



## Uma visão atual do fluido gengival crevicular como método de diagnóstico periodontal

*An actual view of gingival crevicular fluid as a periodontal diagnosis method*

Priscilla Campanatti CHIBEBE<sup>1</sup>  
Mariana TERRERI<sup>1</sup>  
Lucilene Hernandes RICARDO<sup>1</sup>  
Débora PALLOS<sup>1</sup>

### RESUMO

Os novos testes de diagnóstico para doença periodontal têm como objetivo estudar a resposta inflamatória do hospedeiro por meio do fluido gengival crevicular. Ele é uma complexa mistura de substâncias derivadas de soro sanguíneo, leucócitos, células estruturais do periodonto e microrganismos bucais. Mesmo quando há saúde gengival, este é um fluido transudato que escoar do sulco gengival, presumivelmente como um fator mecânico que minimiza o acúmulo de microrganismos, sugerindo um sistema de filtragem passiva do tecido gengival intacto. A coleta e a análise de amostras de fluido gengival crevicular provêm de um acesso não invasivo ao estado patofisiológico do periodonto de um sítio específico. Investigações têm proposto o potencial de utilizar anticorpos ou mediadores de inflamação presentes no fluido gengival crevicular como adjunto no diagnóstico de periodontites, na definição do mecanismo da doença. Os métodos de coleta podem ser, de maneira geral, divididos em técnicas intra ou extrassulculares. A taxa do fluxo do fluido gengival crevicular varia entre os indivíduos saudáveis, portadores de gengivite ou entre diferentes estágios de periodontite. Portanto, o objetivo deste artigo é de descrever as formas

<sup>1</sup> Universidade de Taubaté, Departamento de Periodontia. R. dos Operários, 9, Centro, 12020-270, Taubaté, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: D. PALLOS. E-mail: <dpallos@netpoint.com.br>.

Apoio: Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 04/15395-1).

de coleta do fluido gengival e sua importância no processo inflamatório, proporcionando uma análise preditiva mais sensível, que poderá auxiliar na elaboração do diagnóstico e prognóstico da doença periodontal.

**Termos de indexação:** Diagnóstico. Doenças periodontais. Fluido de sulco gengiva.

## ABSTRACT

*The aim of the latest diagnostic tools for periodontal disease is to study the host inflammatory response through the gingival crevicular fluid. This fluid is a complex mixture of substances deriving from blood serum, leucocytes, periodontal structural cells and buccal microorganisms. Even when the gums are healthy, this is a transuding fluid which flows from the gingival sulcus, probably as a mechanical factor minimizing the buildup of microorganisms, suggesting a passive filtering system for the undamaged gingival tissue. The extraction and the analysis of samples of gingival crevicular fluid are performed via a non-invasive access to the pathophysiological status of a specific periodontal site. Some studies have proposed the use of gingival crevicular fluid antibodies or inflammatory mediators as a potential adjunct to periodontal diagnosis in the definition of the disease's mechanism. The extraction methods may, in general, be divided into intra- and extra-sulcal techniques. The rate of flow of the gingival crevicular fluid varies between individuals who are healthy, those with gingivitis or between different stages of periodontitis. So, the aim of this study is to describe the different ways of collecting gingival fluid and its importance in the inflammatory process; these procedures can offer a more sensitive, predictive analysis, helping with the diagnosis and prognosis of periodontal disease.*

**Indexing terms:** *Diagnosis. Periodontal disease. Gingival crevicular fluid.*

## INTRODUÇÃO

Um dos grandes desafios na periodontia é encontrar um teste de diagnóstico precoce que facilite o diagnóstico e prevenção das doenças periodontais. A determinação de marcadores da atividade da doença (teste de diagnóstico) ou da predição pela doença (teste de prognóstico) tem sido, atualmente, foco de vários estudos. Por muitos anos, o diagnóstico das doenças periodontais foi baseado nos métodos clínicos e radiográficos<sup>1</sup>. A maioria dos novos testes de diagnóstico para doença periodontal tem o objetivo de estudar a resposta inflamatória do hospedeiro utilizando o fluido gengival crevicular (FGC). Desta maneira, métodos imunológicos e biológicos podem identificar mediadores liberados na infecção periodontal<sup>2</sup>.

