



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**REVISÕES SISTEMÁTICAS E META-ANÁLISES SOBRE
CONDICIONANTES GENÉTICAS NA SAÚDE ORAL**

Trabalho submetido por
Pedro Miguel Gonçalves Pires Pereira
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Outubro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**REVISÕES SISTEMÁTICAS E META-ANÁLISES SOBRE
CONDICIONANTES GENÉTICAS NA SAÚDE ORAL**

Trabalho submetido por
Pedro Miguel Gonçalves Pires Pereira
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Sérgio Manuel Antunes Félix

e coorientado por
Mestre Paulo Sobral Mascarenhas

Outubro de 2020

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Doutor Sérgio Félix, por me ter convidado no início deste 5º ano, para a realização deste projeto. Agradeço o seu apoio ao longo deste último ano enquanto finalista, neste trabalho e na confiança que depositou em mim.

Ao meu coorientador, Mestre Paulo Mascarenhas, por me ter sempre ajudado nos momentos em que mais precisava, pela sua constante disponibilidade e simpatia.

À minha namorada Inês, por ter estado sempre presente nos bons e maus momentos, pela sua ajuda constante, por me incentivar sempre a fazer o meu melhor, por nunca ter duvidado de mim e pela sua paciência ao longo deste percurso.

À minha família. Mãe, Pai, Irmã, obrigada por toda a ajuda, por estarem sempre presentes, nunca duvidarem de mim, pelo incentivo e força que me deram ao longo destes anos.

À família da minha namorada, pelo carinho constante e pelo incentivo.

Ao meu colega de box Luís Costa, por ter sido um amigo com o qual aprendi bastante na clínica e fora dela, pela ajuda constante em todos os momentos da clínica e por ter tornado os dias de faculdade mais divertidos.

À Marta Belo pela amizade, pela ajuda, pela preocupação e pela paciência constante nas preparações e no decorrer das épocas de exames ao longo destes 5 anos.

A todos os professores, às funcionárias da farmácia e da limpeza, aos funcionários da receção, aos senhores da manutenção, e a todos os outros que de algum modo influenciaram a minha vida nesta segunda casa, um simples obrigado não chega para descrever estes 5 anos.

Por último, um agradecimento especial, ao Prof. Doutor Martins dos Santos sem o qual este trajeto académico não teria sido possível.

RESUMO

Introdução: O progresso recente no campo da biologia molecular e das técnicas de análise de sequência de DNA permitiu determinar o significado dos fatores hereditários de muitas doenças humanas. Neste contexto, na última década, houve um aumento significativo no número de estudos sobre fatores genéticos que se pensa terem um efeito sobre a doença da cárie dentária e doença periodontal.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi apresentar uma síntese de revisões sistemáticas e meta-análises sobre a influência de variantes nucleotídicas (SNPs) na ocorrência de cárie dentária e doença periodontal.

Materiais e Métodos: Foi realizada uma pesquisa sistemática para realização de uma síntese de revisões sistemáticas com e sem meta-análise de acordo com a diretriz PRISMA até maio de 2020, usando as bases de dados eletrônicas (PubMed, Google Scholar e Cochrane Library). A seleção dos artigos foi feita com base em critérios de inclusão e posteriormente a sua qualidade metodológica foi avaliada de acordo com os critérios AMSTAR2.

Resultados: Obteve-se inicialmente um total de 73 artigos, e após aplicação dos critérios de inclusão, selecionaram-se 17 para análise. Destes, 13 artigos incluíam meta-análise, 1 era de alta, 10 de média, 5 de baixa e 1 de qualidade criticamente baixa, de acordo com o guia AMSTAR2. Essas revisões sistemáticas / meta-análises mostraram que determinados SNPs nas Interleucinas (IL-6, IL-8, IL-1A e IL-1 β), nos recetores do tipo Toll (TLRs) e variantes dos gene VDR (BsmI, FokI, TaqI) têm efeitos na doença periodontal e que polimorfismos nos genes AMELX, AQP5 e ESRRB, genes que codificam as proteínas da saliva, genes das proteínas da matriz metaloproteinases (MMP2) e no gene DEFB1 (rs11362) têm associação com a suscetibilidade à cárie dentária.

Conclusão: Esta síntese de revisões sistemáticas com ou sem meta-análises identificou os principais SNPs associados a risco de cárie dentária e / ou doença periodontal.

Palavras-chave: Genética, epigenética, cárie dentária, microbioma de placa, doença periodontal.

ABSTRACT

Introduction: Recent progress in the field of molecular biology and DNA sequencing analysis techniques has made possible to determine the significance of the hereditary factors in many human diseases. In the last decade, there has been an increase in the number of studies on genetic factors that are thought to have influence on dental caries and periodontal disease.

Objective: The aim of this study was to present an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses on the influence of genetic variants, such as single nucleotide polymorphism (SNP) on the occurrence of dental caries and periodontal disease.

Materials and Methods: A systematic electronic literature search was carried out in accordance with the PRISMA guideline up to May 2020 using electronic databases (PubMed, GoogleScholar, and Cochrane Library). An umbrella review of systematic reviews with and without meta-analysis was conducted. Overall, 17 articles met the inclusion criteria and their methodological quality was assessed using the AMSTAR2 criteria.

Results: A total of 73 articles were obtained and 17 of them were included for analysis. 13 articles included meta-analysis, 1 was high, 10 were medium, 5 were low and 1 had critically low quality according to the AMSTAR2 guide. These systematic reviews / meta-analyses showed that certain SNPs in Interleukins (IL-6, IL-8, IL-1A and IL-1 β), Toll-type receptors (TLRs) and VDR gene variants (BsmI, FokI, TaqI) have effects on periodontal disease and that polymorphisms in the AMELX, AQP5 and ESRRB genes, genes that encode saliva proteins, genes in the metalloproteinase matrix proteins (MMP2) and in the DEFB1 gene (rs11362) are associated with dental carie susceptibility.

Conclusion: This umbrella review of systematic review with or without meta-analyses demonstrated an association between genetic polymorphisms and risk of dental caries and/or periodontal disease.

Key words: Genetic, epigenetic, dental caries, plaque microbiome, periodontal disease.

ÍNDICE

I - INTRODUÇÃO	13
1- Saúde Oral	13
1.1- Condições da Saúde Oral	13
2- O papel da genética na saúde oral	15
2.1- Diversidade genética	15
2.2- Single Nucleotic Polymorphism, SNP's:	17
3- Cárie Dentária	20
3.1- Epidemiologia	20
3.2- Mecanismos / fisiopatologia.....	21
3.3- Desmineralização e remineralização	21
3.4- Genética da cárie	22
4- Doença Periodontal	24
4.1- Microbioma da cavidade oral.....	24
4.2- Biofilme dentário	25
4.3- Periodontite	26
4.4- Genética da doença periodontal	27
II - MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
III - RESULTADOS.....	31
1- Qualidade metodológica das revisões sistemáticas e meta-análises	33
2- Características das revisões/meta-análises incluídas.....	41
IV - DISCUSSÃO	45
1- Cárie Dentária	45
2- Doença Periodontal	47
2.1- Interleucinas	47
2.1.1- Interleucina-8 (IL-8).....	47
2.1.2- Interleucina-1 β (IL-1 β).....	47
2.1.3- Interleucina-1A (IL-1A).....	48
2.1.4- Interleucina-6 (IL-6).....	48
2.1.5- Interleucina-17 (IL-17).....	49
2.2- Interferon-gama (IFN- γ).....	49
2.3- Recetor do tipo Toll 4 (TLR4)	49
2.4- Metaloproteinase de matriz (MMP) e Inibidores teciduais de Metaloproteinases (TIMPs)	50
2.5- Recetor de Vitamina D (VDR).....	51
2.6- Beta-defensin 1 (DEFB1).....	52
V- CONCLUSÃO	55
VI- BIBLIOGRAFIA	57
VII- ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Diagramas de fluxo PRISMA doença periodontal.	32
Figura 2 - Diagramas de fluxo PRISMA cárie dentária.	32

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela apresentando os resultados da checklist AMSTAR2 relativamente aos estudos de diversos autores sobre a cárie dentária.	34
Tabela 2 - Tabela apresentando os resultados da checklist AMSTAR2 relativamente aos estudos de diversos autores sobre doença periodontal.	36
Tabela 3 - Tabela apresentando os resultados da checklist PRISMA relativamente aos artigos incluídos.....	40
Tabela 4 - Características das revisões e meta-análises incluídas relativamente à cárie dentária.	42
Tabela 5 - Características das revisões e meta-análises incluídas relativamente à doença periodontal.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS

AgP: Doença periodontal agressiva

APF: Fluorofosfatos acidulados

CD-CV: Variante comum de doença comum

CPOD: Dentes cariados perdidos e obturados

cSNP: Polimorfismo de nucleótido único codificante

DEFB1: *Beta-defensin 1*

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EUA: Estados Unidos da América

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

HLA: Antígeno leucocitário humano

IFN- γ : Interferon-gama

IL: Interleucina

MHC: moléculas do complexo principal de histocompatibilidade

MMPs: Metaloproteinases de matriz

Naf: Fluoreto de sódio

OMS: Organização Mundial da saúde

PMN: Leucócitos polimorfonucleares

PRISMA: *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*

RFLP: Polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição de genes únicos

SnF2: Fluoreto de estanho

SNP: Polimorfismo de nucleótido único

TDT: *Transmission Disequilibrium Test Analysis*

TIMPs: Inibidores teciduais de metaloproteínases

TLRs: recetores do tipo Toll

VDR: Recetor de vitamina D

I - INTRODUÇÃO

1- Saúde Oral

1.1- Condições da Saúde Oral

A saúde oral é fundamental para a saúde geral e para o bem-estar. (Petersen & Kwan, 2011)

A maioria das condições que afetam a saúde oral são a cárie dentária, as doenças periodontais, o cancro oral, as manifestações orais de HIV, o trauma dentário, a fenda nasopalatina e o noma. Entenda-se esta última patologia como uma doença gangrenosa que se inicia na boca e afeta principalmente crianças de África Subsaariana conhecida como a “doença da pobreza”. No entanto a maioria destas situações orais pode ser evitada se detetada nos estágios iniciais. (World Health Organization, 2020; Petersen & Kwan, 2011)

A deterioração da saúde oral afeta a qualidade de vida propiciando dor e/ou desconforto, a perda de dentes, uma função oral deficiente, desfiguração, faltas à escola ou ao trabalho e em casos mais extremos a morte. Apesar das melhorias na saúde oral nas últimas décadas em vários países, as doenças orais continuam a ser um problema global e crescente nos diferentes grupos sociais em vários países. (Petersen & Kwan, 2011)

Em 2017, a *Global Burden of Disease Study* estimou que as doenças orais afetam cerca de 3.5 bilhões de pessoas em todo o mundo, sendo a cárie dentária a condição mais comum. (World Health Organization, 2020)

A importância relativa da higiene oral e a remoção da placa bacteriana no controle da cárie é frequentemente debatida. Como tal, já não se questiona o antigo conceito de que "um dente limpo nunca se deteriora". Foi também demonstrado que depósitos microbianos na superfície do dente causam cáries numa velocidade acrescida quando a sacarose é metabolizada, a fim de evitar a lise bacteriana do açúcar. Além disso, o controle metuculoso da placa pode prevenir a formação de lesões numa base populacional. (Fejerskov, 1997)

As doenças periodontais são também iniciadas pela placa microbiana, que se acumula na região da fenda gengival e induz uma resposta inflamatória. Esta inflamação,

na forma inicial de gengivite , pode progredir em certos indivíduos suscetíveis à condição inflamatória destrutiva denominada periodontite. Enquanto a gengivite é um processo reversível, na periodontite, doença crónica, ossos e outros tecidos de suporte dentário são destruídos. (Armitage, 1989; Flemmig, 1998)

A cárie dentária e a doença periodontal são as duas condições orais mais prevalentes a nível global, no entanto, ambas são amplamente evitáveis. A acumulação de placa dentária e um biofilme microbiano na superfície dentária são fatores etiológicos primários de ambas as doenças. (Soldani, Young, Jones, Walsh, & Clarkson, 2008)

2- O papel da genética na saúde oral

2.1- Diversidade genética

A diversidade genética, definida por Wright em 1920 e por Fisher em 1930, é uma medida que quantifica a magnitude da variabilidade genética dentro de uma população, e é uma fonte fundamental de biodiversidade. Por mais de 80 anos, o estudo da diversidade genética tem sido principalmente o domínio dos biólogos evolucionistas. (Edwards, 1930; Wright, 1920)

O trabalho pioneiro da síntese evolutiva moderna forneceu a base teórica e empírica para o estudo da diversidade genética, incluindo a derivação de novas métricas quantitativas da diversidade genética, como a heritabilidade e a variância genética. (Edwards, 1930; Haldane, 1932; Wright, 1920)

Um dos principais objetivos da genética humana é entender o papel das variantes genéticas comuns na suscetibilidade a doenças comuns. Isso exige a caracterização da natureza da variação do gene em populações humanas, a montagem de um extenso catálogo de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) em genes candidatos e a realização de estudos de associação para doenças específicas. (Cargill *et al.*, 1999)

A população humana tem uma diversidade genética relativamente limitada, refletindo a sua tenra idade e tamanho historicamente pequeno. Existem muitas variantes genéticas raras na população humana, mas a maioria da heterozigosidade na população é atribuível a alelos comuns (ou seja, aqueles que estão presentes numa frequência de $> 1\%$ na população geral). (Cargill *et al.*, 1999)

Três desenvolvimentos indicaram que estávamos no momento certo para começar o catálogo sistemático da variação da sequência humana. (Collins, Guyer, & Chakravarti, 1997).

