



CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

VISEU

OS GENES TLR EM DOENÇAS DA CAVIDADE ORAL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:
Luís Filipe Macedo Fernandes

Viseu, 2023



CATOLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

UISEU

OS GENES TLR EM DOENÇAS DA CAVIDADE ORAL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

Luís Filipe Macedo Fernandes

Orientador: Raquel Silva

Coorientador: Maria José Correia

Viseu, 2023

Dedicatória

Aos meus Pais, Avós e amigos

Agradecimentos

À Professora Doutora Raquel Silva, orientadora da tese, pela ajuda, dedicação, disponibilidade e acompanhamento constante ao longo de todas as fases do trabalho.

À Professora Doutora Maria José Correia, coorientadora da tese, pelo seu apoio e contributo.

Ao meu binómio Francisco, companheiro de curso, sempre presente em todos os momentos.

Ao meu amigo António, colega de casa, pelos momentos inesquecíveis.

À Mariana, pela paciência e apoio incondicional.

Aos meus Pais, por todo o carinho, motivação e valores que me transmitiram.

Resumo

Introdução: Os genes TLR (*Toll-like receptors*) fazem parte do sistema imunitário, estando presentes nas células como proteínas citoplasmáticas ou transmembranares. Até à data foram descobertos 10 TLRs diferentes em humanos (TLR1-10). Estão envolvidos no reconhecimento de ligantes e na transdução de sinal. Vários estudos indicam que os TLRs estão envolvidos no desenvolvimento de doenças da cavidade oral.

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi identificar as alterações dos genes TLR associadas a doenças da cavidade oral, de forma a validar a sua utilização como fatores de prognóstico ou biomarcadores de patologias orais.

Materiais e Métodos: A pesquisa foi realizada nas bases de dados PubMed, Web of Science e Cochrane Library até janeiro de 2023. A seleção dos artigos foi realizada por 2 investigadores de acordo com os critérios de inclusão e exclusão definidos. As doenças foram divididas por grupos de acordo com o número de resultados obtidos.

Resultados: Do total de 452 artigos encontrados, foram removidos 93 duplicados e 1 cujo link estava errado. Através da leitura do título e/ou resumo foram excluídos 243 artigos e da leitura integral, em que foram avaliados 115 artigos, foram excluídos mais 23 de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. No total, foram incluídos 92 artigos neste estudo. Os resultados foram divididos em 6 grupos, de acordo com a patologia: Cancro Oral (CO), Doença Periodontal (DP), Síndrome de Sjögren (SS), Líquen Plano Oral (LPO), Doença de Behçet (DB) e Outras Doenças. Os TLRs mais estudados foram o TLR2 e o TLR4. O TLR10 foi o menos abordado pelos autores. O TLR2 e o TLR4 apresentaram aumento de expressão em pacientes com Doença Periodontal e Doença de Behçet. O TLR4 aparenta estar envolvido no desenvolvimento do Cancro Oral e do Líquen Plano Oral.

Conclusão: São necessários mais estudos para comprovar o envolvimento dos genes TLRs nas doenças da cavidade oral. Apesar disto, foram identificados TLRs que podem estar envolvidos na progressão destas doenças. Conclui-se que os TLR podem ser utilizados futuramente como fatores de prognóstico ou biomarcadores nestas doenças.

Palavras-chave: Genes TLR; Doenças da cavidade oral; Alterações de expressão; Polimorfismos; Biomarcadores

Abstract

Introduction: TLR (Toll-like receptor) genes are part of the immune system and are present in cells as cytoplasmic or transmembrane proteins. To date, 10 different TLRs have been discovered in humans (TLR1-10). They are involved in ligand recognition and signal transduction. Several studies indicate that TLRs are involved in the development of oral cavity diseases.

Objective: The purpose of this work was to identify the alterations of TLR genes associated with oral cavity diseases, with the aim of validating their use as a prognostic factor or biomarkers of these diseases.

Methodology: The search was performed in PubMed, Web of Science, and Cochrane Library databases until January 2023. The selection of articles was performed by 2 researchers according to defined inclusion and exclusion criteria. Diseases were divided into groups according to the number of results obtained.

Results: From a total of 452 articles, 93 duplicates and 1 with the wrong link were removed. By reading the title and/or abstract, 243 articles were excluded and from the full-text reading, where 115 articles were evaluated, 23 more were excluded according to the inclusion and exclusion criteria. There were 92 articles included in this study. The results were divided into 6 groups, according to the pathology: Oral Cancer (OC), Periodontal Disease (PD), Sjögren's Syndrome (SS), Oral Lichen Planus (OLP), Behçet's Disease (BD) and Other Diseases. The most studied TLRs were TLR2 and TLR4. TLR10 was the least addressed by the authors. TLR2 and TLR4 showed increased expression in patients with Periodontal Disease and Behçet's disease. TLR4 appears to be involved in the development of Oral cancer and Oral Lichen Planus.

Conclusion: More studies are needed to support the involvement of TLRs genes in oral cavity diseases. Despite this, some TLRs have been identified as a possible cause of progression of these diseases. It is concluded that TLRs may be used in the future as prognostic factors or biomarkers in these diseases.

Keywords: TLR genes; Diseases of the oral cavity; Expression alterations; Polymorphisms; Biomarkers

Índice Geral

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Recetores TLR (<i>Toll-like receptors</i>)	1
1.2 Doença Periodontal.....	3
1.3 Doença de Behçet	6
1.4 Líquen Plano Oral.....	7
1.5 Síndrome de Sjögren	8
1.6 Cancro Oral.....	8
2 OBJETIVOS	10
3 MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Questão Orientadora da Investigação	11
3.2 Estratégia de Pesquisa	11
3.3 Critérios de Inclusão e Exclusão.....	12
3.4 Seleção dos estudos.....	12
3.5 Extração dos dados	13
3.6 Análise dos resultados	13
4 RESULTADOS	13
4.1 Cancro Oral.....	17
4.2 Doença Periodontal.....	24
4.3 Síndrome de Sjögren (SS)	36
4.4 Líquen Plano Oral (LPO).....	41
4.5 Doença de Behçet (BD).....	47
4.6 Outras doenças	51
5 DISCUSSÃO	57
6 CONCLUSÃO	59
7 BIBLIOGRAFIA	61

Índice de Figuras

Figura 1 Reconhecimento de diferentes padrões moleculares de diferentes agentes infecciosos pelos TLRs.....	2
Figura 2 Inflamação e disbiose na doença periodontal.....	5
Figura 3 Modelo de disrupção por <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
Figura 4 Os principais fatores associados à carcinogénese oral.....	9
Figura 5 PRISMA: imagem ilustrativa do fluxo de trabalho até à seleção final dos artigos. (38).	14
Figura 6 Gráfico da distribuição dos incluídos na revisão sistemática, de acordo com a patologia apresentada.	15
Figura 7 Gráfico da distribuição de cada TLR por artigo na revisão sistemática.....	15
Figura 8 Gráfico de distribuição do tipo de amostra utilizada para estudar alterações nos TLR nos artigos incluídos na revisão sistemática.	16
Figura 9 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos de Cancro Oral.....	23
Figura 10 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores de Cancro Oral.....	23
Figura 11 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos de Doença Periodontal.....	35
Figura 12 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores de Doença Periodontal.....	35
Figura 13 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos da Síndrome de Sjögren.	40
Figura 14 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores da Síndrome de Sjögren.	40
Figura 15 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos de Líquen Plano Oral.....	46
Figura 16 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores de Líquen Plano Oral.....	46
Figura 17 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos da Doença de Behçet.	50
Figura 18 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores da Doença de Behçet.	50
Figura 19 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos de Outras Doenças.....	56
Figura 20 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores de Outras Doenças.....	56

Índice de Tabelas

Tabela 1 Estágios da periodontite (adaptado de (15)).....	4
Tabela 2 Grau da periodontite (adaptado de (15)).	4
Tabela 3 Critérios de inclusão e exclusão utilizados no desenvolvimento deste trabalho.....	12
Tabela 4 Características gerais dos artigos incluídos de Cancro Oral.	17
Tabela 5 Resultados dos artigos de Cancro Oral.....	19
Tabela 6 Características gerais dos artigos de Doença Periodontal.	24
Tabela 7 Resultados dos artigos de Doença Periodontal.....	28
Tabela 8 Características gerais dos artigos da Síndrome de Sjögren.	36
Tabela 9 Resultados dos artigos da Síndrome de Sjögren.	37
Tabela 10 Características gerais dos artigos de Líquen Plano Oral.....	41
Tabela 11 Resultados dos artigos de Líquen Plano Oral.....	42
Tabela 12 Características gerais dos artigos da Doença de Behçet.	47
Tabela 13 Resultados dos artigos da Doença de Behçet.	48
Tabela 14 Características gerais dos artigos de doença de outras doenças.....	51
Tabela 15 Resultados dos artigos de outras doenças.....	53

Lista de Abreviaturas

TLR- Recetores TLR (*Toll-like receptor*)
DP- Doença Periodontal
GG- Gengivite
PC- Periodontite Crónica
DB- Doença Behçet
SB- Síndrome de Behçet
LPO- Líquen Plano Oral
SS- Síndrome de Sjögren
pSS- Síndrome de Sjögren primário
LOPM- Lesões Oraís Potencialmente Malignas
CO- Cancro Oral
OSCC- Carcinoma de células escamosas oral
OLD- Doenças liquenóides orais
LSCC- Carcinoma das células escamosas de laringe
CAC- Carcinoma adenoide cístico das glândulas salivares maiores
OED- Displasia epitelial oral
LO- Leucoplasia oral
HNSCC- Carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço
NPC- Cancro da nasofaringe
CSCC- Carcinoma de células escamosas cutâneo
WDSCC- *Well differentiated squamous cell carcinoma*
qPCR- *quantitative polymerase chain reaction*
MDSCC- *Moderately differentiated squamous cell carcinoma*
PCR-RFLP- *Restriction fragment length polymorphism polymerase chain reaction*
RT-PCR- *Reverse transcription polymerase chain reaction*
RT-qPCR- *Quantitative real-time polymerase chain reaction*
IHC- Imunohistoquímica
IF- Imunofluorescência
WB- *Western Blot*
CF- Citometria de fluxo
ELISA- *enzyme-linked immunosorbent assay*
T2DM- diabetes mellitus tipo 2
GAP- periodontite agressiva generalizada
Pa- periodontite apical
LES- lúpus eritematoso sistémico
PA- periodontite agressiva
IgG4-RD- doença relacionada à imunoglobulina G4
BMS- síndrome da boca ardente
EAR- estomatite aftosa recorrente
PCM- paracoccidiodomicose
QR- quisto radicular
GP- granuloma periapical
QP- quisto periapical
PP- patologia periapical
UAR- ulceração aftosa recorrente
EAR- estomatite aftosa recorrente
LLO- lesão liquenoíde oral
RLO- reação liquenoíde oral
EM- eritema multiforme
SSJ- síndrome de Stevens-Johnson
NET- necrólise epidérmica tóxica

1. INTRODUÇÃO

1.1 Recetores TLR (*Toll-like receptors*)

Os genes TLR (*Toll-like receptors*) codificam uma família de recetores do sistema imunitário inato que são evolutivamente preservados de plantas até mamíferos (1). Estes recetores consistem em proteínas citoplasmáticas ou transmembranares, estando envolvidos no reconhecimento de ligantes e na transdução de sinal (2). Os TLRs são os PRRs (*pattern recognition receptors*) predominantemente expressos nas APCs (*host antigen presenting cells*) que desempenham um papel determinante na resposta imune. Até à data, foram descobertos 10 TLRs diferentes em humanos, sendo divididos em dois grupos: os transmembranares (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 e TLR10), localizados na membrana plasmática, e os intracelulares (TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9), localizados nas membranas dos endossomas (Figura 1) (3).

Na sua forma ativa, o TLR2 dimeriza com o TLR1 ou o TLR6 e reconhecem triacyl- ou diacyl-lipopeptídeos das bactérias, respetivamente (3). O TLR5 deteta a proteína flagelina de bactérias invasoras, enquanto o TLR4 se liga à fração LPS (lipopolissacarídeo) de bactérias gram-negativas (3).

O TLR3 é um recetor crucial, capaz de reconhecer eficientemente RNA de cadeia dupla (dsRNA) de vírus patogénicos (3). O TLR7 é outro PRR intracelular que reconhece RNA de cadeia simples (ssRNA) rico em guanosina e uridina de retrovírus intracelulares, como o HIV (3). Da mesma forma, o TLR8 reconhece RNA de cadeia simples de vírus (3). No entanto, SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) no gene *TLR8*, localizado no cromossoma X, demonstraram estar principalmente envolvidos na resposta imunitária à tuberculose (3). O TLR9, que reconhece seletivamente o DNA de cadeia dupla, é capaz de detetar PAMPs (*pathogen associated molecular patterns*) virais e/ou bacterianos, levando à estimulação de células imunes para a defesa contra estes agentes patogénicos intracelulares (3).

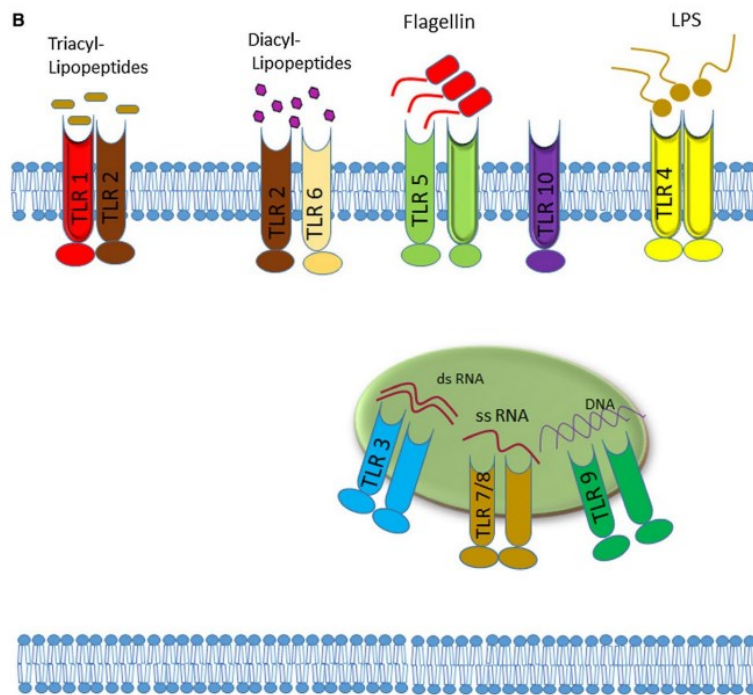


Figura 1 Reconhecimento de diferentes padrões moleculares de diferentes agentes infecciosos pelos TLRs. Os TLRs localizados na membrana plasmática reconhecem diferentes ligantes de agentes patogênicos invasores (3). Os TLRs intracelulares são fundamentais na resposta aos agentes patogênicos que entram na célula (adaptado de (3)).

Este grupo de proteínas de sinalização transmembranar integra o sistema imunológico inato e participa na iniciação do processo inflamatório e na manutenção da homeostase (4, 5). Têm um papel fundamental na ativação da resposta imunológica inata, reconhecendo PAMPs que desencadeiam vias de sinalização, levando à produção de citocinas pró-inflamatórias e interferões tipo I (6). Vários agonistas são amplamente reconhecidos pelas suas propriedades adjuvantes para a criação de vacinas, sendo legitimados pela FDA (6).

Pelo seu papel no processo inflamatório, há evidência na literatura que os TLR estão envolvidos no desenvolvimento de várias patologias orais, como por exemplo, cancro oral, periodontite ou síndrome de Sjögren's (7).

1.2 Doença Periodontal

A doença periodontal é uma doença comum na população mundial, sendo causada, principalmente, pelo biofilme bacteriano presente na cavidade oral (8). A prevalência da doença periodontal é de 20 a 50% em todo o mundo (9). As duas principais características da doença periodontal são a inflamação gengival (gengivite) e a formação de bolsas periodontais (periodontite) caracterizadas pela perda de tecidos de suporte do dente (10). A gengivite precede sempre a periodontite, visto que é esta inflamação que provoca a destruição dos tecidos de suporte dentários (10). A inflamação provoca a perda das fibras de colagénio do ligamento periodontal formando uma bolsa periodontal entre a gengiva e o dente e, conseqüentemente, provoca a reabsorção do osso alveolar (11). A periodontite é uma doença progressiva lenta, normalmente assintomática nos estágios iniciais e, na sua maioria, apenas detetáveis pelo paciente em estágios mais avançados pelo sangramento gengival, mobilidade dentária e/ou recessões gengivais (11). Os principais fatores de risco para o desenvolvimento da doença periodontal são os hábitos tabágicos e a diabetes (12). No entanto, existem outros fatores que contribuem para o seu desenvolvimento, como restaurações dentárias mal-adaptadas, contactos interproximais abertos, trauma oclusal, fatores anatómicos, entre outros (12). Em 1999, a periodontite foi subdividida em periodontite crónica (representando a doença periodontal destrutiva que normalmente é caracterizada como de progressão lenta), periodontite agressiva (um grupo diverso de formas mais agressivas de periodontite que afeta principalmente indivíduos jovens), periodontite como manifestação de doença sistémica (um grupo heterogéneo de condições patológicas sistémicas que incluem a periodontite como uma manifestação), doenças periodontais necrotizantes (grupo de condições que partilham um fenótipo característico em que a necrose dos tecidos periodontais ou gengivais é uma característica proeminente) e abscessos periodontais (uma entidade clínica com características diagnosticas e requisitos de tratamento distintos (13). A compreensão das doenças periodontais melhorou com a identificação de mais fatores de risco, como estilo de vida, interações sistémicas e o papel da carga inflamatória (14). Em 2018, surge uma nova classificação que se baseia numa matriz de estágio e grau (15). Os estágios I a IV são definidos com base na gravidade (rutura

periodontal e perda dentária associada à periodontite), complexidade do tratamento (profundidade da bolsa, defeitos intraósseos, envolvimento da furca, hipermobilidade dentária, disfunção mastigatória) e extensão (localizada ou generalizada) (tabela 1) (15).

Tabela 1 Estágios da periodontite (adaptado de (15)).

Periodontitis stage		Stage I	Stage II	Stage III	Stage IV
Severity	Interdental CAL at site of greatest loss	1 to 2 mm	3 to 4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Radiographic bone loss	Coronal third (<15%)	Coronal third (15% to 33%)	Extending to mid-third of root and beyond	Extending to mid-third of root and beyond
	Tooth loss	No tooth loss due to periodontitis		Tooth loss due to periodontitis of ≤4 teeth	Tooth loss due to periodontitis of ≥5 teeth
Complexity	Local	Maximum probing depth ≤4 mm Mostly horizontal bone loss	Maximum probing depth ≤5 mm Mostly horizontal bone loss	In addition to stage II complexity: Probing depth ≥6 mm Vertical bone loss ≥3 mm Furcation involvement Class II or III Moderate ridge defect	In addition to stage III complexity: Need for complex rehabilitation due to: Masticatory dysfunction Secondary occlusal trauma (tooth mobility degree ≥2) Severe ridge defect Bite collapse, drifting, flaring Less than 20 remaining teeth (10 opposing pairs)
Extent and distribution	Add to stage as descriptor	For each stage, describe extent as localized (<30% of teeth involved), generalized, or molar/incisor pattern			

O grau da periodontite é definido de acordo com a taxa de progressão, podendo ser lenta, moderada ou rápida (Grau A-C) e o fator de risco (modificador de grau) (tabela 2) (15).

Tabela 2 Grau da periodontite (adaptado de (15)).

Periodontitis grade		Grade A: Slow rate of progression	Grade B: Moderate rate of progression	Grade C: Rapid rate of progression	
Primary criteria	Direct evidence of progression	Longitudinal data (radiographic bone loss or CAL)	Evidence of no loss over 5 years	<2 mm over 5 years	≥2 mm over 5 years
	Indirect evidence of progression	% bone loss/age	<0.25	0.25 to 1.0	>1.0
		Case phenotype	Heavy biofilm deposits with low levels of destruction	Destruction commensurate with biofilm deposits	Destruction exceeds expectation given biofilm deposits; specific clinical patterns suggestive of periods of rapid progression and/or early onset disease (e.g., molar/incisor pattern; lack of expected response to standard bacterial control therapies)
Grade modifiers	Risk factors	Smoking	Non-smoker	Smoker <10 cigarettes/day	Smoker ≥10 cigarettes/day
		Diabetes	Normoglycemic/ no diagnosis of diabetes	HbA1c <7.0% in patients with diabetes	HbA1c ≥7.0% in patients with diabetes
Risk of systemic impact of periodontitis ^a	Inflammatory burden	High sensitivity CRP (hsCRP)	<1 mg/L	1 to 3 mg/L	>3 mg/L
Biomarkers	Indicators of CAL/bone loss	Saliva, gingival crevicular fluid, serum	?	?	?

