

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

INFLUÊNCIA DA GENÉTICA E DO AMBIENTE NO MICROBIOMA ORAL: IMPORTÂNCIA DOS ESTUDOS COM GÊMEOS

Trabalho submetido por
Rabeb Inoubli
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

julho de 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

INFLUÊNCIA DA GENÉTICA E DO AMBIENTE NO MICROBIOMA ORAL: IMPORTÂNCIA DOS ESTUDOS COM GÊMEOS

Trabalho submetido por
Rabeb Inoubli
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Lucinda Bessa

julho de 2025

Agradecimentos

Gostaria de expressar a minha profunda gratidão à minha orientadora de tese, Prof. Doutora Lucinda Bessa pela sua disponibilidade, acompanhamento constante e pela sua enorme dedicação. Mais do que uma orientadora, foi uma verdadeira guia, o seu empenho no ensino inspira respeito.

Agradeço também a todos os professores da escola, que nos transmitem diariamente, com paixão, os conhecimentos essenciais para o exercício da nossa futura profissão.

À minha família, devo tudo. O seu apoio, paciência e confiança acompanharam-me em cada etapa deste longo percurso. Nada disto teria sido possível sem eles.

Ao meu marido, obrigada por ter sempre acreditado no meu sucesso, sem nunca duvidar das minhas capacidades. O teu apoio incondicional e a tua presença foram essenciais ao longo deste caminho, e continuarão a sê-lo para toda a vida.

E por fim, como se costuma dizer, o melhor fica para o fim: à minha irmã gémea, a minha monozigótica. Foste a inspiração desta tese. Se escolhi explorar o mundo dos gémeos, foi porque tenho a sorte de viver todos os dias essa ligação única contigo.

Resumo

O microbioma oral é um ecossistema complexo e dinâmico, essencial para a saúde humana. Abriga uma diversidade de microrganismos que interagem com o hospedeiro e o ambiente, mantendo a homeostasia da cavidade oral.

Compreender os fatores que moldam este ecossistema representa um dos grandes desafios da ciência biomédica contemporânea: em que medida a composição do microbioma oral é determinada pelo património genético, ou pelos fatores ambientais a que estamos expostos ao longo da vida?

O objetivo desta revisão narrativa foi, precisamente, reunir um conjunto de literatura científica recente, centrada na influência interdependente da genética e do ambiente na modulação do microbioma oral, com base no modelo dos estudos com gémeos. A pesquisa bibliográfica foi feita nas bases PubMed, Scopus e Web of Science, usando palavras-chave como: Microbioma Oral, Gémeos, Genética, Ambiente. Foram considerados, maioritariamente, artigos publicados a partir de 2015.

Se fatores como dieta, higiene oral, uso de antibióticos, tabagismo e contexto socioeconómico influenciam profundamente o microbioma oral, também é reconhecido que fatores genéticos, imunológicos e epigenéticos podem impactar a estabilidade de certos perfis bacterianos. Perante esta complexidade, os estudos com gémeos impõem-se como uma metodologia de referência de valor inestimável, já amplamente utilizada noutras disciplinas da biomedicina, oferecendo uma oportunidade única e um modelo natural privilegiado para abordar esta problemática.

Ao comparar gémeos monozigóticos, com identidade genética quase idêntica, com gémeos dizigóticos, com semelhança genética comparável à de irmãos comuns, permitem isolar com maior precisão os efeitos da genética e do ambiente, identificar marcadores microbianos ou imunológicos específicos, reveladores da variabilidade fenotípica, e avaliar a hereditariedade das respostas imunológicas aos patógenos orais.

O crescente interesse por esses estudos decorre de sua importância na formulação de estratégias preventivas e terapêuticas personalizadas, ao permitirem distinguir com precisão fatores inatos e adquiridos, base fundamental para abordagens integrativas em saúde oral e sistémica

Palavras-chave: Microbioma Oral, Gémeos, Genética, Ambiente

Abstract

The oral microbiome is a complex and dynamic ecosystem essential for human health. It harbors a diverse community of microorganisms that interact with the host and the environment, maintaining oral cavity homeostasis.

Understanding the factors that shape this ecosystem represents one of the major challenges of contemporary biomedical science: to what extent is the composition of the oral microbiome determined by genetic heritage or by the environmental factors to which we are exposed throughout life?

This narrative review aimed to compile recent literature on the interplay between genetics and environment in modulating the oral microbiome, using the twin study model. A literature search was conducted in the PubMed, Scopus, and Web of Science databases using keywords, including: Oral Microbiome, Twins, Genetics, Environment. The review primarily considered scientific articles published from 2015 onwards.

While factors such as diet, oral hygiene, antibiotic use, smoking, and socioeconomic context profoundly influence the oral microbiome, it is also recognized that genetic, immunological, and epigenetic factors can play a decisive role in the stability of certain bacterial profiles. Faced with this complexity, twin studies have established themselves as a reference methodology of inestimable value, already widely used in other disciplines of biomedicine, offering a unique opportunity and a privileged natural model to address this issue.

By comparing monozygotic twins, who share an almost identical genetic makeup, with dizygotic twins, whose genetic similarity is comparable to that of ordinary siblings, these studies allow a more precise separation of genetic and environmental effects, identification of specific microbial or immunological markers revealing phenotypic variability, and assessment of the heritability of immune responses to oral pathogens.

The growing interest in these studies lies in their role in developing personalized preventive and therapeutic strategies by accurately distinguishing innate and acquired factors, a foundation for integrative oral and systemic health approaches.

Keywords: Oral Microbiome, Twins, Genetics, Environment

Résumé

Le microbiome oral est un écosystème particulièrement complexe et dynamique, essentiel à la santé humaine. Il abrite une diversité de micro-organismes interagissant avec l'hôte et l'environnement, assurant l'homéostasie buccale.

Comprendre les facteurs qui le modèlent représente l'un des défis de la science biomédicale : dans quelle mesure la composition du microbiome oral est-elle déterminée par le patrimoine génétique, ou par les facteurs environnementaux auxquels nous sommes exposés au cours de la vie ?

Cette révision narrative vise à rassembler de la littérature scientifique récente, centrée sur l'influence interdépendante de la génétique et de l'environnement dans la modulation du microbiome oral, selon le modèle des études sur les jumeaux. La recherche a été effectuée dans PubMed, Scopus et Web of Science, avec des mots-clés comme: Microbiome Oral, Jumeaux, Génétique, Environnement. Les articles considérés sont majoritairement postérieurs à 2015.

