Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
Departamento de Clínica Infantil

ANDRESSA DA SILVA

INFLUÊNCIA DO RECEPTOR TIPO *TOLL* 4 NA PATOGÊNESE DE LESÕES PERIAPICAIS EM MODELOS EXPERIMENTAIS: UMA REVISÃO DE ESCOPO

RIBEIRÃO PRETO – SP

2022

ANDRESSA DA SILVA

INFLUÊNCIA DO RECEPTOR TIPO TOLL 4 NA PATOGÊNESE DE LESÕES PERIAPICAIS EM MODELOS EXPERIMENTAIS: UMA REVISÃO DE ESCOPO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de cirurgião-dentista.

Área de concentração: Odontopediatria
Orientadora: Profa. Dra. Raquel Assed Bezerra Segato

RIBEIRÃO PRETO – SP
2022

Silva, Andressa. **INFLUÊNCIA DO RECEPTOR TIPO TOLL 4 NA PATOGÊNESE DE LESÕES PERIAPICAIS EM MODELOS EXPERIMENTAIS: UMA REVISÃO DE ESCOPO.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de cirurgião-dentista.

Aprovado em: ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho primeiramente a meus familiares, pois me permitiram chegar até aqui, a Deus por sempre me amparar e também aos meus amigos de sala que estiveram comigo durante esses 5 anos.

AGRADECIMENTOS

À Professora **Raquel Assed Bezerra Segato** por ser sempre atenciosa e dedicada a este trabalho, me passar tantos conhecimentos essenciais para esta profissão e ser uma inspiração como docente e Odontopediatra.

Aos meus **pais** por sempre me apoiarem e me proporcionarem condições para realizar o sonho de cursar essa Faculdade.

Aos meus **amigos** e **colegas** que estiveram sempre ao meu lado durante esses cinco anos.

A todos os **professores** por me darem bagagem para exercer essa linda profissão que é a Odontologia.

RESUMO

Silva, Andressa. **INFLUÊNCIA DO RECEPTOR TIPO *TOLL* 4 NA PATOGÊNESE DE LESÕES PERIAPICAIS EM MODELOS EXPERIMENTAIS: UMA REVISÃO DE ESCOPO.** 2022. 28f. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

O receptor do tipo *Toll* 4 (TLR4) atua no reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e desencadeia cascatas de sinalização intracelulares para estimular a resposta do hospedeiro frente à agentes agressores. O envolvimento do TLR4 na patogênese de diferentes patologias já tem sido amplamente descrito na literatura. Entretanto, a participação desse receptor no desenvolvimento de lesões periapicais, uma patologia imunomediada que pode ser desencadeada por patógenos, tem sido explorada mais recentemente em estudos experimentais em diferentes modelos. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão de escopo em torno do papel do TLR4 na patogênese de lesões periapicais avaliado especificamente em modelos animais. De acordo com as evidências, TLR4 atua no reconhecimento das moléculas de lipopolissacarídeos (LPS) presente nas membranas de bactérias gram-negativas e liberadas no meio extracelular, desencadeando a expressão e liberação de citocinas pró-inflamatórias, o que resulta no aumento da inflamação tecidual e reabsorção óssea presentes na progressão de uma lesão periapical. A expressão de TLR4 tende a aumentar conforme a inflamação e a osteólise se estabelecem na região periapical. A literatura vem demonstrando, ainda, em modelo hiporresponsivo ao LPS, que alterações no gene que expressa TLR4 (*Tlr4*) influenciaram o curso de lesões periapicais com a tendência de um processo inflamatório mais leve e de menor grau de reabsorção óssea no periápice, reforçando a influência deste receptor na patogênese das lesões periapicais. Sendo assim, foi possível destacar o papel do TLR4 como um receptor crítico para a patogênese de lesões periapicais em modelos animais, cuja ativação resulta na sinalização de mecanismos inflamatórios e reabsortivos mediado por citocinas pró-inflamatórias.

Palavras-chave: Receptor 4 Toll-Like; Periodontite Apical; Modelos Animais; Endodontia.

ABSTRACT

Silva, Andressa. **The influence of toll-like receptor 4 on the pathogenesis of periapical lesions in experimental models: a scoping review.** 2022. 28f. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

The Toll-like receptor 4 (TLR4) acts in the recognition of molecular patterns associated with pathogens (PAMPs) and triggers intracellular signaling cascades to stimulate the host's response to aggressive agents. The involvement of TLR4 in the pathogenesis of different pathologies has already been widely described in the literature. However, the participation of this receptor in the development of periapical lesions, an immune-mediated pathology that can be triggered by pathogens, has been explored more recently in experimental studies in different models. In this context, the aim of the present study was to carry out a scope review around the role of TLR4 in the pathogenesis of periapical lesions specifically evaluated in animal models. According to the evidence, TLR4 acts in the recognition of lipopolysaccharide (LPS) molecules present in the membranes of gram-negative bacteria and released in the extracellular environment, triggering the expression and release of pro-inflammatory cytokines, which results in increased tissue inflammation and bone resorption present in the progression of a periapical lesion. TLR4 expression tends to increase as inflammation and osteolysis take place in the periapical region. The literature has also shown, in a hyporesponsive model to LPS, that alterations in the gene that expresses TLR4 (Tlr4) influenced the course of periapical lesions with a tendency towards a lighter inflammatory process and a lower degree of bone resorption in the periapex, reinforcing the influence of this receptor on the pathogenesis of periapical lesions. Thus, it was possible to highlight the role of TLR4 as a critical receptor for the pathogenesis of periapical lesions in animal models, whose activation results in the signaling of inflammatory and reabsorptive mechanisms mediated by pro-inflammatory cytokines.

Keywords: Toll-Like Receptor 4; Apical Periodontitis; Animal Models; Endodontics.

SUMÁRIO

1. Introdução 9

2. Proposição 12

3. Métodos 12

4. Revisão de Escopo 14

5. Discussão 18

6. Conclusão 21

Referências 21

1. INTRODUÇÃO

Frente à um agente agressor, o sistema de defesa do hospedeiro pode ser dividido em resposta imune inata e adquirida.

O sistema imune inato reconhece diferentes estímulos nocivos como os micro-organismos patogênicos, que possuem padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados a ameaças (DAMPs), por meio de uma variedade de receptores de reconhecimento de patógenos (PRRs), tais como os receptores *Toll-like* (TLRs) (Aderem e Ulevitch, 2000; Takeda e Akira, 2015). Os PAMPs são partes de patógenos como lipoproteínas, lipopeptídeos e ácidos nucleicos (DNA ou RNA), enquanto que os DAMPs são moléculas liberadas em resposta a injúrias como as proteínas de choque térmico, S100 e do grupo de alta mobilidade 1 (HMGB1) (McCarthy CG et al., 2014; Schaefer L et al., 2014; Anwar et al., 2019). Tanto os DAMPs quanto os PAMPs podem se ligar a uma variedade de TLRs. Os ligantes situados na superfície celular se ligam primariamente a aqueles TLRs localizados na membrana celular. Já os TLRs intracelulares são ativados por ácidos nucleicos os quais são liberados após a endocitose ou replicação de patógenos. Assim, os TLRs são considerados a primeira linha de defesa da resposta imune do hospedeiro (Takeda T et al., 2003; Kawai T et al., 2010; Anwar et al., 2019).