A educação e os cuidados de higiene oral são os pontos mais importantes para a prevenção e para o tratamento da doença periodontal, sendo que, devem ser abordados pelo médico dentista durante todas as fases do seu tratamento (12). Após alcançar o cuidado domiciliário adequado ou o controle do biofilme, devem ser realizados a raspagem e o alisamento radicular nos locais em que a profundidade de sondagem seja igual ou superior a 5 mm (12). Entre 4 a 6 semanas após a raspagem e alisamento radicular, deve ser avaliada a necessidade de outro tipo de tratamentos, como por exemplo, a cirurgia periodontal (recetiva, regenerativa ou mucogengival) ou a terapia medicamentosa (16).

A inflamação dos tecidos periodontais é mediada pelas vias sinalizadoras dos TLRs, ativando a transcrição do fator NF- κ B que culmina na expressão de genes codificadores de mediadores inflamatórios, causando assim inflamação e destruição dos tecidos (figura 2) (17).

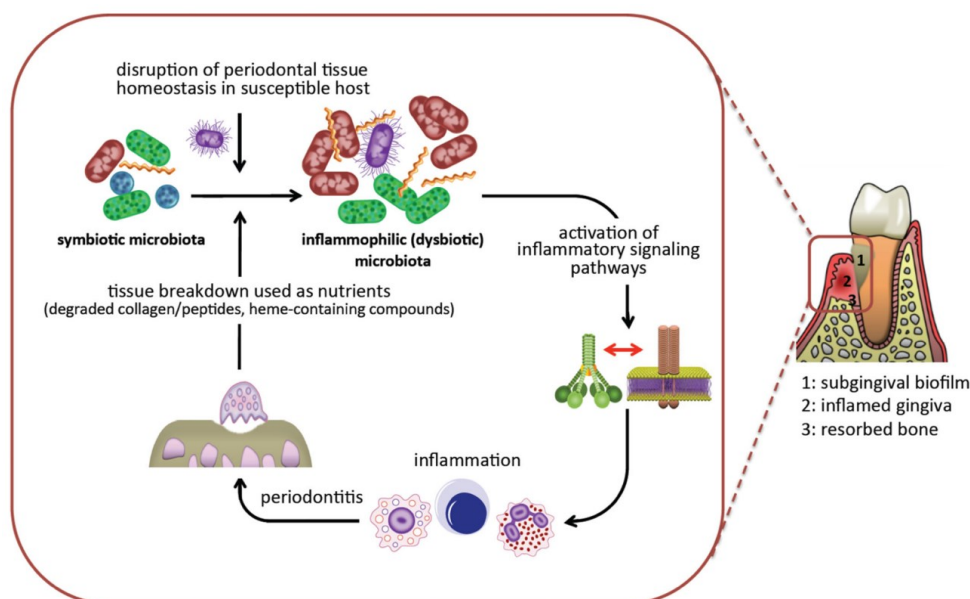


Figura 2 Inflamação e disbiose na doença periodontal.

A presença de patógenos pode alterar o estado de homeostase nos tecidos periodontais. A inflamação dos tecidos dependente das vias de sinalização mediadas por PAMPs causa perda de tecido periodontal, incluindo perda óssea, fator fundamental na periodontite. Este processo fornece nutrientes às bactérias por degradação dos tecidos, transformando-se assim num ciclo patogênico autoperpetuante (adaptado de (18)).

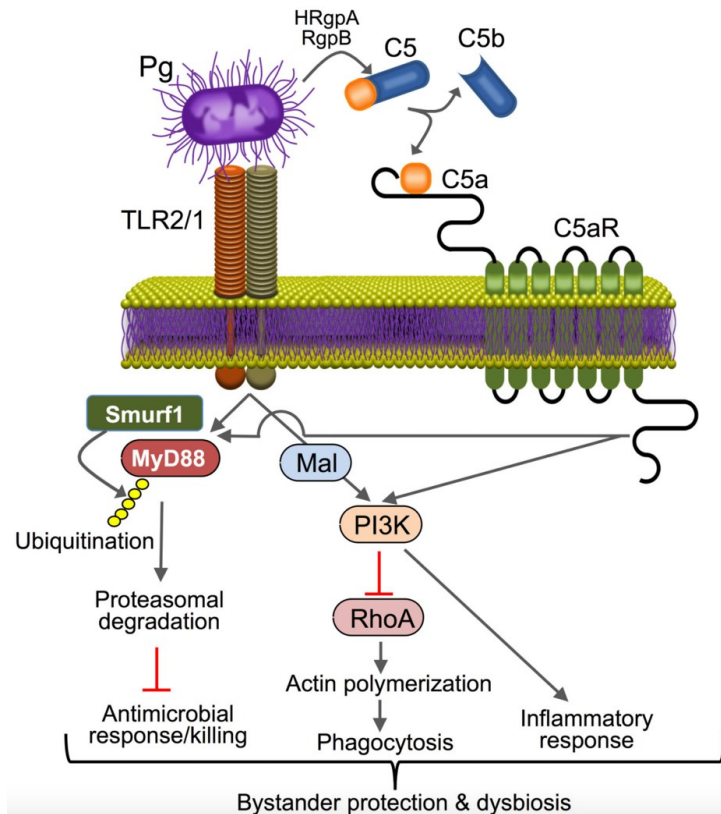


Figura 3 Modelo de ruptura por *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis co-ativa o TLR2 e o receptor do complemento C5a (C5aR) nos neutrófilos, causando a degradação da MYD88 (*myeloid differentiation primary response 88*) e inibindo a resposta antimicrobiana; C5aR e TLR2 ativam a fosfatidilinositol 3-cinase (PI3K) que previne a fagocitose, ao inibir a ativação da proteína RhoA (*Ras homolog family member A*) e a polimerização da actina, estimulando a resposta inflamatória (adaptado de (18)).

1.3 Doença de Behçet

A doença de Behçet (BD) é uma doença inflamatória de etiologia desconhecida, caracterizada por ulceração oral e genital associada a uveíte, lesões cutâneas e complicações neurológicas (19). Encontra-se predominantemente ao longo da antiga rota da seda que se estende desde a Ásia Oriental até à bacia do Mediterrâneo, manifestando-se por volta dos 30 anos, e a sua proporção entre homens e mulheres varia de acordo com a sua origem étnica (16). As estimativas de prevalência variam e são relatadas como 3,8-15,9/100.000 em Itália, 7,1/100.000 em França, 7,5/100.000 em Espanha, 7,6/100.000 no Egito, 20-420/100.000 na Turquia, 15,2-120/100.000 em Israel, 68 /100000 no Irão, 14/100000 na China e 7,5-13/100000 no Japão (20). Em comparação, a

prevalência nos países da América do Norte e do Norte da Europa é rara, variando entre 0,27-5,2 por 100.000 (20). Para diagnosticar a síndrome de Behçet (SB), de acordo com os critérios ISG (*Internacional Study Group*), pelo menos duas das principais características (lesões orais, genitais ou oculares) devem estar presentes quando outra explicação clínica é excluída (21). A utilização de inibidores do fator de necrose tumoral (TNF) monoclonais, apesar da falta de estudos clínicos com um grupo de controlo adequado, tornou-se o tratamento padrão para todas as manifestações refratárias da SB (22). O Tocilizumab, um anticorpo monoclonal que atua bloqueando os recetores de interleucina 6, está limitado ao uso em caso de envolvimento ocular e sistema nervoso central (22). O Apremilast é um inibidor oral da fosfodiesterase 4 que está recomendado para o tratamento de úlceras orais na doença de Behçet, contudo, é necessário realizar mais investigações capazes de comprovar a sua eficácia (22). O Ustekimab é um anticorpo monoclonal anti-IL-12 e IL-23, pode ser utilizado como uma opção de emergência em caso de manifestações mucocutâneas e articulares resistentes (22).

1.4 Líquen Plano Oral

O líquen plano oral (LPO) é uma condição pré-cancerígena causada pelos linfócitos T autocitotóxicos que desencadeiam a apoptose de células epiteliais, resultando assim numa inflamação crónica (23). É uma doença mucocutânea que afeta 2 a 4% da população mundial e apresenta variados aspetos clínicos, que vão desde lesões reticulares/queratóticas a lesões erosivas/ulcerativas (24). A apresentação clínica mais prevalente é a reticular (que inclui linhas e placas brancas) e erosiva (que inclui ulcerações) (25). O envolvimento oral acontece em 90% dos casos de líquen plano, sendo que, 15% dos pacientes com LPO desenvolvem lesões cutâneas e até 20% apresentam lesões genitais (26). O diagnóstico depende de uma avaliação clínica e histológica, sendo o aspeto clínico normalmente suficiente para o seu diagnóstico, apesar de ser aconselhado realizar o estudo histológico para a sua confirmação (26). Como ainda não existe um tratamento efetivo do LPO, as suas terapêuticas são focadas no alívio dos sintomas, para a resolução das úlceras e/ou lesões atróficas, redução do risco de malignização e para prolongar os intervalos sem

sintomas (27). O LPO não erosivo normalmente é tratado com corticosteróides tópicos, no LPO erosivo pode ser realizada a injeção intralesional de triancinolona e, nos casos mais graves de LPO erosivo ou formas refratárias, pode ser utilizado, por exemplo, apremilast ou a hidroxicloroquina (26). O apremilast é um inibidor oral da fosfodiesterase tipo4, que reduz a produção de TNF-alfa, IFN-gama, IL-2, IL-5, IL-8 e IL-12, que contribuem para a patogénese de LPO (26). A hidroxicloroquina devido à sua ação imunomoduladora é utilizada na dermatologia para tratamento de várias doenças, sendo já reportada em alguns estudos a sua eficácia no LPO (26).

1.5 Síndrome de Sjögren

A síndrome de Sjögren (SS) é uma doença autoimune crónica sistémica de etiologia desconhecida. Maioritariamente afeta o sexo feminino, já que 9 em cada 10 casos são mulheres, sendo esta patologia diagnosticada maioritariamente na quinta década de vida (28). É caracterizada por danos imunomediados nas glândulas salivares e lacrimais, levando à secura da boca (xerostomia) e dos olhos (xeroftalmia) (28). Existem dois tipos de síndrome de Sjögren, a primária que ocorre de forma isolada e a secundária em que está associada a outras doenças autoimunes, como artrite reumatóide e lúpus eritematoso sistémico (29). O seu diagnóstico é realizado através da combinação de achados clínicos, histológicos e imunológicos, em combinação com sintomas subjetivos relevantes (olhos e/ou boca seca) (30). A abordagem terapêutica desta doença é realizada de forma empírica e sintomática, nos casos de xeroftalmia utilizam-se lágrimas artificiais à base de pilocarpina e ciclosporina, e nos casos de xerostomia utilizam-se substitutos de saliva à base de soluções de carboximetilcelulose, mucina e ácido poliacrílico (31).

1.6 Cancro Oral

O cancro oral que compreende os cancros dos lábios e da cavidade oral, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), é a 16ª neoplasia maligna mais comum e a 15ª que mais mortes causa. A taxa de incidência é superior nos homens e o risco de desenvolver esta doença aumenta com a idade (32). Os

carcinomas de células escamosas representam 90% dos cânceros orais, sendo que também se podem manifestar nas glândulas salivares menor, em forma de melanomas e linfomas (33). Vários fatores de risco foram associados ao cancro oral, como o uso de tabaco, álcool e o hábito de mascar noz de areca (figura 4) (32). Alguns agentes infecciosos, como o HPV (*Human papillomavirus*) estão também ligados ao desenvolvimento deste tipo de cancro (32).

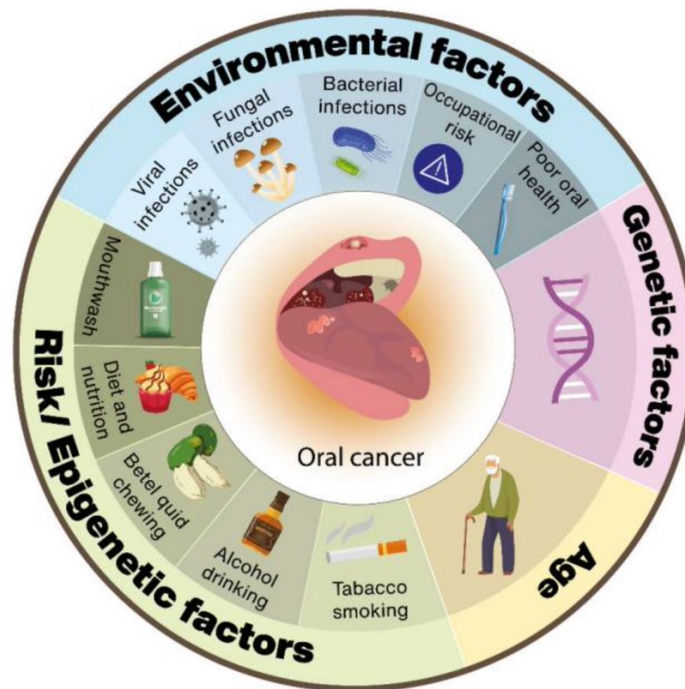


Figura 4 Os principais fatores associados à carcinogénese oral.

Estão incluídos fatores ambientais, fatores epigenéticos, fatores genéticos e a idade (adaptado de (32)).

O cancro oral apresenta um prognóstico desfavorável, com uma taxa de sobrevivência a 5 anos de 40%, mas quando diagnosticado em estágios iniciais (I e II) esta taxa pode exceder os 80% (33). Até 50% dos casos são diagnosticados em estágios avançados (III e IV) pois só nesta fase da doença é que os pacientes começam a desenvolver sintomas e procuram ajuda médica (33). As apresentações clínicas mais comuns são as lesões ulceradas, mobilidade dentária, sangramento, dor ou dormência na boca ou face ou uma prótese mal ajustada (34). Para o seu diagnóstico deve-se ter em atenção as lesões orais potencialmente malignas (LOPM), pois estas podem estar presentes antes de se

desenvolver o cancro oral, e incluem leucoplasia, eritoplasia, fibrose submucosa oral e líquen plano (33). Apesar dos avanços nos diagnósticos e abordagens de tratamento mais desenvolvidas, o cancro oral continua a ter uma baixa taxa de sobrevivência (35). Para o seu diagnóstico precoce, é fundamental os pacientes realizarem o autoexame de forma a detetar a doença num estágio inicial, aumentando assim a taxa de sucesso clínico (36). Como uma grande parte é encontrada num estágio mais avançado é essencial um exame do pescoço e da cabeça, executar a inspeção visual, a palpação, medir a dimensão do tumor, verificar se há invasão óssea, realizar desenhos ou fotografias capazes de auxiliar a decisão clínica e acompanhar o desenvolvimento da doença (36). A TNM é o sistema internacional utilizado para a classificação do estágio do cancro oral durante a primeira consulta e atualizado de acordo com o seu desenvolvimento (36). Para a sua classificação é necessário realizar uma biópsia, utilizar os exames radiográficos para avaliar a relação do tumor com o osso adjacente, avaliar linfonodos locais e avaliar a presença de metástases, embora no cancro oral as metástases distantes não sejam frequentes (36). Os tratamentos utilizados presentemente para o tratamento do cancro oral englobam a cirurgia, radioterapia e a terapia adjuvante (quimioterapia), sendo estes tratamentos dispendiosos e agressivos (37). Cada paciente apresenta um conjunto único de desafios complexos e multidisciplinares cuja abordagem terapêutica tem um efeito direto na qualidade e esperança de vida dos pacientes (34). Os TLRs demonstraram ser um fator chave na progressão de tumores, induzindo tanto a promoção tumoral como as respostas antitumorais (35).

2 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é identificar alterações nos genes TLR em doenças da cavidade oral, através de uma revisão sistemática da literatura, e deste modo clarificar o papel destes genes na suscetibilidade e desenvolvimento de patologias orais. Pretende-se avaliar a possível utilização dos genes TLR como biomarcadores ou fator de prognóstico em doenças da cavidade oral, como por exemplo, o cancro oral ou a periodontite. Estes genes poderão ser um

instrumento útil para o diagnóstico em medicina dentária, podendo assim promover a realização de tratamentos de forma mais precoce e sustentada. Desta forma, a medicina dentária poderá evoluir tornando possível personalizar os tratamentos para cada paciente, desenvolver novas terapêuticas e, assumir assim, um papel mais vigilante e menos interventivo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Questão Orientadora da Investigação

A pesquisa na literatura e a sistematização da informação foi executada de acordo com as recomendações da Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta Analysis (PRISMA) (38).

O primeiro passo para a realização de uma revisão sistemática é formular uma pergunta que guie e limite o estudo, de forma a aumentar a sua eficácia (39). De forma a atingir os objetivos propostos, foi formulada uma questão de investigação PICO (participantes, intervenção, comparação e *outcome*): **Há alterações nos genes TLR em pacientes com doenças da cavidade oral?**

P- Indivíduos com patologia oral

I- Análise de expressão ou mutações dos genes TLR

C- Grupo de controlo, constituído por indivíduos sem patologia oral

O- Alterações nos genes TLR

3.2 Estratégia de Pesquisa

A revisão foi submetida na base de dados *Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO), de forma a evitar duplicados e registar esta revisão sistemática, com o ID-CRD42022316261.

A pesquisa foi efetuada em três bases de dados: PubMed, Web of Science e Cochrane Library, usando uma combinação de termos MeSH e texto livre. As palavras-chave utilizadas nestas três plataformas foram (("Mouth Diseases"[Mesh] OR "mouth disease" OR "oral disease" OR "oral pathology" OR "mouth pathology") AND TLR) OR (TLR AND ("Mouth Neoplasms"[Mesh] OR "Head and Neck Neoplasms"[Mesh] OR "oral cancer" OR "head and neck cancer")), e foram aplicados os filtros “English” e “Humans”.

3.3 Critérios de Inclusão e Exclusão

Para a seleção dos artigos foram seguidos critérios de inclusão e de exclusão, de forma a considerar apenas aqueles com interesse para este trabalho.

Tabela 3 Critérios de inclusão e exclusão utilizados no desenvolvimento deste trabalho.

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Artigos em inglês	Estudos <i>in vitro</i>
Estudos experimentais	Estudos em modelos animais
Ensaio clínico com grupo de controlo “normal” ou saudável	Estudos em crianças
Estudos sobre doenças da cavidade oral	Estudos em cancro que não seja da cavidade oral
Artigos que avaliam a expressão ou mutações dos genes TLR	Artigos de Revisão

3.4 Seleção dos estudos

A seleção dos estudos foi realizada por 2 investigadores independentes que analisaram os artigos, inicialmente pela leitura do título e resumo dos artigos. Posteriormente, foram analisados com a leitura integral e selecionados aqueles que se encontravam de acordo com os critérios de inclusão e exclusão definidos. Em caso de desacordo um terceiro investigador foi consultado.

3.5 Extração dos dados

Durante a extração dos dados foram retiradas as informações gerais de cada artigo, como o título, autor, ano de publicação, local onde o estudo foi desenvolvido, objetivo, tamanho da amostra e idade e género dos participantes. Por fim, foram extraídos os dados relativamente à doença em questão, os TLRs estudados, o tipo da amostra, a técnica executada e os resultados observados.

3.6 Análise dos resultados

Para simplificar a organização dos resultados, foi decidido agrupar os dados de acordo com o tipo de patologia oral e o número de resultados. Doenças orais com 8 ou mais artigos foram divididas por grupos individuais e as restantes formaram 1 grupo único. Ao agrupar os estudos foi possível observar aqueles que incidiam na mesma patologia e estudaram os mesmos TLRs utilizando a mesma técnica experimental. Desta forma, foi possível verificar se existe ou não concordância dos estudos em relação aos seus resultados.

4 RESULTADOS

A pesquisa foi realizada em janeiro de 2022 e atualizada em janeiro de 2023. Foram identificados 347 artigos na PubMed, 102 na Web of Science e 3 na Cochrane, totalizando assim 452 artigos. Foram removidos 93 duplicados e 1 artigo cujo link estava errado, totalizando 358 artigos para a primeira avaliação. Esta avaliação foi realizada de acordo com os critérios de inclusão e exclusão listados na tabela 1, através da leitura do título e/ou resumo. Após a leitura do título e/ou resumo foram encontrados e excluídos adicionalmente 243 artigos. Dos 115 artigos selecionados para leitura integral, foram excluídos ainda 23 artigos, de acordo com os critérios de inclusão e de exclusão. No total, após leitura integral, foram selecionados 92 artigos para esta revisão sistemática (Figura 5).