Si des facteurs comme l'alimentation, l'hygiène orale, les antibiotiques, le tabagisme et le contexte socioéconomique influencent le microbiome oral, il est également reconnu que des facteurs génétiques, immunologiques et épigénétiques peuvent affecter la stabilité de certains profils bactériens. Face à cette complexité, les études sur les jumeaux s'imposent comme une méthodologie de référence inestimable, déjà utilisées dans divers domaines biomédicaux, offrant une opportunité unique et un modèle naturel pour aborder cette problématique.

En comparant des jumeaux monozygotes, partageant une identité génétique presque identique, à des jumeaux dizygotes, dont la similarité génétique est comparable à celle de frères et sœurs, ces études permettent d'isoler plus précisément les effets de la génétique et de l'environnement, d'identifier des marqueurs microbiens ou immunitaires révélateurs de variabilité phénotypique, et d'évaluer l'héritabilité des réponses immunitaires aux pathogènes oraux.

L'intérêt croissant de ces études réside dans leur contribution à des stratégies préventives et thérapeutiques personnalisées, en distinguant facteurs innés et acquis, base des approches intégratives en santé orale et systémique.

Mots-clés: Microbiome Oral, Jumeaux, Génétique, Environnement

ÍNDICE GERAL

I.	INTRODUÇÃO.....	13
II.	DESENVOLVIMENTO.....	15
1.	O microbioma oral : aquisição, estrutura e evolução.....	15
1.1.	Composição do microbioma oral.....	16
1.2.	Aquisição e desenvolvimento desde o nascimento.....	18
1.3.	Fatores moduladores.....	21
1.4.	O papel do microbioma oral na saúde e na doença	23
1.5.	Métodos de análise e estudo do microbioma oral.....	25
1.5.1.	<i>Sequenciação Metagenômica Shotgun</i>	26
1.5.2.	<i>Sequenciação do gene 16S rARN</i>	26
1.5.3.	<i>Metapangenômica</i>	27
1.5.4.	<i>Metatranscriptômica</i>	27
1.5.5.	<i>Culturomia Combinada com Sequenciação</i>	27
2.	Estudos clínicos com gêmeos e sua relevância científica.....	28
2.1.	Gêmeos monozigóticos e dizigóticos: diferenças biológicas e implicações científicas.....	29
2.2.	Diferenciação entre fatores genéticos e ambientais.....	31
2.3.	Metodologias dos estudos.....	32
2.4.	Vantagens, limitações e desafios	33
3.	A influência da genética na modulação do microbioma oral baseada em gêmeos.....	34
3.1.	“Hereditariedade” do microbioma oral.....	35
3.2.	Genes e diversidade bacteriana.....	37
3.3.	Predisposição genética para doenças orais	39
3.4.	Genética e resposta imunitária.....	40
3.5.	Discordância fenotípica entre gêmeos	42
4.	A influência do ambiente na modulação do microbioma oral baseada em gêmeos.....	45
4.1.	Higiene oral	46
4.2.	Dieta e estilo de vida	47
4.3.	Tabaco, álcool e outros hábitos	48
4.4.	Efeito do uso de antibióticos e outros fármacos	49

4.5. Fatores sociais e geográficos	50
III. CONCLUSÃO.....	53
IV. BIBLIOGRAFIA	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biogeografia do microbioma oral. Adaptado de Baker et al. (2024).....	18
Figura 2. Fatores que influenciam a composição e diversidade do microbioma oral infantil. Adaptado de Blum et al. (2022).....	20
Figura 3. Fatores que influenciam a composição e diversidade do microbioma oral, incluindo comportamentos de saúde oral, fatores ambientais, genéticos e de estilo de vida. Adaptado de Nath et al. (2024).....	22
Figura 4. Interações entre o microbioma oral, a resposta inflamatória e a influência em órgãos sistêmicos. Adaptado de Peng et al. (2022).....	24
Figura 5. Comparação entre a composição microbiana oral de indivíduos não aparentados, gémeos DZ e gémeos MZ. Adaptado de Gomez et al. (2017).	31
Figura 6. Influência da similaridade genética na resposta imunitária entre gémeos. Adaptado de Smatti et al. (2025).....	42
Figura 7. Variação da dissimilaridade microbiana oral entre gémeos MZ, DZ e dizigotos de sexos opostos (OSDZ) ao longo do tempo. Dados do microbioma obtidos por meio de amostras de placa oral de 143 gémeos (70 pares de gémeos e 1 trio de trigêmeos), sendo 62 MZ e 81 DZ (36 OSDZ e 45 do mesmo sexo), foram analisados. Indivíduos elegíveis foram amostrados três vezes (V1, V2 e V3), em intervalos de aproximadamente seis meses. Adaptado de Freire et al. (2020).	44

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

DZ – Gémeos dizigóticos

MZ – Gémeos monozigóticos

ARN – Ácido Ribonucleico

16S rARN – Subunidade 16S do ARN ribossomal

OSDZ – Gémeos dizigóticos de sexo oposto

TLRs – Recetores do tipo Toll

HLA – Complexo principal de histocompatibilidade

VBNC – Estado Viável, Mas Não Cultivável

NGS – Sequenciação de Nova Geração

MWAS – Estudos de associação genoma-microbioma

I. INTRODUÇÃO

O microbioma oral desempenha um papel central no equilíbrio microbiano do hospedeiro. Composto por uma diversa comunidade de bactérias, vírus, fungos e arqueas, esse ecossistema adapta-se e responde dinamicamente às condições do hospedeiro e aos estímulos ambientais, contribuindo de forma determinante para a estabilidade ecológica da cavidade oral e para a proteção contra agentes patogênicos (Baker et al., 2024).

Apesar dos avanços científicos, um dos grandes desafios atuais reside em compreender até que ponto a composição e a função do microbioma oral são determinadas por fatores genéticos ou ambientais.

A aquisição e a evolução do microbioma oral ocorrem ao longo da vida, sendo influenciadas por hábitos comportamentais, condições de saúde, práticas de higiene e fatores externos diversos (Mukherjee et al., 2020). Por outro lado, há evidências de que certos grupos bacterianos podem ter uma componente hereditária, sugerindo que a genética também pode exercer influência na estruturação desse ecossistema (Gomez et al., 2017). A complexidade dessa relação torna particularmente valiosos os estudos com gêmeos, que oferecem uma oportunidade única de dissociar os efeitos dos fatores genéticos daqueles mediados pelo ambiente (Kurushima et al., 2015).

A comparação entre gêmeos monozigóticos, que partilham 100% do seu material genético, e dizigóticos, que partilham aproximadamente 50%, possibilita uma análise detalhada do impacto relativo desses fatores sobre a diversidade microbiana oral (Stahringer et al., 2012).