Em primeiro lugar, as análises quantitativas recentes, *Genome wide linkage analysis, versus Genome wide association analysis*, sugerem que as de análise de associação (*Genome wide association analysis*) devem ser particularmente eficientes para a identificação de genes com variantes relativamente comuns, que conferem um efeito modesto ou pequeno sobre o risco de doença - exatamente o tipo de gene esperado na

maioria dos distúrbios complexos. A principal diferença entre estas duas abordagens (*Genome wide linkage analysis* e *Genome wide association analysis*) é que a análise de ligação tem a ver com a relação entre a transmissão de um locus e a doença / característica, dentro das famílias. É o método tradicionalmente usado para identificar genes de doenças e tem sido extremamente bem-sucedido no mapeamento de genes que estão na base de doenças "Mendelianas" monogénicas. No que concerne à análise de associação, esta diz respeito à relação entre um alelo específico e a doença / fenótipo dentro da população. Esse maior poder analítico traduz-se numa grande redução no número de amostras de DNA necessárias para identificar um gene que contribui para uma doença específica. (Collins *et al.*, 1997; Guo *et al.*, 2017; Hirschhorn & Daly, 2005)

Em segundo lugar temos o desenvolvimento de métodos aprimorados para a descoberta e genotipagem de polimorfismos de nucleótido único (SNPs). Os métodos anteriores para a descoberta de SNPs dependiam principalmente da sequenciação do DNA de vários indivíduos e, portanto, eram relativamente lentos e caros. Abordagens mais recentes, para avaliar as diferenças de sequência de DNA entre indivíduos, oferecem uma promessa considerável para reduzir o custo e aumentar a taxa em que um grande número de SNPs pode ser descoberto. Estão a ser desenvolvidos vários métodos promissores para a descoberta de SNPs em números muito elevados, incluindo estratégias de mini sequenciação, *multiplex reverse dot blots* (especialmente usado para fornecer genótipos de diagnóstico), *DNA chips* (uma coleção de pontos microscópicos de DNA presos a uma superfície sólida) e o *TaqMan approach* (amplificar e detetar alelos específicos no DNA genómico). (Collins *et al.*, 1997)

Em terceiro lugar, por serem ferramentas de pesquisa potencialmente tão valiosas, os SNPs precisariam de ser disponibilizados gratuitamente o mais rápido possível, de modo que uma maior quantidade de investigadores nos setores público e privado pudessem começar a usá-los imediatamente. Embora possa parecer estranho que a variação comum no genoma humano possa ser reivindicada como propriedade intelectual, alguns especialistas em patentes consideram os SNPs (particularmente aqueles encontrados em regiões codificantes de proteínas, *coding* SNPs (cSNPs)) como tendo características novas, uteis e não óbvias e como tal devem ser patenteáveis. Se o desenvolvimento do SNP continuar sem orientação ou apoio de financiamento público, um número substancial de SNPs e cSNPs pode ser gerado em coleções privadas. Embora

algumas dessas coleções privadas possam estar "disponíveis publicamente", uma teia de anexos restritivos de propriedade intelectual pode muito bem surgir, impedindo muitos investigadores de usar essas ferramentas poderosas. Para os SNPs escolhidos aleatoriamente, a preocupação é um pouco menor, já que deve haver vários milhões deles no genoma e portanto, não há o receio de já terem sido todos eles descobertos no particular; no entanto, mesmo esses ditos "aleatórios" não são um conjunto infinito. Sobre os estimados 200000 cSNPs, que se encontram nas regiões codificantes, a preocupação é muito maior. (Collins *et al.*, 1997)

2.2- Single Nucleotic Polymorphism, SNP's:

Como pudemos observar anteriormente os SNP's são amplamente utilizados a nível do genoma humano estando relacionados com várias descobertas ao longo dos anos. No entanto é fundamental descrever o seu funcionamento.

Os SNP's são o tipo mais comum de variações genéticas em humanos, sendo responsáveis por cerca de 90% das diferenças sequenciais com uma frequência geral de cerca de 1 por 1000 bases nucleótidas. (Zhen Wang & Moulton, 2001)

Os estudos de polimorfismo de nucleótido têm três vantagens distintas segundo Halushka e os seus colaboradores em 1999:

1- Detecção de todos os tipos de alteração de sequência (substituições de nucleótido único, inserção / deleções e variação do número de cópias em padrões de repetição de nucleótidos), dos quais os SNP's são os mais comuns; (Halushka *et al.*, 1999)

2- Detecção de variantes em DNA codificante (cSNPs) e não codificante, incluindo aqueles em regiões regulatórias presumíveis; (Halushka *et al.*, 1999)

3- Detecção e genotipagem usando um único método. As primeiras tentativas de pesquisar a variação genética humana ao nível do DNA não foram sistemáticas e, ou usaram a análise de polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP) de genes únicos, em pequenas amostras, onde amostraram apenas uma fração da variação existente, ou tiveram a disponibilidade de utilizar duas sequências alélicas do mesmo gene. A descoberta de SNP em grandes amostras foi relatada, mas essas análises ainda são restritas a genes únicos. (Halushka *et al.*, 1999)

Há grandes esperanças de que o conhecimento do genótipo SNP de um indivíduo forneça uma base para avaliar a suscetibilidade à doença e a escolha ideal de terapias. (Zhen Wang & Moulton, 2001)

Um grande desafio para realizar essas expectativas é entender como e quando é que as variantes causam doenças. (Zhen Wang & Moulton, 2001)

Definimos gene de suscetibilidade como sendo o gene que potencia ou diminui o risco de desenvolvimento de uma doença. O critério para a identificação de um gene suscetível, sugerido por Wang em 2005, inclui:

- Identificação de um SNP ou de um haplótipo SNP (combinação de um grupo de alelos de *loci* adjacentes, que fazem parte do mesmo cromossoma), que mostra uma frequência significativamente maior ou menor, numa população de indivíduos, do que numa população de indivíduos de controlo, normal. (Q. Wang, 2005)

- Replicação da associação anterior numa população independente ou pela identificação de um dos alelos do SNP ou de um haplótipo SNP específico que é preferencialmente transmitido a indivíduos afetados em análises de associação, baseados em famílias, usando uma análise de teste de desequilíbrio de transmissão, TDT (*Transmission Disequilibrium Test Analysis*). (Q. Wang, 2005)

- Demonstração dos efeitos funcionais do SNP ou Haplótipo SNP no gene. Os genes de suscetibilidade têm um valor preditivo para uma população de pacientes, mas não têm valores preditivos ou são aptos para diagnóstico em pacientes individuais. (Q. Wang, 2005)

A maior parte da pesquisa genética em doenças orais concentrou-se em polimorfismos genéticos que desempenham um papel na resposta imunológica, no processo destrutivo dos tecidos ou no mecanismo metabólico. Por outro lado, os polimorfismos genéticos também podem agir como um protetor ou fator destrutivo para uma doença. (Karthikeyan *et al.*, 2014)

Pensou-se então que a análise dos SNP's iria facilitar a identificação de múltiplos genes associados à periodontite como marcadores genéticos. A variação alélica em genes de citocinas e fatores que regulam a sua expressão podem influenciar o resultado clínico,

a suscetibilidade e a progressão da doença periodontal. A desregulação da expressão génica de citocinas pode ser responsável pelos ciclos repetidos de inflamação do tecido observados nesses distúrbios. (Karthikeyan *et al.*, 2014)

Para doenças complexas, estudos de associação de genoma inteiro que datilografam centenas de milhares de variantes fornecem um excelente poder, excedendo notavelmente o poder da metodologia de *linkage*, para identificar genes de efeito modesto. (Daly & Day, 2001)

O perfil da expressão genética cria uma marca da taxa na qual os genes estão expressos numa amostra de tecido. Como a expressão génica muda sob condições patológicas, o perfil desta expressão pode apontar para genes que podem estar envolvidos na patogénese da doença. (Moore *et al.*, 2005)

3- Cárie Dentária

3.1- Epidemiologia

A cárie dentária representa um dos problemas mais importantes e incômodos em todas as sociedades industrializadas e num grande número de países em desenvolvimento. Embora a prevalência e a gravidade desta lesão a na maioria dos países industrializados tenham diminuído substancialmente nas últimas 2 décadas, atingindo médias tão baixas quanto 1.1 dentes cariados, perdidos e obturados (CPOD) por criança, em crianças de 12 anos, esta doença ainda é muito comum e aumenta significativamente com a idade, continuando assim a ser um problema de saúde pública. (Burt, 1998; Marthaler, 1996)

Quando o biofilme microbiano é exposto a fontes de hidratos de carbono através da dieta do hospedeiro, este pode levar à redução localizada do pH, resultando na dissolução química da superfície do dente. (Sheiham & James, 2015)

Se este processo não for travado, o processo poderá levar a uma lesão ou "cavidade" no dente exposto. Embora o dente cariado frequentemente permaneça assintomático nos estágios iniciais da doença, as consequências a longo prazo podem ser uma patologia dolorosa, sepsis ou, em última instância, a perda da peça dentária. As estimativas da prevalência de cárie variam em todo o mundo, mas o estudo global de lesões cariosas de 2010 estimou que a cárie não tratada em dentes permanentes foi a condição mais prevalente em todo o mundo, afetando cerca de 2.4 bilhões de pessoas. (Kassebaum *et al.*, 2015)

A detecção clínica da cárie é tradicionalmente feita por uma inspeção visual detalhada dos dentes limpos por examinadores treinados. Embora sondas de ponta afiada (ou exploradores) ainda sejam frequentemente usados, eles fornecem pouco benefício de diagnóstico adicional e podem causar alguns danos. (Pitts *et al.*, 2017)

As radiografias dentárias ou outros métodos de diagnóstico de suporte (como corantes) também são necessários na prática clínica para detetar lesões que estão ocultas à avaliação visual, particularmente aquelas que estão situadas nas superfícies dentais proximais (ou seja, superfícies que fazem contato entre os dentes adjacentes). (Pitts *et al.*, 2017)

3.2- Mecanismos / fisiopatologia

Os mecanismos e a fisiopatologia subjacentes ao desenvolvimento da cárie dentária são cada vez mais compreendidos e mais considerados; primeiro pelos aspetos relacionados ao tecido duro (como a doença afeta os tecidos dentais calcificados) e em seguida, pelos aspetos relacionados à microbiologia (biofilme) (como estes representam o condutor do processo de cárie se o equilíbrio homeostático for mantido). No entanto, devido à natureza multifacetada do processo da doença, esses fatores não são independentes. Os tecidos dentários duros que estão expostos ao ambiente oral (e.g. as coroas e, posteriormente, raízes após a recessão gengival) são os principais alvos do processo cariogénico e todas as superfícies dos dentes são suscetíveis ao longo da vida de um indivíduo. No entanto, a cárie não ocorrerá na ausência de um biofilme dental cariogénico (isto é, patogénico) e na exposição frequente a hidratos de carbono da dieta, principalmente açúcares livres. (Moynihan & Kelly, 2014; Pitts *et al.*, 2017)

Um conceito moderno de cárie também inclui a consideração de como os fatores comportamentais, sociais e psicológicos, bem como fatores biológicos, estão envolvidos. Talvez a cárie dentária possa ser melhor descrita como uma doença mediada por biofilme complexo que pode ser atribuída principalmente a comportamentos que envolvem a ingestão frequente de hidratos de carbono fermentáveis (açúcares como glicose, frutose, sacarose e maltose) e higiene oral precária em combinação com exposição inadequada ao fluoreto. (Fejerskov, 1997; Pitts *et al.*, 2017; Selwitz, Ismail, & Pitts, 2007)

3.3- Desmineralização e remineralização

O processo de desmineralização e remineralização geralmente ocorre várias vezes ao dia, levando à cavitação, ao reparo e reversão, ou à manutenção do *status quo*. (Featherstone, 2004)

A cárie dentária normalmente começa na superfície do esmalte e imediatamente subjacente (a desmineralização inicial é abaixo da superfície) e é o resultado de um processo no qual a estrutura mineral cristalina do dente é desmineralizada por ácidos orgânicos produzidos por bactérias do biofilme a partir do metabolismo dos hidratos de carbono fermentáveis da dieta, principalmente os açúcares. (Takahashi, 2005)

O ácido lático é o produto final predominante do metabolismo do açúcar e é considerado o principal ácido envolvido na formação de cáries. (Takahashi, 2005)

À medida que os ácidos se acumulam na fase fluida do biofilme, o pH diminui ao ponto em que as condições na interface biofilme-esmalte se tornam subsaturadas e o ácido desmineraliza parcialmente a camada superficial do dente. A acumulação de produtos de reação da dissolução da superfície e superfície subjacente, principalmente o cálcio e o fosfato, aumenta o grau de saturação e pode proteger parcialmente a camada superficial de uma desmineralização posterior. (Featherstone, 2004; Pitts *et al.*, 2017)

Uma vez que os açúcares são eliminados da cavidade oral pela deglutição e pela diluição salivar, os ácidos do biofilme podem ser neutralizados pela ação tamponante da saliva. O pH do fluido do biofilme retorna à neutralidade e torna-se suficientemente saturado com íons cálcio, fosfato e flúor para que a desmineralização pare e a remineralização seja favorecida. À medida que a desmineralização progride para a zona radicular, torna-se maior do que na superfície resultando na formação de uma lesão cariiosa. (Pitts *et al.*, 2017)

Se o processo de cárie progredir, a porosidade da superfície aumenta com a formação de micro cavitações no esmalte ou, no caso de uma cárie radicular, com o amolecimento progressivo da camada superficial de dentina. Numa cárie na coroa do dente, a camada superficial da lesão pode eventualmente colapsar, resultando numa cavitação física. Mesmo neste estágio mais grave, uma lesão pode, em circunstâncias ideais, ainda estagnar, embora a retenção do biofilme persista. Quando existe um estágio irreversível de extensão da lesão, combinado com sintomas e / ou considerações das necessidades funcionais ou estéticas do paciente, a intervenção clínica é indicada. Se o processo de cárie continuar, eventualmente a polpa dentária ficará comprometida e será necessário um tratamento endodôntico ou até mesmo uma extração dentária. (Pitts *et al.*, 2017)

3.4- Genética da cárie

Apesar do conhecimento disponível sobre vários fatores de risco relacionados com a predisposição de cárie dentária, pode haver algumas variações individuais que podem

ajudar a explicar porque algumas pessoas expostas aos mesmos fatores de risco desenvolvem a doença e outros não. (Cavallari *et al.*, 2019)

A hereditariedade tem sido há muitos anos associada à incidência de cárie dentária na literatura científica. Em 1899, Black escreveu que quando uma família permanece numa localidade, com os filhos a viver em condições semelhantes às da infância dos seus pais, a suscetibilidade à cárie será muito semelhante na maioria dos casos. Isto é válido também para primeiros dentes e locais específicos afetados, a ordem de ocorrência das cavidades e a idade específica em que ocorrem. (Opal, Garg, Jain, & Walia, 2015)

Muitos dos fatores que afetam a suscetibilidade à cárie dentária são provavelmente influenciados pela genética. Na verdade, a genética é responsável por até 65% da variação inter-individual na cárie dentária. (Shaffer *et al.*, 2015)

Variações genéticas contribuem para diferenças nos hábitos alimentares que por sua vez influenciam a cárie dentária. A perceção humana do sabor doce é mediada pelo complexo heterodimérico de recetor acoplado à proteína G codificado pelos genes TAS1R2 e TAS1R3, já a perceção do sabor amargo parece ser amplamente mediada pelo gene TAS2R38. Esses genes têm influência no paladar e nos hábitos alimentares, resultando em sensibilidade ou insensibilidade aos alimentos cariogénicos. (Duffy *et al.*, 2004; Fushan, Simons, Slack, Manichaikul, & Drayna, 2009)