O FGC é o resultado da interação entre o biofilme bacteriano aderido à superfície do dente e

as células do tecido periodontal<sup>3</sup>. É uma complexa mistura de substâncias derivadas do soro sanguíneo, leucócitos, células estruturais do periodonto e microrganismos bucais. Estas substâncias detêm um grande potencial para servir como indicadores de doença periodontal e cicatrização pós-terapia<sup>4</sup>.

A coleta e a análise de amostras de FGC constituem uma medida não invasiva de acesso ao estado patofisiológico do periodonto de um sítio específico<sup>4</sup>. É a análise bioquímica indicadora da avaliação do metabolismo celular local que reflete um estado de saúde periodontal, antecipando o risco de adquirir a doença e determinando a sua progressão<sup>2</sup>. Como resposta a um determinante crítico para a patogênese da doença periodontal, a medida dos níveis de mediadores inflamatórios no FGC tem sido usada para avaliação do risco de doença periodontal. Este risco é maior quando mais baseado no indivíduo que em

sítios específicos<sup>3</sup>. Várias investigações têm proposto o potencial de utilizar anticorpos ou mediadores locais do FGC como adjunto no diagnóstico de periodontites e na definição do mecanismo da doença<sup>4-9</sup>.

Os níveis de componentes do FGC (fosfatase alcalina,  $\beta$ -glucuronidase, aspartato aminotransferase, prostaglandinas, imunoglobulinas G4, interleucina-1) estão correlacionados especificamente às mensurações clínicas atuais da progressão da doença periodontal. Outros, particularmente as enzimas, podem indicar alterações teciduais não prontamente discerníveis por parâmetros clínicos convencionais. Por exemplo, as glicosaminoglicanas têm sido detectadas em amostras de FGC de sítios ao redor de dentes afetados por condições como: gengivite crônica, periodontite crônica e periodontite avançada<sup>10,11</sup>.

As alterações da composição do FGC, durante a movimentação dentária ortodôntica e ortopédica, também têm sido estudadas com o objetivo de monitorar a expressão destas substâncias biologicamente ativas. Esses níveis de mediadores no FGC poderiam ser usados como parâmetros de referência da eficiência da movimentação ortodôntica no futuro<sup>12-14</sup>.

Os estudos que utilizam a análise do fluido gengival como ferramenta de avaliação do metabolismo tecidual de tecidos periodontais saudáveis e doentes e expostos a diferentes fatores modificadores destas condições têm ganhado importância, pois este método de análise representa um diagnóstico não somente da alteração instalada, como também apresenta valor preditivo quando consegue identificar a condição de risco para determinada doença<sup>15</sup>.

## Métodos de coleta de amostras de FGC

Vários métodos foram desenvolvidos para coletar o fluido gengival crevicular. Entre eles, podem-se destacar:

a) *Método de lavagem gengival*: o sulco gengival é irrigado com uma solução isotônica (solução de Hank's) e o fluido coletado representa

uma diluição do fluido sulcular contendo células e constituintes solúveis<sup>16</sup>;

b) *Por meio de túbulos microcapilares ou micropipetas*: após o isolamento e secagem do sítio selecionado, túbulos capilares de diâmetros conhecidos são inseridos na entrada do sulco gengival; com este método é possível calcular o volume coletado<sup>17</sup>;

c) *Utilização de tiras de papel filtro*: técnica rápida, fácil de usar, atraumática e que pode ser aplicada em sítios individualizados. As tiras podem ser inseridas no sulco gengival ou bolsa periodontal. A coleta das amostras pode ser por um período de tempo específico ou indeterminado. Utiliza-se normalmente um *periopaper* específico para esta técnica<sup>8,11</sup>.

## Método para estimar o volume de FGC

A quantidade de FGC coletada na tira de papel filtro pode ser calculada pela distância que o fluido migrou na tira. Esta é geralmente obtida como uma simples medida linear, mas um valor mais preciso pode ser obtido pelo cálculo da área umedecida da tira de papel filtro da amostra de FGC. Maior precisão ainda pode ser alcançada corando-se a tira com ninidrina, o que produz uma cor púrpura na área onde o FGC foi acumulado.