Esclarecer o impacto combinado da genética e ambiente na modulação do microbioma oral revela-se fundamental para o avanço de estratégias de prevenção e de tratamento personalizado das doenças orais. Para isso, esta revisão narrativa propõe uma análise aprofundada baseada em estudos com gêmeos, utilizando uma abordagem comparativa que permite determinar com maior precisão o peso relativo de cada fator, com o objetivo de elucidar os mecanismos que moldam a composição e a dinâmica desse ecossistema singular.

II. DESENVOLVIMENTO

1. O microbioma oral : aquisição, estrutura e evolução

O microbioma oral é um ecossistema no qual fatores genéticos e ambientais interagem para moldar a sua composição, função e evolução. Esse ecossistema abriga uma comunidade microbiana altamente adaptável, que estabelece interações contínuas com o hospedeiro ao longo da vida, impactando tanto a saúde oral quanto a saúde sistêmica (Baker et al., 2024).

A aquisição do microbioma oral ocorre desde o nascimento, sendo influenciada por diversos fatores, incluindo o tipo de parto, aleitamento materno, hábitos alimentares e higiene oral (Dzidic et al., 2018). Ao longo da vida, mudanças no estilo de vida, dieta e fatores ambientais modulam essa comunidade microbiana, podendo afetar sua estabilidade e função (Corrêa et al., 2024).

A evolução do microbioma oral reflete a adaptação dos microrganismos aos diferentes nichos da boca, como a placa dentária, gengivas, língua e saliva. Esses nichos possuem características distintas que favorecem comunidades específicas, e a interação entre fatores genéticos e ambientais determina a diversidade e a composição dessa microbiota, influenciando diretamente o equilíbrio entre saúde e doença oral (Shaiber et al., 2020).

Estudos indicam que uma maior diversidade microbiana está geralmente associada a um estado de saúde oral, enquanto desequilíbrios na composição do microbioma caracterizados por uma perda dessa diversidade podem contribuir para o desenvolvimento de patologias como a cárie dentária e a periodontite (Kaan et al., 2021; Darban-Sarokhalil et al., 2024).

A relação entre hereditariedade e influências externas na composição e estrutura do microbioma oral continua a ser um tema de investigação. Estudos com gêmeos monozigóticos e dizigóticos têm sido uma ferramenta valiosa para distinguir o impacto relativo de fatores genéticos e ambientais na diversidade microbiana (Yamamoto et al., 2022). Embora a genética possa modular certos aspectos, como a predisposição para

hospedar determinadas espécies bacterianas, o ambiente e o estilo de vida exercem um impacto significativo na diversidade do microbioma oral ao longo do tempo (Mukherjee et al., 2021).

Compreender a aquisição, estrutura e evolução do microbioma oral é essencial para explorar o impacto das influências genéticas e ambientais nesse ecossistema.

1.1. Composição do microbioma oral

O microbioma oral é composto por uma ampla diversidade de bactérias distribuídas em diversos grupos filogenéticos. As comunidades bacterianas predominantes pertencem principalmente aos filos Firmicutes, Proteobacteria e Bacteroidota, com gêneros como *Streptococcus*, *Veillonella*, *Neisseria*, *Actinomyces* e *Prevotella* sendo frequentemente encontrados em indivíduos saudáveis (Almeida et al., 2020). Essa diversidade é crucial para a funcionalidade do microbioma, suprindo várias funções metabólicas, além de influenciar a resposta imunológica e a suscetibilidade a doenças (Krishnan et al., 2016).

Além das espécies mais abundantes, há grande variabilidade entre indivíduos em termos de abundância relativa, composição e presença de espécies raras (Baker et al., 2024). Essa variabilidade interindividual pode influenciar o metabolismo, a resposta imune e a suscetibilidade a doenças (Baker et al., 2024). E está relacionada não apenas com fatores ambientais e hábitos de vida, mas também com predisposições genéticas específicas que afetam a colonização e estabilidade microbiana (Esberg et al., 2020).

Grande parte dessas bactérias pode existir num estado viável mas não cultivável (VBNC), o que dificulta a sua detecção pelos métodos tradicionais de cultura e limita a sua caracterização fenotípica e funcional (Li et al., 2014). A evolução e aplicação de técnicas metagenômicas e metatranscriptômicas tem sido, assim, fundamental para a identificação de microrganismos previamente não detectados, como fungos, vírus, arqueas e protozoários, ampliando significativamente a composição e diversidade do microbioma oral (Baker et al., 2024).

A composição do microbioma oral é diversa e varia conforme os diferentes nichos orais. Os principais nichos incluem:

- Dente:

Colonizado principalmente por *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* spp., que desempenham um papel crucial no desenvolvimento da cárie dentária devido à sua capacidade de metabolizar açúcares e produzir ácidos que desmineralizam o esmalte dentário (Baker et al., 2024). A estrutura microbiana deste nicho pode ser influenciada pela dieta, presença de placa bacteriana e higiene oral (Krishnan et al., 2016).

- Gengivas e sulco gengival:

Contém microrganismos anaeróbios como *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia*, principais patógenos associados à periodontite, que podem desencadear uma resposta inflamatória crônica e destruição óssea (Baker et al., 2024). Além disso, evidências indicam que a composição microbiana subgengival pode modular diretamente a resposta imune do hospedeiro, influenciando o grau de inflamação periodontal (Gómez, 2022).

- Superfície da língua:

Abriga espécies como *Veillonella* spp., *Neisseria* spp. e *Rothia* spp., desempenhando papéis importantes no metabolismo de nitratos e na manutenção da homeostase microbiana (Nath et al., 2024). Este nicho também participa na regulação do hálito e na produção de compostos voláteis sulfurados, com implicações na halitose (Seidel et al., 2020).

- Saliva:

Atua como um reservatório de microrganismos, transportando bactérias de um nicho para o outro dentro da cavidade oral e desempenhando um papel na transmissão bacteriana entre indivíduos (Nath et al., 2024).

A Figura 1 mostra que diferentes nichos da cavidade oral, como a placa supragengival, a mucosa jugal e o dorso da língua, abrigam comunidades microbianas com composições e arquiteturas distintas, evidenciando a importância do ambiente local na modelação do microbioma oral. Observa-se, por exemplo, que mesmo espécies estreitamente relacionadas do género *Streptococcus* apresentam preferências específicas por determinados sítios anatómicos sugerindo um alto grau de especialização ecológica.