Os TLRs são proteínas transmembrana do tipo I (Desai et al., 2011b) identificados tanto em humanos (TLRs 1 ao 10) quanto em camundongos (TLR 1 a 9 e 11 a 13) (Matsushima et al., 2007). Além de detectarem detectam estruturas moleculares de patógenos como lipopolissacarídeos (LPS) e lipoproteínas bacterianas, os diferentes tipos de TLRs realizam, ainda, processos como fagocitose, endocitose, allém de participarem do início do processo inflamatório (Aderem e Ulevitch, 2000; Heil et al., 2004). Com relação à localização, os TLRs 1, 2, 4, 5, 6 e 10 estão na membrana plasmática e os TLRs 3, 7, 8, 9, 11, 12 e 13 em endossomos intracelulares (Kawai e Akira, 2007; 2010). Estes receptores estão presentes principalmente nas células imunes inatas, entretanto, podem ser expressos também em células imunes adaptativas (Yatim e Lakkis, 2015).

Os subtipos de TLRs e o receptor de interleucina 1 (IL-1R) apresentam uma semelhança estrutural do domínio intracelular TIR e ativam uma cascata de sinalização semelhante por intermédio do NF-κB. Os TLRs ativam duas diferentes cascatas distintas: uma via canônica por meio da molécula MyD88 e uma via não-canônica por meio do indutor de adaptador do interferon-β que contém o domínio TIR (TIR domain–containing adapter-inducing interferon β - TRIF) (Kawai e Akira, 2004, 2010, 2015; Ullah et al., 2016).

A ativação dos TLRs circulantes resulta em intensa inflamação sistêmica levando ao

recrutamento de células imunes para o local da agressão como os macrófagos e neutrófilos, que, por sua vez, induzem a fagocitose e promovem respostas adicionais do hospedeiro, estimulando a produção de citocinas inflamatórias, além de outros mecanismos inatos (Van Maren et al., 2008; Desai et al., 2011a).

Diferentes estudos na literatura tem demonstrado o papel crucial dos TLRs em diferentes patologias sistêmicas, especialmente no câncer (Lanki et al., 2019; Tran et al., 2019; Patra et al., 2020), assim como a utilização desses receptores como alvos terapêuticos para o tratamento promissor de diferentes tipos de tumores (Khademalhosseini e Arababadi, 2018; Anwar et al., 2019; Kashani et al., 2021).

Dentre as patologias bucais, as lesões periapicais são o resultado tanto da presença na região periapical, de micro-organismos, seus produtos e subprodutos quanto da própria resposta de defesa do hospedeiro na tentativa de combater a infecção (Sjögren et al., 1997; Stashenko et al., 1990, 1998; Nair, 2004; Čolić et al., 2009), gerando um processo inflamatório crônico de longa duração. Assim, à semelhança de outras patologias imune-inflamatórias, a invasão bacteriana na região periapical suscita, primeiramente, reações inflamatórias inespecíficas e, posteriormente, reações inflamatórias específicas (resposta imune adaptativa) que envolvem variados tipos celulares, citocinas, anticorpos e mediadores inflamatórios que participam na tentativa de proteger os tecidos periapicais, limitando o desenvolvimento da infecção (Desai et al., 2011). Além disso, a ativação dos TLRs induz a maturação das células dendríticas que são fundamentais para gerar respostas imunes adaptativas (Ausubel, 2005). Adicionalmente, com a progressão e cronificação da lesão periapical, verifica-se uma infiltração de elementos celulares da imunidade adaptativa, incluindo vários subgrupos de células B e T (AlShwaimi et al., 2009). Ressalta-se, ainda, que nessas lesões há o predomínio de bactérias anaeróbias gram-negativas que apresentam o LPS na sua parede celular o qual, ao se ligar a TLRs, desencadeia diferentes eventos que iniciam e/ou exacerbam a resposta inflamatória e a reabsorção óssea (Safavi e Nichols, 1993; Silva et al., 2002; Leonardo et al., 2004; Hemmi e Akira, 2005; Gioannini e Weiss, 2007; de Queiroz et al., 2016; Wang et al., 2020).

Nesse contexto e considerando que os LPS bacteriano se liga aos TLRs 2 e 4, nosso grupo de pesquisa caracterizou a formação e progressão de lesões periapicais induzidas em camundongos *knockout* para TLR2 e demonstrou que esses animais desenvolveram lesões periapicais maiores e com um número aumentado de osteoclastos, indicando a importância desse receptor na resposta imune e inflamatória às infecções periapicais (da Silva et al., 2012). Além disso, demonstramos que a molécula adaptadora MYD88, crucial para a ativação da

cascata de sinalização após a ativação de diferentes TLRs, também desempenha um importante papel no desenvolvimento de lesões periapicais induzidas experimentalmente em modelo animal (Bezerra da Silva et al., 2014). Adicionalmente, nosso grupo de pesquisa também demonstrou a relação entre a ativação de metaloproteinases da matriz 2 e 9 e o desenvolvimento de lesões periapicais em camundongos knockout para TLR2 e a molécula MYD88 (Barreiros et al., 2018).

Dentre os TLRs já descritos, destaca-se o receptor do tipo *Toll* 4 (TLR4). O TLR4 pode ser ativado por moléculas como o LPS. Sendo assim, durante uma infecção, TLR4 responde ao LPS ativando uma cascata de sinalizações intracelulares que resultam na produção de mediadores pró-inflamatórios (Ain et al., 2020; Ciesielska et al., 2021).

A interação entre TLR4 e LPS em processos patológicos sistêmicos de caráter inflamatório tem sido relatada (Zhan et al., 2018; Li et al., 2019; Shen et al., 2020; Afroz et al., 2021). Sabe-se que a proteína CD14 e a proteína de ligação ao LPS (LBP) favorecem a ativação do TLR4 (Płóciennikowska et al., 2015). Esta interação torna-se ainda mais pertinente quando consideramos que uma ativação de alta intensidade dos receptores TLR4 pode estar associada a processos patológicos mais severos no organismo, como a sepse. Do mesmo modo, estimulação crônica ou de baixa intensidade deste receptor pode favorecer o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, metabólicas e autoimunes, bem como a supressão da sinalização de TLR4 pode interferir na depuração de bactérias, reforçando a necessidade de compreender os processos relacionados a este receptor (Ciesielska et al., 2021).

Além disso, conforme já mencionado, o LPS associado a bactérias Gram-negativas faz parte dos processos infecciosos na cavidade bucal como a periodontite e a lesão periapical. O LPS liberado durante a divisão, stress ou morte dessas bactérias pode ser considerado um precursor das respostas inflamatórias nestas estruturas, sendo considerado um importante fator de virulência para as infecções endodônticas, cujas concentrações podem se relacionar com achados clínicos dos pacientes. A presença de LPS desencadeia a ativação de TLR4 em células imunes, especialmente os macrófagos, iniciando a cascata inflamatória pela liberação de citocinas pró-inflamatórias (Rôças et al., 2014; Rovai et al., 2019).