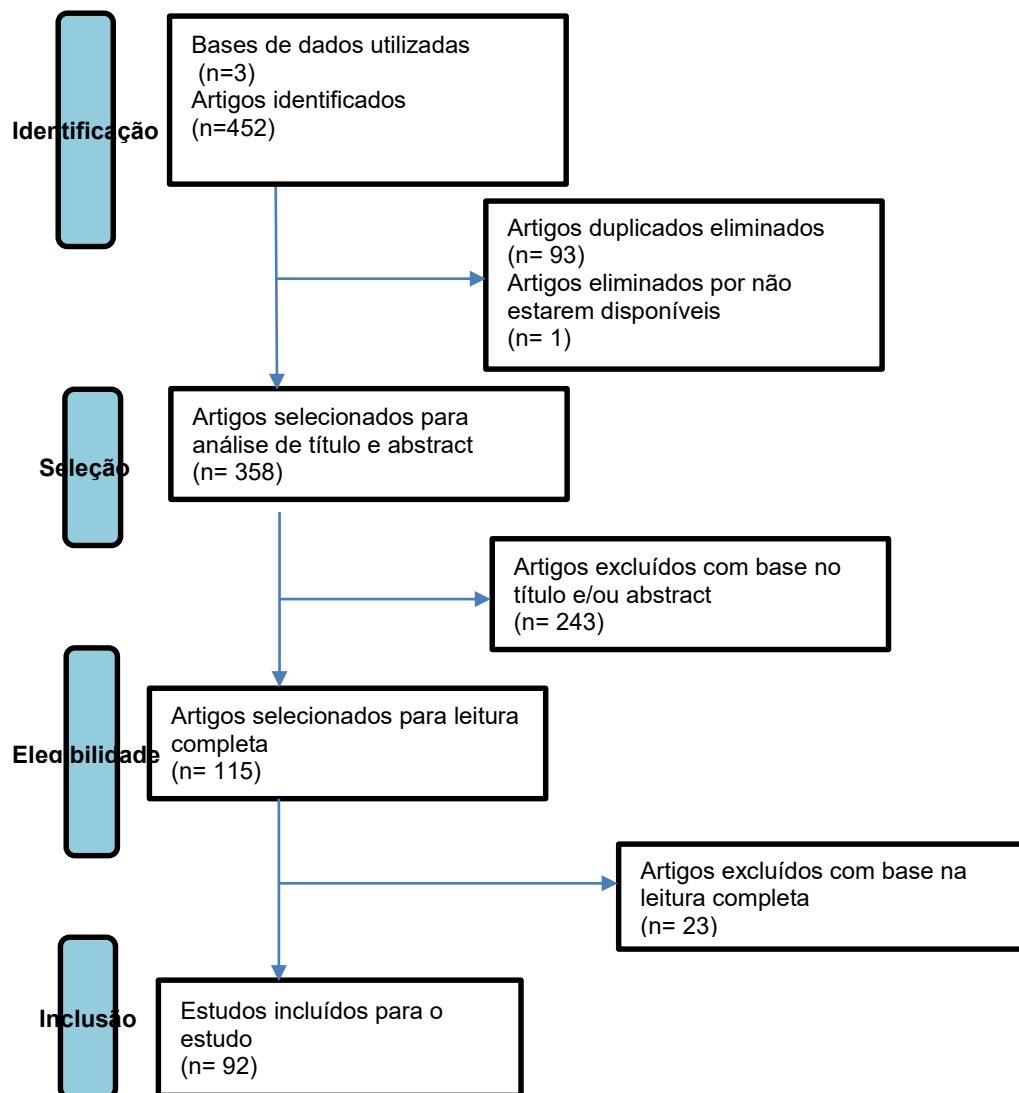


Figura 5 PRISMA: imagem ilustrativa do fluxo de trabalho até à seleção final dos artigos. (38).

Os resultados foram divididos em 6 grupos (cancro oral, doença periodontal, Síndrome de Sjögren, líquen plano oral, doença de Behçet e outras doenças), de acordo com a relevância da patologia para a revisão sistemática. Foram incluídos 22 artigos de Cancro Oral, 30 de Doença Periodontal, 10 de Síndrome de Sjögren, 11 de Líquen Plano Oral, 8 de Doença de Behçet e 11 de outras doenças (figura 6).

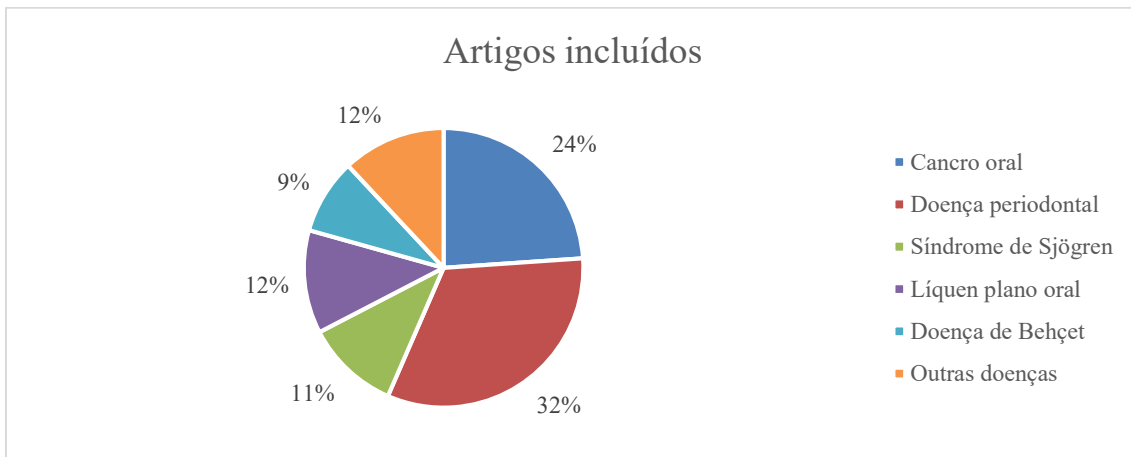


Figura 6 Gráfico da distribuição dos incluídos na revisão sistemática, de acordo com a patologia apresentada.

Os TLRs mais estudados foram o TLR2 e o TLR4, sendo estudados em 62 e 68 artigos, respetivamente, dos 92 artigos incluídos na revisão sistemática (Figura 7). O TLR1 e o TLR8 foram incluídos em 14 artigos. O TLR3 foi utilizado em 20 dos artigos da revisão. O TLR5 e o TLR6 foram estudados em 16 estudos. O TLR7 e o TLR9 foram estudados em 17 e 37 artigos, respetivamente. O TLR menos estudado pelos autores foi o TLR10 com 12 artigos que avaliaram as suas alterações. Apenas 7 artigos estudaram todos os TLRs e 1 estudou todos com a exceção do TLR10.

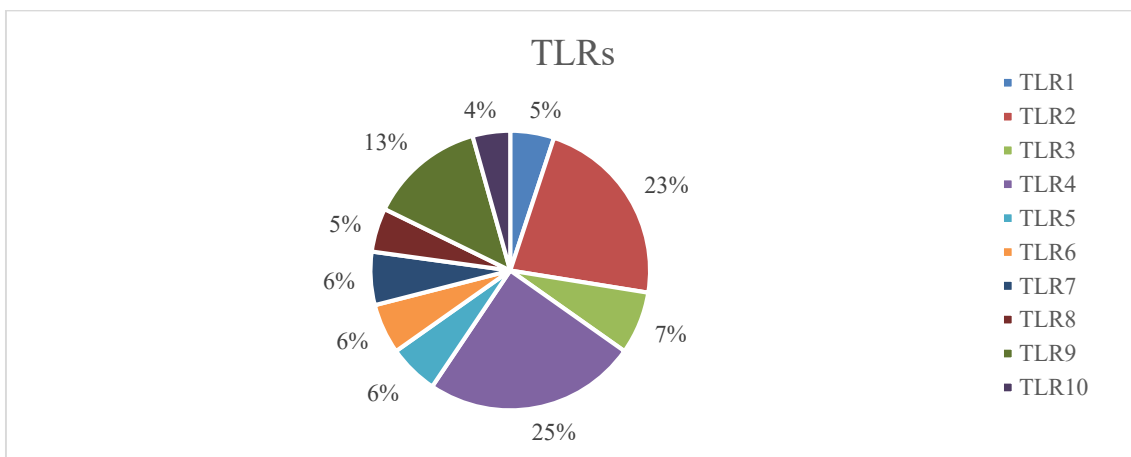


Figura 7 Gráfico da distribuição de cada TLR por artigo na revisão sistemática.

A amostra preferencial para estudar alterações nos TLR foi tecido, com 61 dos 92 artigos a utilizarem esta amostra (Figura 8). O sangue foi utilizado em 30

artigos e a saliva em 10. O plasma foi o menos utilizado com apenas 2 artigos de Doença Periodontal a utilizarem este tipo de amostra.

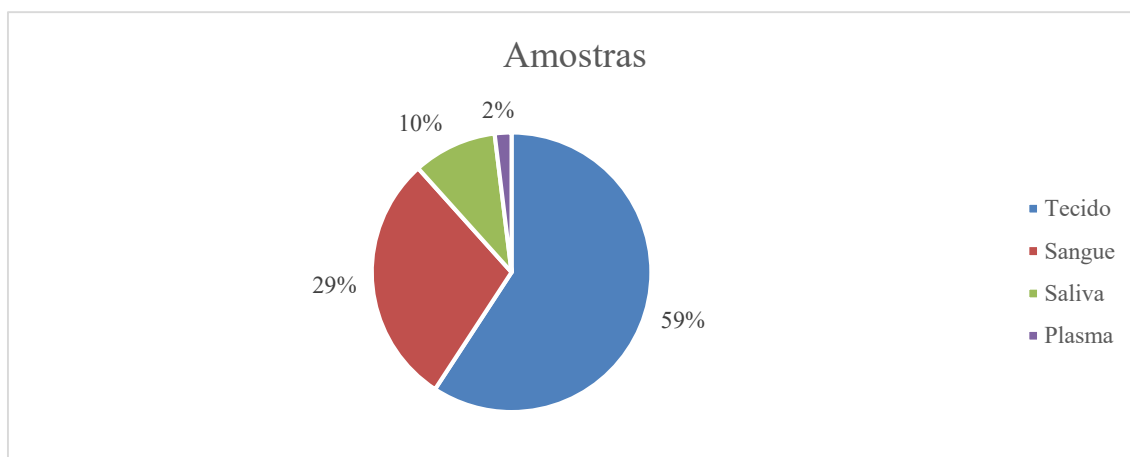


Figura 8 Gráfico de distribuição do tipo de amostra utilizada para estudar alterações nos TLR nos artigos incluídos na revisão sistemática.

As características gerais dos artigos incluídos para a análise encontram-se nas tabelas 4, 6, 8, 10, 12 e 14, em que está descrito o autor, ano, patologia, amostra, a idade e o género dos participantes. O resumo dos resultados encontra-se exposto nas tabelas 5, 7, 9, 11, 13 e 15, nas quais se aborda patologia, TLR, amostra, molécula, técnica e a alteração observada nos TLRs.

4.1 Cancro Oral

Tabela 4 Características gerais dos artigos incluídos de Cancro Oral.

Autor	Ano	Patologia	Amostra	Idade	Género
Gallo et al. (40)	2017	CO e LPM	Total= 339 (175 OLD, 40 OSCC, 35 LSCC, 89 pacientes saudáveis)	21-90 anos (OLD); 45-87 anos (OSCC); 48-86 anos (LSCC); 27-71 anos (controlo)	49 M e 126 F (OLD); 26 M e 14 F (OSCC); 35 M (LSCC); 45 M e 44 F (controlo)
Ding et al. (41)	2017	OSCC	Total=266 (30 tecidos normais, 30 LO, 166 OSCC e 40 tecidos sem malignidade)	Sem dados	Sem dados
Grimm et al. (42)	2014	OSCC	Total= 201 (191 OSCC e 10 controlos saudáveis)	103 <62 anos e 88 >62 anos (OSCC) Sem dados dos controlos	145 M e 46 F (OSCC) Sem dados dos controlos
Han et al. (43)	2018	OSCC	Total= 20 (10 OSCC primário e 10 controlos)	Entre 38-72 anos (OSCC) Sem dados do controlo	6 M e 4 F (OSCC) Sem dados do controlo
Hirvonen et al. (44)	2016	CAC	Total= 32 (32 CAC e controlos)	Entre 25-80 anos	18 M e 14 F (controlos dos mesmos pacientes)
Hussaini et al. (45)	2017	OSCC	Total=37 (25 OSCC e 12 controlos)	Sem dados	Sem dados
Kotrashetti et al. (46)	2013	OSCC e OED	Total= 65 (27 OSCC, 28 OED e 10 controlos)	39-75 anos (OSCC); 30-65 anos (OED) Sem dados dos controlos	20 M e 7 F (OSCC); 22 M e 6 F (OED)

					Sem dados dos controlos
Min et al. (47)	2011	OSCC	Total= 70 (60 OSCC e 10 controlos)	18 <50 anos e 42 ≥50 anos (OSCC); No controlo a idade média foi de 57.1 anos	37 M e 23 F (OSCC); 6 M e 4 F no controlo
Ni et al. (48)	2015	OSCC	Total=236 (166 OSCC, 50 LO e 20 controlos)	Sem dados	85 M e 81 F (OSCC) Sem dados dos restantes grupos
Paleja et al. (49)	2013	OSCC	Sem dados	emparelhada	emparelhado
Parroche et al. (50)	2016	HNSCC	Total= 22 (20 HNSCC e 2 controlos)	Sem dados	Sem dados
Pries et al. (51)	2008	CO	HNSCC e controlos Sem dados do tamanho da amostra	Sem dados	Sem dados
Sharma et al. (52)	2019	OSCC	Total= 300 (100 OSCC, 50 lesões pré-cancerígenas e 150 controlos)	49.75±12.63 anos (OSCC); 42.8±14.37 anos (lesões pré-cancerígenas); 40.68±14.95 anos (controlo)	66 M e 32 F (OSCC); 33 M 17 F (lesões pré-cancerígenas); 129 M 21 F (controlo)
Szczepanski et al (53)	2009	HNSCC	Total= 49 (39 HNSCC e 10 controlos)	50-77 anos (HNSCC); 32-59 anos (controlo)	34 M 5 F (HNSCC); 3 M 7 F (controlo)
Wild et al (54)	2010	HNSCC	Total= 21 (11 HNSCC e 10 controlos)	52-82 anos (HNSCC); 22-46 anos (controlo)	7 M 4 F (HNSCC); 6 M 4 F (controlo)
Yang et al. (55)	2012	NPC	Total= 523 (236 NPC e 287 controlos)	51.3 ± 8.7 anos (NPC); 53.5± 8.5 anos (controlos)	184 M e 52 F (NPC); 218 M e 69 F (controlos)
Yang et al. (56)	2016	OSCC	Total= 142 (110 OSCC e 32 sem OSCC)	31-79 anos (OSCC) Sem dados dos controlos	89 M e 21 F (OSCC) Sem dados dos controlos

Zeljic et al. (57)	2014	OSCC	Total= 197 (93 OSCC e 104 controlos)	50 <58 anos e 43 >58 anos (OSCC); 60 <58 anos e 44 >58 anos (controlos)	68 M e 25 F (OSCC); 76 M e 28 F (controlos)
Omar et al. (58)	2015	OSCC e CSCC	Total= 63 (36 OSCC, 27CSCC e 8 saudáveis)	Idade média foi de 66 nos OSCC e 88 nos CSCC Sem dados dos saudáveis	Sem dados
Ou et al. (59)	2015	NPC	Total=16 (8 NPC e 8 controlos)	48-73 anos (NPC) Sem dados dos normais	5 M e 3 F (NPC) Sem dados dos normais
Jha et al (60)	2023	OSCC	Total= 235 (120 OSCC e 115 controlos)	Sem dados	Sem dados
Visioli et al (61)	2022	OSCC	Total=150 (30 controlos, 38 OSCC sem tecido liquenóide, 28 OSCC com tecido liquenóide, 30 OSCC sem anteriormente ter tecido liquenóide e 24 OSCC com tecido liquenóide anteriormente)	Sem dados	Sem dados

M- sexo masculino, F- sexo feminino, CO- cancro oral, LPM- lesões potencialmente malignas, OSCC- carcinoma pavimento-celular da cavidade oral, OLD- doenças liquenóides orais, LSCC- carcinoma de células escamosas de laringe, CAC- carcinoma adenoide cístico das glândulas salivares maiores, OED- displasia epitelial oral, LO- leucoplasia oral, HNSCC- carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, NPC- cancro da nasofaringe, CSCC- carcinoma de células escamosas cutâneo

Tabela 5 Resultados dos artigos de Cancro Oral.

Artigo	Patologia	TLR	Amostra	Molécula	Técnica	Alteração
(40)	CO e LPM	TLR1 rs4833095	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR1 rs5743618	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR2 rs4696480	tecido	DNA	PCR-RFLP	+ OSCC
		TLR4 rs1927911	tecido	DNA	PCR-RFLP	+ LSCC
		TLR6 rs5743810	tecido	DNA	PCR-RFLP	=

		TLR9 rs5743836	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR9 rs352139	tecido	DNA	PCR-RFLP	+ LSCC
		TLR10 rs11096957	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
(41)	OSCC	TLR3	tecido	proteína	IHC	+
(42)	OSCC	TLR5	tecido	proteína	IHC e WB	NE em controles
(43)	OSCC	TLR7	tecido e sangue	mRNA	real time RT-PCR	=
		TLR9	tecido e sangue	mRNA	real time RT-PCR	-
(44)	CAC	TLR5	tecido	proteína	IHC	+
		TLR7	tecido	proteína	IHC	+
(45)	OSCC	TLR2	tecido	proteína	IHC e IF	+
(46)	OSCC	TLR4	tecido	proteína	IHC	=
	OED	TLR4	tecido	proteína	IHC	=
	OSCC	TLR9	tecido	proteína	IHC	+WDSCC e MDSCC
	OED	TLR9	tecido	proteína	IHC	=
(47)	OSCC	TLR9	tecido	proteína	IHC e WB	+
(48)	OSCC	TLR7	tecido	proteína	IHC	+
(49)	OSCC	TLR2	sangue	proteína	CF	-
		TLR3	sangue	proteína	CF	-
		TLR4	sangue	proteína	CF	-
		TLR9	sangue	proteína	CF	-
(50)	HNSCC	TLR9	tecido	proteína	IHC	-

(51)	CO	TLR1	tecido	proteína	WB, CF e ELISA	NE
		TLR2	tecido	proteína	WB, CF e ELISA	NE
		TLR3	tecido	proteína	WB, CF e ELISA	+
		TLR4	tecido	proteína	WB, CF e ELISA	NE
		TLR5	tecido	proteína	WB, CF e ELISA	NE
		TLR6	tecido	proteína	WB, CF e ELISA	NE
		TLR7	tecido	proteína	WB, CF e ELISA	NE
		TLR8	tecido	proteína	WB, CF e ELISA	NE
		TLR9	tecido	proteína	WB, CF e ELISA	NE
		TLR10	tecido	proteína	WB, CF e ELISA	NE
(52)	OSCC	TLR1 rs5743618	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 rs4986790	tecido	DNA	PCR-RFLP	+
		TLR6 rs5743810	tecido	DNA	PCR-RFLP	-
		TLR9 rs187084	tecido	DNA	PCR-RFLP	+
(53)	HNSCC	TLR4	tecido	proteína e mRNA	RT-PCR, IHC e WB	+
(54)	HNSCC	TLR2	sangue	proteína	CF	NE
		TLR4	sangue	proteína	CF	+
		TLR6	sangue	proteína	CF	+
		TLR9	sangue	proteína	CF	+
		TLR10	sangue	proteína	CF	+
(55)	NPC	TLR2 R753Q	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 T399IT	tecido	DNA	PCR-RFLP	+

		TLR4 D299G	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
(56)	OSCC	TLR4	tecido	proteína	IHC	+
(57)	OSCC	TLR2 rs3804099	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR3 rs5743312	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR3 rs3775291	tecido	DNA	PCR-RFLP	+
		TLR4 rs4986791	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 rs4986790	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
(58)	OSCC e CSCC	TLR4	tecido	proteína	IHC	=
		TLR5	tecido	proteína	IHC	+ OSCC do que CSCC
(59)	NPC	TLR9	tecido	proteína e mRNA	IHC, WB e RT-qPCR	+
(60)	OSCC	TLR4	saliva e sangue	proteína, DNA e mRNA	WB, RT-PCR e sequenciação	+
		TLR9	saliva e sangue	proteína, DNA e mRNA	WB, RT-PCR e sequenciação	+
(61)	OSCC	TLR4	tecido	proteína	IHC	+

(+)- aumento de expressão, (-)- diminuição da expressão, (=)- sem alterações significativas, NE- não encontrado, WDSCC- *Well differentiated squamous cell carcinoma*, MDSCC- *Moderately differentiated squamous cell carcinoma*, CO- cancro oral, LPM-lesões potencialmente malignas, OSCC- carcinoma pavimento-celular da cavidade oral, LSCC- carcinoma de células escamosas de laringe, CAC- carcinoma adenoide cístico das glândulas salivares maiores, OED- displasia epitelial oral, HNSCC- carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, NPC- cancro da nasofaringe, CSCC- carcinoma de células escamosas cutâneo, PCR-RFLP- *restriction fragment length polymorphism*, RT-PCR- *Reverse transcription polymerase chain reaction*, RT-qPCR- *Quantitative real-time polymerase chain reaction*, IHC- Imunohistoquímica, IF- Imunofluorescência, WB- *Western Blot*, CF- citometria de fluxo, ELISA- *enzyme-linked immunosorbent assay*.