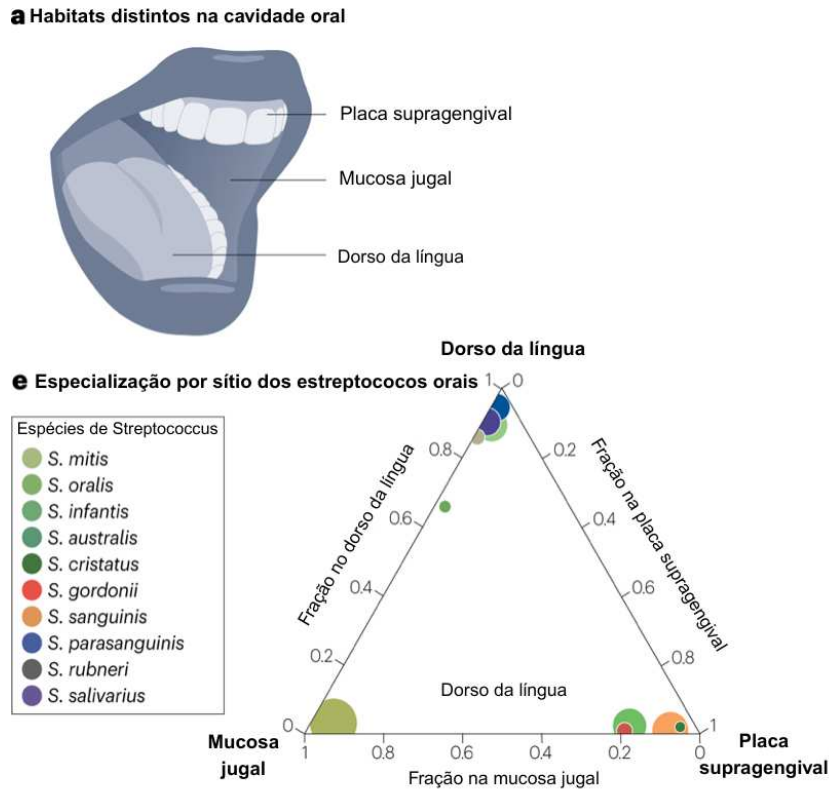


Figura 1. Biogeografia do microbioma oral. Adaptado de Baker et al. (2024).

Em suma, a composição do microbioma oral é um reflexo da complexidade e interdependência microbiana que influencia a saúde global do indivíduo.

1.2. Aquisição e desenvolvimento desde o nascimento

A colonização inicial do microbioma oral começa logo após o nascimento e é fortemente modulada por fatores perinatais e ambientais. Elementos como a via de parto (cesariana versus vaginal), o tipo de alimentação (amamentação materna ou fórmula artificial) e o contato com os cuidadores influenciam profundamente a composição microbiana nas primeiras semanas de vida (Dzidic et al., 2018).

Essa fase precoce é considerada uma janela crítica de desenvolvimento, durante a qual o microbioma ainda é instável e altamente suscetível às influências externas, com potencial impacto duradouro na saúde oral e sistêmica da criança (Xiao et al., 2020).

Segundo Dzidic et al. (2018), bebês nascidos por parto vaginal adquirem predominantemente bactérias da microbiota vaginal e intestinal da mãe, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, o que favorece uma colonização inicial mais

diversificada e funcional; por outro lado, os nascidos por cesariana são inicialmente colonizados por bactérias da pele e do ambiente hospitalar, como *Staphylococcus*, o que pode resultar em menor diversidade microbiana e atraso na sua maturação.

Com o passar dos meses, diversos acontecimentos influenciam significativamente o desenvolvimento do microbioma oral, incluindo a introdução de alimentos sólidos, que amplia a variedade de substratos disponíveis para os microrganismos, a erupção dentária, que cria novos nichos ecológicos na cavidade oral, e a implementação de hábitos de higiene oral, que começa a modular ativamente a composição microbiana (Xiao et al., 2020).

Fatores sociais e ambientais partilhados, como o contato com irmãos, creches e rotinas familiares, contribuem para a exposição contínua a novas comunidades microbianas. Estudos longitudinais com gémeos monozigóticos, revelam que, com o tempo, mesmo indivíduos com genótipos idênticos desenvolvem microbiomas cada vez mais distintos (Freire et al., 2020; Stahringer et al., 2012). Esse fenómeno foi confirmado, com padrões divergentes de colonização oral em gémeos MZ expostos a dietas ou ambientes domiciliares ligeiramente diferentes (Wu et al., 2018).

Adicionalmente, a composição inicial do microbioma oral pode ser influenciada pela exposição a antibióticos nos primeiros anos de vida, o que afeta negativamente a diversidade microbiana e favorece a instalação de microrganismos resistentes (Almeida et al., 2020). A presença precoce de certas espécies, como *Streptococcus mutans*, tem sido associada a uma maior predisposição à cárie dentária na infância, ressaltando a importância do acompanhamento preventivo desde os primeiros anos (Zheng et al., 2018).

Segundo Blum et al. (2022), o microbioma oral infantil evolui de forma previsível, com sucessões microbianas distintas nos primeiros dois anos de vida. Inicialmente dominado por géneros como *Streptococcus* e *Veillonella*, este microbioma só alcança uma estabilidade relativa após a dentição completa e o início da vida escolar. Durante esse período, fatores como o uso de chupetas, episódios frequentes de infeções respiratórias e administração de antibióticos revelam-se cruciais para a modelação da comunidade microbiana, podendo atrasar ou desviar o curso natural da maturação ecológica.

A Figura 2 mostra de forma esquemática os fatores pré e pós-natais que moldam a composição e diversidade do microbioma oral infantil, incluindo tipo de parto, aleitamento, dieta, uso de antibióticos, erupção dentária e interações ambientais.