Nesse contexto, diferentes evidências apontam uma contribuição da ativação do TLR4 em processos inflamatórios na cavidade bucal, como as lesões periapicais, sustentando a liberação de citocinas pró-inflamatórias e contribuindo na patogênese de diferentes condições clínicas. Entretanto, diversos aspectos sobre a contribuição deste receptor nas lesões periapicais ainda necessitam ser melhor investigados (De Oliveira et al., 2014;

Leonardi et al., 2015; Rider et al., 2016; Rovai et al., 2019), bem como não há uma síntese sobre o estado da arte relacionada ao papel do TLR4 nas lesões periapicais.

2. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi descrever, por meio de uma revisão de escopo sistematizada, a influência do receptor do tipo *toll*4 na patogênese de lesões periapicais em modelos experimentais, retratando o estado da arte.

3. MÉTODOS

Trata-se de uma revisão de escopo sistematizada, desenvolvida em acordo com a diretriz PRISMA-ScR (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses extension for Scoping Reviews*) (Tricco et al., 2018). A questão norteadora respondida ao final do estudo foi revisar a influência do receptor do tipo *Toll* 4 (TLR4) na patogênese de lesões periapicais.

A revisão de escopo está sendo amplamente utilizada na área das ciências da saúde com a finalidade de sintetizar e de disseminar os resultados de estudos a respeito de um assunto (Levac D et al., 2010; Tricco AC et al., 2016; Ferraz et al., 2019). O objetivo de uma análise de escopo é mapear, por meio de um método rigoroso e transparente, o estado da arte em uma área temática, pretendendo fornecer uma visão descritiva dos estudos revisados, sem avaliá-los criticamente ou sumarizar evidências de diferentes investigações, como ocorre em uma revisão sistemática (Arksey H et al., 2005; Ferraz et al., 2019).

As revisões do escopo diferem das revisões sistemáticas, porque não visam avaliar a qualidade das evidências disponíveis, mas objetivam mapear rapidamente os principais conceitos que sustentam uma área de pesquisa (Arksey H et al., 2005; Ferraz et al., 2019). Por outro lado, elas diferem de uma revisão tradicional da literatura na medida em que envolvem um procedimento mais sistemático.

A revisão de escopo é um método de abordagem válida nas circunstâncias em que as revisões sistemáticas são incapazes de atender aos objetivos ou requisitos necessários dos usuários do conhecimento. Sendo semelhante com a revisão sistemática por seguir um processo estruturado, porém é realizada por diferentes motivos e apresentam algumas diferenças metodológicas importantes. Essa revisão é uma ferramenta ideal para determinar a cobertura de um corpo de literatura sobre um determinado tópico e dar uma indicação clara do volume de literatura e estudos disponíveis, bem como uma visão geral de seus focos (Munn et al., 2018).

Para responder a questão postulada, tornaram-se elegíveis estudos em modelos experimentais *in vivo* que investigaram hipóteses diretamente relacionadas com a expressão ou ativação de TLR4 e sua influência na patogênese das lesões periapicais, sem restrição de idioma ou ano de publicação. Foram incluídos apenas os estudos que puderam ser acessados na íntegra, nos quais o TLR4 (proteína ou gene) foi o foco da investigação, avaliado após a indução de lesões periapicais experimentais mediada por patógenos em camundongos, ratos ou cães. Estudos nos quais a ativação ou expressão de TLR4 foi secundária e não estava diretamente relacionada com a patogênese de lesões periapicais, bem como estudos desenvolvidos em seres humanos ou por métodos *in vitro*, não foram elegíveis.

Os estudos foram rastreados nas bases de dados MEDLINE/PubMed (*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*), Embase, Web of Science e Google Acadêmico (100 primeiros rastreios).Não houve consulta nas bases de dados cinzentas. Os periódicos *International Endodontic Journal*, *Journal of Endodontics* e *Australian Endodontic Journal* foram examinados individualmente utilizando uma estratégia de busca aplicada diretamente nas ferramentas de buscas dos periódicos para recuperar estudos potencialmente elegíveis que não tenham sido recuperados pela estratégia inicial, considerando que são periódicos de referência para a área da Endodontia com elevado fator de impacto. Os estudos incluídos no escopo tiveram suas referências examinadas manualmente em busca de outros estudos potencialmente elegíveis.

A estratégia de busca foi composta por descritores extraídos do MeSH (*Medical Subject Headings*) e termos-chaves utilizados na literatura, aplicada de forma semelhante nas bases de dados. O Quadro 1 apresenta a estratégia de busca. Após testes preliminares, observou-se que estratégias mais curtas e amplas foram mais eficientes em recuperar estudos potencialmente elegíveis pelo título e resumo.

Quadro 1. Estratégia de busca aplicada nas bases de dados e periódicos selecionados.

Descritores/Termos-chave	**Bases/Periódicos**
#1 (toll-like receptors 4 OR toll like receptor 4 OR TLR4) and (endodontics OR pulp diseases OR periapical inflammation OR apical periodontitis OR periapical lesion)	MEDLINE/PubMed, Embase, Web of Science e Google Acadêmico

#2 (toll-like receptor 4 OR toll like receptor 4 OR TLR4)	*International Endodontic Journal*, *Journal of Endodontics* e *Australian Endodontic Journal*

O processo de seleção dos estudos foi realizado por um avaliador independente, via leitura exploratória, qualitativa e sistematizada dos títulos, resumos e estudos completos. O avaliador atribuiu a inclusão ou exclusão de cada estudo alcançado, seguindo os critérios de elegibilidade. As duplicações intra/interbases ou periódicos foram realizadas após a seleção para leitura completa dos estudos. A data da última busca em cada base/periódico, o total de estudos alcançados e o total de estudos incluídos foram registrados.

Para extrair os dados, o avaliador utilizou as tabelas idealizadas para sumarizar as variáveis e descrever os desfechos relacionados ao objetivo, preenchendo-as sequencialmente.