A introdução de uma mensuração eletrônica por meio do *Periotron A* permitiu uma determinação precisa do volume do FGC e forneceu a possibilidade de investigação laboratorial subsequente da composição da amostra. O equipamento mede o efeito da tira de papel filtro umedecida no fluxo da corrente elétrica. Três modelos de *Periotron A* foram produzidos (600, 6000 e 8000), e todos têm apresentado eficiência na mensuração do volume do fluido coletado nas tiras de papel filtro (*periopaper*). O *Periotron 8000* (Ora Flow Inc., Amityville, NY, USA) quantifica o volume do FGC ou saliva coletada com tiras de papel filtro e, utilizando um programa de computador, converte os dados introduzidos para a unidade de volume<sup>14</sup>.

## Problemas com a coleta de FGC e interpretação de dados

Alguns aspectos operacionais e técnicos podem interferir na adequada obtenção de amostras do fluido FGC. O conhecimento e controle destes aspectos asseguram que os resultados observados possam de fato refletir a condição tecidual investigada. Podem-se relacionar alguns dos principais aspectos a serem controlados:

1) *Tempo de coleta*: os trabalhos mais antigos sobre o *Periotron* sugerem que as tiras de papel filtro devem permanecer no local por cinco segundos. O problema com o tempo de coleta prolongado é que a natureza das amostras de fluido pode se alterar, principalmente na concentração de proteínas<sup>9</sup>;

2) *Contaminação*: as maiores fontes de contaminação das amostras de FGC são sangue, saliva e placa/biofilme dental. Normalmente os estudos preconizam descartar as tiras contaminadas por sangue quando o propósito for analisar alguma citocina<sup>3,11</sup>;

3) *Determinação do volume*: a evaporação é amplamente considerada um problema técnico que pode interferir nas amostras de FGC *in vivo* e no processo de quantificação do volume, e atua como uma fonte de erros volumétricos, principalmente para pequenos volumes de FGC<sup>9,14</sup>;

4) *Recuperação do FGC*: após a coleta da amostra do FGC e a determinação do seu volume, o estudo da composição do FGC faz-se após sua recuperação da tira de papel pela técnica de eluição<sup>11,13,18</sup>.

## Fluxo do FGC e condição clínica

Sulcos rasos de indivíduos saudáveis têm taxa de fluxo do FGC de 3-8 mL/h. Bolsas com doença periodontal intermediária têm taxa de fluxo do FGC de aproximadamente 20mL/hora. O fluxo de FGC em sítio com doença periodontal avançada possui taxas tão altas quanto 137mL/hora. As evidências de estudos de gengivite experimental mostram que o fluxo de FGC pode aumentar drasticamente sem

que ocorram outras mudanças clínicas. Todavia, quando se torna necessário focar o tratamento do problema dentário individual, mensurações de fluxo do FGC podem prover benefício adicional no estabelecimento do diagnóstico e no monitoramento da resposta à terapia<sup>8,19-21</sup>.

A leitura do *Periotron* de 80 a 200 unidades era supostamente associada a "sintomas invisíveis" de inflamação difundida. Em contraste, sítios designados clinicamente como saudáveis podem render volumes tão grandes quanto 0,71 $\mu$ l (aproximadamente 120 unidades de *Periotron*), considerando que alguns sítios clinicamente inflamados podem render volumes menores que 1,0 $\mu$ l (aproximadamente 20 unidades de *Periotron*). A associação entre o volume ou taxa de fluxo do FGC e a profundidade da bolsa tem sido de difícil interpretação<sup>14</sup>. O volume e a taxa de fluxo do FGC são indicadores de mudança na permeabilidade vascular, que ocorre em estágios iniciais da inflamação. As medidas clínicas padrão usadas para avaliar inflamação podem, então, ser menos sensíveis que a relação das medidas obtidas pela determinação do volume e taxa de fluxo do FGC<sup>3,9,20</sup>.