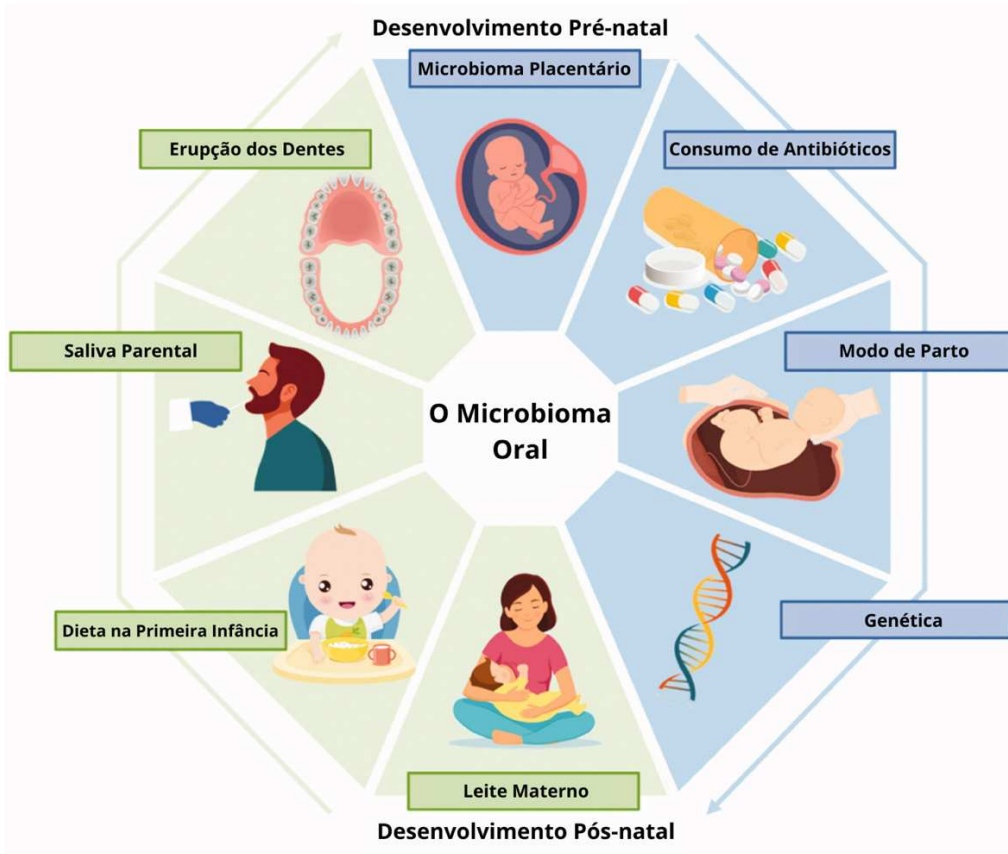


Figura 2. Fatores que influenciam a composição e diversidade do microbioma oral infantil. Adaptado de Blum et al. (2022).

Além disso, alterações precoces no microbioma oral podem estar associadas a condições como obesidade, asma, infecções respiratórias e doenças metabólicas, indicando que a composição microbiana inicial pode atuar como um marcador precoce da saúde infantil (Xiao et al., 2020).

A transição do microbioma continua ao longo das diferentes fases do desenvolvimento, com alterações significativas observadas na adolescência período de intensas mudanças hormonais e comportamentais e também em idades mais avançadas. Na população idosa, a estabilidade microbiana tende a ser afetada por alterações fisiológicas e comportamentais. O uso de próteses removíveis e a redução do fluxo salivar modificam os nichos ecológicos orais (Corrêa et al., 2024). Essas alterações são frequentemente agravadas pela polimedicação e pela imunossenescência, que

comprometem a eficácia das respostas imunes locais e a integridade das barreiras de defesa mucosa (Mukherjee et al., 2021).

1.3. Fatores moduladores

Diversas variáveis influenciam diretamente a composição e diversidade do microbioma oral, modulando o equilíbrio entre eubiose e disbiose. Entre esses fatores, destacam-se tanto elementos ligados à saúde oral, como a higiene, fluxo salivar, uso de flúor e visitas ao dentista, quanto outros fatores ambientais e comportamentais, como dieta, tabagismo, álcool e nível socioeconômico. Além disso, determinantes genéticos, condições sistêmicas e o envelhecimento também têm sido reconhecidos como moduladores relevantes da microbiota oral (Corrêa et al., 2024; Zhang et al., 2018).

O consumo excessivo de açúcares favorece o crescimento de bactérias cariogênicas, enquanto dietas ricas em fibras e probióticos promovem um microbioma intestinal equilibrado (Parveen et al., 2024). Além disso, deficiências nutricionais específicas podem alterar a abundância relativa de determinadas espécies, impactando a resposta inflamatória e a susceptibilidade a doenças orais (Zhang et al., 2018).

O uso de pasta dentifrída fluoretada, fio dentário e colutórios pode influenciar a diversidade microbiana, reduzindo a colonização de patógenos orais e impactando a resposta imunológica local (Willis & Gabaldón, 2020). No entanto, a frequência e a técnica de escovagem também modulam significativamente os nichos microbianos, com impacto direto na estrutura do biofilme e na sua potencial virulência (Relvas et al., 2021)

A toma de antibióticos pode levar à redução da diversidade bacteriana, favorecendo o crescimento de bactérias resistentes e de patógenos oportunistas, com impactos na homeostase oral (Almeida et al., 2020). A recuperação da microbiota após antibioticoterapia pode ser parcial e prolongada, dependendo do tipo, duração e espectro de ação do antibiótico utilizado (Darban-Sarokhalil et al., 2024).

O tabagismo e o álcool estão associados a um aumento da colonização por bactérias anaeróbicas e à inflamação crônica das gengivas, contribuindo para o desenvolvimento de doenças periodontais (Al Kawas et al., 2021, Gandhi et al., 2024).

O consumo crônico de álcool também tem sido correlacionado com alterações na composição do microbioma oral e a um aumento da produção de acetaldeído, um carcinogénio oral conhecido (Stornetta et al., 2018).

A progressão da periodontite está associada a uma alteração ecológica na microbiota oral, com o predomínio de microrganismos patogénicos em detrimento de espécies comensais, reforçando a necessidade de intervenções que preservem o equilíbrio microbiano (Mi et al. 2024). Ambientes inflamatórios locais favorecem a seleção de espécies mais resistentes e virulentas, perpetuando o ciclo de disbiose (Corrêa et al., 2024).

A Figura 3 resume de forma clara e abrangente os principais determinantes do microbioma oral. Esses fatores, isoladamente ou em conjunto, desempenham um papel essencial na modulação do microbioma oral, influenciando sua estabilidade e função ao longo da vida.