Os TLRs mais estudados em cancro foram o TLR4 e o TLR9, sendo estudados em 13 e 11 artigos, respetivamente, dos 22 artigos de Cancro Oral (Figura 9). O TLR2 foi estudado em 7 artigos. O TLR3, TLR5, TLR6 e TLR7 foram estudados em 4 artigos. O TLR1 e TLR10 foram estudados por 3 dos autores. O TLR8 foi apenas abordado por 1 artigo em que foram estudados todos os TLRs.

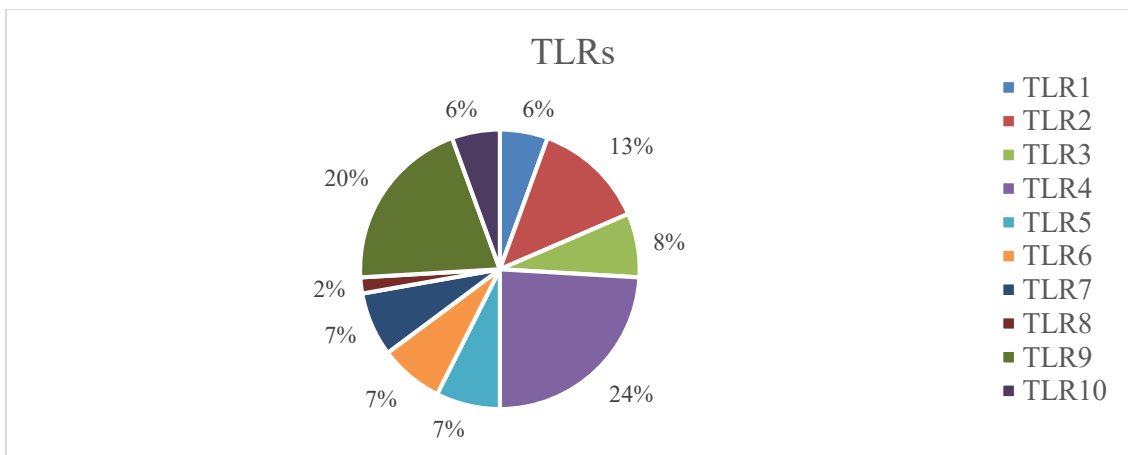


Figura 9 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos de Cancro Oral.

A amostra preferencial dos autores do grupo de Cancro Oral foi o tecido com 19 dos 22 artigos a utilizarem esta amostra (Figura 10). O sangue foi utilizado em 4 artigos e a saliva em apenas 1.

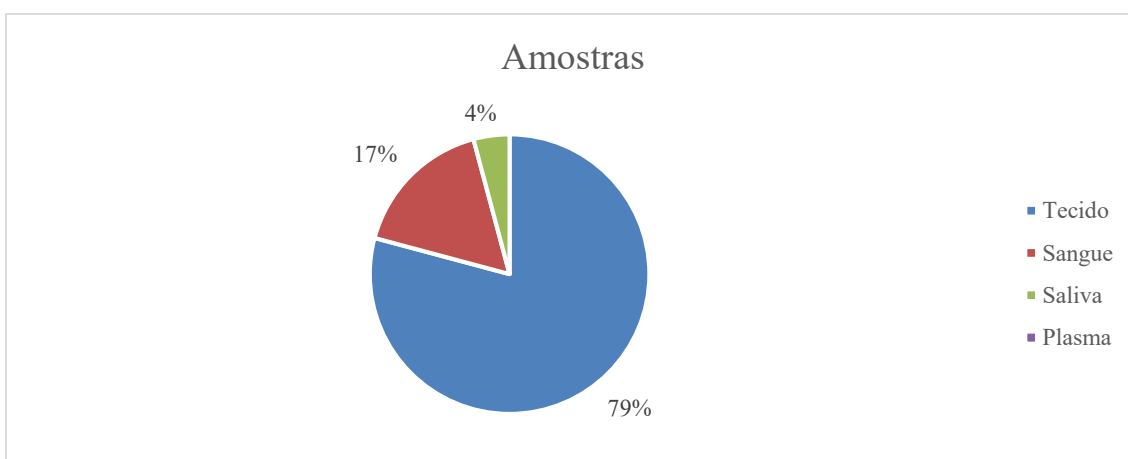


Figura 10 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores de Cancro Oral.

4.2 Doença Periodontal

Tabela 6 Características gerais dos artigos de Doença Periodontal.

Autor	Ano	Patologia	Amostra	Idade	Género
AlQallaf et al. (62)	2018	GG e PC	Total= 60 (20 GG, 20 PC e 10 pacientes saudáveis)	44.3+/-10.2 anos (controlos); 46.10 ± 11.55 anos (GG); 51.25 ± 13.77 anos (PC)	4M e 6 F (controlos); 5 M e 11 F (GG); 15 M e 3 F (PC)
Banu et al. (63)	2015	PC	Total= 60 (40 PC e 20 controlos)	40-65 anos	23 M e 37 F
Beklen et al. (64)	2008	PC	Total= 20 (10 PC e 10 controlos)	31-45 anos (PC); 20-37 anos (controlos)	Sem dados
Beklen et al. (8)	2014	PC	Total= 20 (10 PC e 10 controlos)	33-45 anos (PC); 20-37 anos (controlos)	Sem dados
Beklen et al. (65)	2009	PC	Total= 20 (10 PC e 10 controlos)	31-45 anos (PC); 20-37 anos (controlos)	Sem dados
Berdeli et al. (66)	2007	PC	Total= 189 (83 PC e 106 controlos)	35-63 anos (PC); 35-70 anos (controlos)	55 M e 28 F (PC); 40M e 66 F (controlos)
Buduneli et al. (67)	2011	PC	Total=43 (22 PC não fumadores e 21 controlos saudáveis)	A mediana PC= 48 anos; controlos= 41 anos	16 M e 6 F (PC); 11 M e 10 F (controlos)
Amormino et al. (17)	2013	PC	Total= 40 (20 PC e 20 controlos)	36.75 ± 7.79 anos (controlos); 75 ± 7.79 anos (PC)	10 M e 10 F (PC); 10 M e 10 F (controlos)

De Oliveira NF et al. (68)	2011	PC	Total= 34 (11 controlos, 11 PC fumadores e 12 PC não fumadores)	39.8 ± 15.5 anos (controlos); 45.7 ± 7.4 anos (PC fumadores); 45.5 ± 10.1 anos (PC não fumadores)	32.5% M e 67.5 % F (controlos); 52.5% M e 47.5 % F (PC fumadores); 32.5% M e 67.5 % F (PC não fumadores)
Duarte et al. (69)	2012	PC	Total= 60 (15 saudáveis, 15 PC sem doenças sistémicas, 15 PC T2DM controlados e 15 PC T2DM não controlados)	Entre 35-60 anos	28 M e 32 F
Emingil et al. (70)	2007	GAP	Total= 245 (90 GAP e 155 saudáveis)	16-39 anos (GAP); 17-70 anos (controlos)	37 M e 53 F (GAP); 61M e 94 F (saudáveis)
Fatemi et al. (71)	2013	PC	Total= 45 (17 PC fumadores, 20 PC nunca fumadores e 8 saudáveis nunca fumadores)	49.5 ± 8.2 anos (PC fumadores); 46.1 ± 6.3 anos (PC nunca fumadores); 43.5 ± 2.7 anos (controlo)	15 M e 2 F (PC fumadores); 12 M e 8 F (PC nunca fumadores); 5 M e 3 F (controlos)
Fernández et al. (72)	2019	Pa	Total= 74 (35 Pa assintomática, 29 Pa sintomática e 10 controlos)	+ de 18 anos	Sem dados
Folwaczny et al. (73)	2011	PC	Total= 970 (380 PC e 590 controlos)	18-73 anos (controlo); 18-85 anos (PC)	49,8% M e 50,2% F (controlo); 47,4% M e 52,6% F (PC)
Folwaczny et al. (74)	2004	PC	Total= 244 (122 PC e 122 controlos)	18-73 anos (controlos); 25-74 anos (PC)	54% M e 46% F (PC) Sem dados controlos

Gursoy et al. (75)	2016	Periodontite	Total= 223 (73 (0-2.9mm), 74 (3-13.4mm) e 76 (mais de 13.4mm))	40-60 anos	Sem dados
Hedgpeth et al (76)	2015	PC e T2DM	Total= 36 (14 controlos, 15 PC e e 7 PC + T2DM)	42-79 anos (controlos); 40-79 anos (PC); 52-71 anos (PC + T2DM)	11 M e 3 F (controlos); 10 M e 5 F (PC); 7 M (PC + T2DM)
Holla et al. (77)	2010	PC	Total= 481 (222 PC e 259 controlos)	33-55 anos (controlos); 35-55 anos (PC)	122 M e 137 F (controlos); 112 M e 110 F (PC)
Marques et al. (78)	2021	PC e LES	Total= 77 (42 LES (21 PC e 21 sem PC) e 35 sem LES (18 PC e 17 sem PC))	33-48 anos (LES); 35-56 anos (sem LES)	Sem dados
Muthukuru et al. (79)	2005	PC	Total= 24 (12 PC e 12 controlos)	55±14 anos (PC); 47,3±10.9 anos (controlos)	57% M e 43% F (PC); 36% M e 64% F (controlos)
Promsudthi et al. (80)	2014	PC e T2DM	Total= 86 (23 PC, 21 PC + T2DM, 22 saudáveis e 20 com periodonto saudável + T2DM)	54.26±8.25 anos (PC); 53.19±10.25 anos (PC+T2DM); 34±14.4 anos (saudáveis); 52.45±10.86 anos (saudáveis + T2DM)	Sem dados
Ren et al. (81)	2005	PC	Total= 58 (43 PC e 15 controlos)	47.9±3.7 anos (PC); 23.4±3.6 anos (controlo)	22 M e 21 F (PC); 7 M e 8 F (controlos)
Ribeiro et al. (82)	2012	PC	Total= 25 (15 PC e 10 saudáveis)	37.2±6.3 anos (controlos); 45±7.1 anos (PC)	7 M e 8 F (PC); 4 M e 5 F =9 (controlos)
Sahingur et al. (83)	2011	PC	Total= 191 (114 PC e 77 controlos)	52.9±1 anos (PC); 45.7±1.7 anos (controlos)	56 M e 49 F (PC); 34 M e 45 F (controlos)

Sahingur et al. (84)	2013	PC	Total= 52 (25 PC e 27 controlos)	58.8±2.44 anos (PC); 47.6±2.7 anos (controlos)	18 M e 15 F (PC); 7 M e 20 F (controlos)
Sarah et al. (85)	2006	PC e GG	Total= 25 (8 PC, 9 GG e 8 controlos)	Sem dados	Sem dados
Schröder et al. (86)	2005	PC e PA	Total= 394 (116 PC, 81 PA, 116 controlos para PC e 81 controlos para PA)	22-81 anos (PC); 22-83 anos (controlos PC); 40-81 anos (PA); 40-83 anos (controlos PA)	43.2% M (PC); 43.2% M (controlos PC); 38.8% (PA); 38.8% (controlos PA)
Swaminathan et al. (87)	2013	PC	Total= 40 (20 PC e 20 controlos)	41.67±10.07 anos (PC); 28.60±2.44 anos (controlos)	9 M e 9 F (PC); 10 M e 8 F (controlos)
Wara-aswapati et al. (88)	2013	PC	Total= 35 (19 PC e 16 saudáveis)	51.7±12.9 anos (PC); 34±15.8 anos (controlos)	12 M e 7 F (PC); 2M e 14 F (controlos)
Zhang et al. (89)	2020	PC e GG	Total= 64 (27 PC, 17 GG e 20 saudáveis)	24-60 anos	14 M e 13 F (PC); 7 M e 10 F (GG); 8 M e 12 F (controlos)

M- sexo masculino, F- sexo feminino, GG- gengivite, PC- periodontite crónica, T2DM- diabetes mellitus tipo 2, GAP- periodontite agressiva generalizada, Pa- periodontite apical, LES- lúpus eritematoso sistémico, PA- periodontite agressiva.

Tabela 7 Resultados dos artigos de Doença Periodontal.

Artigo	Patologia	TLR	Amostra	Molécula	Técnica	Alteração
(62)	GG e PC	TLR2	saliva	proteína	ELISA	=
			tecido	mRNA	RT-qPCR	=
		TLR4	saliva	proteína	ELISA	- PC; = GG
			tecido	mRNA	RT-qPCR	+
(63)	PC	TLR4	Saliva	proteína	ELISA	+
			plasma	proteína	ELISA	+
(64)	PC	TLR1	tecido	proteína	IHC	- estrato epitelial superficial e espinhoso; = camada basal + tecidos conetivos
		TLR2	tecido	proteína	IHC	= camada epitelial superficial; + estrato espinhoso e na camada basal + tecidos conetivos
		TLR3	tecido	proteína	IHC	+ camada epitelial superficial e estrato espinhoso; = camada basal

					+ tecidos conetivos
					= camada epitelial superficial e camada basal; - estrato espinhoso
TLR4	tecido		proteína	IHC	+ tecidos conetivos
					- camada epitelial superficial e estrato espinhoso; = camada basal
TLR5	tecido		proteína	IHC	+ tecidos conetivos
					= camada epitelial superficial; + estrato espinhoso e camada basal
TLR6	tecido		proteína	IHC	+ tecidos conetivos
					=
TLR7	tecido		proteína	IHC	+ tecidos conetivos
					=
TLR8	tecido		proteína	IHC	+ tecidos conetivos
					+
TLR9	tecido		proteína	IHC	+ tecidos conetivos
					NE
TLR10	tecido		proteína	IHC	

(8)	PC	TLR4	tecido	proteína	IHC	+ camadas epiteliais mais profundas
(65)	PC	TLR2	tecido	proteína	IHC	+
		TLR5	tecido	proteína	IHC	+
(66)	PC	TLR2 Arg753Gln	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 Asp299Gly	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 Thr399Ile	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
(67)	PC	TLR2	saliva	proteína	ELISA	=
			plasma	proteína	ELISA	+
		TLR4	saliva	proteína	ELISA	+
			plama	proteína	ELISA	+
(17)	PC	TLR2	tecido	DNA	qPCR	-transcrição PC
(68)	PC	TLR2	tecido	DNA e mRNA	qPCR	RI
		TLR4	tecido	DNA e mRNA	qPCR	+ desmetilação
(69)	PC	TLR2	tecido	mRNA	Real-time PCR	+
		TLR4	tecido	mRNA	Real-time PCR	+
(70)	GAP	TLR2 Arg753Gln	sangue	DNA	PCR-RFLP	=

		TLR2 Arg677Trp	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 Asp299Gly	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 Thr399Ile	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
(71)	PC	TLR2	tecido	mRNA	Real-time PCR	+
		TLR4	tecido	mRNA	Real-time PCR	+
(72)	Pa	TLR2	tecido	mRNA	RT-PCR	=
		TLR4	tecido	mRNA	RT-PCR	+
(73)	PC	TLR2	sangue	DNA	PCR	=
(74)	PC	TLR2 Arg753Gln	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR2 Arg677Trp	sangue	DNA	PCR-RFLP	NE
		TLR4 Asp299Gly	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 Thr399Ile	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
(75)	Periodontite	TLR4 Asp299Gly	saliva	DNA	PCR-RFLP	+ perda óssea
		TLR9 rs187084	saliva	DNA	PCR-RFLP	- perda óssea
(76)	PC e T2DM	TLR4	tecido	mRNA	Real-time PCR	=

(77)	PC	TLR2 Arg753Gln	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR2 rs4696480	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR9 rs5743836	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR9 rs187084	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR9 rs187084	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
(78)	LES	TLR2	saliva	mRNA	Real time qPCR	+
	PC	TLR2	saliva	mRNA	Real time qPCR	+
	LES e PC	TLR2	saliva	mRNA	Real time qPCR	+
	LES	TLR4	saliva	mRNA	Real time qPCR	+
	PC	TLR4	saliva	mRNA	Real time qPCR	+
	LES e PC	TLR4	saliva	mRNA	Real time qPCR	+
(79)	PC	TLR2	tecido	proteína e mRNA	IHC	+
					Real-time PCR	-
		TLR4	tecido	proteína e mRNA	IHC	+
					Real-time PCR	-
		TLR5	tecido	proteína e mRNA	Real-time PCR	-
		(80)	PC	TLR2	tecido	proteína
T2DM	TLR2		tecido	proteína	IHC	=
PC+T2DM	TLR2		tecido	proteína	IHC	+

	PC	TLR4	tecido	proteína	IHC	-
	T2DM	TLR4	tecido	proteína	IHC	=
	PC+T2DM	TLR4	tecido	proteína	IHC	+
(81)	PC	TLR2	tecido	proteína	IHC	+
		TLR4	tecido	proteína	IHC	NE controles
(82)	PC	TLR2	tecido	mRNA	Real-time PCR	+
		TLR4	tecido	mRNA	Real-time PCR	+
(83)	PC	TLR2 G2408A	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 A896G	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR9 T1486C	sangue	DNA	PCR-RFLP	+
		TLR9 T1237C	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
(84)	PC	TLR1	tecido	proteína e mRNA	Real-time qPCR e IHC	=
		TLR2	tecido	proteína e mRNA	Real-time qPCR e IHC	=
		TLR3	tecido	proteína e mRNA	Real-time qPCR e IHC	=
		TLR4	tecido	proteína e mRNA	Real-time qPCR e IHC	=
		TLR5	tecido	proteína e mRNA	Real-time qPCR e IHC	=
		TLR6	tecido	proteína e mRNA	Real-time qPCR e IHC	=
		TLR7	tecido	proteína e mRNA	Real-time qPCR e IHC	=
		TLR8	tecido	proteína e mRNA	Real-time qPCR e IHC	+

		TLR9	tecido	proteína e mRNA	Real-time qPCR e IHC	+
(85)	PC	TLR2	tecido	mRNA	RT-PCR	+
		TLR4	tecido	mRNA	RT-PCR	+
		TLR2	tecido	mRNA	RT-PCR	+
	GG	TLR4	tecido	mRNA	RT-PCR	+
		TLR2	tecido	mRNA	RT-PCR	+
(86)	PC e PA	TLR2 Arg753Gln	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 Asp299Gly	sangue	DNA	PCR-RFLP	+
		TLR4 Thr399Ile	sangue	DNA	PCR-RFLP	+
(87)	PC	TLR2	saliva	mRNA	Real-time qPCR	=
		TLR4	saliva	mRNA	Real-time qPCR	+
(88)	PC	TLR2	tecido	mRNA	RT-PCR	+
		TLR4	tecido	mRNA	RT-PCR	=
		TLR9	tecido	mRNA	RT-PCR	+
(89)	PC	TLR8	sangue	proteína	WB	=
	GG	TLR8	sangue	proteína	WB	-

(+)- aumento de expressão, (-)- diminuição da expressão, (=)- sem alterações significativas, RI- resultado inconclusivo, GG- gengivite, PC- periodontite crónica, T2DM- diabetes mellitus tipo 2, GAP- periodontite agressiva generalizada, Pa- periodontite apical, LES- lúpus eritematoso sistémico, PA- periodontite agressiva, PCR-RFLP- *restriction fragment length polymorphism*, qPCR- *quantitative polymerase chain reaction*, RT-PCR- *reverse transcription polymerase chain reaction*, RT-qPCR- *Quantitative real-time polymerase chain reaction*, IHC- *Imunohistoquímica*, WB- *Western Blot*, ELISA- *enzyme-linked immunosorbent assay*,

Os TLRs mais estudados na Doença Periodontal foram o TLR2 e TLR4, sendo estudados em 25 artigos dos 30 artigos de Doença Periodontal (Figura 11). O TLR5, TLR8 e TLR9 foram estudados em 4, 3 e 6 artigos, respetivamente. Os TLRs menos estudados foram o TLR1, TLR3, TLR6 e TLR7 com 2 e o TLR10 com apenas 1 dos 30 artigos a estudar as suas alterações. Apenas 1 artigo estudou as alterações em todos os TLRs. Um dos artigos estudou todos os TLRs com a exceção do TLR10.