Outro aspeto dos efeitos genéticos é a modificação na resposta imune. O antígeno leucocitário humano (HLA) ou moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) têm papéis importantes na resposta imunológica que é controlado por genes no braço curto do cromossomo 6. O polimorfismo nas moléculas de MHC pode causar algumas variações nas respostas imunológicas contra níveis de colonização oral entre indivíduos e pode influenciar a suscetibilidade de um indivíduo à cárie dentária. (Opal *et al.*, 2015)

4- Doença Periodontal

4.1- Microbioma da cavidade oral

Os micro-organismos encontrados na cavidade oral humana têm sido referidos como microflora oral, microbiota oral ou, mais recentemente, microbioma oral. O termo microbioma foi descrito por Joshua Lederberg como "comunidade ecológica de micro-organismos comensais, simbióticos e patogênicos que literalmente compartilham o espaço do nosso corpo e foram praticamente ignorados como determinantes de saúde e doença". O termo microbioma foi adotado pelo Projeto Microbioma Humano e os investigadores acreditam que uma compreensão da saúde e das doenças humanas é impossível sem a compreensão total do microbioma coletivo / "superorganismo" humano. (Dewhirst *et al.*, 2010)

A boca, como outras superfícies do corpo, é colonizada desde o nascimento por uma ampla variedade de micro-organismos (conhecidos coletivamente como microbioma oral). (Pitts *et al.*, 2017)

Na saúde, os tecidos fortemente colonizados geralmente não entram num estado de inflamação prejudicial permanente e mantêm a capacidade de responder adequadamente aos desafios patogênicos. No caso das doenças periodontais e cáries dentárias (doenças estas que são as mais prevalentes na cavidade oral) existem alterações no equilíbrio e na composição das comunidades de placa residentes. Nas doenças periodontais, o dano tecidual ocorre devido à falha do sistema imunológico em limitar tanto a comunidade microbiana como a resposta imunológica local do hospedeiro. (Devine, Marsh, & Meade, 2015; Pitts *et al.*, 2017)

O grupo mais comum de microrganismos são as bactérias, mas podem estar presentes leveduras, vírus, micoplasmas, protozoários e *Archaea*. O microbioma oral tem uma relação simbiótica ou mutualística com o hospedeiro. Os microrganismos orais residentes beneficiam de um habitat quente e nutritivo fornecido pelo hospedeiro e repelem os micro-organismos invasores, contribuem para as defesas do hospedeiro e diminuem as respostas pró-inflamatórias potencialmente excessivas para bactérias comensais. (Devine *et al.*, 2015; Pitts *et al.*, 2017)

A saliva tem um papel crucial na manutenção da microbioma benéfica ao tamponar o ambiente oral num pH neutro, enquanto fornece proteínas e glicoproteínas como nutrientes. (Pitts *et al.*, 2017)

4.2- Biofilme dentário

O biofilme microbiano oral é constituído por comunidades bacterianas tridimensionais estruturadas anexadas a uma superfície sólida, como o esmalte dos dentes à superfície da raiz ou implantes dentários, e são incorporados numa matriz de exopolissacarídeo. (Zijnge *et al.*, 2010)

As superfícies dos dentes são cobertas por uma camada condicionadora de proteínas e glicoproteínas (a película adquirida). A película adquirida é um filme orgânico acelular livre de bactérias que se deposita nos dentes, ocupando uma posição crítica entre a superfície do esmalte e o biofilme dentário. A película é formada principalmente pelas glicoproteínas e proteínas salivares de diferentes fontes, incluindo saliva, componentes ou produtos bacterianos, fluido gengival crevicular, sangue e alimentos. Esta fornece ainda locais de ligação para a aderência dos primeiros colonizadores bacterianos da superfície do dente, levando à formação de biofilme dentário e atua como uma barreira física impedindo a difusão do ácido. (Hara & Zero, 2010; Pitts *et al.*, 2017; Zijnge *et al.*, 2010)

As bactérias podem ser mantidas reversivelmente perto da superfície por fracas forças *Van der Waal* (forças que não envolvem ligações covalentes ou iónicas) entre as camadas externas da bactéria e a camada condicionadora. A adesão torna-se mais forte e permanente se ocorrerem interações entre as moléculas da bactéria (adesinas) e os recetores complementares a camada condicionadora superficial. (Nobbs, Jenkinson, & Jakobovics, 2011; Pitts *et al.*, 2017)

As espécies colonizadoras secundárias ligam-se aos primeiros colonizadores (co adesão) e a complexidade do biofilme aumenta. O biofilme sofre maturação e ocorrem inúmeras interações microbianas sinérgicas e antagónicas. (Pitts *et al.*, 2017)

Muitas espécies de estreptococos orais são colonizadores pioneiros das superfícies dentais. Ao mesmo tempo, todos os estreptococos são pelo menos moderadamente acidogénicos. Portanto, os primeiros colonizadores podem ajudar a promover, por

exemplo, a cárie dentária ao produzir ácido e criar um ambiente de placa de baixo, pH adequado para a colonização por micro-organismos mais acidogénicos, como estreptococos mutans, *S. mutans* e *S. sobrinus*. Os estreptococos de colonização precoce ligam-se especificamente a outras espécies orais num processo conhecido como “co-agregação”. A “co-agregação” é o processo pelo qual existe a adesão de diferentes bactérias umas às outras em suspensão e é facilmente observável *in vitro*. (Jakubovics, Yassin, & Rickard, 2014; Nobbs *et al.*, 2011)

4.3- Periodontite

A doença periodontal pode definir-se como uma patologia inflamatória do periodonto, provocada pela acumulação bacteriana. (Kim & Amar, 2006)

Os estágios da doença periodontal aumentam consoante a severidade desta. Podemos dividi-la em dois grupos. No primeiro grupo temos a gengivite, que se caracteriza pelo seu simples tratamento. (Kim & Amar, 2006)

A acumulação de placa dentária provoca também a inflamação do periodonto (note-se as estruturas que rodeiam e suportam o dente) dos dentes. O biofilme da placa dentária não removido causa inicialmente edema e hemorragia gengival (gengivite). Neste estágio inicial, a doença ainda é reversível através da remoção do biofilme patogénico disbiótico, permitindo assim um retorno aos tecidos periodontais sãos. (Kassebaum *et al.*, 2014)

Devido à elevada acumulação e presença das bactérias, o organismo reage provocando uma resposta inflamatória exacerbada, crónica e crescente das gengivas, induzindo a destruição óssea alveolar e a perda dos tecidos que circundam as peças dentárias. (Kim & Amar, 2006)

No segundo caso temos a periodontite, que é irreversível e se não for tratada, é destrutiva. Esta apresenta uma resposta muito mais exacerbada, caracterizada por dor gengival, sangramento e edema, podendo originar bolsas subgengivais $\geq 4\text{mm}$, com destruição da crista óssea alveolar e perda de inserção dos tecidos que circundam os dentes. A periodontite é a principal causa de perda dentária em adultos tendo um impacto direto na função mastigatória, nutrição e aparência estética de uma pessoa, todos relacionados à qualidade de vida de uma pessoa. (Kim & Amar, 2006; Wong, Yap, & Allen, 2020)

A doença periodontal, tal como a cárie dentária, muitas vezes passa despercebida pelos doentes nos seus estágios iniciais. Existem estudos que sugerem que 50% a 90%

dos adultos no Reino Unido e nos EUA têm gengivite. Um outro estudo a nível global estimou que a periodontite grave é a 6ª doença mais prevalente em todo o mundo, com uma prevalência geral de 11,2%. (Kassebaum *et al.*, 2014; Wong *et al.*, 2020)

Como visto anteriormente a periodontite ocorre por acumulação de placa dentária e/ou cálculo na superfície dos dentes. Sabe-se hoje em dia que existem cerca de 600 entidades bacterianas responsáveis e relacionadas com a placa dentária. Segundo Kim e Amar em 2006, as bactérias mais periodontopatogénicas mais frequentes são, a *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium*, e as spiroquetas. (Kim & Amar, 2006; Nobbs *et al.*, 2011)

Ainda que a severidade da doença periodontal aumente conforme os estágios, esta está intimamente ligada a vários fatores de risco. São exemplos: As doenças sistémicas, (VIH, Diabetes Mellitus, entre outros), os fármacos (anticancerígenos, anti-contraceptivos orais, esteroides, anti-epiléticos), o tabaco, as restaurações mal confeccionadas e mal adaptadas (coroas sobre dentes e implantes, pontes dentárias, restaurações debordantes diretas) e a gravidez. (Kim & Amar, 2006)

4.4- Genética da doença periodontal

A periodontite é uma doença infecciosa e a maior parte da destruição dos tecidos deve-se às reações imunes inatas e adaptativas contra os microrganismos periodontopatogénicos. Consequentemente, variações genéticas que modificam as reações imunológicas podem determinar diferenças individuais. Essas variações genéticas podem identificar pacientes com alto risco para o desenvolvimento de respostas inflamatórias anormais e devastadoras. (Gera & Vári, 2009)

A resposta do hospedeiro é determinada até certo ponto por experiência (imunidade adquirida), mas é predominantemente influenciada pela composição genética da pessoa. Indivíduos respondem a diferentes antígenos nas formas previstas pelos seus genes. (D. F. Kinane & Hart, 2003)

Portanto, a determinação do perfil de suscetibilidade genética associada à periodontite pode ser muito importante para o desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico e estratégias de tratamento individual. (Toy & Uslu, 2019)

Vários recursos do sistema imunológico inato do hospedeiro que podem contribuir para a suscetibilidade genética da doença periodontal agressiva (AgP) já foram delineados e incluem: o tecido epitelial, o tecido conjuntivo e defeitos de fibroblastos. Defeitos funcionais ou número deficiente de PMNs (Neutrófilos, eosinófilos e basófilos), tem efeitos profundos sobre o suscetibilidade do hospedeiro à periodontite. Outros aspetos da resposta inflamatória, como, as citocinas, são variantes potencialmente cruciais que influenciam o resposta do hospedeiro na periodontite. (D. F. Kinane & Hart, 2003)

Assim, um intervalo de deficiências genéticas ou variações genéticas na resposta do hospedeiro pode aumentar a probabilidade de periodontite se a placa microbiana se acumular na região da fenda gengival. (D. F. Kinane & Hart, 2003)

O objetivo desta síntese de revisões sistemáticas e meta-análises é avaliar a literatura atual com abordagens diversificadas e precisas para determinar as associações entre polimorfismos de genes, SNPs, e a suscetibilidade da doença periodontal ou cárie dentária, pelo qual esperamos fornecer mais evidências para compreender a patogénese e progressão destas doenças.

II - MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi feita em três bases de dados eletrônicas que cobrem as ciências da saúde: PubMed-Medline, GoogleScholar, e base de dados Cochrane de Revisões Sistemáticas. Usamos combinações de palavras-chave e termos sinônimos e a consulta de pesquisa final foi: (((Systematic Reviews) OR Meta-Analyses) AND "polymorphism / SNP's "[Mesh])) AND ((periodontal disease) OR carie). Para identificar outros recursos de informação, pesquisamos o seção de referência das revisões sistemáticas e meta-análises incluídas. Foram pesquisados artigos no intervalo de tempo entre janeiro de 2015 e maio de 2020.

Esta revisão abordou duas questões PICO:

1. “Existem SNP’s associados a risco elevado para doença periodontal?”

População: adolescentes, adultos e idosos.

Intervenção / exposição: indivíduos com doença periodontal, incluindo gengivite e periodontite.

Comparação / controle: indivíduos periodontalmente saudáveis.

Resultado : polimorfismos associados a risco elevado para doença periodontal.

Segunda questão:

2. “Existem SNP’s associados a risco elevado para cárie dentária?”

População: adolescentes, adultos e idosos.

Intervenção / exposição: indivíduos com cáries dentárias.

Comparação / controle: indivíduos sem cáries dentárias.

Resultado: polimorfismos associados a risco elevado para cárie dentária.

Os estudos incluídos nesta síntese de revisões sistemáticas e meta-análises cumpriram os seguintes critérios de inclusão: (a) eram uma revisão sistemática com ou sem meta-análise; (b) os estudos foram publicados em inglês; (c) o texto completo dos estudos estava disponível.

Os critérios de exclusão foram estudos em animais ou estudos *in vitro*. Além disso, estudos que investigaram a população mista foram excluídos se não forneceram as informações detalhadas para cada etnia.

Foram selecionadas 17 revisões sistemáticas e meta-análises que cumpriam todos os critérios de inclusão avançaram para a fase de recolha de dados. O processo de extração de dados completo é explicado nos diagramas de fluxo PRISMA (Figura 1 e 2).

A avaliação dos artigos incluídos quanto a sua qualidade metodológica foi realizada utilizando várias estratégias. Inicialmente, todos os artigos foram avaliados usando a lista de verificação PRISMA para revisões sistemáticas. Seguidamente, foi utilizada a ferramenta AMSTAR 2, que consiste numa *checklist* de 16 parâmetros de avaliação, é uma ferramenta modificada do AMSTAR inicial, utilizada para avaliar revisões sistemáticas de ambos os estudos randomizados e não randomizados. O AMSTAR 2 conta com 4 itens adicionais (elaboração do PICO, como foi gerido o risco de viés, explicação sobre qualquer heterogeneidade nos resultados e justificação sobre como foi feito o estudo) em comparação com o AMSTAR anterior, tornando-o num instrumento robusto e abrangente para avaliar revisões sistemáticas e meta-análises quanto a sua qualidade. (Wong *et al.*, 2020)

III - RESULTADOS

A pesquisa eletrônica foi realizada em maio de 2020 nas bases de dados PubMed-Medline, GoogleScholar e Cochrane usando os termos de pesquisa selecionados, e os resultados são apresentados na Tabela 1. De um total de 73 referências identificadas nas 3 bases de dados, 60 estudos são sobre o tema da doença periodontal e 13 estudos incidiam sobre a cárie; 59 estudos permaneceram após serem retirados os duplicados. O título e resumo dos estudos identificados, foram analisados, e 17 artigos foram selecionados para a sua leitura na íntegra. Nenhum artigo adicional foi identificado nas listas de referência de artigos recuperados ou por meio de pesquisa manual. Finalmente, 17 revisões sistemáticas e meta-análises foram incluídas para síntese qualitativa. Os diagramas de fluxo PRISMA que descrevem o processo completo do estudo de identificação e seleção, e o motivo da exclusão dos artigos são apresentados na Figura 1 e 2.