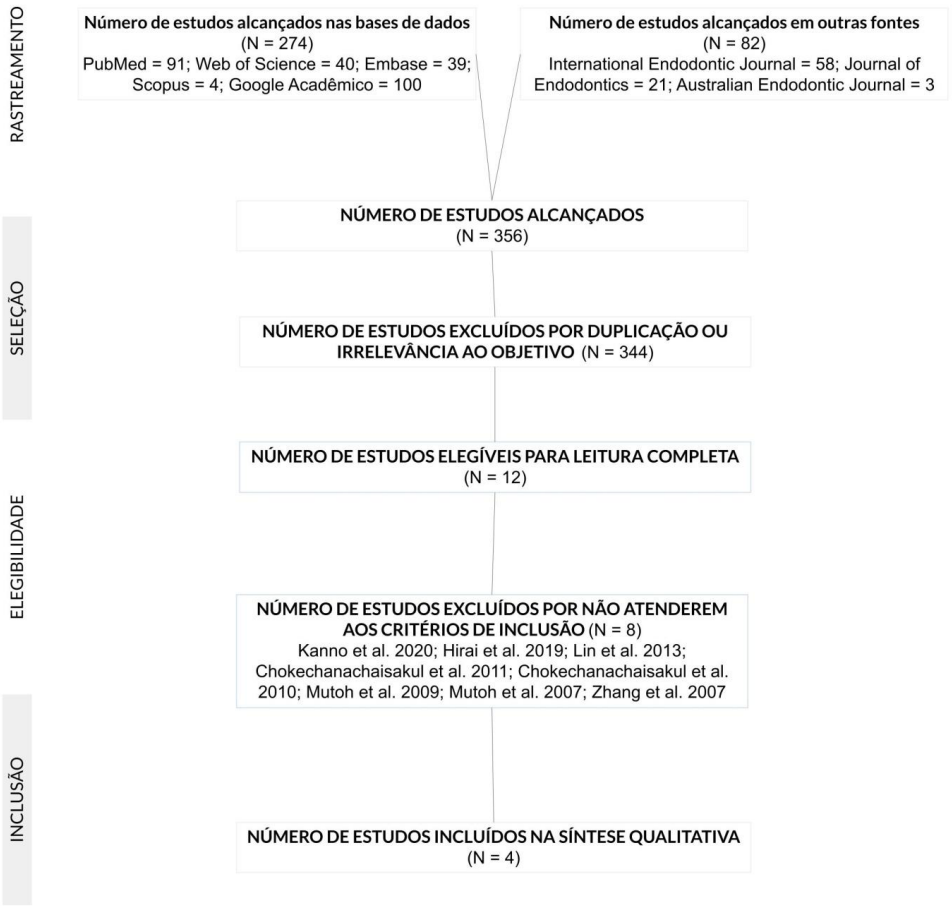
Os desfechos primários foram os achados relacionados ao TLR4 na patogênese das lesões periapicais. Foram considerados diversos aspectos relacionados aos desfechos, desde ensaios de expressão gênica até técnicas de imunohistoquímica aplicadas à TLR4 após a exposição pulpar e indução da lesão periapical, levando em consideração as características das lesões (inflamação tecidual, diferenciação celular e reabsorção óssea). Adicionalmente, foram coletados dados relacionados à publicação do estudo, dos métodos investigativos para alcançar os desfechos e as conclusões dos autores. Estudos em seres humanos ou em contextos diferentes foram alocados na discussão.

4. REVISÃO DE ESCOPO

Inicialmente, 356 estudos foram avaliados. A Figura 1 apresenta o fluxograma do rastreio dos estudos. É possível observar que os estudos elegíveis aos nossos critérios utilizaram ratos ou camundongos (selvagens ou *knockout*) para induzir a lesão periapical. Nenhum estudo com cães foi encontrado pela nossa estratégia de busca, bem como a utilização de animais *knockout* somente para TLR4 para investigar lesões periapicais não foi observada.

Dentre os estudos elegíveis para leitura completa (n=12), 8 estudos foram excluídos por não se adequarem aos critérios de elegibilidade propostos anteriormente: Kanno e colaboradores (2020; não investigou lesão periapical após exposição pulpar), Hirai e colaboradores (2019; a expressão de TLR4 na patogênese da periapical não foi o desfecho primário e nem diretamente correlacionada), Lin e colaboradores (2013; não utilizou modelo animal); Chokechanachaisakul e colaboradores (2011; não investigou lesão periapical após exposição pulpar), Chokechanachaisakul e colaboradores (2010; não investigou lesão

periapical e sim lesão de furca de origem endodôntica), Mutoh e colaboradores (2009; não investigou lesão periapical e sim), Mutoh e colaboradores (2007; não investigou lesão periapical e sim pulpite) e Zhang e colaboradores (2007; não foi recuperado na íntegra).



Assim, finalmente, 4 estudos foram incluídos na revisão. O Quadro 2 apresenta as características gerais dos estudos incluídos.

Quadro 2. Características gerais dos estudos incluídos.

Autoria	Periódico	Ano	Modelo animal experimental (n)	Modelo animal controle (n)	Exposição pulpar
Hou*et al.*	Infection & Immunity	2000	Camundongos C3H/HeJ (n = 10)	Camundongos C3H/HeOuJ (n = 10)	Sim
Fouad *et al.*	International Endodontic Journal	2001	Camundongos C3H/HeJ (n = 20)	Camundongos BALB/c (n = 20)	Sim

Rider *et al.*	The Anatomical Record	2016	Camundongos *knockout* para TLR2 e *knockout* para TLR2/TLR4	Camundongos C57BL/6J	Sim
Liu *et al*.	Journal of Endodontics	2017	Ratos Wistar (n = 42)	-	Sim

O Quadro 3 apresenta uma descrição metodológica de cada estudo incluído na revisão. É possível observar que o método de exposição pulpar foi semelhante nos estudos elegíveis com a utilização de brocas esféricas em baixa rotação para a abertura coronária de molares inferiores e exposição do tecido pulpar ao meio bucal dos animais experimentais para induzir a lesão periapical. Entretanto, os períodos experimentais foram diferentes entre os estudos, bem como as análises histopatológicas realizadas.

Quadro 3. Descrição metodológica dos estudos incluídos.

Autoria	**Método de exposição pulpar**	**Dentes**	**Períodos experimentais**	**Análises**
Hou et al.	Broca esférica ¼ em peça de mão	Primeiros molares inferiores	21 dias	Histopatológica e ELISA
Fouad et al.	Broca esférica ¼ em alta rotação	Primeiros molares inferiores	2, 4, 6 e 8 semanas	Histopatológica e Imunohistoquímica
Rider et al.	Não especificado	Primeiros molares inferiores	10 e 21 dias	Microtomografia computadorizada, Histopatológica e RT-PCR
Liu et al	Broca esférica ¼	Primeiros molares inferiores	7, 14, 21, 28 e 35 dias	Histopatológica, histoenzimologia, Imunohistoquímica eImunofluorescência

Abaixo segue a descrição dos 4 estudos incluídos na presente revisão de escopo.

Hou et al. (2000) induziram lesão periapical pela exposição pulpar de primeiros molares inferiores em camundongos (C3H/HeJ) hiporresponsivos ao LPS por apresentar uma deficiência no gene *Tlr4*, responsável pela expressão de TLR4. O objetivo dos autores foi comparar a reabsorção óssea no modelo animal após a exposição e estímulo à infecção pulpar, comparando-o aos animais selvagens. Os autores utilizaram um quatro patógenos endodônticos (*Prevotella intermedia*, *Streptococcusintermedius*, *Fusobacteriumnucleatum* e *Peptostreptococcus micros*) para contaminar os canais radiculares após a exposição pulpar, selando-os com resina composta. Após 21 dias, após eutanásia dos animais e processamento

das amostras, embora a reabsorção óssea tenha ocorrido em ambos os modelos animais infectados (selvagens e hiporresponsivos ao LPS), esta foi significativamente menor nos animais hiporresponsivos ao LPS pelo defeito em *Tlr4*.Assim, os autores puderam concluir que o TLR4 faz parte dos mecanismos de sinalização para reabsorção óssea e sua ausência resultou em lesões periapicais menores.

Fouad e Acosta (2001) induziram lesão periapical pela exposição pulpar de primeiros molares inferiores em camundongos C3H/HeJ (hiporresponsivo ao LPS) e BALB/c (selvagem) com o objetivo de comparar a progressão das lesões periapicais. Inicialmente foi realizada abertura coronária, exposição pulpar e inserção nos canais radiculares de uma lima endodôntica previamente contaminada com microbiota do sulco gengival e do dorso da língua. Após os períodos experimentais (2, 4, 6 e 8 semanas), não houve diferenças estatisticamente significativas na progressão das lesões periapicais para as cepas de camundongos com o tempo. Compreendeu-se que a responsividade ao LPS pode não ser significativa na patogênese das lesões periapicais e na expressão de citocinas dentro das lesões induzidas por flora oral inespecífica.

