h antes não comer ou beber (exceto água), não fumar, exercitar ou escovar os dentes.	Centrifugação e armazena/ a -20°. α-amilase: ensaio enzimático colorimétrico, cortisol: ensaio enzimático cinético-colorimétrico, Ca ²⁺ e PO ⁴ ³⁻ : ensaio colorimétrico, Mg ²⁺ , K ⁺ e Na ⁺ : kits comerciais. Todos os eletrólitos foram lidos 2x no espetrofotômetro. Foi feita prova de mastigação e avaliação de dor - escala VAS.	<ul style="list-style-type: none"> Aumento de α-amilase em T1 (comparado com os outros T's e o GC), sugerindo que o estímulo doloroso é temporário no TO GT apresentou níveis mais baixos de sódio em todos os T's e baixo potássio em T1, (comparados com GC) A capacidade mastigatória foi mais baixa em T1 e no GT Foi encontrada correlação positiva entre VAS e performance mastigatória em T1 Não houve correlação entre PM e biomarcadores ou entre VAS e biomarcadores.

Biomarcadores no tratamento ortodôntico: uma revisão sistemática para otimização da eficiência terapêutica

Titulo / pais	Tipologia / controlo	Biomarcadores estudados	TO aplicado	Composição da amostra	Grupos	Colheitas: nº e momentos	Método de colheita	Método de processamento	Resultados
Al-Khatieeb et al. (2018)	Estudo clínico randomizado	ALP e LDH	Monobloco – realizado em laboratório pelo mesmo técnico, estandardizando o dispositivo.	n=16 (6 ♀/10 ♂)		T0: antes do TO T1: 1h após T2: 14 dias após T3: 28 dias após	Instruções: HO realizada pelos progenitores, não comer nem beber 1h antes da colheita. A saliva não estimulada (5ml) foi colocada no frio para impedir proliferação bacteriana.	Centrifugação (3000 rpm, 20'), sobrenadante congelado a -20°C. Análise enzimática cinética, por espectofotometria (Mindray, analisador químico semi-automático)	<ul style="list-style-type: none"> • Ambas as enzimas aumentaram progressivamente mas para ALP este aumento não foi significativo de T0 para T1 • Quanto há correlação entre ALP e LDH, estas não demonstraram significância em nenhum dos T's
Iraque	controlo: CIC			idade: [9,12] média -					

Nota. BoP- *bleeding on probing*; CIC – controlo interno de colheita; CIAA – controlo interno, arcada antagonista; CIDC – controlo interno, dente contralateral; CE – controlo externo; D – distal; g – grama-força; GC – grupo controle; GT – grupo teste; H&E – coloração histológica de hematoxilina-eosina; IHQ – imunohistoquímica; IG – índice gengival; M – mesial; NR – não randomizado; P – local de pressão; PM – pré-molar; rpm – rotações por minuto; T – local de tensão; V – vestibular.

4. Discussão

Da totalidade dos 21 estudos incluídos, 15 utilizaram o FCG e apenas 6 utilizaram a saliva como meio diagnóstico. A maior prevalência do FCG como meio diagnóstico é justificada na literatura, que aponta o FCG como mais sensível devido a dois fatores principais: 1) maior proximidade com tecidos periodontais e 2) menor interferência de fatores externos como HO e alimentação (Chami et al., 2018; Huang et al., 2021).

O método de colheita foi semelhante para todos os estudos que utilizaram como amostra o FCG, apresentando apenas pequenas variações no protocolo como o tempo de permanência da tira de papel esterilizada no sulco ou a repetição ou não da colheita. Quanto à recolha da amostra para os estudos que utilizaram a saliva como método diagnóstico, 2 dos 6 estudos utilizaram saliva estimulada, um através da mastigação de um rolo de algodão e outro através da mastigação de parafilme. Os restantes 4 utilizaram saliva não estimulada.

Quanto aos controlos utilizados pelos estudos, a maioria optou por ter apenas um controlo interno de colheita que, embora útil, pode não ser suficiente para eliminar completamente potenciais enviesamentos. A ausência de controlos adicionais –CIDC, CIAA ou CE – pode limitar a robustez dos resultados, dado que não se assegura o controlo de todas as variáveis intraindividuais e interindividuais, que podem influenciar a concentração dos biomarcadores. Além disso, a heterogeneidade entre os tipos de controlo utilizados entre estudos dificulta a comparação direta dos resultados.