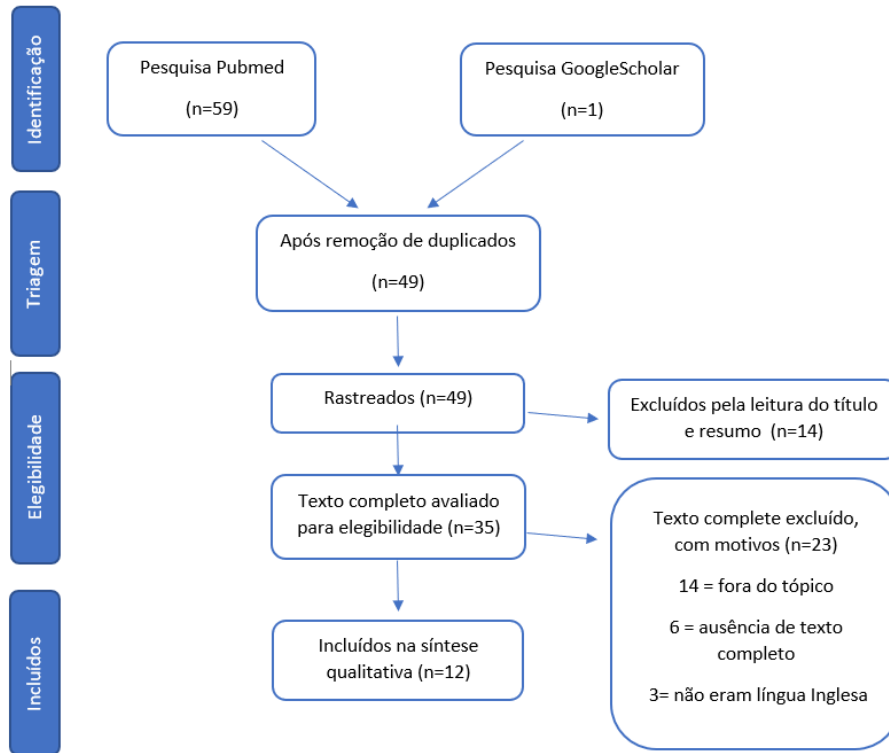


Figura 1 - Diagramas de fluxo PRISMA doença periodontal.

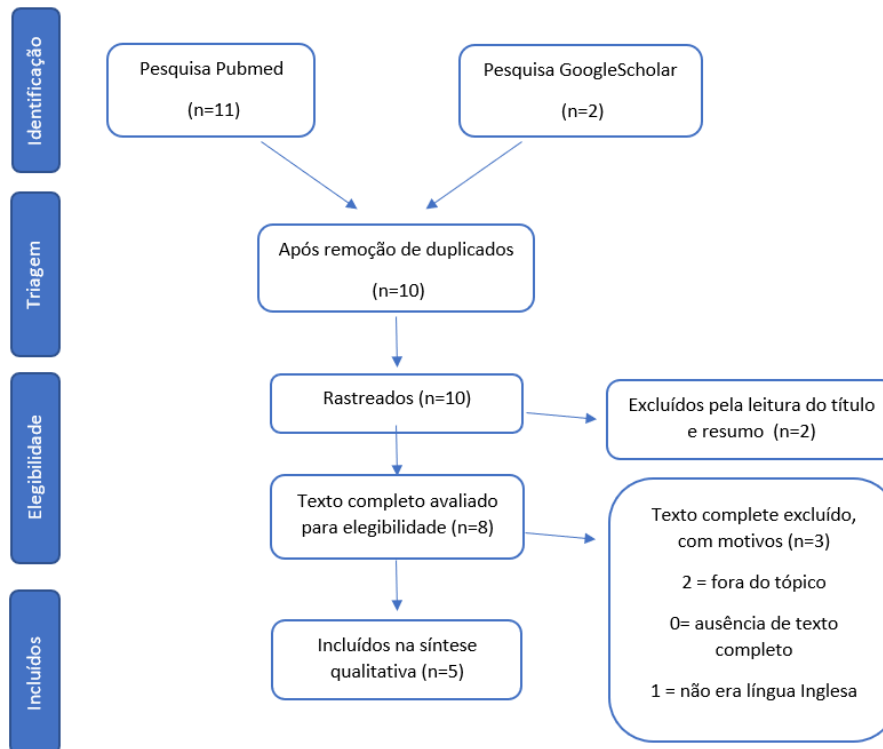


Figura 2 - Diagramas de fluxo PRISMA cárie dentária.

1- Qualidade metodológica das revisões sistemáticas e meta-análises

A avaliação da qualidade metodológica usando AMSTAR 2 para as 17 revisões sistemáticas e meta-análises são mostrados nas Tabela 1 e 2.

Baseado nos 16 itens da *checklist* AMSTAR 2 (Anexo I) os resultados obtidos foram os seguintes: Relativamente aos estudos sobre a cárie e com base nos critérios dados, 2 estudos foram considerados de qualidade baixa, e os outros 3 estudos foram julgados como sendo de qualidade moderada, como pode ser observado na tabela 1.

Nos estudos que incidiram sobre a doença periodontal obtivemos 1 estudo que foi considerado de qualidade criticamente baixa, 3 de baixa qualidade, 7 de qualidade moderada e 1 estudo foi classificado como tendo alta qualidade. Estes resultados podem ser observados nas tabela 2.

Tabela 1 - Tabela apresentando os resultados da checklist AMSTAR2 relativamente aos estudos de diversos autores sobre a cárie dentária.

Lista de questões AMSTAR 2	(Hatipoğlu, Biosciences, & 2020)	(Hatipoglu & Saydam, 2019)	(Lips et al., 2017)	(Piekoszewska-Ziętek, Turska-Szybka, & Olczak-Kowalczyk, 2017)	(Torres et al., 2020)
1. As questões de pesquisa e os critérios de inclusão para a revisão incluíram os componentes PICO?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
2. O relatório da revisão continha uma declaração explícita de que os métodos de revisão foram estabelecidos antes da realização da revisão e o relatório justificou quaisquer desvios significativos do protocolo?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
3. Os autores da revisão explicaram sua seleção dos desenhos de estudo para inclusão na revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
4. Os autores da revisão usaram uma estratégia compreensível de pesquisa de literatura?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
5. Os autores da revisão realizaram a seleção de estudos em duplicado?	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
6. Os autores da revisão executaram a extração de dados em duplicado?	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
7. Os autores da revisão forneceram uma lista de estudos excluídos e justificaram as exclusões?	Sim	Sim	Sim	Não	Não
8. Os autores da revisão descreveram os estudos incluídos detalhadamente?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
9. Os autores da revisão usaram uma técnica satisfatória para avaliar o risco de viés (RoB) em estudos individuais que foram incluídos na revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
10. Os autores da revisão relataram as fontes de financiamento para os estudos incluídos na revisão?	Não	Não	Não	Não	Sim
11. Se foi realizada meta-análise, os autores da revisão usaram métodos apropriados para combinação estatística de resultados?	Sim	Sim	-	-	-
12. Se foi realizada meta-análise, os autores da revisão avaliaram o impacto potencial de RoB em estudos individuais sobre os resultados da meta-análise ou outra síntese de evidência?	Sim	Sim	-	-	-
13. Os autores da revisão tiveram em consideração o RoB em estudos individuais ao interpretar / discutir os resultados da revisão?	Sim	Sim	Não	Não	Sim

Tabela 1(cont.) - Tabela apresentando os resultados da checklist AMSTAR2 relativamente aos estudos de diversos autores sobre a cárie dentária.

Lista de questões AMSTAR 2	(Hatipoğlu, Biosciences, & 2020)	(Hatipoglu & Saydam, 2019)	(Lips et al., 2017)	(Piekoszewska-Ziętek, Turska-Szybka, & Olczak-Kowalczyk, 2017)	(Torres et al., 2020)
14. Os autores da revisão forneceram uma explicação satisfatória e discussão, de qualquer heterogeneidade observada nos resultados da revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
15. Se eles realizaram uma síntese quantitativa, os autores da revisão realizaram uma investigação adequada do viés de publicação (pequeno viés do estudo) e discutiram seu provável impacto nos resultados da revisão?	Sim	Sim	-	-	-
16. Os autores da revisão relataram quaisquer fontes potenciais de conflito de interesse, incluindo qualquer financiamento que receberam para a realização da revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
Qualidade da Revisão	Moderada	Moderada	Baixa	Baixa	Moderada

Tabela 2 - Tabela apresentando os resultados da checklist AMSTAR2 relativamente aos estudos de diversos autores sobre doença periodontal.

Lista de questões AMSTAR 2	(da Silva et al., 2017)	(Hong, Kang, Kim, Kim, & Ban, 2018)	(Li et al., 2016)	(Shao et al., 2019)	(Shi et al., 2017)
1. As questões de pesquisa e os critérios de inclusão para a revisão incluíram os componentes PICO?	Não	Não	Sim	Não	Não
2. O relatório da revisão continha uma declaração explícita de que os métodos de revisão foram estabelecidos antes da realização da revisão e o relatório justificou quaisquer desvios significativos do protocolo?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
3. Os autores da revisão explicaram sua seleção dos desenhos de estudo para inclusão na revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
4. Os autores da revisão usaram uma estratégia compreensível de pesquisa de literatura?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
5. Os autores da revisão realizaram a seleção de estudos em duplicado?	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
6. Os autores da revisão executaram a extração de dados em duplicado?	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
7. Os autores da revisão forneceram uma lista de estudos excluídos e justificaram as exclusões?	Parcialmente Sim	Parcialmente Sim	Sim	Parcialmente Sim	Parcialmente Sim
8. Os autores da revisão descreveram os estudos incluídos detalhadamente?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
9. Os autores da revisão usaram uma técnica satisfatória para avaliar o risco de viés (RoB) em estudos individuais que foram incluídos na revisão?	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
10. Os autores da revisão relataram as fontes de financiamento para os estudos incluídos na revisão?	Não	Não	Sim	Não	Não

Tabela 2 (cont) - Tabela apresentando os resultados da checklist AMSTAR2 relativamente aos estudos de diversos autores sobre doença periodontal.

Lista de questões AMSTAR 2	(da Silva et al., 2017)	(Hong, Kang, Kim, Kim, & Ban, 2018)	(Li et al., 2016)	(Shao et al., 2019)	(Shi et al., 2017)
11. Se foi realizada meta-análise, os autores da revisão usaram métodos apropriados para combinação estatística de resultados?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
12. Se foi realizada meta-análise, os autores da revisão avaliaram o impacto potencial de RoB em estudos individuais sobre os resultados da meta-análise ou outra síntese de evidência?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
13. Os autores da revisão tiveram em consideração o RoB em estudos individuais ao interpretar / discutir os resultados da revisão?	Sim	Sim	Sim	Não	Não
14. Os autores da revisão forneceram uma explicação satisfatória e discussão, de qualquer heterogeneidade observada nos resultados da revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
15. Se eles realizaram uma síntese quantitativa, os autores da revisão realizaram uma investigação adequada do viés de publicação (pequeno viés do estudo) e discutiram seu provável impacto nos resultados da revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
16. Os autores da revisão relataram quaisquer fontes potenciais de conflito de interesse, incluindo qualquer financiamento que receberam para a realização da revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Qualidade da Revisão	Moderada	Criticamente Baixa	Alta	Baixa	Baixa

Tabela 2 (cont.) - Tabela apresentando os resultados da checklist AMSTAR2 relativamente aos estudos de diversos autores sobre doença periodontal.

Lista de questões AMSTAR 2	(Chen et al., 2019)	(Chrzęszczyk, Konopka, & Ziętek, 2015)	(da Silva et al., 2018)	(Feng & Liu, 2020)	(Ni et al., 2017)	(Wan, Li, Yang, Liu, & Song, 2019)	(Zhu et al., 2016)
1. As questões de pesquisa e os critérios de inclusão para a revisão incluíram os componentes PICO?	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
2. O relatório da revisão continha uma declaração explícita de que os métodos de revisão foram estabelecidos antes da realização da revisão e o relatório justificou quaisquer desvios significativos do protocolo?	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
3. Os autores da revisão explicaram sua seleção dos desenhos de estudo para inclusão na revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
4. Os autores da revisão usaram uma estratégia compreensível de pesquisa de literatura?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
5. Os autores da revisão realizaram a seleção de estudos em duplicado?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
6. Os autores da revisão executaram a extração de dados em duplicado?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
7. Os autores da revisão forneceram uma lista de estudos excluídos e justificaram as exclusões?	Não	Parcialmente Sim	Não	Não	Não	Não	Não
8. Os autores da revisão descreveram os estudos incluídos detalhadamente?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
9. Os autores da revisão usaram uma técnica satisfatória para avaliar o risco de viés (RoB) em estudos individuais que foram incluídos na revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
10. Os autores da revisão relataram as fontes de financiamento para os estudos incluídos na revisão?	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Não

Tabela 2 (cont) - Tabela apresentando os resultados da checklist AMSTAR2 relativamente aos estudos de diversos autores sobre doença periodontal.

Lista de questões AMSTAR 2	(Chen et al., 2019)	(Chrzęszczyk, Konopka, & Ziętek, 2015)	(da Silva et al., 2018)	(Feng & Liu, 2020)	(Ni et al., 2017)	(Wan, Li, Yang, Liu, & Song, 2019)	(Zhu et al., 2016)
11. Se foi realizada meta-análise, os autores da revisão usaram métodos apropriados para combinação estatística de resultados?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
12. Se foi realizada meta-análise, os autores da revisão avaliaram o impacto potencial de RoB em estudos individuais sobre os resultados da meta-análise ou outra síntese de evidência?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
13. Os autores da revisão tiveram em consideração o RoB em estudos individuais ao interpretar / discutir os resultados da revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
14. Os autores da revisão forneceram uma explicação satisfatória e discussão, de qualquer heterogeneidade observada nos resultados da revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
15. Se eles realizaram uma síntese quantitativa, os autores da revisão realizaram uma investigação adequada do viés de publicação (pequeno viés do estudo) e discutiram seu provável impacto nos resultados da revisão?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
16. Os autores da revisão relataram quaisquer fontes potenciais de conflito de interesse, incluindo qualquer financiamento que receberam para a realização da revisão?	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
Qualidade da Revisão	Moderada	Moderada	Moderada	Moderada	Baixa	Moderada	Moderada

A recomendação PRISMA consiste, numa *checklist* com 27 itens (Tabela 3) e em fluxogramas de quatro etapas, apresentados anteriormente (Figura 1 e 2). O objetivo do PRISMA é ajudar os autores a melhorarem o relato de revisões sistemáticas e meta-análises. Foi elaborado em Ottawa, Canadá, em junho de 2005, com o objetivo de ser usado em ensaios clínicos randomizados, mas o PRISMA também pode ser usado como uma base para relatos de revisões sistemáticas de outros tipos de pesquisa. O PRISMA também pode ser útil para a avaliação crítica de revisões sistemáticas publicadas. (Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, 2015)

Na tabela abaixo (Tabela 5), podemos ver a pontuação que os 17 artigos incluídos neste estudo obtiveram após a realização de *checklist* PRISMA (Anexo II).

Tabela 3 - Tabela apresentando os resultados da *checklist* PRISMA relativamente aos artigos incluídos.