## Mediadores inflamatórios do FGC como indicadores de risco para doença periodontal

Um considerável número de bactérias e produtos derivados do hospedeiro encontrados no FGC tem sido associado ao início e progressão da doença periodontal. Os agentes derivados do hospedeiro incluem componentes associados à reação inflamatória, tais como o sistema complemento, citocinas, enzimas e produtos de quebra tecidual. No processo inflamatório, os lipopolissacarídeos na circulação podem induzir a todos os sintomas de choque séptico, incluindo febre, colapso vascular e morte<sup>4,6</sup>. Localmente, estimulam monócitos a liberar mediadores inflamatórios, como prostaglandina E<sub>2</sub>, interleucina-1, 6 e 8, tromboxana B, fator de necrose tumoral e colagenase, que aumentam a destruição local dos elementos estruturais do tecido conjuntivo.

No entanto, os níveis de monócitos mediadores inflamatórios (incluindo prostaglandina  $E_2$ , interleucina-1 e fator de necrose tumoral) no FGC são marcadores ideais para determinar a atividade da doença periodontal em um sítio<sup>2,7,19,21,22</sup>.

Os neutrófilos constituem a maioria dos leucócitos do sulco, sem considerar o estágio de destruição periodontal. Níveis elevados de elastase, b-glucuronidase e leucotrieno  $B_4$  no FGC podem refletir um episódio agudo na destruição localizada do tecido<sup>4,23</sup>. Em geral, o FGC contém aproximadamente 95% de leucócitos polimorfonucleares, 2-3% de monócitos e 1-2% de linfócitos<sup>2,7</sup>. Beklen *et al.*<sup>24</sup>, em 2006, observaram que estas células estão associadas tanto à formação de catepsina G e elastase quanto à metaloproteinase da matriz extracelular MMP-8 e MMP-9. Estas enzimas, associadas à MMP-3 produzida por fibroblastos e ativadas no FGC, participam da cascata de ativação das MMPs, potencializando a degradação do tecido conjuntivo do periodonto inflamado.

Proteases bacterianas são liberadas no sulco gengival ou na bolsa periodontal e podem ser detectadas no FGC coletado com tiras de papel filtro. As proteases bacterianas dipeptidilpeptidase e arg-gingipain identificadas no FGC já foram significativamente correlacionadas aos índices clínicos da gravidade da doença<sup>4,10</sup>.

Os componentes teciduais mineralizados e outros marcadores do *turnover* ósseo também podem ser quantificados. São eles: glicosaminoglicanas, como a condroitina-sulfatase; proteoglicanas, como a heparina-sulfatase; ácido hialurônico; osteocalcina; anéis pirodinolínicos; prostaglandinas e demais produtos do ácido araquidônico; interleucinas; fator de crescimento transformante  $\beta 1$ ; fator de necrose tumoral  $\alpha$ ;  $\beta 2$ -microglobulina; collagenases intersticiais;  $\beta$ -glucuronidase; fosfatase ácida e alcalina. Todos esses componentes podem ser identificados na análise do FGC coletado e correlacionados ao estágio da doença periodontal e sua resposta inflamatória<sup>7</sup>.

A análise do FGC em indivíduos fumantes foi o objetivo de Morozumi *et al.*, no estudo que desen-

volveram em 2004, no qual observaram que o volume do FGC era significativamente menor em indivíduos fumantes e que, após uma semana de interrupção do fumo, já se apresentava significativamente maior que no exame inicial; após duas semanas, apresentava-se sem diferença estatística em relação aos indivíduos não fumantes<sup>25</sup>.

A quantificação de TGF- $1\beta$  no FGC em indivíduos fumantes e não fumantes e portadores de periodontite crônica demonstrou que existia uma interferência dependente da concentração desta citocina em relação aos parâmetros clínicos observados no exame inicial e pós-tratamento. A identificação do aumento de TGF- $1\beta$  no FGC do indivíduo fumante pode justificar a característica fibrosa do tecido gengival e a menor redução de profundidade de sondagem após a terapia nestes indivíduos<sup>26</sup>. Já Alpagot *et al.*<sup>27</sup> observaram que sítios periodontais com níveis elevados de TGF- $1\beta$  em indivíduos HIV+ estão associados a maior risco de progressão da doença periodontal.