Rider et al. (2016) induziram lesão periapical pela exposição pulpar de primeiros molares inferiores em três modelos experimentais diferentes: camundongos selvagens, *knockout* para TLR2 e duplo *knockout* para TLR2/TLR4. O objetivo dos autores foi demonstrar como a regulação de TLR2 e TLR4 pode modular lesões periapicais induzidas por infecção polimicrobiana com *Parvimonas micra*, *Streptococcusintermedius*, *Prevotella intermedia* e *Fusobacteriumnucleatum*. Os autores observaram uma interação entre os dois receptores, que apresentaram papéis antagônicos na regulação da reabsorção óssea periapical. Após 21 dias, após a análise de microtomografia, os camundongos *knockout* para TLR2 apresentaram lesões periapicais maiores que os demais, enquanto o tamanho nos animais duplo *knockout* (TLR2 e TLR4) foi similar ao selvagem. Além disso, a sinalização para TLR4 foi elevada nos animais *knockout* para TLR2 no dia 21, embora sem diferença significativa quando comparados aos animais selvagens. Uma vez que TLR2 se expressa naturalmente em macrófagos residentes a sinalização de TLR2 parece ser um supressor endógeno natural da expressão de CD14 celular, concluindo então que essa supressão de CD14 mediada por TLR2 é um mecanismo autoregulatório que impede a inflamação mediada por CD14/TLR4 contra a infecção polimicrobiana.

Liu et al. (2017) induziram lesão periapical pela exposição pulpar de primeiros molares inferiores de ratos *Wistar* para investigar a localização e expressão do TLR4s. Os autores mensuraram a quantidade de células positivas para TLR4 durante a gênese e

progressão das lesões periapicais. Do dia 7 ao 35, observou-se um aumento progressivo da quantidade de células TLR4 positivas nas áreas de lesão ao redor do forame apical, acompanhando a destruição tecidual e reabsorção óssea, bem como a ausência destas células em áreas sem inflamação tecidual. Adicionalmente, dentre as células TLR4 positivas, várias destas eram linfócitos. Podendo então concluir que HMGB1 e TLR4 podem estar associados a patogênese das lesões periapicais.

Em síntese, os estudos em modelos experimentais que investigaram diretamente a influência do receptor TLR4 na progressão de lesões periapicais observaram que este receptor está diretamente relacionado com o aumento da destruição tecidual e reabsorção óssea.

5. DISCUSSÃO

Conforme apresentado, a sinalização deficiente de TLR4 pode resultar em parâmetros inflamatórios e reabsortivos de menor intensidade nas lesões periapicais induzidas de modo experimental. Embora a participação de TLR4 em diferentes processos inflamatórios tenha sido investigada, utilizando a nossa estratégia de busca e critérios de inclusão, foram recuperados somente quatro estudos que adotaram este receptor como desfecho primário e diretamente correlacionaram sua expressão com a progressão da lesão periapical induzida após exposição pulpar em modelos experimentais. Assim, é de fundamental o conhecimento dos mecanismos microscópicos e moleculares envolvidos na patogênese da lesão periapical, especialmente o papel do TLR4, favorecendo o desenvolvimento de terapêuticas específicas e mais eficazes.

É importante considerar que TLR4 faz parte da resposta imune pulpar aos agentes externos, como componentes bacterianos e especificamente o LPS, antes do processo de necrose pulpar e formação de lesão periapical. Já foi demonstrado que odontoblastos e células endoteliais dos vasos sanguíneos da polpa dentária expressam TLR4, incluindo seu mRNA. *In vitro*, LPS e bactérias estimularam a expressão de TLR4, bem como suprimir a sua sinalização pode interferir na diferenciação das células-tronco pulpares, caracterizando um papel imune relevante destes receptores antes da formação da lesão periapical (Jiang et al., 2006; Liu et al., 2014). Adicionalmente, Hirai e colaboradores (2019) demonstraram como padrões moleculares associados a danos (DAMPs), além dos PAMPs, podem ativar a via de sinalização por TLR4 e desencadear resposta inflamatória no tecido periapical.

Mutoh et al. (2007 e 2009) demonstraram a expressão de TLR4 no tecido pulpar inflamado de modo experimental (pulpite). Os autores observaram que após preparo cavitário nos molares superiores, avaliando de 0 à 72 horas, os níveis de mRNA para TLR4 foram

baixos quando comparados à TLR2 (30 vezes maior que TLR4). Entretanto, a análise imunohistoquímica demonstrou que macrófagos e células dendríticas do tecido pulpar foram marcados com anticorpos anti-TLR4 no estágio inicial da pulpite experimental. No modelo murino com imunodeficiência combinada grave, com até 24 horas de exposição da dentina após o preparo cavitário, os autores observaram que após 9 horas a quantidade de mRNA para TLR4 era a menor, embora tivesse alcançado seu pico após 3 horas e aumentado gradualmente após 12 e 24 horas. Em relação às células que expressaram TLR4, estas eram frequentemente macrófagos, polimorfonucleares e células semelhantes a células dendríticas.

Em lesões de furca induzidas experimentalmente pela via endodôntica em molares de ratos, Chokechanachaisakulet al. (2010) observaram que a expressão gênica de TLR4 aumentou, bem como as células positivas para este receptor foram encontradas predominantemente no ligamento periodontal abaixo da dentina na região de furca (CHOKECHANACHAISAKUL et al., 2010). Adicionalmente, a expressão gênica de TLR4 em molares de ratos também foi estimulada por LPS, como demonstrado no estudo de Chokechanachaisakulet al. (2011). Por fim, Lin e colaboradores (2013) demonstraram a expressão de TLR4 no processo de reabsorção radicular externa de origem endodôntica (inflamatória), diretamente correlacionada com a presença de bactérias.

Em lesões periapicais, modelos hiporresponsivos ao LPS por defeito em TLR4 podem apresentar lesões periapicais menores pela baixa expressão de IL-1α e IL-1β, citocinas classicamente associadas à reabsorção óssea (Hou et al., 2000). Por outro lado, é necessário pontuar que a sinalização reduzida de TLR4 não resulta em ausência de resposta inflamatória (FOUAD E ACOSTA, 2001), o que sugere a importância de se investigar outras vias de sinalização alternativas à TLR4 em lesões periapicais.

Com base nos estudos supracitados em relação ao papel do TLR4 em células e no tecido pulpar e periapical, comparando-os aos estudos em modelos animais incluídos nessa revisão de escopo, é possível inferir que sinalização de TLR4 é importante não somente para a progressão da lesão periapical, mas para as diferentes patologias que acometem o tecido pulpar. Além disso, é possível compreender que vias alternativas ao TLR4, como TLR2, podem ser importantes na patogênese de lesões periapicais, bem como a interação entre LPS-TLR4 pode ser um alvo terapêutico para Endodontia, considerando que a supressão da via de TLR4 resulta em menor expressão de citocinas pró-inflamatórias e, consequentemente, em menor grau de inflamação e reabsorção óssea.