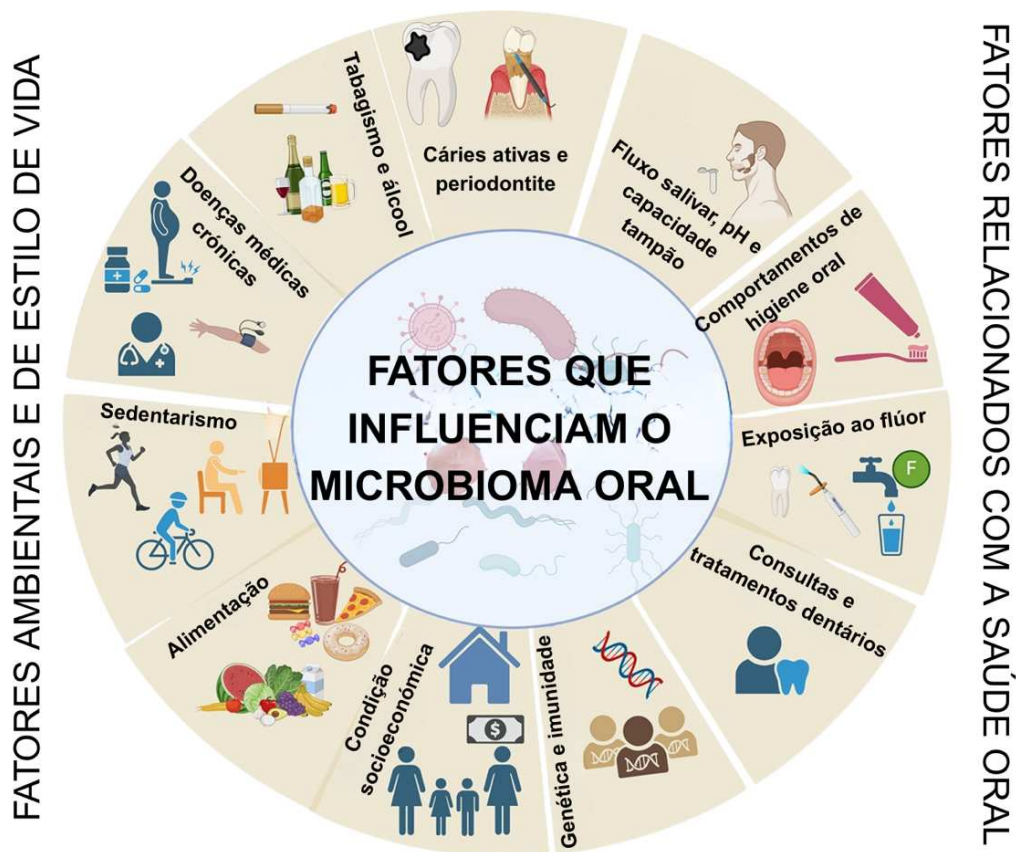


Figura 3. Fatores que influenciam a composição e diversidade do microbioma oral, incluindo comportamentos de saúde oral, fatores ambientais, genéticos e de estilo de vida. Adaptado de Nath et al. (2024).

1.4. O papel do microbioma oral na saúde e na doença

O microbioma oral representa uma peça chave na manutenção da saúde oral e sistêmica. Em estado de eubiose, de equilíbrio, esta comunidade complexa e dinâmica de microrganismos atua como uma barreira essencial, protegendo contra patógenos oportunistas, regulando o sistema imunitário, participando no metabolismo de nutrientes e preservando a integridade da mucosa oral (Baker et al., 2024; Corrêa et al., 2024). Essa homeostase microbiana é fundamental para o equilíbrio fisiológico da cavidade oral e, por extensão, para a saúde geral do organismo.

Quando a homeostase microbiana é comprometida, instala-se a disbiose, condição que favorece o surgimento de doenças orais como a cárie dentária e a periodontite, cujas implicações clínicas podem estender-se para além da cavidade oral. Microrganismos orais ou seus produtos metabólicos podem passar para a corrente sanguínea, promovendo inflamação crônica de baixo grau e contribuindo para a fisiopatologia de doenças sistêmicas como a diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares, artrite reumatoide e até distúrbios neurodegenerativos (Gomez, 2022).

Espinoza et al. (2018) demonstraram, através de sequenciação metagenômica, que o microbioma da placa supragengival em indivíduos com doenças orais apresenta não apenas alterações na composição bacteriana, mas também mudanças funcionais significativas. Estas incluem o aumento da expressão de vias metabólicas relacionadas com inflamação, stress oxidativo e degradação de proteínas da matriz extracelular, sugerindo que a disbiose oral envolve transformações tanto estruturais quanto funcionais que favorecem o desenvolvimento e a progressão das doenças orais.

A Figura 4 mostra como os microrganismos orais podem influenciar doenças sistêmicas, quer através da resposta inflamatória desencadeada por infecções locais, quer pela colonização ectópica de tecidos e órgãos como o cérebro, intestino, coração, sangue, articulações e placenta.

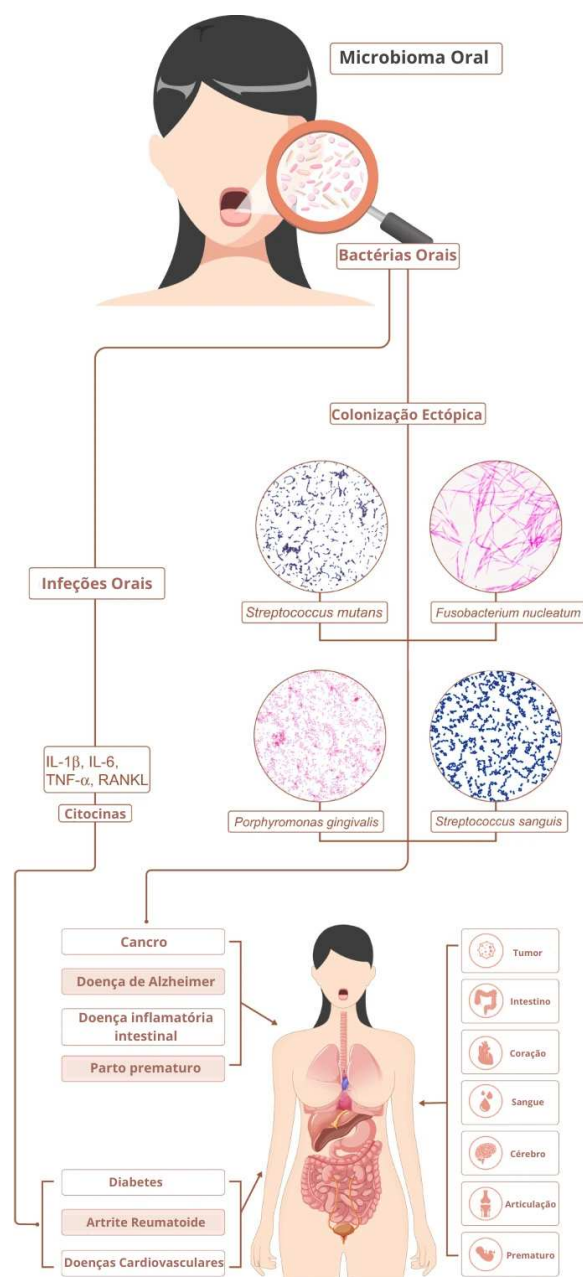


Figura 4. Interações entre o microbioma oral, a resposta inflamatória e a influência em órgãos sistêmicos. Adaptado de Peng et al. (2022).