Autor (ano)	Classificação (PRISMA)	Autor (ano)	Classificação (PRISMA)	Autor (ano)	Classificação (PRISMA)
(Chen et al., 2019)	18/27	(Hatipoğlu, Biosciences, & 2020)	22/27	(Shao et al., 2019)	23/27
(Chrzęszczyk, Konopka, & Ziętek, 2015)	22/27	(Hong, Kang, Kim, Kim, & Ban, 2018)	21/27	(Shi et al., 2017)	21/27
(da Silva et al., 2017)	20/27	(Li et al., 2016)	24/27	(Torres et al., 2020)	20/27
(da Silva et al., 2018)	22/27	(Lips et al., 2017)	22/27	(Wan, Li, Yang, Liu, & Song, 2019)	19/27
(Feng & Liu, 2020)	19/27	(Ni et al., 2017)	17/27	(Zhu et al., 2016)	23/27
(Hatipoglu & Saydam, 2019)	21/27	(Piekoszewska-Ziętek, Turska-Szybka, & Olczak-Kowalczyk, 2017)	14/27		

2- Características das revisões/meta-análises incluídas

A Tabela 4 e 5 mostram as principais características das 17 revisões sistemáticas e meta-análises incluídas nesta *overview*. Em 4 delas a filiação institucional do primeiro autor é o Brasil, segue-se uma revisão sistemática / meta-análise dos Estados Unidos. Dois artigos têm origem na Turquia. Duas revisões são provenientes da Polónia. Uma revisão foi efetuada na Coreia. Os restantes 7 provêm da China. Dois dos estudos realizados utilizaram uma população limitada, um apenas estudou a população caucasiana e outro incluiu a população asiática, todos os outros realizaram os estudos em população mista mundial. Em termos gerais, há variabilidade no número de estudos incluídos para a análise das revisões sistemáticas / meta-análises consideradas neste *overview*. O estudo com menor amostra continha 4 análises e o maior apresentava 54.

Na tabela 4, temos os resultados obtidos relativamente à cárie dentária, onde podemos observar que os genes/polimorfismo estudados foram: AMELX, AQP5 e ESRRB (Piekoszewska-Ziętek, Turska-Szybka, & Olczak-Kowalczyk, 2017); as proteínas da saliva (Lips *et al.*, 2017); o polimorfismo do gene DEFB1/rs11362 (Hatipoğlu & Saydam, 2020); o gene CA VI (Hatipoglu & Saydam, 2019) e por último as MMPs e TIMPs (Torres *et al.*, 2020).

A tabela 5 apresenta os resultados dos estudos sobre a doença periodontal, onde foram estudados e verificadas associações nos seguintes genes/polimorfismos: Interleucinas (IL-1 β , IL-1A, IL-8 e IL-6) (da Silva *et al.*, 2018; Feng & Liu, 2020; Ni *et al.*, 2017; Zhu *et al.*, 2016) respetivamente; os recetores do tipo Toll (TLRs) TLR4 (Chrzęszczyk, Konopka, & Ziętek, 2015); e variantes dos gene VDR (BsmI, FokI, TaqI) (Wan, Li, Yang, Liu, & Song, 2019); podemos ainda observar que os estudos de (Shi *et al.*, 2017) sobre IFN- γ + 874A/T, (da Silva *et al.*, 2017) que se focou no polimorfismo do gene IL-17A / IL-17F, (Shao *et al.*, 2019) acerca do gene DEFB1 / rs11362, (Hong, Kang, Kim, Kim, & Ban, 2018) que estudou o gene IL-1 β / rs16944 e (Li *et al.*, 2016) sobre as MMPs não obtiveram associações com a suscetibilidade para a doença periodontal.

Tabela 4 - Características das revisões e meta-análises incluídas relativamente à cárie dentária.

Autor, ano	País	População	Amostra (n)	Meta-análise	Gene/Polimorfismo	Resultados
(Hatipoglu & Saydam, 2019)	Turquia	--	4	Sim	CA VI	Polimorfismos no gene CA VI não afetam o processo de cárie dentária.
(Hatipoğlu, Biosciences, & 2020)	Turquia	--	8	Sim	DEFB1/rs11362	O polimorfismo DEFB1 rs11362 está associado à cárie dentária.
(Lips et al., 2017)	Brasil	--	16	Não	Proteínas da saliva	Uma associação entre polimorfismos genéticos e o risco de cárie dentária na maioria das proteínas salivares.
(Piekoszewska-Ziętek, Turska-Szybka, & Olczak-Kowalczyk, 2017)	Polónia	--	30	Não	AMELX , AQP5 , and ESRRB	Os SNPs estão relacionados com a etiologia da cárie dentária.
(Torres et al., 2020)	Brasil	--	15	Não	MMPs e TIMPs	MMPs e TIMPs desempenham um papel importante na formação de lesões periapicais.

Legenda - (--) significa que os autores não especificaram.

Tabela 5 - Características das revisões e meta-análises incluídas relativamente à doença periodontal.

Autor, ano	País	População	Amostra (n)	Meta-análise	Gene/Polimorfismo	Resultados
(Chen et al., 2019)	China	--	18	Sim	hBD-1 e CD14	O polimorfismo do gene de DEFB1, mas não de CD14 pode estar envolvido no risco de periodontite.
(Chrzęszczyk, Konopka, & Ziętek, 2015)	Polónia	Caucasianos	15	Sim	TLR4	Associação significativa entre o alelo TLR4 Asp299Gly e aumento da suscetibilidade à periodontite crónica.
(da Silva et al., 2017)	Brasil	--	7	Sim	IL-17A / IL-17F	Não foi encontrada associação significativa entre os polimorfismos rs2275913 e rs763780 nas interleucinas 17A e Genes 17F e periodontite.
(da Silva et al., 2018)	Brasil	--	54	Sim	IL-1B / rs1143634	O polimorfismo rs1143634 foi associado a risco elevado de periodontite crónica.
(Feng & Liu, 2020)	China	--	14	Sim	IL-1A (-889C/T)	O polimorfismo IL-1A (-889C / T) está associado à suscetibilidade de periodontite crónica.
(Hong, Kang, Kim, Kim, & Ban, 2018)	Coreia	--	16	Sim	IL-1β / rs16944	O polimorfismo IL-1β (rs16944) não está associado à suscetibilidade da periodontite crónica.
(Li et al., 2016)	China	Caucasianos e Asiáticos	17	Sim	MMPs	Não foi encontrada nenhuma associação de variantes comuns de MMPs com a suscetibilidade a periodontite.
(Ni et al., 2017)	China	--	10	Sim	IL-8	Os polimorfismos IL-8 rs4073, A2767T, T11722T2, rs2234671, rs2230054, rs1126579, rs2227306, rs2227307, rs2227532 e T-738A não foram associados à suscetibilidade à periodontite. O IL-8 C1633T e polimorfismos rs1126580 foram associados com aumento do risco de periodontite.
(Shao et al., 2019)	EUA	--	7	Sim	DEFB1 / rs11362	O polimorfismo DEFB1 rs11362 pode não ter um efeito importante sobre o risco de periodontite.
(Shi et al., 2017)	China	--	7	Sim	IFN-g + 874A/T	Não foi encontrada uma associação significativa entre IFN-g + polimorfismo 874A / T e suscetibilidade à periodontite.
(Wan, Li, Yang, Liu, & Song, 2019)	China	--	34	Sim	Vitamina D Recetor	Existe uma ligação entre os polimorfismos do gene VDR BsmI e FokI e a periodontite.
(Zhu et al., 2016)	China	--	21	Sim	IL-6 174 G/C	O polimorfismo IL-6 174 está associado com suscetibilidade a periodontite crónica.

Legenda - (--) significa que os autores não especificaram.

IV - DISCUSSÃO

Esta síntese geral de revisões sistemáticas e meta-análises agrupou as evidências de estudos de intervenção focados em avaliar o possível efeito dos SNPs na doença periodontal e na suscetibilidade à cárie.

1- Cárie Dentária

Podemos então observar que dos 5 estudos relacionados com a cárie dentária, apenas o de Hatipoğlu e Saydam em 2019, concluiu que não havia relação entre polimorfismo e a suscetibilidade de cárie dentária. Este demonstrou que apesar da anidrase carbônica VI desempenhar um papel importante no tamponamento da saliva, o polimorfismo no gene CA VI não afetava o processo de cárie dentária. (Hatipoğlu & Saydam, 2019b)

Por outro lado, os estudos de (Piekoszewska-Ziętek *et al.*, 2017) (Lips *et al.*, 2017) (Torres *et al.*, 2020) e ainda um outro de (Hatipoğlu & Saydam, 2020), demonstraram que certos polimorfismos tinham relação com a suscetibilidade à doença da cárie dentária ou na progressão das lesões cariosas.

Piekoszewska e os seus colaboradores em 2017 realizaram uma revisão sistemática e concluíram que os resultados da maioria dos estudos confirmavam a participação de fatores hereditários na etiologia da cárie e que três genes, o AMELX, o AQP5 e o ESRRB, tinham maior evidência, com base em múltiplas replicações, e maior número de dados, apoiando um papel desses genes na cárie dentária. Esta revisão sistemática mostra ainda que os polimorfismos nos genes AMELX, AQP5 e ESRRB estão relacionados com a etiologia de cáries dentárias. (Piekoszewska-Ziętek *et al.*, 2017)

Já na revisão sistemática de Lips *et al.*, (2017), que se focou no estudo das proteínas salivares, é demonstrado que a literatura científica indica uma forte relação entre uma série de diferentes polimorfismos de proteínas salivares que afetam a etiologia da cárie. Proteínas como lisozimas, interleucinas, mucinas e lactotransferrina (LTF) promovem a agregação celular, inibição e / ou aderência bacteriana. (Kidd & Fejerskov, 2004) Outras proteínas, como as *Beta-defensin*, têm efeitos antibacterianos diretos. Estudos de proteínas salivares e peptídeos indicam que estas substâncias têm influência

no diagnóstico e potencial intervenção em várias situações clínicas. (Van Nieuw Amerongen, Bolscher, & Veerman, 2004) O que pode permitir o desenvolvimento de programas de prevenção e tratamentos individualizados. (Prokopovic *et al.*, 2014) Dado o papel das proteínas salivares na fisiopatologia da cárie, os seus genes podem também ser fortes candidatos para explicar a variação genética nas experiências sobre cárie na população humana. (Lips *et al.*, 2017)

Numa revisão realizada por Torres e colaboradores, em 2020, que se focaram em estudar se existia uma associação entre o polimorfismo genético, expressão de genes e proteínas da matriz metaloproteínases (MMPs) e seus inibidores (TIMPs) no processo inflamatório periapical, processo esse que está associado a um alto risco de inflamação, estudaram os (SNPs) em MMP 2, 3, 9 e 13 e TIMP2 e observaram que a variação genética em MMP2 influenciava a progressão das lesões de cárie na dentina e o desenvolvimento da lesão periapical. (Torres *et al.*, 2020)

Por último, ainda relativamente à cárie dentária, temos uma meta-análise realizada por Hatipoğlu e Saydam em 2020, onde foram incluídos estudos sobre o polimorfismo (rs11362) no gene DEFB1, de modo, a investigarem a associação entre esse polimorfismo e a cárie dentária. A conclusão a que os autores chegaram foi que o polimorfismo DEFB1 (rs11362) está associado à cárie dentária na dentição permanente. Com este estudo foi ainda possível concluir que os indivíduos com o genótipo TT apresentavam um risco sete vezes maior de cárie dentária do que indivíduos com o genótipo CC. (Hatipoğlu & Saydam, 2020)

Na presente overview de revisões sistemáticas e meta-análises, embora seja claro um alto nível metodológico de variabilidade reportada pelos autores nos estudos incluídos (idade, tamanho da amostra, identificação de cárie e procedimentos), é demonstrado que a literatura indica fortemente para uma série de diferentes polimorfismos, que afetam a suscetibilidade para a cárie dentária.

2-Doença Periodontal

Com o aumento da prevalência da doença periodontal no mundo em desenvolvimento (Albandar & Rams, 2002), é urgente e importante, prevenir e controlar esta doença. Além da colonização microbiana (Nibali *et al.*, 2007) e fatores ambientais (como tabagismo) (Borbour *et al.*, 1997), as mutações genéticas também são consideradas como um fator de risco na patogênese da doença periodontal. (Vijayalakshmi, Geetha, Ramakrishnan, & Emmadi, 2010)

Décadas de pesquisa mostraram que biofilmes microbianos, calcificação e imunopatogênese desempenham papéis vitais na fisiopatologia da periodontite. (Denis F. Kinane, Stathopoulou, & Papapanou, 2017)

2.1- Interleucinas

2.1.1- Interleucina-8 (IL-8)

A interleucina-8 (IL-8) é uma citocina produzida por uma variedade de tecidos e células sanguíneas. Ao contrário de muitas outras citocinas, tem uma especificidade de alvo distinta para os neutrófilos, com efeitos apenas fracos em outras células sanguíneas. A interleucina-8 atrai e ativa neutrófilos em regiões inflamatórias. (Ni *et al.*, 2017)

O gene IL-8 localizado no cromossoma 4q12-21 possui muitos polimorfismos funcionais. A literatura científica indica que os polimorfismos do gene IL-8 estão associados a algumas doenças, como cancro gástrico (Zou, Wang, & Fang, 2013), cancro oral (Zhiming Wang *et al.*, 2013) e úlcera péptica (Yin *et al.*, 2013). Ni e os seus colaboradores realizaram uma meta-análise em 2017, investigando as correlações entre 12 polimorfismos de IL-8gene e a periodontite, e concluíram que 2 desses polimorfismos, aumentavam o risco de doença periodontal (IL-8 C1633T e o polimorfismo rs1126580). (Ni *et al.*, 2017)

2.1.2- Interleucina-1 β (IL-1 β)

A IL-1 β é expressa mais abundantemente nas células mononucleares do sangue e medeia a resposta do hospedeiro (March *et al.*, 1985) IL-1 β desempenha um papel importante na inflamação, regulando os processos inflamatórios e a hipersensibilidade à

dor, modelando a expressão da COX2 (Samad *et al.*, 2001). Devido ao papel da IL-1 β nessas inflamações, tem havido muitos estudos sobre doenças inflamatórias e polimorfismos do gene IL-1 β , contudo, o estudo realizado por (Hong, Kang, Kim, Kim, & Ban, 2018) concluiu que o polimorfismo IL-1 β (rs16944) não está associado à suscetibilidade da periodontite crônica.

Por outro lado, Silva e os seus colaboradores através de um estudo, realizado em 2018, conseguiram provar que existia uma associação entre o polimorfismo (rs1143634) no gene da interleucina-1B e o risco de periodontite crônica com a realização de uma meta-análise com foco na etnia. (da Silva *et al.*, 2018)

2.1.3- Interleucina-1A (IL-1A)

As IL-1A, da família de genes IL-1, foram estudadas numa meta-análise feita por (Feng & Liu, 2020) que tinha com objetivo encontrar uma relação entre o polimorfismo IL-1A (-889C/T) e a doença periodontal, relação essa que se veio a verificar.