Também é possível inferir que os estudos sobre TLR4 em lesões periapicais de seres humanos (amostras de cistos ou granulomas periapicais) corroboram com os estudos em

modelos animais sobre o papel do TLR4. Já foi demonstrado que o mRNA de TLR4 é significativamente expresso em lesões periapicais de pacientes, tanto em casos de periodontite apical sintomática quanto assintomática, bem como sua expressão foi correlacionada com a expressão de metaloproteinases de matriz (MMP-8 e MMP-13), estabelecendo uma associação entre a expressão de TLR4 e outros eventos relacionados à destruição tecidual em processos patológicos, como a degradação de matriz colágena (De Oliveira et al., 2014; Leonardi et al., 2015; Fernández et al., 2019).

Por outro lado, em abordagens genéticas em seres humanos, polimorfismos no gene que expressa TLR4 não foram associados a um maior risco de desenvolvimento de patologias periapicais ao comparar pacientes com tratamento endodôntico com e sem lesão periapical (Özan et al., 2016). Na mesma perspectiva, foi demonstrado que polimorfismos no gene que expressa TLR4 não estiveram associados a presença de periodontite apical após tratamento endodôntico, sugerindo que estes não influenciaram na resposta dos tecidos periapicais após o tratamento (Rôças et al., 2014), embora exista evidências de que mutações no gene que expressa TLR4 podem estar associadas ao risco aumentado de infecções por bactérias gram-negativas em unidades de terapia intensiva (Agnese et al., 2002).

O papel do TLR4 na patogênese da lesão periapical em estudos animais e humanos previamente discutido também são compatíveis com os achados na patogênese da periodontite, uma outra patologia imunomediada e desencadeada por patógenos que afeta os tecidos de suporte dentário, marcada pela perda óssea alveolar. A ativação de TLR4 pelo LPS em macrófagos e células dendríticas induziu a produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF-α, IL-1 e IL-6, que por sua vez estimulam a expressão de RANKL e diferenciação de osteoclastos. Do mesmo modo, em fibroblastos e osteoblastos, a interação com LPS pode estimular a secreção de RANKL. A ligação LPS-TLR4 recruta a proteína TRAF6, essencial para a osteoclastogênese em modelos murinos e para a sinalização de LPS. Adicionalmente, inibir a sinalização de TLR4 por LPS, por meio de um ligante inibidor (TAK-242), reduz a osteoclastogênese e a expressão de TNF-α, reduzindo também a reabsorção óssea (He et al., 2016; Song et al., 2017; Alqranei E Chellaiah, 2020; Alqranei et al., 2021). Para Nakamura et al. (2008), o TLR4 pode ser considerado indispensável para reabsorção *in vivo* do osso alveolar, uma vez que em camundongos C3H/HeJ a inoculação de LPS desencadeou uma menor quantidade de células positivas para RANKL e IL-1β.

Além dos estudos já apresentados, evidências de outras áreas do conhecimento nos levam a informações importantes sobre o papel do TLR4 em outros contextos, trazendo hipóteses e corroborando com a influência do TLR4 nas lesões periapicais. Como

demonstrado por Hoshino et al. (1999), camundongos *knockout* para TLR4, assim como camundongos C3H/HeJ, são hiporresponsivos ao LPS. Nesse estudo, os macrófagos destes modelos animais não produziram TNF-α e nem as células B apresentaram um comportamento proliferativo quando estimulados por LPS.

Como discutido por Ureña-Peralta et al. (1999), o *knockout* de TLR4 pode desencadear um papel anti-inflamatório relevante por meio da redução da expressão de citocinas, interferindo em diversas vias de sinalização e, consequentemente, em processos patológicos de natureza inflamatória. No tecido ósseo, o *knockout* de TLR4 pode viabilizar o reparo de lesões pela menor expressão de TNF-α, IL-1β e IL-6 e menor quantidade de osteoclastos (Zhao et al., 2020). A influência positiva da sinalização de TLR4 na diferenciação de osteoclastos também já foi demonstrada em estudos recentes em modelos de lesões periapicais (Davis et al., 2019; Zhou et al., 2021), corroborando com as demais evidências de menor reabsorção óssea em modelos de lesões periapicais quando a via mediada por TLR4 é comprometida. Entretanto, estudos ainda são necessários para a completa compreensão do papel do TLR4 no desenvolvimento das lesões periapicais especialmente utilizando animais *knockout* para esse receptor.

6. CONCLUSÃO

Por fim, podemos concluir que TLR4 é um receptor que pode influenciar na patogênese de lesões periapicais experimentais. Os desfechos observados pelos estudos em modelos animais estão de acordo com as evidências de estudos com lesões periapicais humanas, bem como de estudos sobre periodontite e outras condições sistêmicas. Os mecanismos envolvidos na ativação e modulação das vias de sinalização mediadas por TLR4 podem interferir na patogênese de processos inflamatórios, especialmente aqueles induzidos pela resposta imune à bactérias com LPS, o que pode ser interessante do ponto de vista terapêutico.

REFERÊNCIAS

ADEREM A, ULEVITCH RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. **Nature**, v. 406, p. 782-787, 2000.

AFROZ R et al. LPS/TLR4 pathways inbreast cancer: insights into cell signalling. **CurrMedChem**, 2021.

AGNESE, D. M. et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are

associated with an increased risk of gram-negative infections. **J Infect Dis**, v. 186, n. 10, p. 1522-1525, 2002.

AIN, Q. U.; BATOOL, M.; CHOI, S. TLR4-targeting therapeutics: structural basis and computer-aided drug discovery approaches. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 627, 2020.

ALQRANEI, M. S. et al. Lipopolysaccharide-TLR-4 axis regulates osteoclastogenesis independent of RANKL/RANK signaling. **BMC Immunol**, v. 22, n. 1, p. 1-16, 2021.

ALQRANEI, M. S.; CHELLAIAH, M. A. Osteoclastogenesis in periodontal diseases: possible mediators and mechanisms. **J Oral Biosci**, v. 62, n. 2, p. 123-130, 2020.

AlSHWAIMI, E et al. Regulatory T cells in Mouse Periapical Lesions. **J Endod**, v. 35, p. 1229-1233, 2009.

ANWAR, MA et al. Recent clinical trends in Toll-like receptor targeting therapeutics. **Med Res Ver**, v.39, n. 3, p. 1053-1090, 2019.

AUSUBEL FM. Are innate immune signaling pathways in plant sand animals conserved? **Nat Immunol**, v. 6, p. 973-979, 2005.

BARREIROS, D et al. MMP2 and MMP9 are Associated with Apical Periodontitis Progression and Might be Modulated by TLR2 and MyD88. **Braz Dent J**, v. 29, n. 1, p. 43-47, 2018.

BEZERRA DA SILVA, RA et al. MyD88 knockout mice develop initial enlarged periapical lesions with increased numbers of neutrophils. **IntEndod J**, v. 47, n. 7, p. 675-686, 2014.

BROAD A, JONES DE, KIRBY JA. Toll-like receptor (TLR) response tolerance: a key physiological "damage limitation" effect and an important potential opportunity for therapy. **CurrMedChem**, v. 13, n. 21, p. 2487-2502, 2006.

CHOKECHANACHAISAKUL, U. et al. Gene expression analysis of resident macrophages in lipopolysaccharide-stimulated rat molar pulps. **J Endod**, v. 37, n. 9, p. 1258-1263, 2011.