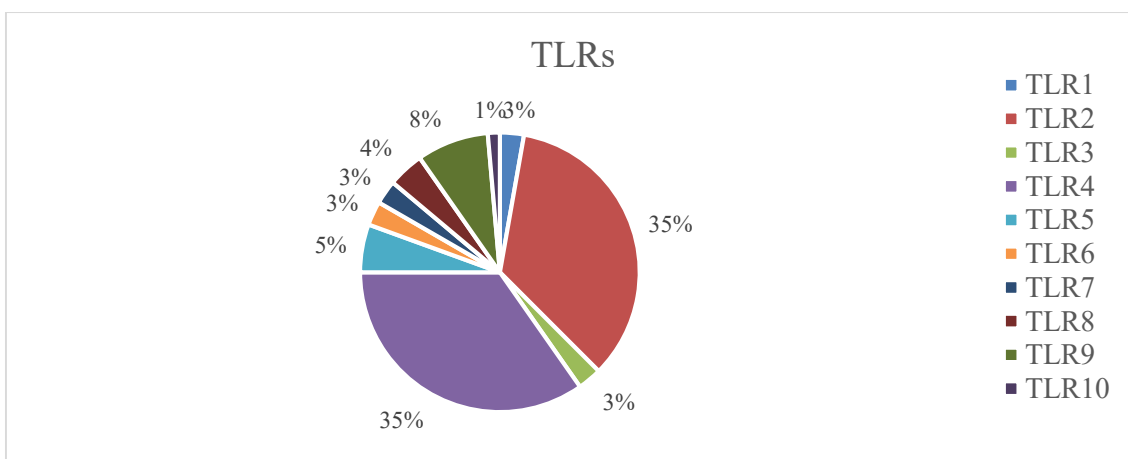


Figura 11 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos de Doença Periodontal.

A amostra preferencial dos autores do grupo de Doença Periodontal foi o tecido com 17 dos 30 artigos a utilizarem esta amostra (Figura 12). O sangue foi utilizado em 8 e a saliva em 6 artigos. O plasma foi o menos utilizado como amostra, em apenas 2 artigos.

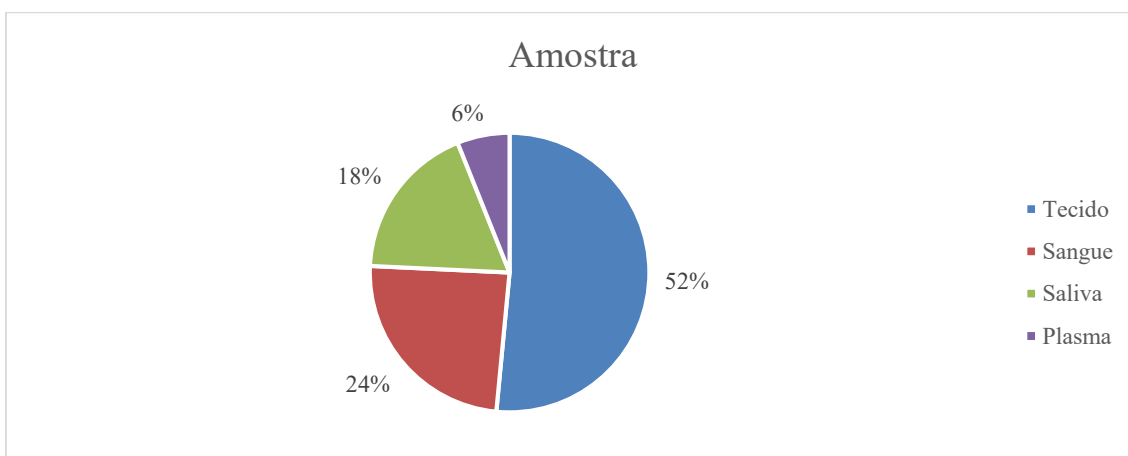


Figura 12 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores de Doença Periodontal.

4.3 Síndrome de Sjögren (SS)

Tabela 8 Características gerais dos artigos da Síndrome de Sjögren.

Autor	Ano	Patologia	Amostra	Idade	Género
Horai et al. (90)	2016	SS	Total= 16 (11 SS e 5 controlos)	19- 78 anos (SS); 34- 77 anos (controlos)	F
Ishiguro et al. (91)	2020	SS, IgG4-RD e Sialoadenite crónica	Total= 50 (15 IgG4-RD, 15 SS, 10 sialoadenite crónica e 10 controlos)	63.6 ± 10.3 anos (IgG4-RD); , 54.3 ± 17.6 anos (SS); 49.1 ± 21.6 anos (sialoadenite crónica) ;62.1 ± 13.6 anos (controlos)	11 M e 4 F (IgG4-RD); 15 F (SS); 4 M e 6 F (sialoadenite crónica); 5M e 5 F (controlo)
Karlsen et al. (92)	2015	SS	Total= 50 (T25 SS e 25 saudáveis)	59±14 anos (SS); 57±5 anos (controlos)	F
Karlsen et al. (93)	2017	pSS	Total= 40 (20 pSS e 20 saudáveis)	58±8 anos (pSS); 56±10 anos (controlos)	2 M e 18 F (pSS); 20 F (controlos)
Kawakami et al. (94)	2007	pSS	Total=24 12 pSS e 4 controlos	59±10,9 anos (pSS); 47,52 54 e 64 anos (controlos)	2 M e 10 F (pSS); 4 F (controlos)
Kwok et al. (95)	2012	SS	Total= 60 (40 SS e 20 controlos)	emparelhada	emparelhado
Maria et al. (96)	2017	pSS	Total= 157 (42 controlos, 56 pSS com IFN negativo e 59 pSS com IFN positivo)	52.5±9.67 (controlos); 59.6±9.2 anos (pSS IFNneg); 55.3±13.2 (pSS IFNpos)	88.1% F (controlos); 93.1% (pSS IFNneg); 90.0% (pSS IFNpos)

Shimizu et al. (97)	2019	pSS	Total= 16 (11 pSS e 5 saudáveis)	57-65 anos (pSS); 40-68 anos (controlo)	F
Spachidou et al. (98)	2007	pSS	Total= 14 (7 pSS e 7 controlos)	Sem dados	Sem dados
Vogelsang et al. (99)	2014	SS	Total= 107 (52 SS e 55 controlos)	58±13 anos (SS); 52±8 anos (controlos)	1 M e 51 F (SS); 2 M e 53 F (controlos)

M- sexo masculino, F-sexo feminino, SS- síndrome de Sjögren, pSS- síndrome de Sjögren primário, IgG4-RD- doença relacionada à imunoglobulina G4, IFN- interferon gama

Tabela 9 Resultados dos artigos da Síndrome de Sjögren.

Artigo	Patologia	TLR	Amostra	Molécula	Técnica	Alteração
(90)	SS	TLR3	tecido	proteína	IF	+
(91)	SS, IgG4-RD e Sialoadenite crónica	TLR1	tecido e sangue	mRNA e proteína	Real-time PCR, IHC	=
		TLR2	tecido e sangue	mRNA e proteína	Real-time PCR, IHC	=
		TLR3	tecido e sangue	mRNA e proteína	Real-time PCR, IHC	=
		TLR4	tecido e sangue	mRNA e proteína	Real-time PCR, IHC	+IgG4-RD
		TLR5	tecido e sangue	mRNA e proteína	Real-time PCR, IHC	=
		TLR6	tecido e sangue	mRNA e proteína	Real-time PCR, IHC	=
		TLR7	tecido e sangue	mRNA e proteína	Real-time PCR, IHC	+IgG4-RD
		TLR8	tecido e sangue	mRNA e proteína	Real-time PCR, IHC	+IgG4-RD
		TLR9	tecido e sangue	mRNA e proteína	Real-time PCR, IHC	+SS; +IgG4-RD
		TLR10	tecido e sangue	mRNA e proteína	Real-time PCR, IHC	=

(92)	SS	TLR7	sangue	proteína e mRNA	IHC e Real-time qPCR	=
		TLR9	sangue	proteína e mRNA	IHC e Real-time qPCR	=
(93)	pSS	TLR1	sangue	mRNA	qPCR	=
		TLR2	sangue	proteína e mRNA	qPCR	=
					WB	=
		TLR3	sangue	proteína e mRNA	qPCR	=
		TLR4	sangue	proteína e mRNA	qPCR	=
					WB	=
		TLR5	sangue	proteína e mRNA	qPCR	=
					WB	-
		TLR6	sangue	proteína e mRNA	qPCR	=
					WB	=
TLR7	sangue	proteína e mRNA	qPCR	=		
			WB	+		
TLR8	sangue	proteína e mRNA	qPCR	+		
			WB	=		
TLR9	sangue	proteína e mRNA	qPCR	-		
			WB	=		
TLR10	sangue	proteína e mRNA	qPCR	=		
(94)	pSS	TLR2	tecido	proteína	IHC, IF e WB	+
		TLR3	tecido	proteína	IHC, IF e WB	+
		TLR4	tecido	proteína	IHC, IF e WB	+

(95)	SS	TLR2	tecido	mRNA e proteína	IHC e PCR	+
		TLR4	tecido	mRNA e proteína	IHC e PCR	+
		TLR6	tecido	mRNA e proteína	IHC e PCR	+
(96)	pSS	TLR7	sangue	mRNA	IHC, microarray e RT-qPCR	+
		TLR9	sangue	mRNA	IHC, microarray e RT-qPCR	=
(97)	pSS	TLR7	tecido	proteína	IHC, WB e CF	+
		TLR8	tecido	proteína	IHC	=
		TLR9	tecido	proteína	IHC	=
(98)	pSS	TLR1	tecido	mRNA	RT-PCR	+
		TLR2	tecido	mRNA	RT-PCR	+
		TLR3	tecido	mRNA	RT-PCR	+
		TLR4	tecido	mRNA	RT-PCR	+
(99)	SS	TLR7	sangue	mRNA	qPCR	=

(+)- aumento de expressão, (-)- diminuição da expressão, (=)- sem alterações significativas, SS- síndrome de Sjögren, pSS- síndrome de Sjögren primário, IgG4-RD- doença relacionada à imunoglobulina G4, RT-PCR- *Reverse transcription polymerase chain reaction*, qPCR- *quantitative polymerase chain reaction*, RT-qPCR- *Quantitative real-time polymerase chain reaction*, IHC- *Imunohistoquímica*, WB- *Western Blot*, CF- *citometria de fluxo*, qPCR- *quantitative real-time polymerase chain reaction*.

O TLR mais estudado foi o TLR7, sendo estudado em 6 artigos dos 10 artigos da Síndrome de Sjögren (Figura 13). O TLR2, TLR3, TLR4, e TLR9 foram por 5 vezes incluídos nos artigos. O TLR1, TLR6 e o TLR8 foram utilizados em 3 dos artigos. Os TLRs menos estudados foram os TLR5 e TLR10 sendo apenas estudados em 2 artigos que avaliaram todos os TLRs. Apenas 2 artigos estudaram as alterações em todos os TLRs.

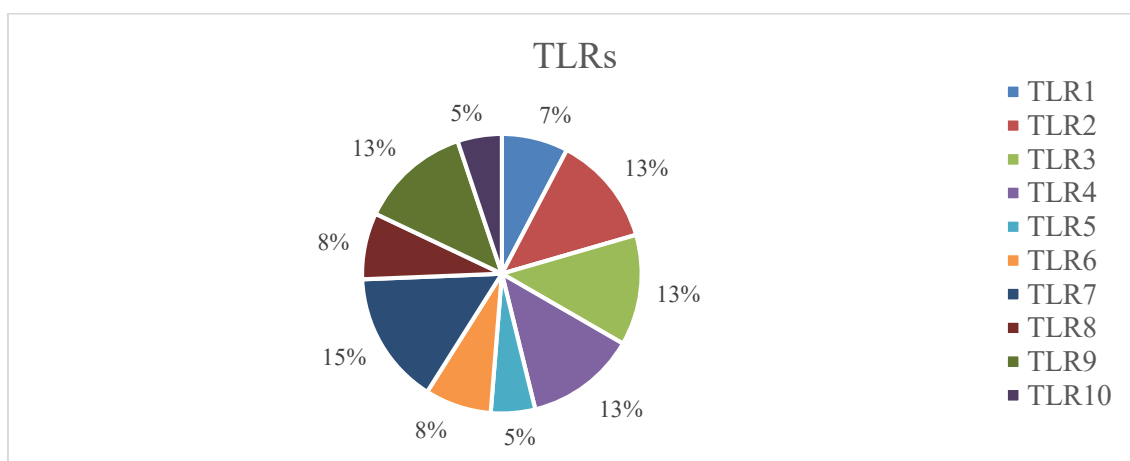


Figura 13 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos da Síndrome de Sjögren.

Tecido e sangue foram as únicas amostras utilizadas neste grupo. A amostra preferencial dos autores do grupo da Síndrome de Sjögren foi tecido, com 6 dos 10 artigos a utilizarem esta amostra (Figura 14). O sangue foi utilizado em 5 artigos.

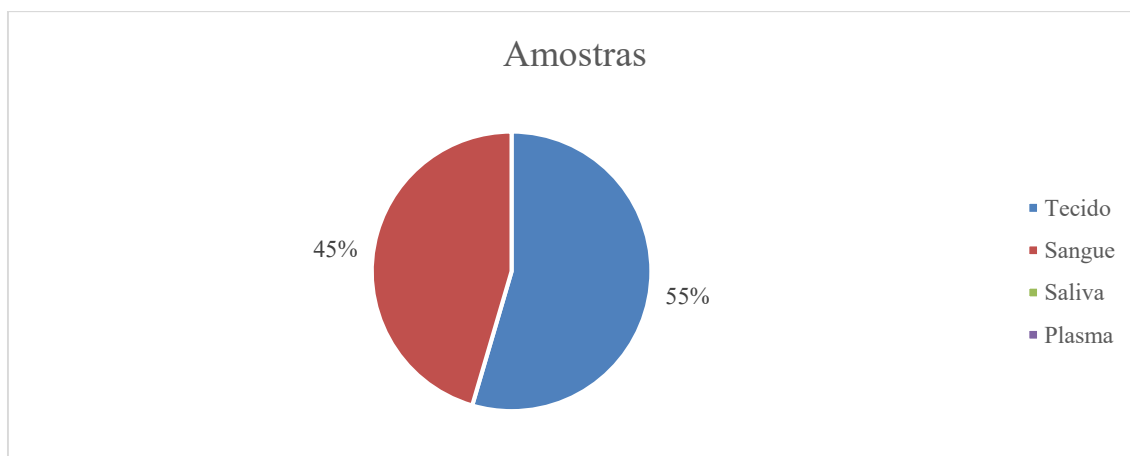


Figura 14 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores da Síndrome de Sjögren.

4.4 Líquen Plano Oral (LPO)

Tabela 10 Características gerais dos artigos de Líquen Plano Oral.

Autor	Ano	Patologia	Amostra	Idade	Género
Amin et al. (23)	2020	LPO	Total= 60 (20 LPO não fumadores, 20 LPO fumadores e 20 controlos)	Sem dados	Sem dados
Janardhana m et al (24)	2012	LPO	Total= 50 (25 LPO e 25 saudáveis)	49.4 ±7 anos (controlos); 61.5±7,8 anos (LPO)	9M e 16 F (controlos); 7 M e 18 F (LPO)
Kho et al. (100)	2013	LPO e BMS	Total=30 (10 BMS, 10 LPO e 10 saudáveis)	61.5±8.2 anos (BMS); 59±7.9 anos (LPO); 57.6±5.6 anos (controlos)	F
Ohno et al. (101)	2011	LPO	Total=36 (31 LPO e 5 controlos)	67.1±10.9 anos (LPO); 52±6.4 anos (controlos)	10 M e 22 F (LPO); 2 M e 3 F (controlos)
Sinon et al. (102)	2016	LPO	Total= 48 (12 LPO e 12 controlos (arquivados) 6 LPO e 6 controlos (frescos))	Idade média das amostras arquivadas- 56 LPO e 47 anos controlos Nas amostras frescas 63 anos LPO e 53 anos controlos	Amostras arquivadas- 2 M e 3 F LPO e 1 M e 4 F controlos Nas amostras frescas- 2 M e 3 F LPO e 1 M e 3 F controlos
Siponen et al. (103)	2012	LPO	Total=55 (50 LPO e 5 controlos)	Sem dados	Sem dados

Srinivasan et al (104)	2008	LPO e BMS	Total= 60 (25 LPO, 10 BMS, 10 OLP/BMS com candidíase oral e 15 controlos)	emparelhada	emparelhado
Wang et al. (105)	2018	LPO	Total= 32 (23 LPO (14 LPO reticular e 9 LPO erosivo) e 9 controlos)	24-68 anos (LPO); 20-68 anos (controlos)	8 M e 15 F (LPO); 4 M e 5 F (controlos)
Zeng et al. (106)	2017	LPO	Total= 28 (20 LPO e 8 controlos)	35.6±10.9 anos (LPO); 31.4±7.8 anos (controlo)	10 M e 10 F (LPO); Sem dados dos controlos
Zunt et al. (107)	2009	LPO	Total= 70 (30 LPO e 40 saudáveis)	emparelhada	emparelhado
Stanimirovic et al. (108)	2013	LPO	Total= 205 (101 LPO e 104 saudáveis)	55 <59 anos e 46 >59 anos (LPO); 60 <59 anos e 44 >59 anos (controlos)	27M e 74 F (LPO); 28 M e 76 F (controlos)

M- sexo masculino, F- sexo feminino, LPO- líquen plano oral, BMS- síndrome da boca ardente.

Tabela 11 Resultados dos artigos de Líquen Plano Oral.

Artigo	Patologia	TLR	Amostra	Molécula	Técnica	Alteração
(23)	LPO	TLR2	tecido	proteína	IHC	+
(24)	LPO	TLR2	tecido e sangue	proteína	IHC	=
		TLR2	tecido e sangue	mRNA	Real-Time PCR	-
		TLR4	tecido e sangue	proteína	IHC	+
		TLR4	tecido e sangue	mRNA	Real-Time PCR	+

(100)	LPO e BMS	TLR2	saliva	mRNA	Real-Time PCR	=
		TLR1	tecido	mRNA	cDNA microarray	+
(101)	LPO	TLR2	tecido e sangue	mRNA	cDNA microarray	+
					qPCR	=
					CF	+
		TLR2 e TLR4	tecido	proteína	IHC	+ TLR2
		TLR3	tecido	mRNA	cDNA microarray	+
		TLR4	tecido e sangue	mRNA	cDNA microarray	=
					CF	=
					qPCR	+ 4 amostras; - 4 amostras
		TLR5	tecido	mRNA	cDNA microarray	+
		TLR6	tecido	mRNA	cDNA microarray	+
		TLR7	tecido	mRNA	cDNA microarray	-
TLR8	tecido	mRNA	cDNA microarray	-		
TLR9	tecido	mRNA	cDNA microarray	-		

		TLR10	tecido	mRNA	cDNA microarray	+
(102)	LPO	TLR2	tecido	mRNA e proteína	RT-qPCR e IHC	=
		TLR3	tecido	mRNA	RT-qPCR	-
		TLR4	tecido	mRNA e proteína	RT-qPCR e IHC	+
		TLR8	tecido	mRNA e proteína	RT-qPCR e IHC	=
(103)	LPO	TLR4	tecido	proteína	IHC	+
		TLR9	tecido	proteína	IHC	+
(104)	LPO e BMS	TLR2	saliva	mRNA e proteína	RT-PCR	-
					IB e ELISA	+
(105)	LPO	TLR1	tecido	mRNA	RT-qPCR	=
		TLR2	tecido	mRNA	RT-qPCR	=
		TLR3	tecido	mRNA	RT-qPCR	=
		TLR4	tecido	mRNA	RT-qPCR	+
		TLR5	tecido	mRNA	RT-qPCR	=
		TLR6	tecido	mRNA	RT-qPCR	=
		TLR7	sangue e tecido	mRNA e proteína	CF, IHC e RT-qPCR	+
		TLR8	sangue e tecido	mRNA e proteína	CF, IHC e RT-qPCR	+
		TLR9	sangue e tecido	mRNA e proteína	CF, IHC e RT-qPCR	+
		TLR10	tecido	mRNA	RT-qPCR	=
(106)	LPO	TLR4	tecido	proteína e mRNA	IHC e Real-time RT-PCR	+
(107)	LPO	TLR2	saliva e tecido	proteína	WB e ELISA	=

			mRNA	RT-PCR	-	
		TLR4	saliva e tecido	proteína	WB e ELISA	+
			mRNA	RT-PCR	-	
(108)	LPO	TLR2 rs3804099	sangue	mRNA	PCR-RFLP	=
		TLR3 rs3775291	sangue	mRNA	PCR-RFLP	=
		TLR3 rs5743312	sangue	mRNA	PCR-RFLP	+
		TLR4 rs4986790	sangue	mRNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 rs4986791	sangue	mRNA	PCR-RFLP	=

(+)- aumento de expressão, (-)- diminuição da expressão, (=)- sem alterações significativas, LPO- líquen plano oral, BMS- síndrome da boca ardente, RT-PCR- *reverse transcription polymerase chain reaction*, RT-qPCR- *Quantitative real-time polymerase chain reaction*, IHC- *Imunohistoquímica*, WB- *Western Blot*, CF- *citometria de fluxo*, qPCR- *quantitative real-time polymerase chain reaction*. ELISA- *enzyme-linked immunosorbent assay*.