Dos estudos avaliados, quanto ao método de processamento da amostra, o mais utilizado foi *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) sob a forma de kit comercial (12 dos artigos). Os restantes 9 artigos utilizaram métodos de quantificação do analito como: RT-PCR, sequenciamento de miRNA, eletroforese e espectrofotometria, ELISA competitivo e quimioluminescência, ensaio enzimático cinético e/ou clorimétrico, imunoensaio com microsferas e leitura por citometria de fluxo e imunoensaio tecnologia com multi-analitos.

Analisando o quadro 4 e tendo em conta que, primeiro a classificação apresentada tem por base as considerações feitas pelos autores de cada estudo e segundo não existem estudos semelhantes que permitam a comparação de dados apresentados, é possível apenas concluir o potencial clínico dos biomarcadores em causa. Destacam-se: S100A9, IGJ, HSPA1A, IGHV4–34, TYMP, VTN, CEMP-1, DPP, IGKC, NGAL, NEUL, K2C1, CASR e miRNA (-7, -21, -100, -125, -200, -7a23p, -21-5p, -200b3p e -125b-2-3p) com

potencial preditivo; TRAcP, P1NP, ALP e LDH com potencial de otimização e MMP-8, MMP-9, IL-1 β , BDNF e hsa-miR-4634 com potencial de monitorização do TO.

Importa ainda salientar que, dos biomarcadores acima mencionados, apenas 2 apresentam resultado promissor em mais do que um estudo, nomeadamente MMP-8 (Kredig et al., 2025; Sioustis et al., 2021) e S100-A9 (Mohammed et al., 2023; Mohd Nasri et al., 2020), como apresentado no quadro 4.

Uma observação transversal nos artigos analisados indica que muitos biomarcadores apresentam picos de expressão nas primeiras 24 a 72 horas após a aplicação de força ortodôntica. Esse padrão temporal foi reportado de forma consistente para IL-1 β , IL-6, PGE2 e MMP-8, sugerindo que estes refletem diretamente a fase inflamatória inicial do MDIO. Mohammed Salih et al. (2021) demonstraram que a intensidade e o tipo da força aplicada modulam a concentração destes biomarcadores, sendo as forças contínuas e pesadas associadas a respostas mais intensas. Estudos longitudinais como o de Cazzolla et al. (2024) sublinham ainda que biomarcadores como o PINP e TRAcP apresentam padrões de aumento progressivo ao longo de semanas, refletindo processos de neoformação e reabsorção óssea, respetivamente. Este padrão sugere que alguns biomarcadores são mais indicados para monitorização tardia e contínua da resposta óssea, podendo informar sobre a eficiência e segurança do tratamento a médio prazo.

A resposta biológica ao TO não depende exclusivamente do tipo de força aplicada ou do fluido biológico analisado. Os estudos incluídos na presente revisão sublinharam a influência de variáveis individuais, como a idade, o sexo, a saúde periodontal e fatores sistémicos.

Ainda dentro dos fatores interindividuais, a velocidade com que o tecido periodontal reage ao movimento depende da especificidade da alteração, bem como da variabilidade anatómica, densidade mineral óssea e variações na capacidade metabólica. Sabe-se também que o facto de haver ou não extração dentária no plano de tratamento afeta a velocidade, sendo que o movimento dentário e a remodelação óssea é mais ativa quando a extração é incluída (Ahuja et al., 2017; Gonçalves et al., 2024). Na presente revisão, apenas quatro artigos incluem no seu procedimento a extração dentária antes ou durante o TO: Padisar et al. (2018), Lin et al. (2020), Bozkaya et al. (2021) e Raghupathy et al. (2023). Estudos como Mohammed Salih et al. (2023), Kazanopoulos et al. (2025), Silva Andrade et al. (2018) e Polizzi et al. (2024) consideraram importante estabelecer um horário de colheita padronizados que prevêm a recolha do FCG em períodos específicos, com o intuito de minimizar a interferência do ritmo circadiano na concentração dos

biomarcadores analisados. Esta padronização visa reduzir a variabilidade fisiológica natural que ocorre ao longo do dia, especialmente no que respeita à expressão de mediadores inflamatórios e metabólitos, garantindo assim maior fiabilidade e reprodutibilidade dos resultados.