CHOKECHANACHAISAKUL, U. et al. Increased gene expression of Toll-like receptors and antigen-presenting cell–related molecules in the onset of experimentally induced furcation lesions of endodontic origin in rat molars. **J Endod**, v. 36, n. 2, p. 251-255, 2010.

CIESIELSKA, A.; MATYJEK, M.; KWIATKOWSKA, K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. **Cell Mol Life Sci**, v. 78, n. 4, p. 1233-1261, 2021.

COLIC, M et al. Regulatory T-cells in periapical lesions. **J Dent Res**, v. 88, p. 997-1002, 2009.

DA SILVA, RA et al. Toll-like receptor 2 knockout mice showed increased periapical lesion size and osteoclast number. **J Endod**, v. 38, n. 6, p. 803-813, 2012.

DAVIS, H. M. et al. High mobility group box 1 protein regulates osteoclastogenesis through direct actions on osteocytes and osteoclasts in vitro. **J CellBiochem**, v. 120, n. 10, p. 16741-16749, 2019.

DE OLIVEIRA, R. C. M. 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**, v. 40, n. 2, p. 199-203, 2014.

DE QUEIROZ, AM et al. Correlation Between Bacterial Endotoxin Levels in Root Canal sof Primary Teeth and the Periapical Lesion Area. **J DentChild**, v. 83, n. 1, p. 9-15, 2016.

DESAI, SV et al. Antigen recognition and presentation in periapical tissues: a role for TLR expressing cells? **IntEndod J**, v. 44, p. 87-99, 2011.

FERNÁNDEZ, A. 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**, v. 23, n. 12, p. 4205-4212, 2019.

FOUAD, A. F.; ACOSTA, A. W. Periapical lesion progression and cytokine expression in an LPS hyporesponsive model. **Int Endod J**, v. 34, n. 7, p. 506-513, 2001.

GIOANNINI, TL. WEISS, JP. Regulation of interaction sof Gram-negative bacterial endotoxin swith mammalian cells. **Immunol Res**, v. 39, n. 1-3, p. 249-260, 2007.

GOLDMAN, E.et al. Inducing apical periodontitis in mice. **J Vis Exp**, n. 150, p. e59521, 2019.

HE, L. et al. Sinomenine down-regulates TLR4/TRAF6 expression and attenuates lipopolysaccharide-induced osteoclastogenesis and osteolysis. **Eur J Pharmacol**, v. 779, p. 66-79, 2016.

HEIL, F et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. **Sci**, v. 5, n. 303, p. 1526-1529, 2004.

HEMMI, H. AKIRA, S. TLR signal lingand the function of dendritic cells. **Chem Immunol Allergy**, v. 86, p. 120-135, 2005.

HIRAI, K. et al. Serum amyloid A contributes to chronic apical periodontitis via TLR2 and TLR4. **J Dent Res**, v. 98, n. 1, p. 117-125, 2019.

HOSHINO, K. et al. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. **J Immunol**, v. 162, n. 7, p. 3749-3752, 1999.

HOU, L.; SASAKI, H.; STASHENKO, P. Toll-like receptor 4-deficient mice have reduced bone destruction following mixed anaerobic infection. **Infect Immun**, v. 68, n. 8, p. 4681-4687, 2000.

JIANG, H. et al. Expression of toll like receptor 4 in normal human odontoblasts and dental pulp tissue.**JEndod**, v. 32, n. 8, p. 747-751, 2006.

KASHANI, B et al. The role of toll-like receptor 4 (TLR4) in câncer progression: A possible therapeutic target? **J CellPhysiol**, v. 236, n. 6, p. 4121-4137, 2021.

KAWAI, T. AKIRA, S. Signaling to NF-Kb by toll-like receptors. **Trends Mol Med**, v. 13, p. 460-469, 2007.

KAWAI, T. AKIRA, S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. **Nat. Immunol**, v. 11, p. 373-384, 2010.

KHADEMALHOSSEINI, M. ARABABADI, MK. Toll-like receptor 4 and breast cancer: na updated systematic review. **BreastCancer**, v. 26, n. 3, p. 265-271, 2019.

LANKI, M et al. Toll-like receptor 1 predicts favorable prognosis in pancreatic cancer. **PLoSOne**, v. 14, n. 7, 2019.

LEONARDI, R. et al. Toll-like receptor 4 expression in the epithelium of inflammatory periapical lesions. An immunohistochemical study. **Eur J Histochem**, v. 59, n. 4, p. 279-282, 2015.

LEONARDO, MR et al. Importance of bacterial endotoxin (LPS) in endodontics. **J Appl Oral Sci**, v. 12, n. 2, p. 93-98, 2004.

LI, XP et al. LPS induces activation of the TLR4 pathway in fibroblast sand promotes skin scar formation through collagen Iand TGF-β in skin lesions. **Int J ClinExpPathol**, v. 12, n. 6, p. 2121-2129, 2019.

LIN, Y. P. et al. Expression of Toll-like receptors 2 and 4 and the OPG–RANKL–RANK system in inflammatory external root resorption and external cervical resorption. **Int Endod J**, v. 46, n. 10, p. 971-981, 2013.

LIU, L. et al. High-mobility group box 1 is associated with the inflammatory infiltration and alveolar bone destruction in rats experimental periapical lesions. **J Endod**, v. 43, n. 6, p. 964-969, 2017.

LIU, Y. et al. TLR4 activation by lipopolysaccharide and Streptococcus mutans induces differential regulation of proliferation and migration in human dental pulp stem cells. **J Endod**, v. 40, n. 9, p. 1375-1381, 2014.

MATSUSHIMA, N et al. Comparative sequence analysis of leucine-rich repeats (LRRs) within vertebrate toll-like receptors. **BMC Genomics**, v. 21, n. 8, p. 124, 2007.

MUNN, Z et al. Systematic review or scoping review? Guidance for authors when choosing between a systematic or scoping review approach. **BMC Med Res Methodol,** v. 143, 2018.

MUTOH, N. et al. Expression of toll-like receptor 2 and 4 in dental pulp. **J Endod**, v. 33, n. 10, p. 1183-1186, 2007.

MUTOH, N. et al. Expression of Toll-like receptor 2 and 4 in inflamed pulp in severe combined immunodeficiency mice. **J Endod**, v. 35, n. 7, p. 975-980, 2009.

NAIR, PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. **CritRev Oral Biol Med**, v. 15, p. 348-381, 2004.

NAKAMURA, H. et al. Lack of Toll-like receptor 4 decreases lipopolysaccharide-induced bone resorption in C3H/HeJ mice in vivo. **Oral Microbiol Immunol**, v. 23, n. 3, p. 190-195, 2008.

NETEA, M. SCHLITZER, A. PLACEK, K et al. Innate and Adaptive Immune Memory: an Evolutionary Continuum in the Host's Response to Pathogens. **Perspective,** v.25, n.1, p.13-26, 2019.

ÖZAN, Ü. et al. Association of Toll-like receptors 2, 3, and 4 genes polymorphisms with periapical pathosis risk. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v. 21, n. 4, p. e408, 2016.