Os TLRs mais estudados foram o TLR2 e o TLR4, sendo estudados em 9 e 8 artigos, respetivamente, dos 11 artigos de Líquen Plano Oral (Figura 15). O TLR3 foi incluído em 4, o TLR8 e o TLR9 em 3 estudos. Os TLRs menos estudados foram os TLR1, TLR5, TLR6, TLR7 e TLR10, sendo somente estudados em 2 estudos que avaliaram as alterações em todos os TLRs.

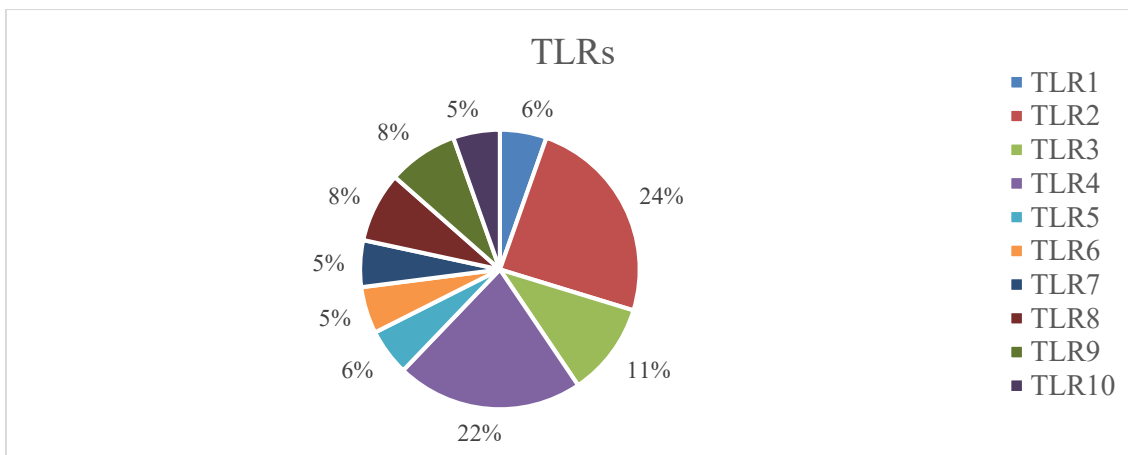


Figura 15 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos de Líquen Plano Oral.

A amostra preferencial dos autores do grupo de Líquen Plano Oral foi tecido, com 8 dos 11 artigos a utilizarem esta amostra (Figura 16). O sangue foi utilizado em 4 artigos e a saliva em 3.

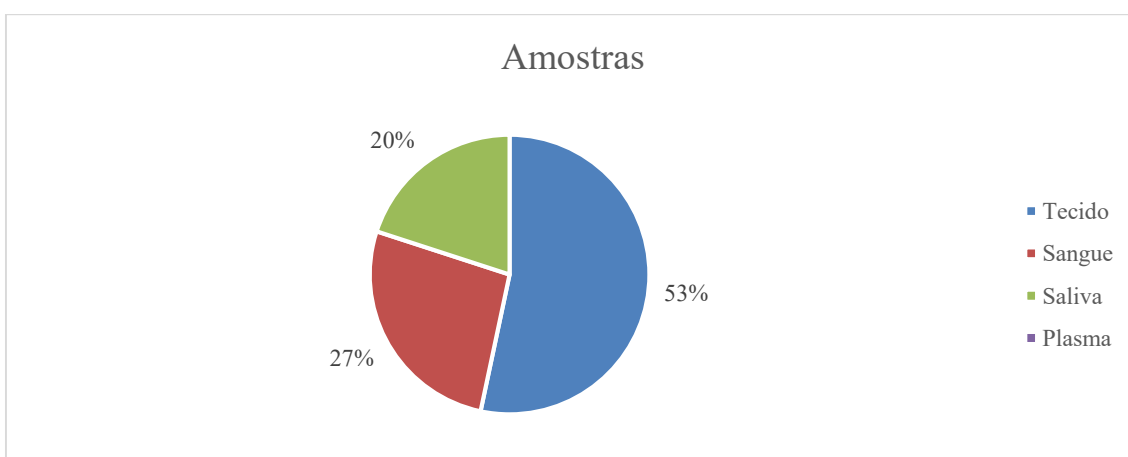


Figura 16 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores de Líquen Plano Oral.

4.5 Doença de Behçet (BD)

Tabela 12 Características gerais dos artigos da Doença de Behçet.

Autor	Ano	Patologia	Amostra	Idade	Género
Ben Dhifallah et al. (16)	2009	DB	Total= 294 (135 DB e 159 controlos)	39.5±13 anos (DB); 41.3±9 anos (controlos)	93 M e 42 F (DB); 114 M e 45 F (controlos)
Do et al. (109)	2008	DB	Total= 75 (41 DB, 34 controlos (19 diagnosticados recentemente com psoríase sem outra doença evidente e 15 saudáveis))	39.07 ± 9.1 anos (DB) Sem informação dos controlos	17 M e 24 F (DB) Sem dados dos controlos
Durrani et al. (19)	2011	DB	Total: 1448 (145 DB do Reino Unido, 120 DB do Médio Oriente, 81 controlos saudáveis do Reino Unido e 1102 controlos saudáveis do Médio Oriente)	Sem dados	Sem dados
Kirino et al. (110)	2008	DB	Total=63 (33 DB e 30 saudáveis)	47.7±15 anos (DB) Sem dados dos saudáveis	13 M e 20 F (DB) Sem dados dos saudáveis
Seoudi et al. (111)	2014	DB	Total= 87 (55 DB, 24 controlos saudáveis e 8 EAR)	43.3±13 anos (DB); 39.7±13.8 anos (controlos saudáveis); 46.5±7 (EAR)	33 F e 22 M (DB); 14 F e 10 M (controlo); 5 F e 3 M (EAR)
Houwen et al. (112)	2020	DB	Total= 33 (18 BD e 15 controlos saudáveis)	26-59 anos (DB); 21-62 anos (controlos)	M: F 1:1.4 (DB); 1:1 (controlos)

Yavuz et al (113)	2016	DB	Total= 46 (26 DB e 20 controlos (10 saudáveis e 10 espondilite anquilosante))	25-64 anos (DB); controlos emparelhados	15 M e 11 F (DB); controlos emparelhados
Liu et al. (114)	2013	DB	Total= 32 (16 DB ocular e 16 saudáveis)	Idade média 34.5 anos (DB); 33 anos (saudáveis)	9 M e 7 F (DB); 9 M e 7 F (saudáveis)

M- sexo masculino, F- sexo feminino, DB- doença de Behçet, EAR- estomatite aftosa recorrente

Tabela 13 Resultados dos artigos da Doença de Behçet.

Artigo	Patologia	TLR	Amostra	Molécula	Técnica	Alteração
(16)	DB	TLR2 Arg753Gln	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 Thr299Ile	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 Asp299Gly	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR9 T-1237C	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR9 T-1486C	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
(109)	DB	TLR2	sangue	proteína e mRNA	CF e RT-PCR	+
		TLR4	sangue	proteína e mRNA	CF e RT-PCR	+
(19)	DB	TLR2	tecido	proteína e DNA	IHC	+
					SSP	=
		TLR4	tecido	proteína e DNA	IHC	=
					SSP	=
TLR6	tecido	proteína	IHC	+		
TLR9	tecido	proteína	IHC	=		

(110)	DB	TLR2	sangue	mRNA	qPCR e WB	=
		TLR4	sangue	mRNA	qPCR e WB	+
(111)	DB	TLR2	tecido	mRNA e proteína	Real-time PCR	+
					WB	=
	EAR	TLR2	tecido	mRNA e proteína	Real-time PCR	+
					WB	=
DB	TLR4	tecido	mRNA e proteína	Real-time PCR	+	
				WB	=	
EAR	TLR4	tecido	mRNA e proteína	Real-time PCR	+	
				WB	=	
(112)	DB	TLR1	sangue	proteína	CF	+
		TLR2	sangue	proteína	CF	+
		TLR4	sangue	proteína	CF	+
		TLR5	sangue	proteína	CF	+
		TLR6	sangue	proteína	CF	+
(113)	DB	TLR4	sangue	proteína	CF	NE
(114)	DB	TLR2	sangue	mRNA	qPCR	+
		TLR3	sangue	mRNA	qPCR	+
		TLR4	sangue	mRNA	qPCR	+
		TLR8	sangue	mRNA	qPCR	+

(+)- aumento de expressão, (-)- diminuição da expressão, (=)- sem alterações significativas, DB- doença de Behçet, EAR- estomatite aftosa recorrente, RT-PCR- reverse transcription polymerase chain reaction IHC- Imunohistoquímica, WB- Western Blot, CF- citometria de fluxo, SSP- PCR-sequence-specific primer, qPCR- quantitative real-time polymerase chain reaction

Os TLRs mais estudados foram os TLR2 e TLR4, sendo estudado em 7 e 8 artigos, respetivamente, dos 8 artigos de Doença de Behçet (Figura 17). O TLR6 e o TLR9 foram utilizados por 2 autores e o TLR1, TLR3, TLR5 e o TLR8 apenas por 1. O TLR7 e o TLR10 não foram incluídos neste grupo.

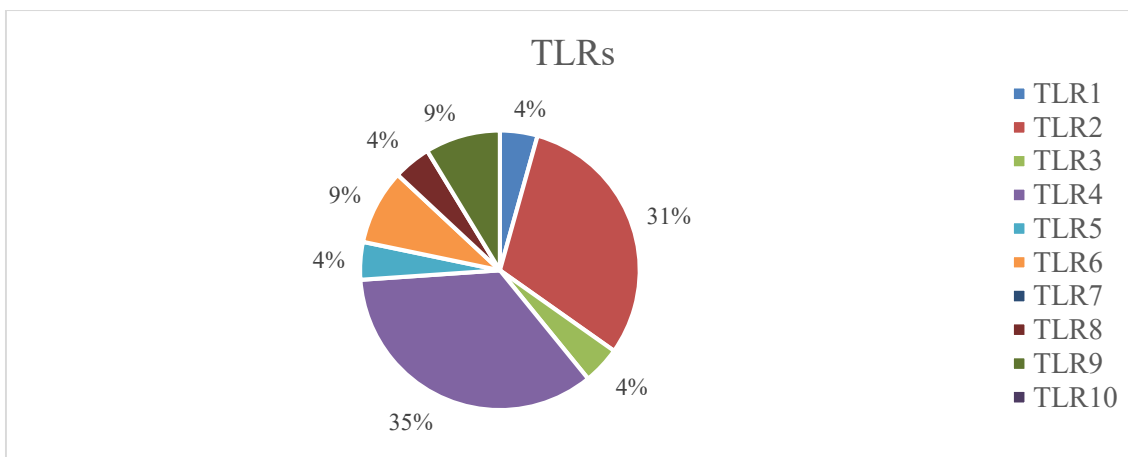


Figura 17 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos da Doença de Behçet.

A amostra preferencial dos autores do grupo de Doença de Behçet foi sangue, com 6 dos 8 artigos a utilizarem esta amostra (Figura 18). Os restantes 2 artigos utilizaram tecido.

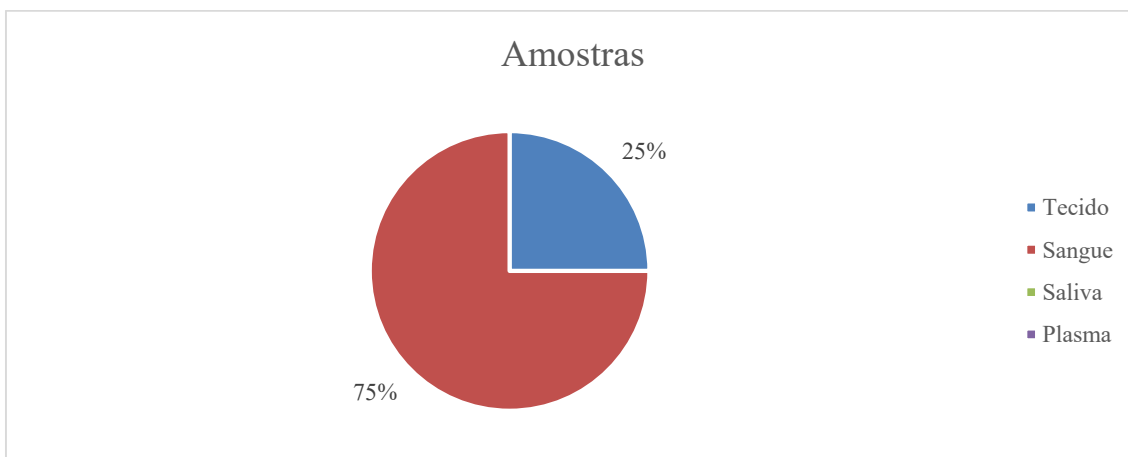


Figura 18 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores da Doença de Behçet.

4.6 Outras doenças

Tabela 14 Características gerais dos artigos de doença de outras doenças.

Autor	Ano	Patologia	Amostra	Idade	Género
Araújo et al. (115)	2015	PCM	Total= 29 (16 PCM e 13 controlos)	Sem dados	Sem dados
de Oliveira et al. (116)	2014	QR e GP	Total= 62 (30 QR, 27 GP e 5 controlos)	Sem dados	Sem dados
Desai et al. (117)	2011	QP e GP	Total= 33 (10 GP assintomáticos, 10 GP sintomáticos, 10 QP, 2 tecido cicatricial fibroso periapical e 1 quisto dentífero associado a um terceiro molar não erupcionado)	Entre 18– 81 anos	Das lesões periapicais: 14 F e 18 M
Leonardi et al. (118)	2015	QP e GP	Total= 38 (21 QP, 10 GP e 7 quistos folicular não inflamados como controlos)	PC e GP entre 35-63 anos Sem dados dos controlos	PC e GP 18 homens e 13 mulheres Sem dados dos controlos
Özan et al. (119)	2016	PP (risco)	Total= 100 (50 PP e 50 controlos)	Sem dados	28 M e 22 F (controlos); 29 M e 21 F (PP)

Gallo et al. (120)	2012	UAR	Total= 55 (33 UAR e 22 controlos)	Entre 18-64 anos (UAR) e entre 18-58 anos (controlos)	16 M e 17 F (UAR); 11 M e 11 F (controlo)
Karasneh et al. (121)	2015	EAR	Total= 249 (96 EAR e 153 controlos)	Sem dados	Sem dados
Rusanen et al. (122)	2017	LLO	Total= 50 (24 LLO e 26 controlos saudáveis)	23-74 anos (LLO); 18-56 anos (controlos)	9 M e 15 F (LLO) e 9 M e 17 F (controlos)
Salem et al. (123)	2017	RLO	Total= 40 (25 RLO e 15 saudáveis)	22-84 anos (RLO); 12-51 anos (saudáveis)	Sem dados
Turan et al. (124)	2011	EM, SSJ e NET	Total= 92 (42 EM, SSJ e SSJ/NET e 50 controlos saudáveis)	Sem dados	Sem dados
Gómez-García et al. (125)	2022	Cárie dentária	Total=31 (14 dentes sem cárie e e 17 com cárie)	28.5 ± 5.6 anos	20 F e 11 M

M- sexo masculino, F- sexo feminino, PCM- paracoccidioidomicose, QR- quisto radicular, GP- granuloma periapical, QP- quisto periapical, PP- patologia periapical, UAR- ulceração afotosa recorrente, EAR- estomatite aftosa recorrente, LLO- lesão liquenoide oral, RLO- reação liquenoide oral, EM- eritema multiforme, SSJ- síndrome de Stevens-Johnson, NET- necrólise epidérmica tóxica

Tabela 15 Resultados dos artigos de outras doenças.

Artigo	Patologia	TLR	Amostra	Molécula	Técnica	Alteração
(115)	PCM	TLR2	tecido	proteína	IHC	+
		TLR4	tecido	proteína	IHC	=
(116)	QR e GP	TLR2	tecido	proteína	IHC	+
		TLR4	tecido	proteína	IHC	=
(117)	QP e GP	TLR2	tecido	proteína	IHC	NE controlos
(118)	QP e GP	TLR4	tecido	proteína	IHC	+
(119)	PP (risco)	TLR2 Arg753Gln	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR3 (c.1377C/T)	sangue	DNA	PCR-RFLP	+
		TLR4 Asp299Gly	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 Thr399Ile	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
(120)	UAR	TLR1	sangue e tecido	mRNA	Real-time RT-PCR	=
		TLR2	sangue e tecido	mRNA	Real-time RT-PCR	+
		TLR3	sangue e tecido	mRNA	Real-time RT-PCR	-
		TLR4	sangue e tecido	mRNA	Real-time RT-PCR	=
		TLR5	sangue e tecido	mRNA	Real-time RT-PCR	-
		TLR6	sangue e tecido	mRNA	Real-time RT-PCR	=
		TLR7	sangue e tecido	mRNA	Real-time RT-PCR	=
		TLR8	sangue e tecido	mRNA	Real-time RT-PCR	=
		TLR9	sangue e tecido	mRNA	Real-time RT-PCR	=
		TLR10	sangue e tecido	mRNA	Real-time RT-PCR	=

(121)	EAR	TLR2 rs3804100	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR2 rs4696480	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4rs4986790	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 rs1927911	sangue	DNA	PCR-RFLP	=
		TLR4 rs10759931	sangue	DNA	PCR-RFLP	+
(122)	LLO	TLR1	tecido	proteína	IHC	+
		TLR2	tecido	proteína	IHC	=
		TLR3	tecido	proteína	IHC	+
		TLR4	tecido	proteína	IHC	+
		TLR5	tecido	proteína	IHC	+
		TLR6	tecido	proteína	IHC	+
		TLR7	tecido	proteína	IHC	+
		TLR8	tecido	proteína	IHC	=
		TLR9	tecido	proteína	IHC	=
		TLR10	tecido	proteína	IHC	=
(123)	RLO	TLR1	tecido	mRNA e proteína	IHC	+
					Real time RT-PCR	+
		TLR2	tecido	mRNA e proteína	IHC	+
					Real time RT-PCR	+
		TLR3	tecido	mRNA e proteína	IHC	+
					Real time RT-PCR	=
		TLR4	tecido	mRNA e proteína	IHC	+

				Real time RT-PCR	+	
		TLR5	tecido	mRNA e proteína	IHC	-
				Real time RT-PCR	=	
		TLR6	tecido	mRNA e proteína	IHC	+
				Real time RT-PCR	+	
		TLR7	tecido	mRNA e proteína	IHC	+
				Real time RT-PCR	=	
		TLR8	tecido	mRNA e proteína	IHC	+
				Real time RT-PCR	-	
		TLR9	tecido	mRNA e proteína	IHC	+
				Real time RT-PCR	+	
		TLR10	tecido	mRNA e proteína	IHC	NE
				Real time RT-PCR	=	
(124)	EM, SSJ e NET	TLR9	tecido	DNA	PCR-RFLP	=
(125)	cárie dentária	TLR2	tecido	RNA	qPCR e RT-PCR	=
		TLR4	tecido	RNA	qPCR e RT-PCR	=

(+)- aumento de expressão, (-)- diminuição da expressão, (=)- sem alterações significativas, PCM- paracoccidiodomicose, QR- quisto radicular, GP- granuloma periapical, QP- quisto periapical, PP- patologia periapical, UAR- ulceração afotosa recorrente, EAR- estomatite aftosa recorrente, LLO- lesão liquenoide oral, RLO- reação liquenoide oral, EM- eritema multiforme, SSJ- síndrome de Stevens-Johnson, NET- necrólise epidérmica tóxica, NE- não encontrado, RT-PCR- *reverse transcription polymerase chain reaction* IHC- imunohistoquímica, WB- *Western Blot*, qPCR- *quantitative real-time polymerase chain reaction*.