Nalguns artigos constou, nos critérios de exclusão, a toma de medicação durante o período de estudo ou no período precedente ao início do estudo (exigindo abstenção medicamentosa de 7 dias a 1 ano antes), pois já foram demonstradas algumas alterações na concentração de biomarcadores provocadas por determinadas medicações, de acordo com Shetty et al., referenciado em Maan e Patil (2019). Houve apenas 2 estudos que não fizeram referência a este critério: Aziz et al. (2020) e Silva Andrade et al. (2018).

Os estudos referentes a RRIIO apresentam como desvantagem o facto de esta ser uma condição multifatorial, e, como tal, a incapacidade de consideração de todos os fatores envolvidos faz com que possam ocorrer falsos-positivos na identificação de biomarcadores (Mohammed et al., 2023). Em Huang et al. (2021), é reportado que a maioria de estudos sobre RRIIO é transversal ou em animais, havendo ainda obstáculos em detetar com especificidade os *timings* e evolução da condição. Para além disto, o estudo reporta como limitação das anteriores investigações a utilização de biomarcadores inflamatórios não específicos (sem correlação com o tecido dentário).

Em S. Bhat et al. (2023) concluiu-se a correlação de BDNF com as escalas de dor utilizadas (VAS, VRS, NRS e MPQ), podendo ser de interesse investigar melhor a aplicabilidade clínica deste biomarcador para monitorização. Este tópico tem particular interesse em pacientes especiais com limitações na comunicação e incapacidade de utilizar escalas de dor tradicionais pois pode servir como indicador da dor sentida pelo paciente. Para além disso, pode introduzir a possibilidade de avaliar a dor de forma quantitativa e objetiva.

4.1 Limitações da revisão

Apesar de alguns estudos comprovarem relação significativa entre condições clínicas e concentrações de biomarcadores, a maioria dos estudos apresenta critérios estritos de inclusão e exclusão, que se por um lado diminuem o viés de confusão, por outro tornam a amostra muito homogénea qualitativamente. Assim sendo, uma maneira de contornar esta barreira seria realizar estudos mais heterogéneos, multicêntricos e com uma maior amostra.

Outra limitação do estudo do tema é a dificuldade em analisar separadamente os locais de pressão e de tensão. Apesar de alguns estudos incluídos como Castrolino et al. (2017) e Polizzi et al. (2024) detetarem resultados significativamente diferentes entre os locais de pressão e de tensão, Padisar et al. (2018) conclui que dado que a força ortodôntica provoca alteração em toda a estrutura do periodonto e o FCG circula livremente no perímetro do sulco, não é possível avaliar a atividade nos dois locais separadamente.

Segundo Kazanopoulos et al., 2025, apesar de que o FCG tem sido utilizado como fonte de biomarcadores relacionados com o movimento ortodôntico, o facto de a sua recolha em quantidade considerável ser de difícil execução clínica e o facto de a saliva representar uma fonte menos invasiva e com menos custos associados, fazem com que esta seja um tipo de amostra com maior potencial. No entanto, deve-se considerar a possível diluição dos biomarcadores na saliva, especialmente quando se procura aferir com precisão eventos biológicos específicos, como a RRIIO.

A heterogeneidade nos protocolos de colheita (ex.: 24h, 7 dias, 1 mês) representa um desafio significativo. Estudos que realizaram colheitas seriadas permitiram traçar curvas temporais mais informativas da expressão dos biomarcadores. A criação de um protocolo padronizado com pelo menos três momentos (ex.: T0 - *baseline*, T1 - 24h, T2 - 7 dias) permitiria comparação mais robusta entre estudos e aplicações clínicas futuras.

Diversos estudos apresentaram limitações relevantes como tamanhos amostrais reduzidos, falta de controlo de variáveis sistémicas e divergência nos métodos de quantificação (ELISA vs. RT-PCR vs. proteómica). A ausência de valores de referência normalizados e a inexistência de ensaios clínicos com validação longitudinal são entraves à tradutibilidade dos dados para a prática clínica.

4.2 Viés identificados

A concentração de biomarcadores de metabolismo ósseo é maior no sangue, portanto, de modo a excluir a contaminação de amostra com sangue, em Cazzolla et al. (2024), foi utilizado o método de espectrofotometria para detetar amostras que apresentassem hemoglobina, sendo estas excluídas. Os restantes estudos fazem apenas verificação visual da ausência de sangue e alguns nem mencionam este passo, podendo gerar viés na interpretação dos resultados.