Diante dessa complexidade, a monitorização e análise do microbioma oral tornam-se abordagens estratégicas para o diagnóstico precoce e a intervenção preventiva. A identificação de perfis microbianos da cavidade oral desequilibrados pode não apenas antecipar o desenvolvimento de doenças orais, mas também servir como marcador de risco para patologias sistêmicas (Zhang et al., 2018). Nesse sentido, o microbioma oral surge como um indicador de saúde integral, com potencial para orientar estratégias terapêuticas personalizadas.

Paralelamente, alterações na composição da microbiota oral afetam diretamente a qualidade de vida dos indivíduos. Em crianças, por exemplo, problemas como cárie dentária e gengivite impactam não apenas a saúde física, mas também a autoestima, o desempenho escolar e a integração social (Xiao et al., 2020; Dzidic et al., 2018). Em idosos, sobretudo os que convivem com doenças crônicas como a diabetes, a saúde oral está associada a uma melhor percepção de bem-estar e a menores índices de depressão e isolamento (Xian et al., 2025; Corrêa et al., 2024; Gomaa, 2022). O vínculo entre saúde oral e saúde mental tem sido cada vez mais estudado, reforçando a necessidade de abordagens interdisciplinares e preventivas ao longo de todas as fases da vida (Gandhi et al., 2024).

Dessa forma, o papel do microbioma oral transcende claramente a esfera odontológica. Deve ser compreendido tendo em conta uma abordagem ampla, onde fatores genéticos, imunológicos, metabólicos, psicológicos, comportamentais e sociais se inter-relacionam. A promoção do equilíbrio microbiano oral, através de hábitos saudáveis, alimentação adequada, intervenções preventivas e políticas públicas de saúde oral, constitui hoje um dos pilares centrais da medicina preventiva e da promoção de qualidade de vida em todas as idades.

1.5. Métodos de análise e estudo do microbioma oral

Os avanços nas tecnologias de sequenciação de nova geração (NGS) transformaram significativamente o estudo do microbioma oral. Esses avanços não só permitiram uma maior exploração da diversidade microbiana, mas também a análise das suas funções, interações e evolução ao longo do tempo. A análise do microbioma oral tornou-se assim mais precisa, abrangente e funcional (Do, Deng, & Dame-Teixeira, 2024).

Estas novas tecnologias permitiram superar as limitações das metodologias tradicionais, como as técnicas de cultura, que subestimavam a real diversidade microbiana (Baker et al., 2024). As abordagens NGS possibilitaram a detecção de microrganismos anteriormente não identificados, incluindo fungos, vírus, arqueas e protozoários, expandindo significativamente o conhecimento sobre a composição do microbioma oral (Baker et al., 2024). Adicionalmente, permitem caracterizar

microrganismos em VBNC, anteriormente inacessíveis aos métodos convencionais (Li et al., 2014).

Entre as metodologias atualmente mais utilizadas destacam-se de seguida algumas das abordagens principais: sequenciação metagenômica shotgun, sequenciação do gene 16S rARN, metapangenômica, metatranscriptômica, culturomia combinada com sequenciação.

1.5.1. Sequenciação Metagenômica Shotgun

A sequenciação metagenômica shotgun é uma técnica que permite a sequenciação de todo o conteúdo genético dos microrganismos presentes numa amostra biológica, sem a necessidade prévia de cultura. Isso possibilita uma visão abrangente da diversidade microbiana e, sobretudo, das capacidades funcionais das comunidades microbianas como genes associados à virulência, resistência antimicrobiana ou metabolismo específico (Baker et al., 2024; Almeida et al., 2020). Esta técnica tem sido crucial na identificação de microrganismos não cultiváveis, que representam uma parcela significativa da microbiota oral e que permaneceram até então subestimados (Li et al., 2021).

Além da detecção de genes associados à virulência e à resistência aos antibióticos, a sequenciação metagenômica shotgun permite também inferir as vias metabólicas e funcionais presentes nas comunidades microbianas, oferecendo uma perspectiva abrangente do seu potencial biológico (Bessa LJ et al. 2025). Em estudos com gêmeos, essa abordagem permitiu evidenciar divergências funcionais do microbioma entre indivíduos geneticamente idênticos, como demonstrado por Boullerne et al. (2020) em casos de esclerose múltipla.

1.5.2. Sequenciação do gene 16S rARN

Sequenciação do gene 16S rARN é uma técnica consagrada para a identificação e classificação taxonômica e filogenética de bactérias. Trata-se de um marcador altamente conservado que permite mapear a composição microbiana de forma eficaz, mesmo em amostras complexas como a saliva ou o biofilme oral (Relvas et al., 2021). Essa técnica tem sido amplamente empregada em estudos que investigam a associação entre o microbioma oral e doenças como cárie dentária, gengivite e periodontite (Mi et al., 2024), sendo particularmente útil para análises comparativas entre grupos saudáveis e doentes.

1.5.3. Metapangenômica

A metapangenômica visa estudar o conjunto de genes partilhados e exclusivos dentro de uma comunidade microbiana, permitindo a comparação de diferentes estirpes de uma mesma espécie. Esta técnica é essencial para compreender como a variabilidade genética entre microrganismos pode influenciar a saúde oral, revelando fatores de virulência, resistência a antibióticos e interações simbióticas ou patogênicas (Baker et al., 2024).

Tem sido também aplicada em contextos patológicos, como o cancro oral, onde padrões específicos de abundância de bactérias como *Fusobacterium nucleatum* ou *Rothia* spp. têm sido associados ao prognóstico clínico (Liu et al., 2022; Benjamin et al., 2023). Além disso, permite investigar o impacto de fatores ambientais, como o álcool, sobre a composição genética microbiana, e explorar possíveis ligações entre a microbiota oral e doenças inflamatórias sistêmicas (Yussof et al., 2020; Hu et al., 2022).

1.5.4. Metatranscriptômica

Enquanto a metagenômica explora a composição genética, a metatranscriptômica foca-se na expressão genética ativa das comunidades microbianas em tempo real. Essa técnica fornece dados sobre quais os genes que estão sendo transcritos em resposta a condições ambientais específicas como pH ácido, exposição a antimicrobianos ou inflamação periodontal (Corrêa et al., 2024). A metatranscriptômica é, portanto, essencial para entender o comportamento funcional do microbioma e sua adaptação dinâmica.