O IL-1A (-889C / T) é um SNP localizado na posição -889 a montante do início da tradução, e seu polimorfismo tem uma importância funcional por meio da regulação da produção da proteína IL1. (Hall *et al.*, 2004)

2.1.4- Interleucina-6 (IL-6)

A interleucina IL6 é conhecida por exercer um efeito importante na patogénese da periodontite. Durante o desenvolvimento da doença periodontal crônica, várias ações biológicas são mediadas pela ligação de IL6 e seu recetor (IL-6R), incluindo hematopoiese, indução da angiogénese, ativação de imunócitos e diferenciação de osteoclastos. (Nibali, Fedele, D'Aiuto, & Donos, 2012)

A evidência para a presença de IL-6 em soro, fluido gengival crevicular (GCF) e salivar sugere uma produção alterada de IL-6 em pacientes com doença periodontal crônica. (Batool *et al.*, 2018)

Zhu e colaboradores, através de uma meta-análise demonstraram que existia uma associação entre o polimorfismo IL-6 174 G / C e a suscetibilidade para a doença periodontal crônica. (Zhu *et al.*, 2016)

2.1.5- Interleucina-17 (IL-17)

A IL-17 é um iniciador de inflamação, contribuindo com a liberação de vários mediadores pró-inflamatórios em fibroblastos, macrófagos, células endoteliais e epiteliais. (Benedetti & Miossec, 2014)

Níveis elevados de IL-17 foram encontrados na saliva de pacientes com periodontite. (Azman *et al.*, 2014)

O objetivo do estudo de (da Silva *et al.*, 2017) foi realizar um meta-análise com foco em dois polimorfismos (rs2275913 e rs763780) nos genes das interleucinas 17A e 17F, respetivamente, na periodontite crônica (CP) e agressiva (AgP) e os resultados obtidos foram que não havia uma associação significativa entre os polimorfismo e suscetibilidade para a doença periodontal, quer na (CP) ou (AgP). (da Silva *et al.*, 2017)

2.2- Interferon-gama (IFN- γ)

IFN- γ é uma citocina pró-inflamatória que desempenha um papel crítico na patogénese e progressão da periodontite. O polimorfismo de nucleótido + 874A / T no gene IFN- γ humano pode levar a secreção de IFN- γ . A presença de altos níveis de IFN- γ na doença periodontal, indicam que o IFN- γ esta associado a lesões progressivas e à gravidade das doenças periodontais. (Shi *et al.*, 2017)

No entanto, os resultados dos estudos publicados são inconsistentes. Contudo, resultados obtidos pela meta-análise (Shi *et al.*, 2017) sugerem que o polimorfismo IFN- γ + 874A / T pode não contribuir para a suscetibilidade da doença periodontal, mas os autores afirmam que são necessários mais estudos de alta qualidade e bem planeados que combinem fatores de risco genéticos e ambientais para validar esta conclusão no futuro.

2.3- Recetor do tipo Toll 4 (TLR4)

Recetores do tipo Toll (TLRs) são uma família de proteínas transmembranares expressas por células imunológicas. Elas reconhecem e ligam-se a padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), derivados de bactérias, fungos, vírus e protozoários. (Drexler & Foxwell, 2010)

A função biológica dos TLRs (recetores do tipo Toll) no controlo da infeção torna-os bons candidatos quanto ao seu envolvimento com o risco genético para suscetibilidade da doença periodontal. O TLR4 está presente em células apresentadoras de antígeno, fibroblastos e queratinócitos do epitélio gengival. (Hans & Hans, 2011)

Chrzęszczyk e os seus colaboradores, realizaram em 2015, uma meta-análise onde tinham como objectivo avaliar a associação dos polimorfismos TLR4 (Asp299 e Thr399Ile) com a ocorrência de periodontite e seus dois tipos clínicos: crônica (PC) e agressiva (AgP) no povo caucasiano. E as conclusões que os autores retiraram foi que estes polimorfismo mostravam uma associação significativa com o aumento da suscetibilidade da doença periodontal. (Chrzęszczyk *et al.*, 2015)

2.4- Metaloproteínase de matriz (MMP) e Inibidores teciduais de Metaloproteínases (TIMPs)

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são uma grande família de proteinases extracelulares dependentes de metais que são responsáveis pela remodelação e degradação do tecido da matriz extracelular (ECM), incluindo colagénios, elastinas, glicoproteínas de matriz e proteoglicanos. (Verma & Hansch, 2007)

Até agora, pelo menos 26 membros de MMPs foram identificadas. A maioria das proteínas MMPs são secretadas como MMPs inativas, que são subsequentemente processadas por outras enzimas proteolíticas (como serino-proteases, furina e plasmina) para gerar as suas formas ativas. (Lauer-Fields, Juska, & Fields, 2002)

As atividades proteolíticas das MMPs são precisamente controladas durante a ativação dos seus precursores e inibição por inibidores endógenos, a-macroglobulinas e inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs) ou por inibidores sintéticos não seletivos (batimastat, BB-94). (Sekton, 2010)

Evidências significativas sugerem que as MMPs compreendem a via mais importante na destruição de tecidos associada à doença periodontal. (Emingil *et al.*, 2014)

Estudos recentes mostraram que os níveis de mRNA das MMPs estão significativamente aumentados no tecido gengival inflamado. A atividade de MMPs pode ser regulada por interações com seus inibidores endógenos (TIMPs) e modificações pós-

traducionais, bem como ao nível da transcrição do gene. (Fontana, Silva, Gerlach, & Tanus-Santos, 2012)

Li e seus colaboradores, em 2016, revelaram que, embora os estudos da associação entre a variante MMP-8 -799 C / T e a suscetibilidade à periodontite não gerarem resultados consistentes, os MMP-1 (-1607 1G / 2G, -519 A / G e -422 A / T), MMP-2 (-1575 G / A, -1306 C / T, -790 T / G e -735 C / T), MMP-3 (-1171 5A / 6A), MMP-8 (-381 A / G e +17 C / G), MMP-9 (-1562 C / T e +279 R / Q) e MMP-12 (-357 Asn / Ser), bem como os MMP-13 (-77 A / G, 11A / 12A) SNPs não estão relacionados ao risco de doença periodontal. (Li *et al.*, 2016)

2.5- Recetor de Vitamina D (VDR)

Pesquisas recentes indicaram que um nível adequado de vitamina D é um fator importante que contribui para manter uma boa saúde oral. Por outro lado, pessoas com falta de vitamina D podem ter um risco aumentado de sofrer de periodontite. (Uwitonze *et al.*, 2018)

Segundo certos autores, o nível de vitamina D está negativamente relacionado com a incidência de perda dentária. (Jimenez, Giovannucci, Krall Kaye, Joshipura, & Dietrich, 2014) Além disso, outros estudos demonstraram que a vitamina D pode inibir a infecção de células do ligamento periodontal humano e as células do epitélio gengival. A vitamina D pode promover a produção do peptídeo antimicrobiano bdefensina 3 humana, que fornece um método promissor para lidar com a periodontite. (De Filippis *et al.*, 2017)

A vitamina D liga-se ao VDR e exerce efeitos biológicos como, a hemóstase de cálcio e fósforo. Os polimorfismos de nucleótido único (SNPs) VDR têm muitas variantes, com as formas mais comuns sendo FokI (rs2228570), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236), e BsmI (rs1544410); essas variantes podem influenciar o processo de transcrição e expressão do gene VDR. (Pike & Meyer, 2010)

Uma meta-análise estudou os diferentes polimorfismos das variantes do gene VDR (BsmI, FokI, TaqI e ApaI). Os resultados revelaram uma correlação estatística entre o VDR BsmI e as variantes FokI e a suscetibilidade à periodontite. Mostrou uma correlação entre as variantes FokI do VDR e a suscetibilidade à periodontite em pacientes

com periodontite agressiva (AgP) e chineses, e uma correlação entre o polimorfismo TaqI e a suscetibilidade à periodontite em pacientes caucasianos. O polimorfismo ApaI não foi associado à suscetibilidade à periodontite em nenhum dos grupos. Concluíram também que a correlação entre as variantes do VDR e a suscetibilidade à periodontite variava de acordo com a região e a etnia. (Wan *et al.*, 2019)

2.6- *Beta-defensin 1* (DEFB1)

Existem mais de 30 genes de DEFB identificados na espécie humana, alguns dos quais são expressos no tecido gengival. (Dale *et al.*, 2001) O nível de expressão de DEFB varia entre os indivíduos e foi proposto que esta variação pode ser atribuída a diferenças genéticas no gene DEFB1. (Saitoh *et al.*, 2004)

Em 2019, Shao e os seus colaboradores, realizaram uma meta-análise e chegaram a conclusão, que o polimorfismo DEFB1 (rs 11362) pode não ter um efeito importante no risco da doença periodontal crónica. (Shao *et al.*, 2019)

Também publicado em 2019, um estudo de Chen e colaboradores que se focou em estudar os polimorfismos DEFB1 (rs11362, rs1799946 e rs1800972) e o polimorfismo CD14 (rs2569190), não encontrou nenhuma relação entre os polimorfismos estudados. No entanto, segundo os autores, esta meta-análise tem algumas limitações. Em primeiro lugar, na análise estratificada por etnia, o estudo envolveu apenas indivíduos caucasianos, asiáticos e brasileiros. Em segundo lugar, uma série de fatores confusos, como sexo e idade, poderão ter tido impacto nos resultados. Em terceiro lugar, o tamanho das amostras estudadas baseados na etnia e na gravidade da periodontite foram pequenos. (Chen *et al.*, 2019)

Conforme revelado por grande parte dos estudos, as associações entre os polimorfismos genéticos e certas doenças variam em diferentes regiões geográficas e grupos étnicos. (Zhu *et al.*, 2016)

É difícil estabelecer uma única variável genética como preditivo para a suscetibilidade da doença periodontal devido à sua etiologia multifatorial. No entanto, o presente estudo, onde foi revista a literatura científica, indicou que certos polimorfismos têm efeito direto na suscetibilidade para a doença periodontal. Outros estudos bem

desenhados, com tamanhos de amostra maiores e mais grupos étnicos são necessários para validar os resultados identificados neste estudo.

V- CONCLUSÃO

Ao abordar a primeira questão PICO, “Existem SNP’s associados a risco elevado para doença periodontal?” os resultados desta revisão mostraram que os indivíduos com determinados SNPs/polimorfismos apresentam uma maior suscetibilidade a prevalência da doença periodontal em comparação com indivíduos saudáveis.

Foi demonstrado que os polimorfismos que têm maior efeito na suscetibilidade para a doença periodontal, são os polimorfismos nas interleucinas (IL), mais especificamente, nas IL-6, IL-8, IL-1A e ainda o IL-1 β , através do polimorfismo IL-1 β (rs1143634). Polimorfismo nos recetores do tipo Toll (TLRs), como o polimorfismos TLR4 (Asp299 e Thr399Ile) têm também uma associação com a suscetibilidade da doença periodontal. Os recetores de vitamina D, podem ter efeito na doença periodontal, através dos polimorfismo das variantes dos gene VDR (BsmI, FokI, TaqI) como ficou demonstrado.

Relativamente a segunda questão PICO, “Existem SNP’s associados a risco elevado para cárie dentária?” onde os indivíduos com determinados SNPs/polimorfismos apresentam uma maior suscetibilidade à prevalência de cárie dentária em comparação com indivíduos saudáveis.

Os polimorfismos nos genes AMELX, AQP5 e ESRRB foram associados à suscetibilidade para a cárie dentária. Ficou também demonstrado, que polimorfismos/SNPs no genes que codificam as proteínas da saliva, têm uma associação com a suscetibilidade para contrair cárie dentária. Nos estudos relacionados com as proteínas da matriz metaloproteínases (MMPs), houve uma associação entre os (SNPs) no gene MMP2 e a cárie dentária. Por último, ficou também demonstrado nesta *overview* que o polimorfismo (rs11362) no gene DEFB1 está associado à cárie dentária na dentição permanente.

VI- BIBLIOGRAFIA

- Albandar, J. M., & Rams, T. E. (2002). Global epidemiology of periodontal diseases: An overview. *Periodontology 2000*, 29(1), 7–10. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2002.290101.x>
- Armitage, G. C. (1989). *Armitage Annals 1999.pdf*. 1–6.
- Azman, R., Lappin, D. F., MacPherson, A., Riggio, M., Robertson, D., Hodge, P., ... Nile, C. (2014). Clinical associations between IL-17 family cytokines and periodontitis and potential differential roles for IL-17A and IL-17E in periodontal immunity. *Inflammation Research*, 63(12), 1001–1012. <https://doi.org/10.1007/s00011-014-0776-7>
- Batool, H., Nadeem, A., Kashif, M., Shahzad, F., Tahir, R., & Afzal, N. (2018). Salivary Levels of IL-6 and IL-17 Could Be an Indicator of Disease Severity in Patients with Calculus Associated Chronic Periodontitis. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/8531961>
- Benedetti, G., & Miossec, P. (2014). Interleukin 17 contributes to the chronicity of inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis. *European Journal of Immunology*, 44(2), 339–347. <https://doi.org/10.1002/eji.201344184>
- Borbour, S. E., Nakashima, K., Zhang, J. B., Tangada, S., Hahn, C. Lo, Schenkein, H. A., & Tew, J. G. (1997). Tobacco and smoking: Environmental factors modify the host response (immune system) and have an impact on periodontal health. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 8(4), 437–460. <https://doi.org/10.1177/10454411970080040501>
- Burt, B. A. (1998). Prevention policies in the light of the changed distribution of dental caries. *Acta Odontologica Scandinavica*, 56(3), 179–186. <https://doi.org/10.1080/000163598422956>
- Cargill, M., Altshuler, D., Ireland, J., Sklar, P., Ardlie, K., Patil, N., ... Lander, E. S. (1999). Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nature Genetics*, 22(3), 231–238. <https://doi.org/10.1038/10290>
- Cavallari, T., Arima, L. Y., Ferrasa, A., Moysés, S. J., Tetu Moysés, S., Hirochi Herai, R., & Iani Werneck, R. (2019). Dental caries: Genetic and protein interactions. *Archives of Oral Biology*, 108, 104522. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.104522>
- Chen, C., Fan, X., Yu, S., Liu, P., Pan, Y., Lin, L., & Li, C. (2019). Association between Periodontitis and Gene polymorphisms of hBD-1 and CD14: a meta-analysis. *Archives of Oral Biology*, 104, 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.05.029>
- Chrzęszczuk, D., Konopka, T., & Ziętek, M. (2015). Polymorphisms of Toll-Like Receptor 4 as a Risk Factor for Periodontitis: Meta-Analysis. *Advances in Clinical and Experimental Medicine : Official Organ Wroclaw Medical University*, 24(6), 1059–1070. <https://doi.org/10.17219/acem/47394>
- Collins, F. S., Guyer, M. S., & Chakravarti, A. (1997). Variations on a theme: Cataloging human DNA sequence variation. *Science*, 278(5343), 1580–1581. <https://doi.org/10.1126/science.278.5343.1580>
- da Silva, F. R. P., Pessoa, L. D. S., Vasconcelos, A. C. C. G., de Aquino Lima, W., Alves, E. H. P., & Vasconcelos, D. F. P. (2017). Polymorphisms in interleukins 17A and 17F genes and periodontitis: results from a meta-analysis. *Molecular Biology Reports*, 44(6), 443–453. <https://doi.org/10.1007/s11033-017-4128-x>
- da Silva, F. R. P., Vasconcelos, A. C. C. G., de Carvalho França, L. F., Di Lenardo, D.,