A condição socioeconómica da população em estudo e o facto do tratamento ortodôntico ser participado (total ou parcialmente) ou não, poderá ser uma origem de viés e originar resultados dispares em estudos semelhantes. No estudo Kredig et al. (2025), que

relaciona inflamação periodontal com alinhadores invisíveis, os autores reportam um possível viés relacionado com a condição financeira dos pacientes, pois na Alemanha (local onde foi realizado o estudo enunciado), estes tratamentos dentários não são compartilhados, ou seja, os autores acreditam que os participantes possam ser mais motivados para manter a HO e assegurar o sucesso do tratamento.

Em Kredig et al. (2025), segundo o índice gengival de *Löe Silness*, não houve alterações significativas nos níveis de inflamação ao longo do período de estudo, enquanto em Sioustis et al. (2021), houve alteração: aumento no parâmetro utilizado para detectar inflamação (BOP) após uma semana do início do tratamento. Neste último estudo, o tratamento foi totalmente compartilhado*, o que pode sustentar a existência do viés socioeconômico. Apesar disto, ambos os estudos apresentaram correlação positiva estatisticamente significativa entre parâmetros de inflamação periodontal e o biomarcador MMP-8 para $p < 0,01$, consolidando a sua relevância.

Relativamente ao potencial diagnóstico e preditivo dos biomarcadores, vários marcadores mostraram-se promissores para monitorizar a remodelação óssea e a ocorrência de reabsorção radicular. Biomoléculas como CEMP-1, DPP e miRNAs exossomais destacaram-se como candidatos relevantes, dado o seu envolvimento direto em processos de diferenciação celular e metabolismo ósseo. Em particular, Kazanopoulos et al. (2025) sugerem que o miRNA hsa-miR-4634 pode regular a atividade dos osteoclastos, o que poderá no futuro permitir um acompanhamento personalizado da resposta biológica ao tratamento ortodôntico. Esta abordagem personalizada poderá ser particularmente útil para prevenir efeitos adversos, como a reabsorção radicular excessiva, permitindo ajustes individualizados na mecânica ortodôntica.

A comparação entre tipos de aparelhos ortodônticos também revelou diferenças relevantes. Estudos que incluíram aparelhos removíveis como o monobloco (Al-Khatieeb et al., 2018) ou alinhadores invisíveis (Chami et al., 2022) indicaram menor ativação de biomarcadores inflamatórios em comparação com os aparelhos fixos tradicionais. Estes resultados sugerem que dispositivos que promovem forças mais suaves ou intermitentes podem induzir menor inflamação e remodelação óssea mais controlada, o que poderá representar uma vantagem terapêutica em pacientes com maior suscetibilidade à RRIIO.

4.3 Sugestões de investigação futura

Muitos estudos acerca dos potenciais biomarcadores de maturação óssea como IGF-1 e fosfatase alcalina não foram abordados nesta revisão pois a maioria apresentava apenas

um momento de colheita, sendo necessário excluí-los da seleção por incumprimento de critérios de inclusão. No entanto, é importante referir a existência de consideráveis referências bibliográficas existentes neste tema que valerá a pena explorar em futuros trabalhos científicos.

A investigação futura pode focar-se na validação multicêntrica de biomarcadores específicos como CEMP-1, DPP e miR-4634. A importância de serem estudados simultaneamente vários biomarcadores prende-se com o facto de haver vários fatores que podem gerar viés de confusão como a gengivite – como sugerido por Sioustis et al. (2021), em que as concentrações de metaloproteínas MMP8 e MMP9 foram superiores no grupo com gengivite generalizada e a idade – como sugerido por Kumar et al. (2022), em que os valores de biomarcadores (IL-1 e IL-6) foram sempre mais altos no grupo mais jovem, entre outros fatores não abordados pela seleção de artigos. Assim sendo, poderá ser relevante estudar padrões mais complexos de oscilação de biomarcadores, ou seja, considerar vários tipos de biomarcadores (em termos de etiologia e função) e as suas variações ao longo do tempo. Para isso, torna-se crucial que os estudos utilizem metodologias que permitam analisar vários compostos simultaneamente, como em Nunes et al., que utilizou um painel multi-analitos que permite avaliar 17 citoquinas ao mesmo tempo.

Também seria conveniente para a prática clínica a metodologia *chair-side*: desenvolvimento de dispositivos clínicos portáteis para deteção em tempo real de respostas inflamatórias durante o TO, sem necessidade de equipamentos específicos, algo que poderia potencialmente ser atingido com ensaios imunológicos tipo ELISA, que poderiam ser disponibilizados sob a forma de kit comercial.