PATRA, MC. SHAH, M. CHOI, S. Toll-like receptor-induced cytokines as immuno therapeutic targets in câncer sand auto immune diseases. **SeminCancer Biol**, v. 64, p. 61-82, 2020.

PŁÓCIENNIKOWSKA, A. et al. Co-operation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling. **Cell Mol Life Sci**, v. 72, n. 3, p. 557-581, 2015.

RIDER, D. et al. Elevated CD14 (cluster of differentiation 14) and toll-like receptor (TLR) 4 signaling deteriorate periapical inflammation in TLR2 deficient mice. **Anat Rec (Hoboken)**, v. 299, n. 9, p. 1281-1292, 2016.

RÔÇAS, I. N. et al. Polymorphism of the CD14 and TLR4 genes and post-treatment apical periodontitis. **J Endod**, v. 40, n. 2, p. 168-172, 2014.

ROVAI, E. S. et al . Microbial profile and endotoxin levels in primary periodontal lesions with secondary endodontic involvement. **Braz. Dent. J**, v. 30, n. 4, p. 356-362, 2019.

SAFAVI, KE. NICHOLS, FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. **J Endod**, v. 19, n. 2, p. 76-78, 1993.

SHEN, S et al. Gypenosides improves nonalcoholic fatty liver disease induced by high-fat diet induced through regulating LPS/TLR4 signaling pathway. **CellCycle**, v. 19, n. 22, p. 3042-3053, 2020.

SILVA, L et al. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo. **J Endod**, v. 28, n. 2, p. 94-98, 2002.

SJOGREN, U et al. Influence of infection at the time of root filling on the out come of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. **IntEndod J**, v. 30, p. 297-306, 1997.

SONG, B. et al. The role of toll-like receptors in periodontitis.**Oral Dis**, v. 23, n. 2, p. 168-180, 2017.

STASHENKO, P. TELES, R. D'SOUZA, R. Periapical Inflammatory Responses and Their Modulation. **CriticalReviews in Oral Bio& Med**, v. 9, p. 498-521, 1998.

STASHENKO, P. Role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. **EndodDentTraumatol**, v. 6, n. 3, p. 89-96, 1990.

TAKEDA, K. AKIRA, S. TLR signaling pathways. **SeminImmunol**, v. 16, n. 1, p. 3-9, 2004.

TAKEDA, K. AKIRA, S. Toll-like receptors in innate immunity. **IntImmunol**, v. 17, p. 1-14, 2005.

TAKEDA, K. AKIRA, S. Toll-like receptors. **CurrProtocImmunol**, v. 109, n. 14-12, p. 1-14, 2015.

TAKEDA, K. AKIRA, S. Toll-like receptors. **CurrProtocImmunol**, v. 109, p. 1-10, 2015.

TANOMARU, J. M. G. et al. Histopathological evaluation of different methods of experimental induction of periapical periodontitis. **Braz. Dent. J**, v. 19, n. 3, p. 238-244, 2008.

TRAN, TH et al. Toll-like receptor-targeted particles: A paradigm to manipulate the tumor micro environment for câncer immuno therapy. **Acta Biomater**, v. 94, p. 82-96, 2019.

TRICCO, A. C. et al. PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): checklist and explanation. **Ann Intern Med**, v. 169, n. 7, p. 467-473, 2018.

ULLAH, MO et al. TRIF-dependent TLR signaling, its functions in host defense and inflammation, and its potential as a therapeutic target. **J Leukoc Biol**, v. 100, n. 1, p. 27-45, 2016.

UREÑA-PERALTA, J. R. et al. Lack of TLR4 modifies the miRNAs profile and attenuates inflammatory signaling pathways. **PloS One**, v. 15, n. 8, p. e0237066, 2020.

VAN MAREN, WWC et al. Toll-like receptor signalling on Tregs: to suppressor not to suppress? **Immunol**, v. 124, p. 445-452, 2008.

WANG, Y et al. Small- Molecule Modulators of Toll-like Receptors. **AccChem Res**, v. 53, n. 5, p. 1046-1055, 2020.

YATIM, KM. LAKKIS, FG. A brief journey through the immune system. **Clin J AmSocNephrol**, v. 10, n. 7, p. 1274-1281, 2015.

ZHAN, X. STAMOVA, B. SHARP, FR. Lipopolysaccharide Associates with Amyloid Plaques, Neuronsand Oligodendrocytes in Alzheimer's DiseaseBrain: A Review.**Front AgingNeurosci**, v. 10, p. 42, 2018.

ZHAO, C. et al. Knockout of TLR4 promotes fracture healing by activating Wnt/β-catenin signaling pathway. **Pathol Res Pract**, v. 216, n. 2, p. 152766, 2020.

ZHOU, C. C. et al. Osteogenesis, osteoclastogenesis and their crosstalk in lipopolysaccharide-induced periodontitis in mice. **Chin J Dent Res**, v. 24, n. 1, p. 33-39, 2021.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
Comissão de Graduação

Folha de Informação

Em consonância com a Resolução CoCEx-CoG n° 7.497/2018, informamos que a Comissão de Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP) em sua 509ª Reunião Ordinária, realizada em 02 de maio de 2022, **aprovou,** fundamentando-se na sugestão da Subcomissão para Avaliação dos Trabalhos de Conclusão de Curso (TCCs) da Unidade, **a inclusão deste trabalho na Biblioteca Digital de Trabalhos Acadêmicos da USP (BDTA).**

Cumpre-nos destacar que a disponibilização deste trabalho na BDTA foi autorizada pelos autores (estudante e docente orientador) no formulário de indicação de orientador (conforme anexo).

Ribeirão Preto, 22 de junho de 2022.

Prof. Dr. Michel Reis Messora
Presidente da Comissão de Graduação
FORP/USP

AVENIDA DO CAFÉ S/Nº - TEL: (0XX16) 3315-3952/3972 - FAX: (0XX16) 3315-4102
14040-904 – RIBEIRÃO PRETO – SP. - BRASIL

Ilma. Sra.

Profa. Dra. Maria Cristina Borsato

Presidente da Subcomissão para Avaliação dos TCCs da FORP

FORMULÁRIO DE INDICAÇÃO DE ORIENTADOR(A)

DADOS PESSOAIS	
Nome: Andressa da Silva	
N° USP: 10294540	Período: 9º período
Telefone de contato: (16) 99187-782	E-mail USP: andressadede@usp.br
INFORMAÇÕES SOBRE O TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO	
Nome do Orientador(a): Raquel Assed Bezerra Segato	
Departamento: DCI	
Área de conhecimento: Odontopediatria	
Subárea: Lesão periapical	
MODALIDADE	
Modalidade:	
Monografia e Revisão Sistemática	
ACEITE DO(A) ORIENTADOR(A)	

Eu, Prof(a). Dr(a). Raquel Assed Bezerra Segato, aceito ser orientador(a) do(a) aluno(a) supracitado(a), comprometendo-me a orientar, acompanhar e avaliar o desenvolvimento de seu Trabalho de Conclusão de Curso em todas as suas etapas.

Declaramos ter pleno conhecimento do Regulamento dos Trabalhos de Conclusão de Curso da FORP, estando, portanto, cientes de que este TCC poderá ser incluído na Biblioteca Digital de trabalhos Acadêmicos (BDTA) da USP.

Andressa da Silva

Raquel Assed Bezerra Segato