- Nascimento, H. M. S., & Vasconcelos, D. F. P. (2018). Association between the rs1143634 polymorphism in interleukin-1B and chronic periodontitis: Results from a meta-analysis composed by 54 case/control studies. *Gene*, 668, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.05.067>
- Dale, B. A., Kimball, J. R., Krisanaprakornkit, S., Roberts, F., Robinovitch, M., O'Neal, R., ... Weinberg, A. (2001). Localized antimicrobial peptide expression in human gingiva. *Journal of Periodontal Research*, 36(5), 285–294. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0765.2001.360503.x>
- Daly, A. K., & Day, C. P. (2001). Candidate gene case-control association studies: Advantages and potential pitfalls. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 52(5), 489–499. <https://doi.org/10.1046/j.0306-5251.2001.01510.x>
- De Filippis, A., Fiorentino, M., Guida, L., Annunziata, M., Nastri, L., & Rizzo, A. (2017). Vitamin D reduces the inflammatory response by Porphyromonas gingivalis infection by modulating human β -defensin-3 in human gingival epithelium and periodontal ligament cells. *International Immunopharmacology*, 47, 106–117. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.03.021>
- Devine, D. A., Marsh, P. D., & Meade, J. (2015). Modulation of host responses by oral commensal bacteria. *Journal of Oral Microbiology*, 7(1), 1–4. <https://doi.org/10.3402/jom.v7.26941>
- Dewhirst, F. E., Chen, T., Izard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C. R., Yu, W. H., ... Wade, W. G. (2010). The human oral microbiome. *Journal of Bacteriology*, 192(19), 5002–5017. <https://doi.org/10.1128/JB.00542-10>
- Drexler, S. K., & Foxwell, B. M. (2010). The role of Toll-like receptors in chronic inflammation. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 42(4), 506–518. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.10.009>
- Duffy, V. B., Davidson, A. C., Kidd, J. R., Kidd, K. K., Speed, W. C., Pakstis, A. J., ... Bartoshuk, L. M. (2004). Bitter receptor gene (TAS2R38), 6-n-propylthiouracil (PROP) bitterness and alcohol intake. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28(11), 1629–1637. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000145789.55183.D4>
- Edwards, A. W. . (1930). The Genetical Theory of Natural Selection. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/158453a0>
- Emingil, G., Han, B., Gürkan, A., Berdeli, A., Tervahartiala, T., Salo, T., ... Sorsa, T. (2014). Matrix Metalloproteinase (MMP)-8 and Tissue Inhibitor of MMP-1 (TIMP-1) Gene Polymorphisms in Generalized Aggressive Periodontitis: Gingival Crevicular Fluid MMP-8 and TIMP-1 Levels and Outcome of Periodontal Therapy. *Journal of Periodontology*, 85(8), 1070–1080. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.130365>
- Featherstone, J. D. B. (2004). The continuum of dental caries - Evidence for a dynamic disease process. *Journal of Dental Research*, 83(SPEC. ISS. C). <https://doi.org/10.1177/154405910408301S08>
- Fejerskov, O. (1997). Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 25(1), 5–12. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.1997.tb00894.x>
- Feng, X., & Liu, J. (2020). Association between IL-1A (-889C/T) polymorphism and susceptibility of chronic periodontitis: A meta-analysis. *Gene*, 729, 144227. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144227>
- Flemmig, T. F. (1998). Periodontitis. *Omega*, 26(4), I. [https://doi.org/10.1016/s0305-0483\(98\)90015-9](https://doi.org/10.1016/s0305-0483(98)90015-9)
- Fontana, V., Silva, P. S., Gerlach, R. F., & Tanus-Santos, J. E. (2012). Circulating matrix

- metalloproteinases and their inhibitors in hypertension. *Clinica Chimica Acta*, 413(7–8), 656–662. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.12.021>
- Fushan, A. A., Simons, C. T., Slack, J. P., Manichaikul, A., & Drayna, D. (2009). Allelic Polymorphism within the TAS1R3 Promoter Is Associated with Human Taste Sensitivity to Sucrose. *Current Biology*, 19(15), 1288–1293. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.06.015>
- Gera, I., & Vári, M. (2009). Genetic background of periodontitis. Part II. Genetic polymorphism in periodontal disease. A review of literature. *Fogorvosi Szemle*, Vol. 102, pp. 131–140.
- Guo, Y., Wang, F., Li, L., Gao, H., Arckacki, S., Wang, I. Z., ... Wang, Q. K. (2017). Genome-Wide Linkage Analysis of Large Multiple Multigenerational Families Identifies Novel Genetic Loci for Coronary Artery Disease. *Scientific Reports*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05381-2>
- Haldane, J. B. . (1932). The Causes of Evolution. In *The causes of evolution* (pp. 771–772).
- Hall, S. K., Perregaux, D. G., Gabel, C. A., Woodworth, T., Durham, L. K., Huizinga, T. W. F., ... Seymour, A. B. (2004). Correlation of polymorphic variation in the promoter region of the interleukin-1 β gene with secretion of interleukin-1 β protein. *Arthritis and Rheumatism*, 50(6), 1976–1983. <https://doi.org/10.1002/art.20310>
- Halushka, M. K., Fan, J. B., Bentley, K., Hsie, L., Shen, N., Weder, A., ... Chakravarti, A. (1999). Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood-pressure homeostasis. *Nature Genetics*, 22(3), 239–247. <https://doi.org/10.1038/10297>
- Hans, M., & Hans, V. M. (2011). Toll-like receptors and their dual role in periodontitis: a review. *Journal of Oral Science*, 53(3), 263–271. <https://doi.org/10.2334/josnusd.53.263>
- Hara, A. T., & Zero, D. T. (2010). The caries environment: Saliva, pellicle, diet, and hard tissue ultrastructure. *Dental Clinics of North America*, 54(3), 455–467. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2010.03.008>
- Hatipoğlu, O., & Saydam, F. (2019). Effects of the carbonic anhydrase VI gene polymorphisms on dental caries: A meta-analysis. *Dental and Medical Problems*, 56(4), 395–400. <https://doi.org/10.17219/dmp/110453>
- Hatipoğlu, Ö., & Saydam, F. (2020). Association between rs11362 polymorphism in the beta-defensin 1 (DEFB1) gene and dental caries: A meta-analysis. *Journal of Oral Biosciences Elsevier*. Retrieved from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007920300876?casa_token=n=b2ybJD8eHBIAAAAAA:l8mSunKnW8Y0_aDWJsMxh53t965Gxfkj4R6HVG-6a8PrKU7403bd5aZVtlvEfdsIJ6vhGTTfck
- Hirschhorn, J. N., & Daly, M. J. (2005). Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 6(2), 95–108. <https://doi.org/10.1038/nrg1521>
- Hong, S.-J., Kang, S. W., Kim, S. K., Kim, Y. S., & Ban, J. Y. (2018). Lack of Association between Interleukin-1 β Gene Polymorphism (rs16944) and Chronic Periodontitis: From a Case-Control Studies to an Updated Meta-Analysis. *Disease Markers*, 2018, 8287026. <https://doi.org/10.1155/2018/8287026>
- Jakubovics, N. S., Yassin, S. A., & Rickard, A. H. (2014). Community Interactions of Oral Streptococci. In *Advances in Applied Microbiology* (1st ed., Vol. 87). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800261-2.00002-5>
- Jimenez, M., Giovannucci, E., Krall Kaye, E., Joshipura, K. J., & Dietrich, T. (2014). Predicted vitamin D status and incidence of tooth loss and periodontitis. *Public*

- Health Nutrition*, 17(4), 844–852. <https://doi.org/10.1017/S1368980013000177>
- Karthikeyan, R., Murugan, M., Peeran, S., Al Mugrabi, M., Awidat, K., & Basheer, O. (2014). Single nucleotide polymorphisms and periodontitis. *Dentistry and Medical Research*, 2(1), 3. <https://doi.org/10.4103/2348-1471.131556>
- Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L., & Marcenes, W. (2014). Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: A systematic review and meta-regression. *Journal of Dental Research*, 93(11), 1045–1053. <https://doi.org/10.1177/0022034514552491>
- Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L., & Marcenes, W. (2015). Global burden of untreated caries: A systematic review and metaregression. *Journal of Dental Research*, 94(5), 650–658. <https://doi.org/10.1177/0022034515573272>
- Kidd, E. A. M., & Fejerskov, O. (2004). What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *Journal of Dental Research*, 83(SPEC. ISS. C). <https://doi.org/10.1177/154405910408301S07>
- Kim, J., & Amar, S. (2006). *Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship*. 94(1), 10–21.
- Kinane, D. F., & Hart, T. C. (2003). Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 14(6), 430–449. <https://doi.org/10.1177/154411130301400605>
- Kinane, Denis F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, 1–14. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>
- Lauer-Fields, J. L., Juska, D., & Fields, G. B. (2002). Matrix metalloproteinases and collagen catabolism. *Biopolymers - Peptide Science Section*, 66(1), 19–32. <https://doi.org/10.1002/bip.10201>
- Li, W., Zhu, Y., Singh, P., Ajmera, D. H., Song, J., & Ji, P. (2016). Association of Common Variants in MMPs with Periodontitis Risk. *Disease Markers*, 2016, 1545974. <https://doi.org/10.1155/2016/1545974>
- Lips, A., Antunes, L. S., Antunes, L. A., Pintor, A. V. B., Santos, D. A. B. Dos, Bachinski, R., ... Alves, G. G. (2017). Salivary protein polymorphisms and risk of dental caries: a systematic review. *Brazilian Oral Research*, 31, e41. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0041>
- March, C. J., Mosley, B., Larsen, A., Cerretti, D. P., Braedt, G., Price, V., ... Cosman, D. (1985). *Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs*.
- Marthaler, T. M. (1996). The caries decline: A statistical comment. *European Journal of Oral Sciences*, 104(4 PART 2), 430–432. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1996.tb00108.x>
- Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, A. D. (2015). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 24(2), 335–342. <https://doi.org/10.5123/s1679-49742015000200017>
- Moore, D. F., Li, H., Jeffries, N., Wright, V., Cooper, R. A., Elkahloun, A., ... Baird, A. E. (2005). Using peripheral blood mononuclear cells to determine a gene expression profile of acute ischemic stroke: A pilot investigation. *Circulation*, 111(2), 212–221. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000152105.79665.C6>
- Moynihan, P. J., & Kelly, S. A. M. (2014). Effect on caries of restricting sugars intake: Systematic review to inform WHO guidelines. *Journal of Dental Research*, 93(1), 8–18. <https://doi.org/10.1177/0022034513508954>
- Ni, X.-B., Jia, C., Yu, H.-D., Li, Y.-Q., Zeng, X.-T., & Leng, W.-D. (2017). Comprehensive analysis of interleukin-8 gene polymorphisms and periodontitis

- susceptibility. *Oncotarget*, 8(30), 48996–49004. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16922>
- Nibali, L., Fedele, S., D’Aiuto, F., & Donos, N. (2012). Interleukin-6 in oral diseases: A review. *Oral Diseases*, 18(3), 236–243. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01867.x>
- Nibali, L., Ready, D. R., Parkar, M., Brett, P. M., Wilson, M., Tonetti, M. S., & Griffiths, G. S. (2007). Gene polymorphisms and the prevalence of key periodontal pathogens. *Journal of Dental Research*, 86(5), 416–420. <https://doi.org/10.1177/154405910708600505>
- Nobbs, A. H., Jenkinson, H. F., & Jakubovics, N. S. (2011). Stick to your gums: Mechanisms of oral microbial adherence. *Journal of Dental Research*, 90(11), 1271–1278. <https://doi.org/10.1177/0022034511399096>
- Opal, S., Garg, S., Jain, J., & Walia, I. (2015). Genetic factors affecting dental caries risk. *Australian Dental Journal*, 60(1), 2–11. <https://doi.org/10.1111/adj.12262>
- Petersen, P. E., & Kwan, S. (2011). Equity, social determinants and public health programmes - The case of oral health. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 39(6), 481–487. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.2011.00623.x>
- Piekoszewska-Ziętek, P., Turska-Szybka, A., & Olczak-Kowalczyk, D. (2017). Single Nucleotide Polymorphism in the Aetiology of Caries: Systematic Literature Review. *Caries Research*, 51(4), 425–435. <https://doi.org/10.1159/000476075>
- Pike, J. W., & Meyer, M. B. (2010). The vitamin D receptor: New paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 39(2), 255–269. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2010.02.007>
- Pitts, N. B., Zero, D. T., Marsh, P. D., Ekstrand, K., Weintraub, J. A., Ramos-Gomez, F., ... Ismail, A. (2017). Dental caries. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(May). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>
- Prokopovic, V., Popovic, M., Andjelkovic, U., Marsavelski, A., Raskovic, B., Gavrovic-Jankulovic, M., & Polovic, N. (2014). Isolation, biochemical characterization and anti-bacterial activity of BPIFA2 protein. *Archives of Oral Biology*, 59(3), 302–309. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.12.005>
- Saitoh, M., Abiko, Y., Shimabukuro, S., Kusano, K., Nishimura, M., Arakawa, T., ... Igarashi, S. (2004). Correlated expression of human beta defensin-1, -2 and -3 mRNAs in gingival tissues of young children. *Archives of Oral Biology*, 49(10), 799–803. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2004.04.012>
- Samad, T. A., Moore, K. A., Sapirstein, A., Billet, S., Allchorne, A., Poole, S., ... Woolf, C. J. (2001). Interleukin-1 β -mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *Nature*, 410(6827), 471–475. <https://doi.org/10.1038/35068566>
- Sekton, B. (2010). Matrix metalloproteinases – an overview. *Research and Reports in Biology*, 1. <https://doi.org/10.2147/rrb.s12043>
- Selwitz, R. H., Ismail, A. I., & Pitts, N. B. (2007). *Dental Caries*. 369(4), 51–59. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00052-4>
- Shaffer, J. R., Wang, X., McNeil, D. W., Weyant, R. J., Crout, R., & Marazita, M. L. (2015). Genetic susceptibility to dental caries differs between the sexes: A family-based study. *Caries Research*, 49(2), 133–140. <https://doi.org/10.1159/000369103>
- Shao, J., Zhang, M., Wu, L., Jia, X.-W., Jin, Y.-H., & Zeng, X.-T. (2019). DEFB1 rs11362 Polymorphism and Risk of Chronic Periodontitis: A Meta-Analysis of Unadjusted and Adjusted Data. *Frontiers in Genetics*, Vol. 10, p. 179. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00179>