Biomarcadores no tratamento ortodôntico: uma revisão sistemática para otimização da eficiência terapêutica

III Conclusão

Apesar da utilização de biomarcadores estar em grande expansão em diversas áreas da medicina, a sua aplicação em ortodontia permanece ainda incipiente.

A heterogeneidade metodológica dos estudos, o reduzido número de ensaios clínicos randomizados e a ausência de padronização em relação aos tempos de colheita, TO aplicado e aos biomarcadores alvo, constituem limitações que impedem a implementação clínica rotineira destes métodos. Assim, a investigação futura deverá focar-se na validação clínica dos biomarcadores mais promissores, bem como na padronização dos métodos laboratoriais e clínicos envolvidos.

Os biomarcadores apresentam um elevado potencial para transformar o acompanhamento ortodôntico num processo mais biológico, preditivo e individualizado. Esta transformação exige ainda um esforço sistemático da comunidade científica para consolidar a sua aplicabilidade clínica com base em evidência robusta.

Os dados disponíveis apontam para um potencial promissor dos biomarcadores (na saliva e no FCG) como ferramentas para o aperfeiçoamento das intervenções ortodônticas.

Referências Bibliográficas

- Ahuja, R., Almuzian, M., Khan, A., Pascovici, D., Dalci, O., & Darendeliler, M. A. (2017). *A preliminary investigation of short-term cytokine expression in gingival crevicular fluid secondary to high-level orthodontic forces and the associated root resorption: case series analytical study*. <https://doi.org/10.1186/s40510-017-0177-x>
- Al-khatieeb, M. M., Rafeeq, R. A., & Salee, A. I. (2018). The Relationship Between Orthodontic Force Applied by Monoblock and Salivary Levels of Alkaline Phosphatase and Lactate Dehydrogenase Enzymes. *The journal of contemporary dental practice*, 1346–1351.
- AlHudaithi, F. S., & Alshammery, D. A. (2021). Screening of biochemical parameters in the orthodontic treatment with the fixed appliances: A follow-up study. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12), 6808–6814. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.058>
- Allgayer, S., Macedo de Menezes, L., & Batista, E. L. (2019). Interleukin 17 (IL-17) and interleukin 23 (IL-23) levels are modulated by compressive orthodontic forces in humans. *Journal of the World Federation of Orthodontists*, 8(4), 148–152. <https://doi.org/10.1016/j.ejwf.2019.06.001>
- Aziz, S. B., & Singh, G. (2020). Cytokine levels in gingival crevicular fluid samples of patients wearing clear aligners. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 10(2), 199–202. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2020.04.005>
- Bhat, S. S., Revankar, A. V., & Naik, R. D. (2023). Human salivary concentrations of brain derived neurotrophic factor correlates with subjective pain intensity associated with initial orthodontic therapy. *Scientific Reports*, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28466-7>
- Bozkaya, E., Canigur, N., Sila, B., Isler, C., Uraz, A., Ilikci, R., & Baris, S. (2021). Evaluation of heat shock protein 70 and toll-like receptor 4 expression in gingival crevicular fluid in response to orthodontic forces. *Clinical Oral Investigations*, 6455–6464. <https://doi.org/10.1007/s00784-021-04014-3>
- Castroflorio, T., Gamberro, E. F., Caviglia, G. P., & Deregibus, A. (2017). Biochemical markers of bone metabolism during early orthodontic tooth movement with aligners. *Angle Orthodontist*, 87(1), 74–81. <https://doi.org/10.2319/022416-159.1>
- Cazzolla, A. P., Brescia, V., Lovero, R., Fontana, A., Giustino, A., Dioguardi, M., Di Comite, M. S., Di Serio, F., Ciavarella, D., & Crincoli, V. (2024). Evaluation of Biomarkers of Bone Metabolism on Salivary Matrix in the Remodeling of Periodontal Tissue during Orthodontic Treatment. *Dentistry Journal*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/dj12070209>
- Chami, V. de O., Nunes, L., & Capelli Júnior, J. (2018). Expression of cytokines in gingival crevicular fluid associated with tooth movement induced by aligners: A pilot study. *Dental Press Journal of Orthodontics*, 23(5), 41–46. <https://doi.org/10.1590/2177-6709.23.5.041-046.oar>
- Chen, Y., Mei, L., Qian, Y., Zhou, X., Zhao, Z., Zheng, W., & Li, Y. (2024). Integrated bioinformatic analysis of protein landscape in gingival crevicular fluid unveils sequential bioprocess in orthodontic tooth movement. *Progress in orthodontics*, 25(1), 37. <https://doi.org/10.1186/s40510-024-00536-0>