Os TLRs mais estudados foram os TLR2 e TLR4, sendo avaliados em 9 dos 11 artigos de Outras Doenças (Figura 19). O TLR3 e o TLR9 foram estudados em 4 artigos. Os TLRs menos utilizados pelos autores deste grupo foram o TLR1, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8 e TLR10 com 3 artigos, sendo que estes artigos avaliaram todos os TLRs.

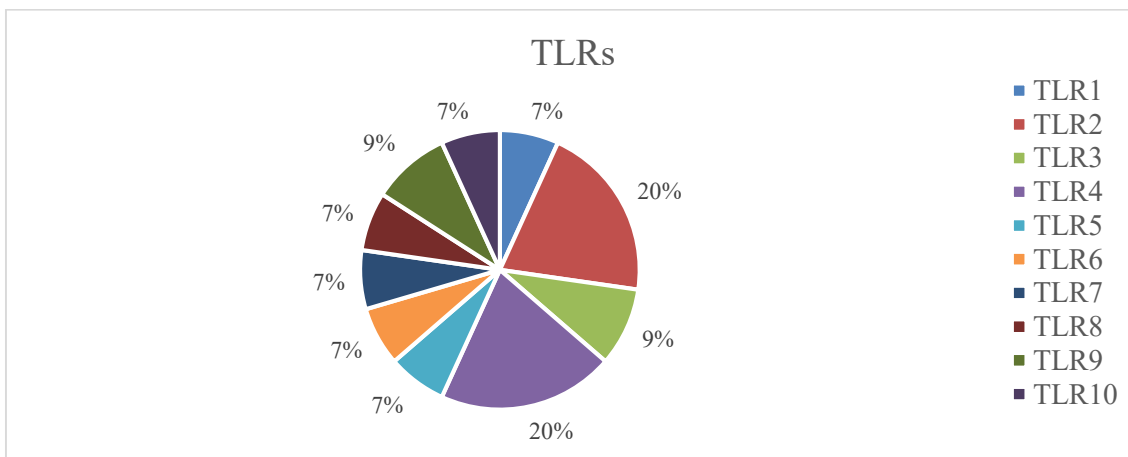


Figura 19 Gráfico da distribuição dos TLRs estudados nos artigos de Outras Doenças.

A amostra preferencial dos autores do grupo de Outras Doenças foi tecido, com 9 dos 11 artigos a utilizarem esta amostra (Figura 20). O sangue foi utilizado em 3 artigos.

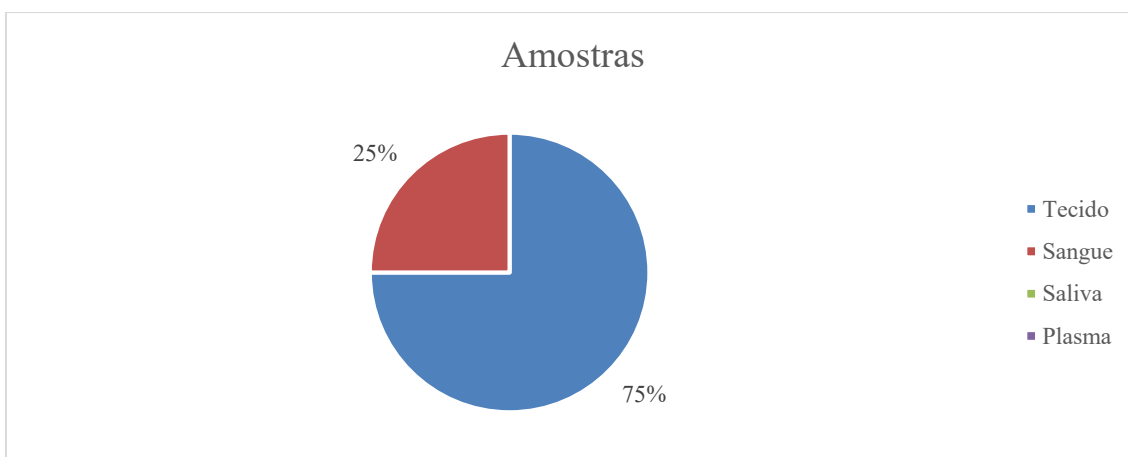


Figura 20 Gráfico de distribuição do tipo de amostra escolhida pelos autores de Outras Doenças.

5 DISCUSSÃO

Nesta revisão sistemática foram incluídos para análise 92 artigos, distribuídos por 6 grupos de acordo com a patologia oral estudada. O grupo da Doença Periodontal foi o que apresentou maior número de artigos sobre as alterações dos TLRs, com 30 estudos. Apenas no grupo da Doença de Behçet não houve dados de todos os TLRs, uma vez que o TLR7 e o TLR10 não foram abordados por nenhum dos autores deste grupo. Todos os restantes grupos tiveram pelo menos um artigo em que avaliaram as alterações dos TLR1-10. A amostra preferencial estudada pelos autores foi tecido, utilizado em 61 dos artigos da revisão sistemática (figura 7). A amostra menos utilizada foi o plasma com apenas 2 artigos, sendo somente utilizado no grupo da Doença Periodontal. Considera-se a amostra de tecido a mais fidedigna, pois na maioria dos artigos esta representa uma biópsia da lesão ou doença para estudo. Para a validação dos TLRs como biomarcadores ou fator de prognóstico é essencial utilizar as técnicas e amostras com maior valor científico, no entanto, sabemos que não é possível utilizar alguns destes métodos no dia a dia, na prática clínica. Embora poucos estudos tenham utilizado saliva, este fluido é de recolha fácil e não-invasiva, não requerendo pessoal nem equipamento especializado, o que pode constituir uma amostra mais prática, alternativa ao tecido ou sangue. É necessário estabelecer quais as alterações nos TLRs associadas ao desenvolvimento das diferentes doenças orais, bem como se estas alterações podem ser medidas na saliva, e assim utilizar métodos acessíveis e específicos para cada patologia.

No Cancro Oral, o TLR4 apresentou maior expressão em 3 artigos (53, 56, 61) que utilizaram a imunohistoquímica (IHC) como técnica e nos restantes 2 (46, 58) não foram encontradas diferenças significativas. Considerou-se que o TLR4 pode estar relacionado com a suscetibilidade de desenvolver cancro oral, mas são necessários mais estudos para o comprovar. O TLR8 foi avaliado apenas por um autor que estudou todos os TLRs. Os restantes TLRs não demonstraram correlação entre os seus resultados.

Na Doença Periodontal, o TLR2 apresentou um aumento de expressão em 6 artigos, utilizando a técnica de RT-PCR ou qPCR (69, 71, 78, 82, 85, 88), não mostrou alterações significativas em 4 artigos (72, 73, 84, 87) e em apenas 1

artigo foi registada uma diminuição da sua expressão (79). Apesar deste artigo (79) indicar uma diminuição da expressão, considera-se que a amostra é reduzida (24 participantes). Apesar de haver um maior número de artigos que indicam um aumento de expressão, os artigos em que não foram encontradas alterações significativas apresentam uma amostra com mais participantes. O TLR2 pode estar envolvido no desenvolvimento da doença periodontal, mas apenas com uma meta-análise se poderiam retirar conclusões mais robustas.

Ainda no TLR2, o polimorfismo Arg753Gln, detetado através da técnica PCR-RFLP, foi estudado em 5 artigos (66, 70, 74, 77, 86) e em nenhum encontraram diferenças significativas entre os controlos e o grupo de doença. Considera-se, assim, que o polimorfismo TLR2 Arg753Gln não está relacionado com o desenvolvimento da doença periodontal.

Utilizando a técnica de RT-PCR ou qPCR, o TLR4 apresentou um aumento de expressão em 9 artigos (62, 68, 69, 71, 72, 78, 82, 85, 87), 3 artigos não registaram alterações significativas (76, 84, 88) e 1 artigo (79) registou diminuição da expressão quando comparada com os controlos. À semelhança do que foi discutido anteriormente para o TLR2, este artigo (79) apresenta uma amostra reduzida. Considerando o número de participantes nestes estudos, a evidência sugere que o aumento da expressão do TLR4 está associado ao desenvolvimento da Doença Periodontal. Os restantes TLRs não apresentaram resultados significativos ou não há um número suficiente de artigos para verificar alguma evidência na doença periodontal.

Na Síndrome de Sjögren (SS), apesar de serem estudados todos os TLRs, não foram encontradas correlações nos resultados. O TLR7 foi o mais estudado, mas apesar disto apresenta resultados contraditórios. Três artigos (92, 93, 99) utilizaram a técnica de RT-PCR ou qPCR e demonstraram que não existem alterações significativas no TLR7 na SS. Apesar disto, um dos artigos (96) que utilizou a mesma técnica e tendo uma amostra significativa (157 participantes), revelou que existe um aumento do TLR7 nos pacientes. É, por isso, necessário realizar mais estudos capazes de indicar se existe algum tipo de associação entre a expressão do TLR7 e dos restantes TLRs com SS.

No Líquen Plano Oral, foi encontrado um aumento na expressão do TLR4 comparativamente aos controlos em 4 artigos (24, 102, 105, 106), que utilizaram a técnica RT-PCR ou qPCR, e em 4 artigos (24, 102, 103, 106), que utilizaram a

técnica de IHC. Na técnica de PCR os únicos dados que contradizem estes resultados são de um artigo que apresenta 4 amostras em que houve aumento do TLR4 e 4 em que foi registada uma diminuição (101), e um artigo que indica haver diminuição do TLR4 comparado com os controlos (107). Sendo assim, considera-se que o aumento da expressão de TLR4 pode ser usado como um marcador no líquen plano oral. O TLR2, apesar de ser o TLR mais estudado pelos autores no líquen plano oral, apresenta resultados contraditórios e não é possível evidenciar uma tendência. Os restantes TLRs não apresentam dados suficientes para avaliação.

Na Doença de Behçet, o TLR2 apresentou aumento de expressão usando as técnicas RT-PCR ou qPCR (109, 111, 114), IHC (19) e CF (109, 112). Não houve artigos que indicassem diminuição comparado com os controlos, apenas resultados não significativos em 2 artigos usando WB (110, 111) e 2 artigos usando RT-PCR (19, 110). O mesmo verificou-se para o TLR4, não há artigos que indiquem diminuição da sua expressão em pacientes com doença de Behçet. O TLR4 apresentou aumento em 3 artigos usando citometria de fluxo (CF) (109, 111, 112), 3 usando RT-PCR ou qPCR (109, 110, 114), 2 usando WB (110, 111) e 1 usando IHC (111). Este resultado é significativo, considerando a diversidade de técnicas utilizadas para medir a expressão do TLR4, e a diferentes níveis (RNA, proteína). Não foram registadas alterações significativas com as técnicas RT-PCR e IHC no artigo (19) para o TLR4. Considerou-se que há evidência de que o TLR2 e TLR4 podem ser utilizados como marcadores da doença de Behçet. O TLR7 e o TLR10 não foram abordados em nenhum dos artigos. Os restantes TLRs não apresentavam dados suficientes.

Nas outras doenças, não houve estudos suficientes para revelar dados significativos das doenças abordadas.

6 CONCLUSÃO

De forma a melhorar o diagnóstico e os tratamentos na Medicina Dentária, é necessário conseguir identificar quais os pacientes que apresentam maior predisposição a desenvolver uma determinada patologia, através de testes eficazes e acessíveis. Os genes TLR têm sido estudados por vários autores como agentes causais ou atenuadores destas doenças.

O TLR4 apresentou alguma evidência de associação ao desenvolvimento de Cancro Oral. O TLR4 apresentou aumentos significativos na sua expressão quando comparados a controlos, na Doença Periodontal. O TLR2 apesar do maior número de artigos a indicarem o aumento de expressão, os artigos que não encontraram alterações significativas apresentavam uma amostra maior. À semelhança da Doença Periodontal também foi observado que o TLR2 e o TLR4 podem estar relacionados com o desenvolvimento da Doença de Behçet. No Líquen Plano Oral considerou-se que o TLR4 pode ser considerado um futuro marcador da doença, visto que demonstrou aumentos significativos nestes pacientes. Nos restantes grupos não foram encontrados resultados capazes de relacionar a doença com alterações nos TLRs. O TLR2 e o TLR4 foram os TLRs mais abordados pelos autores e apenas estes apresentaram resultados significativos. É necessário realizar mais estudos para comprovar estas conclusões, assim como estudar os restantes TLRs e validar os resultados em diferentes amostras biológicas.

Apesar de serem necessários mais estudos para comprovar os resultados e aumentar a evidência científica, foram identificados nesta revisão sistemática TLRs que podem estar envolvidos na progressão de doenças da cavidade oral. Conclui-se que os genes TLR poderão, no futuro, ser utilizados como biomarcadores destas patologias.

7 BIBLIOGRAFIA

1. Montero Vega MT, de Andrés Martín A. Toll-like receptors: a family of innate sensors of danger that alert and drive immunity. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2008;36(6):347-57.
2. Janssens S, Beyaert R. Role of Toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16(4):637-46.
3. Mukherjee S, Huda S, Sinha Babu SP. Toll-like receptor polymorphism in host immune response to infectious diseases: A review. *Scand J Immunol*. 2019;90(1):e12771.
4. Montero Vega MT, de Andrés Martín A. The significance of toll-like receptors in human diseases. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2009;37(5):252-63.
5. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:335-76.
6. Owen AM, Fults JB, Patil NK, Hernandez A, Bohannon JK. TLR Agonists as Mediators of Trained Immunity: Mechanistic Insight and Immunotherapeutic Potential to Combat Infection. *Front Immunol*. 2020;11:622614.
7. Kiripolsky J, Kramer JM. Current and Emerging Evidence for Toll-Like Receptor Activation in Sjögren's Syndrome. *J Immunol Res*. 2018;2018:1246818.
8. Beklen A, Sarp AS, Uckan D, Tsaous Memet G. The function of TLR4 in interferon gamma or interleukin-13 exposed and lipopolysaccharide stimulated gingival epithelial cell cultures. *Biotech Histochem*. 2014;89(7):505-12.
9. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *ScientificWorldJournal*. 2020;2020:2146160.
10. Shaw L, Harjunmaa U, Doyle R, Mulewa S, Charlie D, Maleta K, et al. Distinguishing the Signals of Gingivitis and Periodontitis in Supragingival Plaque: a Cross-Sectional Cohort Study in Malawi. *Appl Environ Microbiol*. 2016;82(19):6057-67.
11. Sanz M, Marco Del Castillo A, Jepsen S, Gonzalez-Juanatey JR, D'Aiuto F, Bouchard P, et al. Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report. *J Clin Periodontol*. 2020;47(3):268-88.
12. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int Dent J*. 2021;71(6):462-76.
13. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999;4(1):1-6.
14. Darby I. Risk factors for periodontitis & peri-implantitis. *Periodontol 2000*. 2022;90(1):9-12.
15. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018;89 Suppl 1:S159-s72.
16. Ben Dhifallah I, Lachheb J, Houman H, Hamzaoui K. Toll-like-receptor gene polymorphisms in a Tunisian population with Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27(2 Suppl 53):S58-62.
17. de Faria Amormino SA, Arão TC, Saraiva AM, Gomez RS, Dutra WO, da Costa JE, et al. Hypermethylation and low transcription of TLR2 gene in chronic periodontitis. *Hum Immunol*. 2013;74(9):1231-6.

18. Hajishengallis G. The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Mol Oral Microbiol.* 2014;29(6):248-57.
19. Durrani O, Banahan K, Sheedy FJ, McBride L, Ben-Chetrit E, Greiner K, et al. TIRAP Ser180Leu polymorphism is associated with Behcet's disease. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(10):1760-5.
20. Skef W, Hamilton MJ, Arayssi T. Gastrointestinal Behçet's disease: a review. *World J Gastroenterol.* 2015;21(13):3801-12.
21. Saccucci M, Di Carlo G, Bossù M, Giovarruscio F, Salucci A, Polimeni A. Autoimmune Diseases and Their Manifestations on Oral Cavity: Diagnosis and Clinical Management. *J Immunol Res.* 2018;2018:6061825.
22. Hatemi G, Seyahi E, Fresko I, Talarico R, Uçar D, Hamuryudan V. Behçet's syndrome: one year in review 2022. *Clin Exp Rheumatol.* 2022;40(8):1461-71.
23. Amin NR, Yussif N, Ahmed E. The effect of smoking on clinical presentation and expression of TLR-2 and CD34 in Oral lichen Planus patients: clinical and immunohistochemical study. *BMC Oral Health.* 2020;20(1):129.
24. Janardhanam SB, Prakasam S, Swaminathan VT, Kodumudi KN, Zunt SL, Srinivasan M. Differential expression of TLR-2 and TLR-4 in the epithelial cells in oral lichen planus. *Arch Oral Biol.* 2012;57(5):495-502.
25. Jung W, Jang S. Oral Microbiome Research on Oral Lichen Planus: Current Findings and Perspectives. *Biology (Basel).* 2022;11(5).
26. Didona D, Caposiena Caro RD, Sequeira Santos AM, Solimani F, Hertl M. Therapeutic strategies for oral lichen planus: State of the art and new insights. *Front Med (Lausanne).* 2022;9:997190.
27. Rotaru D, Chisnoiu R, Picos AM, Picos A, Chisnoiu A. Treatment trends in oral lichen planus and oral lichenoid lesions (Review). *Exp Ther Med.* 2020;20(6):198.
28. Negrini S, Emmi G, Greco M, Borro M, Sardanelli F, Murdaca G, et al. Sjögren's syndrome: a systemic autoimmune disease. *Clin Exp Med.* 2022;22(1):9-25.
29. López-Pintor RM, Fernández Castro M, Hernández G. Oral involvement in patients with primary Sjögren's syndrome. Multidisciplinary care by dentists and rheumatologists. *Reumatol Clin.* 2015;11(6):387-94.
30. Bjordal O, Norheim KB, Rødahl E, Jonsson R, Omdal R. Primary Sjögren's syndrome and the eye. *Surv Ophthalmol.* 2020;65(2):119-32.
31. Margaix-Muñoz M, Bagán JV, Poveda R, Jiménez Y, Sarrión G. Sjögren's syndrome of the oral cavity. Review and update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2009;14(7):E325-30.
32. Aghiorghiesei O, Zanoaga O, Nutu A, Braicu C, Campian RS, Lucaciu O, et al. The World of Oral Cancer and Its Risk Factors Viewed from the Aspect of MicroRNA Expression Patterns. *Genes (Basel).* 2022;13(4).
33. Abati S, Bramati C, Bondi S, Lissoni A, Trimarchi M. Oral Cancer and Precancer: A Narrative Review on the Relevance of Early Diagnosis. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(24).
34. Wong T, Wiesenfeld D. Oral Cancer. *Aust Dent J.* 2018;63 Suppl 1:S91-s9.
35. Rich AM, Hussaini HM, Parachuru VP, Seymour GJ. Toll-like receptors and cancer, particularly oral squamous cell carcinoma. *Front Immunol.* 2014;5:464.
36. Montero PH, Patel SG. Cancer of the oral cavity. *Surg Oncol Clin N Am.* 2015;24(3):491-508.
37. Rivera C. Essentials of oral cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(9):11884-94.

38. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372:n71.
39. Donato H, Donato M. Etapas na Condução de uma Revisão Sistemática. *Acta Médica Portuguesa*. 2019;32(3).
40. de Barros Gallo C, Marichalar-Mendia X, Setien-Olarra A, Acha-Sagredo A, Bediaga NG, Gainza-Cirauqui ML, et al. Toll-like receptor 2 rs4696480 polymorphism and risk of oral cancer and oral potentially malignant disorder. *Arch Oral Biol*. 2017;82:109-14.
41. Ding L, Ren J, Zhang D, Li Y, Huang X, Ji J, et al. The TLR3 Agonist Inhibit Drug Efflux and Sequentially Consolidates Low-Dose Cisplatin-Based Chemoimmunotherapy while Reducing Side Effects. *Mol Cancer Ther*. 2017;16(6):1068-79.
42. Grimm M, Munz A, Exarchou A, Polligkeit J, Reinert S. Immunohistochemical detection of *Helicobacter pylori* without association of TLR5 expression in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2014;43(1):35-44.
43. Han N, Zhang Z, Jv H, Hu J, Ruan M, Zhang C. Culture supernatants of oral cancer cells induce impaired IFN- α production of pDCs partly through the down-regulation of TLR-9 expression. *Arch Oral Biol*. 2018;93:141-8.
44. Hirvonen K, Bäck L, Haglund C, Leivo I, Jouhi L, Mäkitie AA, et al. Toll-like receptor 5 and 7 expression in adenoid cystic carcinoma of major salivary glands. *Tumour Biol*. 2016;37(8):10959-64.
45. Hussaini HM, Parachuru VPB, Seymour GJ, Rich AM. Forkhead box-P3(+) regulatory T cells and toll-like receptor 2 co-expression in oral squamous cell carcinoma. *Acta Histochem*. 2017;119(3):205-10.
46. Kotrashetti VS, Nayak R, Bhat K, Hosmani J, Somannavar P. Immunohistochemical expression of TLR4 and TLR9 in various grades of oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma, and their roles in tumor progression: a pilot study. *Biotech Histochem*. 2013;88(6):311-22.
47. Min R, Zun Z, Siyi L, Wenjun Y, Lizheng W, Chenping Z. Increased expression of Toll-like receptor-9 has close relation with tumour cell proliferation in oral squamous cell carcinoma. *Arch Oral Biol*. 2011;56(9):877-84.
48. Ni YH, Ding L, Zhang DY, Hou YY, Huang X, Hu Q. Distinct expression patterns of Toll-like receptor 7 in tumour cells and fibroblast-like cells in oral squamous cell carcinoma. *Histopathology*. 2015;67(5):730-9.
49. Paleja B, Anand A, Chaukar D, D'Cruz A, Chiplunkar S. Decreased functional response to Toll like receptor ligands in patients with oral cancer. *Hum Immunol*. 2013;74(8):927-36.
50. Parroche P, Roblot G, Le Calvez-Kelm F, Tout I, Marotel M, Malfroy M, et al. TLR9 re-expression in cancer cells extends the S-phase and stabilizes p16(INK4a) protein expression. *Oncogenesis*. 2016;5(7):e244.
51. Pries R, Hogrefe L, Xie L, Frenzel H, Brocks C, Ditz C, et al. Induction of c-Myc-dependent cell proliferation through toll-like receptor 3 in head and neck cancer. *Int J Mol Med*. 2008;21(2):209-15.
52. Sharma U, Singhal P, Bandil K, Patle R, Kumar A, Neyaz K, et al. Genetic variations of TLRs and their association with HPV/EBV, co-infection along with nicotine exposure in the development of premalignant/malignant lesions of the oral cavity in Indian population. *Cancer Epidemiol*. 2019;61:38-49.

53. Szczepanski MJ, Czystowska M, Szajnik M, Harasymczuk M, Boyiadzis M, Kruk-Zagajewska A, et al. Triggering of Toll-like receptor 4 expressed on human head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor development and protects the tumor from immune attack. *Cancer Res.* 2009;69(7):3105-13.
54. Wild CA, Brandau S, Lindemann M, Lotfi R, Hoffmann TK, Lang S, et al. Toll-like Receptors in Regulatory T Cells of Patients With Head and Neck Cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010;136(12):1253-9.
55. Yang ZH, Dai Q, Gu YJ, Guo QX, Gong L. Cytokine and chemokine modification by Toll-like receptor polymorphisms is associated with nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Sci.* 2012;103(4):653-8.
56. Yang J, Liu D, Khatri KS, Wang J, Zhang G, Meng C, et al. Prognostic value of toll-like receptor 4 and nuclear factor- κ Bp65 in oral squamous cell carcinoma patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2016;122(6):753-64.e1.
57. Zeljic K, Supic G, Jovic N, Kozomara R, Brankovic-Magic M, Obrenovic M, et al. Association of TLR2, TLR3, TLR4 and CD14 genes polymorphisms with oral cancer risk and survival. *Oral Dis.* 2014;20(4):416-24.
58. Omar AA, Korvala J, Haglund C, Virolainen S, Häyry V, Atula T, et al. Toll-like receptors -4 and -5 in oral and cutaneous squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med.* 2015;44(4):258-65.
59. Ou C, Sun Z, Zhang H, Xiong W, Ma J, Zhou M, et al. SPLUNC1 reduces the inflammatory response of nasopharyngeal carcinoma cells infected with the EB virus by inhibiting the TLR9/NF- κ B pathway. *Oncol Rep.* 2015;33(6):2779-88.
60. Jha A, Nath N, Kumari A, Kumari N, Panda AK, Mishra R. Polymorphisms and haplotypes of TLR-4/9 associated with bacterial infection, gingival inflammation/recession and oral cancer. *Pathol Res Pract.* 2023;241:154284.
61. Visioli F, Nunes JS, Pedicillo MC, Leonardi R, Santoro A, Zannoni GF, et al. TLR4 Expression in Ex-Lichenoid Lesions-Oral Squamous Cell Carcinomas and Its Surrounding Epithelium: The Role of Tumor Inflammatory Microenvironment. *Biomolecules.* 2022;12(3).
62. AlQallaf H, Hamada Y, Blanchard S, Shin D, Gregory R, Srinivasan M. Differential profiles of soluble and cellular toll like receptor (TLR)-2 and 4 in chronic periodontitis. *PLoS One.* 2018;13(12):e0200231.
63. Banu S, Jabir NR, Mohan R, Manjunath NC, Kamal MA, Kumar KR, et al. Correlation of Toll-like receptor 4, interleukin-18, transaminases, and uric acid in patients with chronic periodontitis and healthy adults. *J Periodontol.* 2015;86(3):431-9.
64. Beklen A, Hukkanen M, Richardson R, Konttinen YT. Immunohistochemical localization of Toll-like receptors 1-10 in periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23(5):425-31.
65. Beklen A, Sorsa T, Konttinen YT. Toll-like receptors 2 and 5 in human gingival epithelial cells co-operate with T-cell cytokine interleukin-17. *Oral Microbiol Immunol.* 2009;24(1):38-42.
66. Berdeli A, Emingil G, Han Saygan B, Gürkan A, Atilla G, Köse T, et al. TLR2 Arg753Gly, TLR4 Asp299Gly and Thr399Ile gene polymorphisms are not associated with chronic periodontitis in a Turkish population. *J Clin Periodontol.* 2007;34(7):551-7.
67. Buduneli N, Özçaka Ö, Nalbantsoy A. Salivary and plasma levels of Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2011;82(6):878-84.

68. De Oliveira NF, Andia DC, Planello AC, Pasetto S, Marques MR, Nociti FH, Jr., et al. TLR2 and TLR4 gene promoter methylation status during chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2011;38(11):975-83.
69. Duarte PM, Miranda TS, Lima JA, Dias Gonçalves TE, Santos VR, Bastos MF, et al. Expression of immune-inflammatory markers in sites of chronic periodontitis in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2012;83(4):426-34.
70. Emingil G, Berdeli A, Baylas H, Saygan BH, Gürkan A, Köse T, et al. Toll-like receptor 2 and 4 gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol.* 2007;78(10):1968-77.
71. Fatemi K, Radvar M, Rezaee A, Rafatpanah H, Azangoo khiavi H, Dadpour Y, et al. Comparison of relative TLR-2 and TLR-4 expression level of disease and healthy gingival tissue of smoking and non-smoking patients and periodontally healthy control patients. *Aust Dent J.* 2013;58(3):315-20.
72. Fernández A, Cárdenas AM, Astorga J, Veloso P, Alvarado A, Merino P, et al. Expression of Toll-like receptors 2 and 4 and its association with matrix metalloproteinases in symptomatic and asymptomatic apical periodontitis. *Clin Oral Investig.* 2019;23(12):4205-12.
73. Folwaczny M, Glas J, Tonenchi L, Török HP. Microsatellite GT polymorphism in intron 2 of human Toll-like receptor (TLR) 2 gene and susceptibility to periodontitis. *Clin Oral Investig.* 2011;15(3):435-41.
74. Folwaczny M, Glas J, Török HP, Limbersky O, Folwaczny C. Toll-like receptor (TLR) 2 and 4 mutations in periodontal disease. *Clin Exp Immunol.* 2004;135(2):330-5.
75. Gursoy UK, He Q, Pussinen P, Huuonen S, Könönen E. Alveolar bone loss in relation to toll-like receptor 4 and 9 genotypes and *Porphyromonas gingivalis* carriage. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016;35(11):1871-6.
76. Hedgpeth DC, Zhang X, Jin J, Leite RS, Krayner JW, Huang Y. Periodontal CD14 mRNA expression is downregulated in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *BMC Oral Health.* 2015;15:145.
77. Holla LI, Vokurka J, Hrdlickova B, Augustin P, Fassmann A. Association of Toll-like receptor 9 haplotypes with chronic periodontitis in Czech population. *J Clin Periodontol.* 2010;37(2):152-9.
78. Marques CPC, Rodrigues VP, de Carvalho LC, Nichilatti LP, Franco MM, Patrício FJB, et al. Expression of Toll-like receptors 2 and 4 in the saliva of patients with systemic lupus erythematosus and chronic periodontitis. *Clin Rheumatol.* 2021;40(7):2727-34.
79. Muthukuru M, Jotwani R, Cutler CW. Oral mucosal endotoxin tolerance induction in chronic periodontitis. *Infect Immun.* 2005;73(2):687-94.
80. Promsudthi A, Poomsawat S, Limsricharoen W. The role of Toll-like receptor 2 and 4 in gingival tissues of chronic periodontitis subjects with type 2 diabetes. *J Periodontal Res.* 2014;49(3):346-54.
81. Ren L, Leung WK, Darveau RP, Jin L. The expression profile of lipopolysaccharide-binding protein, membrane-bound CD14, and toll-like receptors 2 and 4 in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2005;76(11):1950-9.
82. Ribeiro FV, Santos VR, Bastos MF, De Miranda TS, Vieira AR, De Figueiredo LC, et al. A preliminary study on the FAM5C expression in generalized chronic periodontitis. *Oral Dis.* 2012;18(2):147-52.

83. Sahingur SE, Xia XJ, Gunsolley J, Schenkein HA, Genco RJ, De Nardin E. Single nucleotide polymorphisms of pattern recognition receptors and chronic periodontitis. *J Periodontol Res.* 2011;46(2):184-92.
84. Sahingur SE, Xia XJ, Voth SC, Yeudall WA, Gunsolley JC. Increased nucleic Acid receptor expression in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2013;84(10):e48-57.
85. Sarah SM, Tamilselvan S, Kamatchiammal S, Suresh R. Expression of Toll-like receptors 2 and 4 in gingivitis and chronic periodontitis. *Indian J Dent Res.* 2006;17(3):114-6.
86. Schröder NW, Meister D, Wolff V, Christan C, Kaner D, Haban V, et al. Chronic periodontal disease is associated with single-nucleotide polymorphisms of the human TLR-4 gene. *Genes Immun.* 2005;6(5):448-51.
87. Swaminathan V, Prakasam S, Puri V, Srinivasan M. Role of salivary epithelial toll-like receptors 2 and 4 in modulating innate immune responses in chronic periodontitis. *J Periodontol Res.* 2013;48(6):757-65.
88. Wara-aswapati N, Chayasadam A, Surarit R, Pitiphat W, Boch JA, Nagasawa T, et al. Induction of toll-like receptor expression by *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol.* 2013;84(7):1010-8.
89. Zhang F, Yang XM, Jia SY. Characteristics of neutrophil extracellular traps in patients with periodontitis and gingivitis. *Braz Oral Res.* 2020;34:e015.
90. Horai Y, Nakamura H, Nakashima Y, Hayashi T, Kawakami A. Analysis of the downstream mediators of toll-like receptor 3-induced apoptosis in labial salivary glands in patients with Sjögren's syndrome. *Mod Rheumatol.* 2016;26(1):99-104.
91. Ishiguro N, Moriyama M, Furusho K, Furukawa S, Shibata T, Murakami Y, et al. Activated M2 Macrophages Contribute to the Pathogenesis of IgG4-Related Disease via Toll-like Receptor 7/Interleukin-33 Signaling. *Arthritis Rheumatol.* 2020;72(1):166-78.
92. Karlsen M, Hansen T, Nordal HH, Brun JG, Jonsson R, Appel S. Expression of Toll-like receptor -7 and -9 in B cell subsets from patients with primary Sjögren's syndrome. *PLoS One.* 2015;10(3):e0120383.
93. Karlsen M, Jakobsen K, Jonsson R, Hammenfors D, Hansen T, Appel S. Expression of Toll-Like Receptors in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Patients with Primary Sjögren's Syndrome. *Scand J Immunol.* 2017;85(3):220-6.
94. Kawakami A, Nakashima K, Tamai M, Nakamura H, Iwanaga N, Fujikawa K, et al. Toll-like receptor in salivary glands from patients with Sjögren's syndrome: functional analysis by human salivary gland cell line. *J Rheumatol.* 2007;34(5):1019-26.
95. Kwok SK, Cho ML, Her YM, Oh HJ, Park MK, Lee SY, et al. TLR2 ligation induces the production of IL-23/IL-17 via IL-6, STAT3 and NF- κ B pathway in patients with primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(2):R64.
96. Maria NI, Steenwijk EC, AS IJ, van Helden-Meeuwssen CG, Vogelsang P, Beumer W, et al. Contrasting expression pattern of RNA-sensing receptors TLR7, RIG-I and MDA5 in interferon-positive and interferon-negative patients with primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(4):721-30.
97. Shimizu T, Nakamura H, Takatani A, Umeda M, Horai Y, Kurushima S, et al. Activation of Toll-like receptor 7 signaling in labial salivary glands of primary Sjögren's syndrome patients. *Clin Exp Immunol.* 2019;196(1):39-51.
98. Spachidou MP, Bourazopoulou E, Maratheftis CI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG, et al. Expression of functional Toll-like receptors by

salivary gland epithelial cells: increased mRNA expression in cells derived from patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol*. 2007;147(3):497-503.

99. Vogelsang P, Karlsen M, Brun JG, Jonsson R, Appel S. Altered phenotype and Stat1 expression in Toll-like receptor 7/8 stimulated monocyte-derived dendritic cells from patients with primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(4):R166.
100. Kho HS, Chang JY, Kim YY, Kim Y. MUC1 and Toll-like receptor-2 expression in burning mouth syndrome and oral lichen planus. *Arch Oral Biol*. 2013;58(7):837-42.
101. Ohno S, Tateishi Y, Tatemoto Y, Morishita K, Sasabe E, Yamamoto T. Enhanced expression of Toll-like receptor 2 in lesional tissues and peripheral blood monocytes of patients with oral lichen planus. *J Dermatol*. 2011;38(4):335-44.
102. Sinon SH, Rich AM, Parachuru VP, Firth FA, Milne T, Seymour GJ. Downregulation of toll-like receptor-mediated signalling pathways in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med*. 2016;45(1):28-34.
103. Siponen M, Kauppila JH, Soini Y, Salo T. TLR4 and TLR9 are induced in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med*. 2012;41(10):741-7.
104. Srinivasan M, Kodumudi KN, Zunt SL. Soluble CD14 and toll-like receptor-2 are potential salivary biomarkers for oral lichen planus and burning mouth syndrome. *Clin Immunol*. 2008;126(1):31-7.
105. Wang Y, Shang S, Sun Q, Chen J, Du G, Nie H, et al. Increased infiltration of CD11 c(+)/CD123(+) dendritic cell subsets and upregulation of TLR/IFN- α signaling participate in pathogenesis of oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018;125(5):459-67.e2.
106. Zeng Q, Yang X, Chen X, Xia J, Cheng B, Tao X. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide induces over production of CC chemokine ligand 2 via toll-like receptor-4 in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med*. 2018;47(2):166-72.
107. Zunt SL, Burton LV, Goldblatt LI, Dobbins EE, Srinivasan M. Soluble forms of Toll-like receptor 4 are present in human saliva and modulate tumour necrosis factor- α secretion by macrophage-like cells. *Clin Exp Immunol*. 2009;156(2):285-93.
108. Stanimirovic D, Zeljic K, Jankovic L, Magic M, Hadzi-Mihajlovic M, Magic Z. TLR2, TLR3, TLR4 and CD14 gene polymorphisms associated with oral lichen planus risk. *Eur J Oral Sci*. 2013;121(5):421-6.
109. Do JE, Kwon SY, Park S, Lee ES. Effects of vitamin D on expression of Toll-like receptors of monocytes from patients with Behçet's disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(6):840-8.
110. Kirino Y, Takeno M, Watanabe R, Murakami S, Kobayashi M, Ideguchi H, et al. Association of reduced heme oxygenase-1 with excessive Toll-like receptor 4 expression in peripheral blood mononuclear cells in Behçet's disease. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(1):R16.
111. Seoudi N, Bergmeier LA, Hagi-Pavli E, Bibby D, Curtis MA, Fortune F. The role of TLR2 and 4 in Behçet's disease pathogenesis. *Innate Immun*. 2014;20(4):412-22.
112. van der Houwen TB, Dik WA, Goeijenbier M, Hayat M, Nagtzaam NMA, van Hagen M, et al. Leukocyte toll-like receptor expression in pathergy positive and negative Behçet's disease patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2020;59(12):3971-9.
113. Yavuz S, Akdeniz T, Hancer V, Bicakcigil M, Can M, Yanikkaya-Demirel G. Dual effects of testosterone in Behçet's disease: implications for a role in disease pathogenesis. *Genes Immun*. 2016;17(6):335-41.

114. Liu X, Wang C, Ye Z, Kijlstra A, Yang P. Higher expression of Toll-like receptors 2, 3, 4, and 8 in ocular Behcet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(9):6012-7.
115. de Araújo MS, Alves PM, de Lima LM, da Silva MF, de Lima Pereira SA, Rodrigues V, Jr., et al. Evaluation of in situ expression of effector and regulatory cytokines, TLR, galectins and matrix metalloproteinases in oral manifestations of paracoccidioidomycosis. *Immunobiology.* 2015;220(1):154-63.
116. de Oliveira Rde C, Beghini M, Borges CR, Alves PM, de Araújo MS, Pereira SA, et al. Higher expression of galectin-3 and galectin-9 in periapical granulomas than in radicular cysts and an increased toll-like receptor-2 and toll-like receptor-4 expression are associated with reactivation of periapical inflammation. *J Endod.* 2014;40(2):199-203.
117. Desai SV, Love RM, Rich AM, Seymour GJ. Toll-like receptor 2 expression in refractory periapical lesions. *Int Endod J.* 2011;44(10):907-16.
118. Leonardi R, Perrotta RE, Loreto C, Musumeci G, Crimi S, Dos Santos JN, et al. Toll-like receptor 4 expression in the epithelium of inflammatory periapical lesions. An immunohistochemical study. *Eur J Histochem.* 2015;59(4):2547.
119. Özan Ü, Ocak Z, Özan F, Oktay EA, Toptaş O, Şahman H, et al. Association of Toll-like receptors 2, 3, and 4 genes polymorphisms with periapical pathosis risk. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2016;21(4):e408-12.
120. Gallo C, Barros F, Sugaya N, Nunes F, Borra R. Differential expression of toll-like receptor mRNAs in recurrent aphthous ulceration. *J Oral Pathol Med.* 2012;41(1):80-5.
121. Karasneh J, Bani-Hani M, Alkhateeb A, Hassan A, Alzoubi F, Thornhill M. TLR2, TLR4 and CD86 gene polymorphisms in recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med.* 2015;44(10):857-63.
122. Rusanen P, Marttila E, Uittamo J, Hagström J, Salo T, Rautemaa-Richardson R. TLR1-10, NF-κB and p53 expression is increased in oral lichenoid disease. *PLoS One.* 2017;12(7):e0181361.
123. Salem A, Mustafa R, Listyarifah D, Al-Samadi A, Barreto G, Nordström D, et al. Altered Expression of Toll-like Receptors in Human Oral Epithelium in Oral Lichenoid Reactions. *Am J Dermatopathol.* 2017;39(11):811-8.
124. Turan H, Bulbul Baskan E, Yakut T, Karkucak M, Tunali S, Saricaoglu H. Toll-like receptor 9 polymorphism in patients with erythema multiforme, Stevens Johnson syndrome and Stevens Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis overlap syndrome. *Bratisl Lek Listy.* 2011;112(5):260-3.
125. Gómez-García AP, López-Vidal Y, Pinto-Cardoso S, Aguirre-García MM. Overexpression of proinflammatory cytokines in dental pulp tissue and distinct bacterial microbiota in carious teeth of Mexican Individuals. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:958722.