Ren *et al.*<sup>13</sup> utilizaram a análise de citocinas no FGC para a identificação de diferentes concentrações destes componentes durante a movimentação ortodôntica em pacientes e observaram aumento de IL- $1\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  nos períodos iniciais da movimentação. Os valores equilibraram-se em períodos tardios, e esses achados justificam a necessidade de controle da inflamação periodontal prévia à movimentação ortodôntica<sup>28</sup>. Estudos como o de Engebretson *et al.*<sup>29</sup>, em 2002, já demonstravam o aumento da concentração de IL- $1\beta$  no FGC em diferentes estágios de doença periodontal, quando comparados aos controles (sem doença periodontal) e mudanças no volume do fluido após terapia, demonstrando, assim, que o tratamento reduz o processo inflamatório.

A quantificação da concentração de fosfatase alcalina contida no FGC de mulheres com e sem deficiência de estrogênio, antes e após o tratamento periodontal, foi o objetivo do estudo de Daltaban *et al.*<sup>30</sup>. Os autores observaram que, embora os níveis de fosfatase alcalina sérica não apresentassem diferença entre os grupos, sítios com periodontite em mulheres com deficiência de estrogênio apresen-

tavam maior volume de FGC e maior concentração de fosfatase alcalina antes da terapia periodontal. Foi observada, nesta ocasião, uma associação positiva entre este aumento e a maior profundidade de sondagem. Após a terapia, não foram observadas diferenças entre os grupos. Esses achados levaram à conclusão de que o aumento dos níveis de fosfatase alcalina no FGC em mulheres com deficiência de estrogênio e periodontite pode ser interpretado com um indicador de risco para a ocorrência de agravamento da doença periodontal<sup>30</sup>.

A análise do FGC como referência da efetividade da terapia com a utilização de doses subantimicrobiana de doxiciclina (DSD) foi a metodologia adotada no estudo de Emingil *et al.*<sup>31</sup>. Neste estudo, os autores observaram que ocorria não somente a diminuição do volume do FGC após a terapia periodontal, mas também a diminuição na concentração de indutores de metaloproteinasas da matriz extracelular em sítios periodontais de indivíduos tratados com a medicação sistêmica associada à terapia mecânica.

## CONCLUSÃO

A composição do fluido gengival parece uma ferramenta diagnóstica promissora como possível meio para a detecção de mudanças precoces que podem indicar o início da doença. O maior atrativo do FGC como um marcador de diagnóstico é a natureza sítio-específica das amostras. Acredita-se que o entendimento dos componentes do FGC, incluindo os elementos celulares, pode ajudar a elucidar os eventos iniciais da patogênese da doença periodontal e, assim, auxiliar no monitoramento da progressão da doença. Outro aspecto importante a ser considerado na análise do FGC é o valor preditivo que esta ferramenta representa, permitindo identificar o risco de alteração futura no sítio examinado. Esta característica possibilita a identificação de indivíduos que necessitem de acompanhamento mais frequente e, portanto, maior possibilidade de prevenção do início da doença periodontal, o que levará a novos paradigmas para a elaboração de tratamento efetivo e de estratégias de prevenção para esta doença.

## REFERÊNCIAS

1. Giannobile WV, Al-Shammari KF, Sarment DP. Matrix molecules and growth factors as indicators of periodontal disease activity. *Periodontol 2000*. 2003; 31(1):125-34.
2. Castro CE, Koss MA, López ME. Biochemical markers of the periodontal ligament. *Med Oral*. 2003; 8(5): 322-8.
3. Champagne CM, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2003; 31(1):167-80.
4. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003; 31(1):77-104.
5. Armitage GC. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2004; 34(1):109-19.
6. Academy Report. Diagnosis of periodontal disease: position paper. *J Periodontol*. 2003; 74(8):1237-47.
7. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003; 31(1):55-76.
8. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol 2000*. 2003; 31(1):43-54.
9. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003; 31: 32-42.
10. Gazi MI, Cox SW, Clark DT, Eley BM. Comparison of host tissue and bacterial dipeptidyl peptidases in human gingival crevicular fluid by analytical isoelectric focusing. *Arch Oral Biol*. 1995; 40(8):731-6.
11. Kavadia-Tsatala S, Kaklamanos EG, Tsalikis L. Effects of orthodontic treatment on gingival crevicular fluid flow rate and composition: Clinical implications and applications. *Int J Adult Orthod Orthognath Surg*. 2002; 17(3):191-205.
12. Iwasaki LR, Haack JE, Nickel JC, Reinhardt RA, Petro TM. Human interleukin-1 $\beta$  and interleukin-1 receptor antagonist secretion and velocity of tooth movement. *Arch Oral Biol*. 2001; 46(2):185-9.
13. Ren Y, Maltha JC, Van't Hof MA, von Den Hoff JW, Kuijpers-Jagtman AM, Zhang D. Cytokine levels in crevicular fluid are less responsive to orthodontic force in adults than in juveniles. *J Clin Periodontol*. 2002; 29(8):757-62.
14. Tözüm TF, Hatipoğlu H, Yamalik N, Gürsel M, Alptekin NO, Ataoğlu T, *et al*. Critical steps in electronic volume quantification of gingival crevicular fluid: the potential impact of evaporation, fluid retention, local