- De Aguiar, M. C. S., Perinetti, G., & Capelli, J. (2017). The Gingival Crevicular Fluid as a Source of Biomarkers to Enhance Efficiency of Orthodontic and Functional Treatment of Growing Patients. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/3257235>
- Debnath, P., Bangi, S. L., Hussain, M. F., Rafiq, S., & Tousifulla, S. (2024). *The Evaluation of Gingival Crevicular Fluid Biomarkers as Predictors of Gingival Enlargement in Patients Undergoing Fixed Orthodontic Treatment: A Prospective Study*. 16(11), 1–10. <https://doi.org/10.7759/cureus.74281>
- Gonçalves, A., Mathelié-Guinlet, Q., Ramires, F., Monteiro, F., Carvalho, Ó., Silva, F. S., Resende, A. D., & Pinho, T. (2024). Biological alterations associated with the orthodontic treatment with conventional appliances and aligners: A systematic review of clinical and preclinical evidence. *Heliyon*, 10(12). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32873>
- Huang, G. Y., Choi, S. H., Jung, H. D., Kim, H. S., Hwang, C. J., & Lee, K. J. (2021). Tissue-specific biomarkers in gingival crevicular fluid are correlated with external root resorption caused by constant mechanical load: an in vivo study. *Clinical Oral Investigations*, 25(11), 6321–6333. <https://doi.org/10.1007/s00784-021-03932-6>
- Institutet, K. (2018). *Effect of orthodontic force magnitude on cytokine networks in gingival crevicular fluid: a longitudinal randomized split-mouth study*. October, 214–222. <https://doi.org/10.1093/ejo/cjy068>
- Kakali, L., Giantikidis, I., Sifakakis, I., Kalimeri, E., Karamani, I., Mavrogonatou, E., & Kloukos, D. (2022). Fluctuation of bone turnover markers' levels in samples of gingival crevicular fluid after orthodontic stimulus: a systematic review. *Systematic Reviews*, 11(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13643-021-01860-w>
- Kazanopoulos, N., Sideris, C. D., Xu, Y., Konstantonis, D., Vastardis, H., Balmayor, E. R., Wolf, M., & Apel, C. (2025). Identification of Salivary Exosome-Derived miRNAs as Potential Biomarkers of Bone Remodeling During Orthodontic Tooth Movement. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 1228–1244. <https://doi.org/10.3390/ijms26031228>
- Kredig, C., Peuckert, E., Schmidtman, I., Drechsler, T., & Erbe, C. (2025). Oral health in adolescents: periodontal inflammatory biomarkers during orthodontic clear aligner therapy. *Clinical Oral Investigations*, 29(3), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s00784-025-06212-9>
- Krishna V, B., Duggal, I., Sharan, J., Mangaraj, M., Duggal, R., & Jena, A. K. (2023). Effect of leukocyte-platelet-rich fibrin (L-PRF) on the rate of orthodontic tooth movement and expression of various biomarkers in gingival crevicular fluid. *Clinical Oral Investigations*, 27(5), 2311–2319. <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05026-x>
- Lin, T., Yang, L., Zheng, W., & Zhang, B. (2020). *The Changes of Th17 Cytokines Expression and Its Correlation with Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand During Orthodontic Tooth Movement*. 17(2), 137–143. <https://doi.org/10.22034/iji.2020.85915.1731>
- Luchian, I., Moscalu, M., Goriuc, A., Nucci, L., Tatarciuc, M., Martu, I., & Covasa, M. (2021). Using salivary MMP-9 to successfully quantify periodontal inflammation during orthodontic treatment. *Journal of Clinical Medicine*, 10(3), 1–9. <https://doi.org/10.3390/jcm10030379>