- Shea, B. J., Reeves, B. C., Wells, G., Thuku, M., Hamel, C., Moran, J., ... Henry, D. A. (2017). AMSTAR 2: A critical appraisal tool for systematic reviews that include randomised or non-randomised studies of healthcare interventions, or both. *BMJ (Online)*, 358, 1–9. <https://doi.org/10.1136/bmj.j4008>
- Sheiham, A., & James, W. P. T. (2015). Diet and dental caries: The pivotal role of free sugars reemphasized. *Journal of Dental Research*, 94(10), 1341–1347. <https://doi.org/10.1177/0022034515590377>
- Shi, Q., Cai, C., Xu, J., Liu, J., Liu, H., & Huo, N. (2017). Is there an association between IFN- γ +874A/T polymorphism and periodontitis susceptibility?: A meta-analysis. *Medicine*, 96(25), e7288. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000007288>
- Soldani, F. A., Young, L., Jones, K., Walsh, T., & Clarkson, J. E. (2008). One-to-one oral hygiene advice provided in a dental setting for oral health. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007447>
- Takahashi, N. (2005). Microbial ecosystem in the oral cavity: Metabolic diversity in an ecological niche and its relationship with oral diseases. *International Congress Series*, 1284, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.ics.2005.06.071>
- Torres, A. F. C., Antunes, L. S., Oliveira, N. F. de, K uchler, E. C., Gomes, C. C., & Antunes, L. A. A. (2020). Genetic Polymorphism and Expression of Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in Periapical Lesions: Systematic Review. *Journal of Endodontics*, 46(1), 3-11.e1. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.10.011>
- Toy, V., & Uslu, M. (2019). Do genetic polymorphisms affect susceptibility to periodontal disease? A literature review. *Niger J Clin Pract.* https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_462_18
- Uwitonze, A. M., Murererehe, J., Ineza, M. C., Harelimana, E. I., Nsabimana, U., Uwambaye, P., ... Razzaque, M. S. (2018). Effects of vitamin D status on oral health. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 175(2016), 190–194. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.01.020>
- Van Nieuw Amerongen, A., Bolscher, J. G. M., & Veerman, E. C. I. (2004). Salivary proteins: Protective and diagnostic value in cariology? *Caries Research*, 38(3), 247–253. <https://doi.org/10.1159/000077762>
- Verma, R. P., & Hansch, C. (2007). Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical-biological functions and (Q)SARs. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 15(6), 2223–2268. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.01.011>
- Vijayalakshmi, R., Geetha, A., Ramakrishnan, T., & Emmadi, P. (2010). Genetic polymorphisms in periodontal diseases: An overview. *Indian Journal of Dental Research*, 21(4), 568–574. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.74226>
- Wan, Q.-S., Li, L., Yang, S.-K., Liu, Z.-L., & Song, N. (2019). Role of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms on the Susceptibility to Periodontitis: A Meta-Analysis of a Controversial Issue. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 23(9), 618–633. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2019.0021>
- Wang, Q. (2005). Advances in the genetic basis of coronary artery disease. *Current Atherosclerosis Reports*, 7(3), 235–241. <https://doi.org/10.1007/s11883-005-0012-6>
- Wang, Zhen, & Moulton, J. (2001). SNPs, protein structure, and disease. *Human Mutation*, 17(4), 263–270. <https://doi.org/10.1002/humu.22>
- Wang, Zhiming, Wang, C., Zhao, Z., Liu, F., Guan, X., Lin, X., & Zhang, L. (2013). Association between -251A>T polymorphism in the interleukin-8 gene and oral cancer risk: A meta-analysis. *Gene*, 522(2), 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.066>
- Wong, L. B., Yap, A. U., & Allen, P. F. (2020). Periodontal disease and quality of life:

- Umbrella review of systematic reviews. *Journal of Periodontal Research*, (June), 1–17. <https://doi.org/10.1111/jre.12805>
- World Health Organization. (2020). *Oral health*.
- Wright, S. (1920). *The Relative Importance of Heredity: Determining Pattern of Guinea-pigs*. 320–332.
- Yin, Y. W., Hu, A. M., Sun, Q. Q., Zhang, B. B., Wang, Q., Liu, H. L., ... Shi, L. B. (2013). Association between interleukin-8 gene -251 T/A polymorphism and the risk of peptic ulcer disease: A meta-analysis. *Human Immunology*, 74(1), 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2012.09.006>
- Zhu, J., Guo, B., Fu, M., Guo, W., Yuan, Y., Yuan, H., ... Yu, H. (2016). Interleukin-6-174G/C Polymorphism Contributes to Periodontitis Susceptibility: An Updated Meta-Analysis of 21 Case-Control Studies. *Disease Markers*, 2016, 9612421. <https://doi.org/10.1155/2016/9612421>
- Zijnge, V., Van Leeuwen, M. B. M., Degener, J. E., Abbas, F., Thurnheer, T., Gmür, R., & Harmsen, H. J. M. (2010). Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS ONE*, 5(2), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009321>
- Zou, T. H., Wang, Z. H., & Fang, J. Y. (2013). Positive association between Toll-like receptor 4 gene +896A/G polymorphism and susceptibility to gastric carcinogenesis: A meta-analysis. *Tumor Biology*, 34(4), 2441–2450. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-0795-y>

VII- ANEXOS

Anexo I - AMSTAR 2 *checklist*, retirado de (Shea *et al.*, 2017).

<p>1. Did the research questions and inclusion criteria for the review include the components of PICO?</p>		
<p>For Yes:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Population <input type="checkbox"/> Intervention <input type="checkbox"/> Comparator group <input type="checkbox"/> Outcome 	<p>Optional (recommended)</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Timeframe for follow-up 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
<p>2. Did the report of the review contain an explicit statement that the review methods were established prior to the conduct of the review and did the report justify any significant deviations from the protocol?</p>		
<p>For Partial Yes: The authors state that they had a written protocol or guide that included ALL the following:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> review question(s) <input type="checkbox"/> a search strategy <input type="checkbox"/> inclusion/exclusion criteria <input type="checkbox"/> a risk of bias assessment 	<p>For Yes: As for partial yes, plus the protocol should be registered and should also have specified:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> a meta-analysis/synthesis plan, if appropriate, <i>and</i> <input type="checkbox"/> a plan for investigating causes of heterogeneity <input type="checkbox"/> justification for any deviations from the protocol 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> Partial Yes <input type="checkbox"/> No
<p>3. Did the review authors explain their selection of the study designs for inclusion in the review?</p>		
<p>For Yes, the review should satisfy ONE of the following:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> <i>Explanation for including only RCTs</i> <input type="checkbox"/> <i>OR Explanation for including only NRSI</i> <input type="checkbox"/> <i>OR Explanation for including both RCTs and NRSI</i> 		
<p>4. Did the review authors use a comprehensive literature search strategy?</p>		
<p>For Partial Yes (all the following):</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> searched at least 2 databases (relevant to research question) <input type="checkbox"/> provided key word and/or search strategy <input type="checkbox"/> justified publication restrictions (e.g. language) 	<p>For Yes, should also have (all the following):</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> searched the reference lists / bibliographies of included studies <input type="checkbox"/> searched trial/study registries <input type="checkbox"/> included/consulted content experts in the field <input type="checkbox"/> where relevant, searched for grey literature <input type="checkbox"/> conducted search within 24 months of completion of the review 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> Partial Yes <input type="checkbox"/> No
<p>5. Did the review authors perform study selection in duplicate?</p>		
<p>For Yes, either ONE of the following:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> at least two reviewers independently agreed on selection of eligible studies and achieved consensus on which studies to include <input type="checkbox"/> OR two reviewers selected a sample of eligible studies <i>and</i> achieved good agreement (at least 80 percent), with the remainder selected by one reviewer. 		

<p>6. Did the review authors perform data extraction in duplicate?</p> <p>For Yes, either ONE of the following:</p> <p><input type="checkbox"/> at least two reviewers achieved consensus on which data to extract from included studies <input type="checkbox"/> Yes</p> <p><input type="checkbox"/> OR two reviewers extracted data from a sample of eligible studies <u>and</u> achieved good agreement (at least 80 percent), with the remainder extracted by one reviewer. <input type="checkbox"/> No</p>		
<p>7. Did the review authors provide a list of excluded studies and justify the exclusions?</p> <p>For Partial Yes: For Yes, must also have:</p> <p><input type="checkbox"/> provided a list of all potentially relevant studies that were read in full-text form but excluded from the review <input type="checkbox"/> Justified the exclusion from the review of each potentially relevant study <input type="checkbox"/> Yes</p> <p><input type="checkbox"/> Partial Yes</p> <p><input type="checkbox"/> No</p>		
<p>8. Did the review authors describe the included studies in adequate detail?</p> <p>For Partial Yes (ALL the following): For Yes, should also have ALL the following:</p> <p><input type="checkbox"/> described populations <input type="checkbox"/> described population in detail <input type="checkbox"/> Yes</p> <p><input type="checkbox"/> described interventions <input type="checkbox"/> described intervention in detail (including doses where relevant) <input type="checkbox"/> Partial Yes</p> <p><input type="checkbox"/> described comparators <input type="checkbox"/> described comparator in detail (including doses where relevant) <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> described outcomes <input type="checkbox"/> described study's setting</p> <p><input type="checkbox"/> described research designs <input type="checkbox"/> timeframe for follow-up</p>		
<p>9. Did the review authors use a satisfactory technique for assessing the risk of bias (RoB) in individual studies that were included in the review?</p>		
<p>RCTs</p> <p>For Partial Yes, must have assessed RoB from</p> <p><input type="checkbox"/> unconcealed allocation, <i>and</i></p> <p><input type="checkbox"/> lack of blinding of patients and assessors when assessing outcomes (unnecessary for objective outcomes such as all-cause mortality)</p>	<p>For Yes, must also have assessed RoB from:</p> <p><input type="checkbox"/> allocation sequence that was not truly random, <i>and</i></p> <p><input type="checkbox"/> selection of the reported result from among multiple measurements or analyses of a specified outcome</p>	<p><input type="checkbox"/> Yes</p> <p><input type="checkbox"/> Partial Yes</p> <p><input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Includes only NRSI</p>
<p>NRSI</p> <p>For Partial Yes, must have assessed RoB:</p> <p><input type="checkbox"/> from confounding, <i>and</i></p> <p><input type="checkbox"/> from selection bias</p>	<p>For Yes, must also have assessed RoB:</p> <p><input type="checkbox"/> methods used to ascertain exposures and outcomes, <i>and</i></p> <p><input type="checkbox"/> selection of the reported result from among multiple measurements or analyses of a specified outcome</p>	<p><input type="checkbox"/> Yes</p> <p><input type="checkbox"/> Partial Yes</p> <p><input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Includes only RCTs</p>
<p>10. Did the review authors report on the sources of funding for the studies included in the review?</p> <p>For Yes</p> <p><input type="checkbox"/> Must have reported on the sources of funding for individual studies included in the review. Note: Reporting that the reviewers looked for this information but it was not reported by study authors also qualifies <input type="checkbox"/> Yes</p> <p><input type="checkbox"/> No</p>		

<p>11. If meta-analysis was performed did the review authors use appropriate methods for statistical combination of results?</p>	
<p>RCTs For Yes:</p> <p><input type="checkbox"/> The authors justified combining the data in a meta-analysis <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> AND they used an appropriate weighted technique to combine study results and adjusted for heterogeneity if present. <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> AND investigated the causes of any heterogeneity <input type="checkbox"/> No meta-analysis conducted</p>	
<p>For NRSI For Yes:</p> <p><input type="checkbox"/> The authors justified combining the data in a meta-analysis <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> AND they used an appropriate weighted technique to combine study results, adjusting for heterogeneity if present <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> AND they statistically combined effect estimates from NRSI that were adjusted for confounding, rather than combining raw data, or justified combining raw data when adjusted effect estimates were not available <input type="checkbox"/> No meta-analysis conducted <input type="checkbox"/> AND they reported separate summary estimates for RCTs and NRSI separately when both were included in the review</p>	
<p>12. If meta-analysis was performed, did the review authors assess the potential impact of RoB in individual studies on the results of the meta-analysis or other evidence synthesis?</p>	
<p>For Yes:</p> <p><input type="checkbox"/> included only low risk of bias RCTs <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> OR, if the pooled estimate was based on RCTs and/or NRSI at variable RoB, the authors performed analyses to investigate possible impact of RoB on summary estimates of effect. <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No meta-analysis conducted</p>	
<p>13. Did the review authors account for RoB in individual studies when interpreting/ discussing the results of the review?</p>	
<p>For Yes:</p> <p><input type="checkbox"/> included only low risk of bias RCTs <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> OR, if RCTs with moderate or high RoB, or NRSI were included the review provided a discussion of the likely impact of RoB on the results <input type="checkbox"/> No</p>	
<p>14. Did the review authors provide a satisfactory explanation for, and discussion of, any heterogeneity observed in the results of the review?</p>	
<p>For Yes:</p> <p><input type="checkbox"/> There was no significant heterogeneity in the results <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> OR if heterogeneity was present the authors performed an investigation of sources of any heterogeneity in the results and discussed the impact of this on the results of the review <input type="checkbox"/> No</p>	
<p>15. If they performed quantitative synthesis did the review authors carry out an adequate investigation of publication bias (small study bias) and discuss its likely impact on the results of the review?</p>	
<p>For Yes:</p> <p><input type="checkbox"/> performed graphical or statistical tests for publication bias and discussed the likelihood and magnitude of impact of publication bias <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No meta-analysis conducted</p>	
<p>16. Did the review authors report any potential sources of conflict of interest, including any funding they received for conducting the review?</p>	
<p>For Yes:</p> <p><input type="checkbox"/> The authors reported no competing interests OR <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> The authors described their funding sources and how they managed potential conflicts of interest <input type="checkbox"/> No</p>	

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I^2) for each meta-analysis.	

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	
RESULTS			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	
Synthesis of results	21	Present the main results of the review. If meta-analyses are done, include for each, confidence intervals and measures of consistency.	
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	
DISCUSSION			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	
FUNDING			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	