- conditions and repeated measurements. *J Periodontal Res.* 2004; 39(5):344-57.
15. Ulker AE, Tulunoglu O, Can M, Demirtas S. The evaluation of cystatin C, IL-1beta, and TNF-alpha levels in total saliva and gingival crevicular fluid from 11- to 16-year-old children. *J Periodontol.* 2008; 79(5): 854-60.
  16. Skapski H, Lehner T. A crevicular washing method for investigating immune components of crevicular fluid in man. *J Periodontal Res.* 1976; 11(1):19-24.
  17. Sueda T, Bang J, Cimasoni G. Collection of gingival fluid for quantitative analysis. *J Dent Res.* 1969; 48(1): 159.
  18. Johnson RB, Streckfus CF, Dai X, Tucci MA. Protein recovery from several paper types used to collect gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res.* 1999; 34(6): 283-9.
  19. Ceschin A, Pallos D, Victor GA, Jardim, JCM, Quirino, MRS. Avaliação dos níveis de Interleucina 1b em mulheres na menopausa com doença periodontal. *Rev APCD.* 2005; 59(1):29-34.
  20. Darany DG, Beck FM, Walters JD. The relationship of gingival fluid leukocyte elastase activity to gingival fluid flow rate. *J Periodontol.* 1992; 63(9):743-7.
  21. Fine DH, Mandel ID. Indicators of periodontal disease activity: an evaluation. *J Clin Periodontol.* 1986; 13(5): 533-46.
  22. Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand.* 2001; 59(3):167-73.
  23. Heasman PA, Collins JG, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1b, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumor necrosis factor a in experimental gingivitis in humans. *J Periodontal Res.* 1993; 28(4):241-7.
  24. Beklen A, Tüter G, Sorsa T, Hanemaaijer R, Virtanen I, Tervahartiala T, *et al.* Gingival Tissue and Crevicular Fluid Co-operation in Adult Periodontitis. *J Dent Res.* 2006; 85(1):59-63.
  25. Morozumi T, Kubota T, Sato T, Okuda K, Yoshie H. Smoking cessation increases gingival blood flow and gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 2004; 31(4): 267-72.
  26. Stein SH, Green BE, Scarbecz M. Augmented transforming growth factor-beta1 in gingival crevicular fluid of smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2004; 75(12):1619-26.
  27. Alpagot T, Konopka K, Battacharyya M, Gebremedhin S, Düzgünes N. The association between gingival crevicular fluid TGF-β1 levels and periodontal status in HIV-1+ patients. *J Periodontol.* 2008; 79(1):123-30.
  28. Ren Y, Hazemeijer H, de Haan B, Qu N, de Vos P. Cytokine profiles in crevicular fluid during orthodontic tooth movement of short and long durations. *J Periodontol.* 2007; 78(3):453-8.
  29. Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2002; 29(1):48-53.
  30. Daltaban O, Saygun, Bal B, Balos K, Serdar M. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase levels in postmenopausal women: effects of phase I periodontal treatment. *J Periodontol.* 2006; 77(1): 67-72.
  31. Emingil G, Atilla G, Sorsa T, Tervahartiala T. The effect of adjunctive subantimicrobial dose doxycycline therapy on GCF EMMPRIN levels in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2008; 79(3):469-76.

Recebido em: 20/6/2008

Versão final reapresentada em: 19/9/2008

Aprovado em: 21/11/2008