- Maan, A. S., & Patil, A. K. (2019). Assessment of salivary interleukin - 1 β (IL-1 β), prostaglandin E2 (PGE2) levels and pain intensity in children and adults during initial orthodontic. *Journal of Orthodontic Science*, 2. <https://doi.org/10.4103/jos.JOS>
- Marahleh, A., Kitaura, H., Ohori, F., Noguchi, T., Nara, Y., Pramusita, A., Kinjo, R., Ma, J., Kanou, K., & Mizoguchi, I. (2021). Effect of TNF- α on osteocyte RANKL expression during orthodontic tooth movement. *Journal of Dental Sciences*, 16(4), 1191–1197. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2021.03.006>
- Megat, R., Wahab, A., & Shafiai, A. (2017). *An Insight into Risk Factors for Root Resorption During Orthodontic Treatment*. January. <https://doi.org/10.3923/jms.2017.1.9>
- Mehta, H. M., Malandra, M., & Corey, S. J. (2015). G-CSF and GM-CSF in Neutropenia. *The journal of Immunology*, 195, 1341–1349. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500861>
- Mohammed-Salih, H. S., Al-lami, H. A., Saloom, H. F., Abdulkareem, A. A., Al-Obaidi, J. R., & Razali, N. (2023). Detection of orthodontically induced inflammatory root resorption-associated biomarkers from the gingival crevicular fluid by proteomics analysis: a randomized-controlled clinical trial. *3 Biotech*, 13(5). <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03572-5>
- Mohammed, H. S., Hadeel, S., Al, A., Ali, F. S., Abdulkareem, A., Al, J. R., & Nurhanani, O. (2023). *Detection of orthodontically induced inflammatory root resorption - associated biomarkers from the gingival crevicular fluid by proteomics analysis : a randomized - controlled clinical trial*.
- Mohd Nasri, F. A., Shahrul Hisham, Z. A., Karsani, S. A., & Rohaya Megat, A. W. (2020). *Label-free quantitative proteomic analysis of gingival crevicular fluid to identify potential early markers for root resorption*. 1–11.
- Mohd Zain, M. N., Md Yusof, Z., Basri, K. N., Yazid, F., Teh, Y. X., Ashari, A., Zainal Ariffin, S. H., & Megat Abdul Wahab, R. (2022). Multivariate versus univariate spectrum analysis of dentine sialophosphoprotein (DSPP) for root resorption prediction: a clinical trial. *BMC Oral Health*, 22(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02178-2>
- National Center for Biotechnology Information. (2025a). *IGHV4–34 immunoglobulin heavy variable 4–34 [Homo sapiens]*. NCBI Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/28395>
- National Center for Biotechnology Information. (2025b). *TYMP thymidine phosphorylase [Homo sapiens (human)]*. NCBI Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1890>
- Nunes, L., Quintanilha, L., Perinetti, G., & Capelli, J. (2017). Effect of orthodontic force on expression levels of ten cytokines in gingival crevicular fluid. *Archives of Oral Biology*, 76, 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.01.016>
- Otero, L., García, D. A., & Wilches-buitrago, L. (2016). *Expression and Presence of OPG and RANKL mRNA and Protein in Human Periodontal Ligament with Orthodontic Force*. 15–20. <https://doi.org/10.4137/GRSB.S35368.TYPE>
- Padisar, P., Hashemi, R., Naseh, M., Abde Nikfarjam, B., & Mohammadi, M. (2018). Assessment of tumor necrosis factor alpha (TNF α) and interleukin 6 level in gingival

- crevicular fluid during orthodontic tooth movement: a randomized split-mouth clinical trial. *Electronic Physician*, 10(January), 6201–6207.
- Polizzi, A., Alibrandi, A., Giudice, A. Lo, Distefano, A., Orlando, L., Analazi, A. M., Pizzo, G., Volti, G. L., & Isola, G. (2024). *Impact of periodontal microRNAs associated with alveolar bone remodeling during orthodontic tooth movement : a randomized clinical trial.*
- Popović, V. Z., Grgurević, L., Trkulja, V., Novak, R., & Negovetić-Vranić, D. (2020). The role of new technologies in defining salivary protein composition following placement of fixed orthodontic appliances – breakthrough in the development of novel diagnostic and therapeutic procedures. *Acta Clinica Croatica*, 59(3), 480–488. <https://doi.org/10.20471/acc.2020.59.03.12>
- Pregled, V., Janošević, P., Stojanović, I., & Janošević, M. (2018). *Nitric oxide as prediction factor of gingival inflammation in orthodontic patients Azot oksid kao prediktivni faktor inflamacije gingive kod ortodontskih bolesnika.* 75(9), 856–863.
- Przerwa, F., Uzar, I., Bogacz, A., Kotrych, K., Sulikowski, T., Wolek, M., Kamiński, A., Ziętek, P., & Czerny, B. (2023). Osteoprotegerin Gene as a Biomarker in the Development of Osteoporosis in Postmenopausal Women. *Biomedicines*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/biomedicines11123218>
- Raghupathy, Y., Ananthanarayanan, V., & Kailasam, V. (2024). Evaluation of pain intensity with prostaglandin E2 biomarker and visual analog scale during initiation of orthodontic treatment: A prospective study. *Journal of the World Federation of Orthodontists*, 13(2), 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.ejwf.2023.10.002>
- Singh, S., Anshita, D., & Ravichandiran, V. (2020). MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *Elsevier, January.*
- Sioustis, I., Martu, M., Aminov, L., Pavel, M., Cianga, P., Kappenberg-nitescu, D. C., Luchian, I., Solomon, S. M., & Martu, S. (2021). *Salivary Metalloproteinase-8 and Metalloproteinase-9 Evaluation in Patients Undergoing Fixed Orthodontic Treatment before and after Periodontal Therapy.* 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijerph18041583>
- Sookhakian, A., Zahed, M., Pakshir, H., & Ajami, S. (2022). *Salivary IGF-1 and Alkaline Phosphatase-Based Modeling for Skeletal Maturity Prediction in Orthodontic Patients.* 2022.
- Tang, L., Cheng, C. Y., Sun, X., Pedicone, A. J., Mahamadzadeh, M., & Cheng, S. X. (2016). The extracellular calcium-sensing receptor in the intestine: Evidence for regulation of colonic absorption, secretion, motility, and immunity. *Frontiers in Physiology*, 7(JUN), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00245>
- Trehan, M., & Patil, C. (2021). *Evaluation of Alkaline Phosphatase as Skeletal Maturity Indicator in Gingival Crevicular Fluid.* 4–9.
- Verma, S. K., & Thakur, S. (2022). *A Study to Evaluate Il1 And Il6 Gingival Crevicular Fluid Levels in Adolescents and Young Adults During the Early Phase of Orthodontic Tooth Movement.* July. <https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs>
- Vijay, Ny., Dharma, R., Dinesh, M., Sharma, K., Gupta, S., Chitakara, G., & Nayyar, A. (2017). Alkaline phosphatase and lactate dehydrogenase enzyme activity in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. *Journal of Clinical Sciences*, 14(2), 86. https://doi.org/10.4103/jcls.jcls_98_16

- Wang, M., Wu, Y., Li, X., Dai, M., & Li, S. (2023). IGJ suppresses breast cancer growth and metastasis by inhibiting EMT via the NF- κ B signaling pathway. *International Journal of Oncology*, 63(3), 1–17. <https://doi.org/10.3892/ijo.2023.5553>
- Wangler, N. J., Santos, K. L., Schadock, I., Hagen, F. K., Escher, E., Bader, M., Speth, R. C., & Karamyan, V. T. (2012). *Identification of Membrane-bound Variant of Metalloendopeptidase Neurolysin (EC 3 . 4 . 24 . 16) as the Non-angiotensin Type 1 (Non-AT1), Non-AT2 Angiotensin Binding Site.* 287(1), 114–122. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.273052>
- Wazwaz, F., Saloom, H., Houghton, J. W., Cobourne, M. T., & Carpenter, G. H. (2023). Salivary peptidome analysis and protease prediction during orthodontic treatment with fixed appliances. *Scientific Reports*, 13(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-26969-3>
- Zhang, J., Sun, B., Zhao, H., Zhang, T., He, D., Lin, J., & Chen, F. (2022). Apolipoprotein E is an effective biomarker for orthodontic tooth movement in patients treated with transmission straight wire appliances. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 161(2), 255-262.e1. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2020.08.020>

Biomarcadores no tratamento ortodôntico: uma revisão sistemática para otimização da eficiência terapêutica

Apêndice A – PRISMA 2020 *checklist*

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	cover
ABSTRACT			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	xi
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	1
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	2
METHODS			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	15
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	16
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	16
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	19
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	17
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	17,18
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	22
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	17
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	17
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	17
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	17
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
RESULTS			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	19
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	19
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	26-30
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	20,21
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect <u>estimate</u> and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	23,24
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	
DISCUSSION			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	32,33
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	33,34
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	34
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	36
OTHER INFORMATION			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	
Availability of data, code and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	