Tem sido aplicada com sucesso na análise da maturação do biofilme oral, revelando alterações temporais na expressão de genes associados ao metabolismo e à manutenção da homeostase microbiana (Edlund et al., 2018). Também permitiu identificar genes de virulência diferencialmente expressos em condições de inflamação gengival, como colagenases e proteases, oferecendo novos insights sobre a patogênese da gengivite (Nowicki et al., 2018). Além disso, verificou-se que os perfis bacterianos obtidos por ARN (indicativos da atividade funcional) podem divergir significativamente daqueles obtidos por DNA, reforçando a utilidade da metatranscriptômica na detecção de microrganismos metabolicamente ativos (Nuy et al., 2020).

1.5.5. Culturomia Combinada com Sequenciação

A culturomia representa um retorno refinado ao cultivo microbiológico tradicional, combinando diversas condições de crescimento com técnicas modernas de identificação molecular. Apesar da limitação do cultivo convencional, a culturomia expandida permite o isolamento de microrganismos raros e previamente não cultiváveis, que posteriormente são sequenciados para caracterização genética (Almeida et al., 2020). Esta abordagem é especialmente útil para validar descobertas obtidas por técnicas de NGS e para estudar interações microbianas em ambientes controlados.

Com o aumento exponencial dos dados genômicos e metagenômicos, ferramentas de análise computacional, bioinformática, tornaram-se indispensáveis. Além disso, algoritmos de *machine learning* têm sido desenvolvidos e aplicados para reconhecer padrões na composição e função do microbioma, permitindo prever associações com doenças específicas, fenótipos clínicos ou respostas terapêuticas (Alia-García et al., 2021). Estas abordagens têm mostrado grande potencial para a medicina de precisão, oferecendo modelos preditivos baseados na microbiota que poderão ser utilizados em triagens clínicas no futuro.

Essas metodologias não só têm avançado a compreensão do microbioma oral, mas também podem abrir novas avenidas para o diagnóstico e tratamento de doenças orais. A integração dessas técnicas permite uma análise multidimensional que pode ajudar a desvendar as complexidades do microbioma oral.

2. Estudos clínicos com gêmeos e sua relevância científica

O estudo do microbioma oral exige abordagens que permitam distinguir com precisão a influência relativa dos fatores genéticos e ambientais. Nesse contexto, os gêmeos constituem um modelo metodológico de excelência, amplamente utilizado nas ciências biomédicas, genômicas e comportamentais. A possibilidade de comparar gêmeos monozigóticos (MZ) que partilham 100% do seu material genético com gêmeos dizigóticos (DZ) que partilham aproximadamente 50% do seu genoma oferece uma oportunidade para distinguir a influência dos efeitos herdados daqueles mediados pelo ambiente (Gomez et al., 2017; Du et al., 2014; Mukherjee et al., 2021).

Estudos com gêmeos têm permitido investigar não só características físicas e predisposição a doenças, mas também o papel da microbiota na saúde oral e sistêmica.

Trabalhos recentes demonstram que a composição e a função da microbiota oral são influenciadas não apenas por fatores ambientais, como dieta ou higiene, mas também por predisposições genéticas (Freire et al., 2020; Kasimoglu et al., 2020).

Além disso, os estudos com gêmeos têm vindo a destacar-se pela sua capacidade de esclarecer como os fatores hereditários e ambientais modulam a presença de microrganismos e a sua estabilidade ao longo do tempo. Modelos com gêmeos têm contribuído para identificar quais aspetos do microbioma oral são mais determinados pela influência genética e quais os que respondem principalmente a variações comportamentais ou contextuais (Gomez, 2022; Mukherjee et al., 2021). Portanto, os estudos com gêmeos oferecem um modelo robusto para avaliar os mecanismos subjacentes à formação e modulação do microbioma oral.

2.1. Gêmeos monozigóticos e dizigóticos: diferenças biológicas e implicações científicas

Os gêmeos representam um modelo natural valioso para o estudo das interações entre genética e ambiente. Gêmeos MZ resultam da divisão de um único zigoto fertilizado por um único espermatozoide, originando dois indivíduos com genoma idêntico. Partilham 100% do material genético nuclear e, geralmente, são do mesmo sexo. Essa identidade genética torna-os um modelo ideal para estudos de hereditariedade, pois quaisquer diferenças observadas entre eles podem ser atribuídas com mais confiança a fatores não genéticos, como dieta, estilo de vida, exposição ambiental ou uso de medicamentos (Du et al., 2014; Gomez et al., 2017).

Apesar de sua semelhança, gêmeos MZ podem apresentar variações epigenéticas ao longo do tempo como diferenças na metilação do DNA e na expressão genética que contribuem para a diversidade fenotípica observada, incluindo diferenças na composição do microbioma oral (Stahringer et al., 2012). Além disso, a divergência na microbiota oral entre gêmeos MZ aumenta com a idade, evidenciando a influência progressiva do ambiente (Wu et al., 2018).

Essas diferenças biológicas entre MZ e DZ têm profundas implicações científicas. Em estudos sobre o microbioma oral, por exemplo, os gêmeos MZ são utilizados para

controlar variáveis genéticas, enquanto os DZ ajudam a estimar o grau de heritabilidade de características microbianas específicas. Assim, a comparação entre gêmeos permite estimar o grau de influência genética sobre a composição, diversidade e função da microbiota oral; isolar efeitos ambientais específicos, como dieta, higiene, exposição a antibióticos ou hábitos de vida; investigar a plasticidade e a resiliência microbiana frente a exposições divergentes; além de identificar marcadores microbianos hereditários associados à predisposição a doenças (Gomez, 2022; Freire et al., 2020; Mukherjee et al., 2021).

A utilização de modelos com gêmeos continua, portanto, a desempenhar um papel essencial na investigação biomédica, oferecendo uma base metodológica sólida para compreender a contribuição relativa dos genes e do ambiente na saúde humana.

A Figura 5 mostra a composição microbiana oral entre indivíduos não aparentados, gêmeos DZ, e gêmeos MZ, demonstrando que gêmeos MZ apresentam microbiomas orais mais semelhantes entre si, evidenciando o papel da hereditariedade. Mostra ainda que certas bactérias são altamente moduladas, associadas à cárie dentária e à coocorrência com outros microrganismos, enquanto outras apresentam alta heritabilidade, com abundância influenciada por fatores como idade e consumo de açúcar.

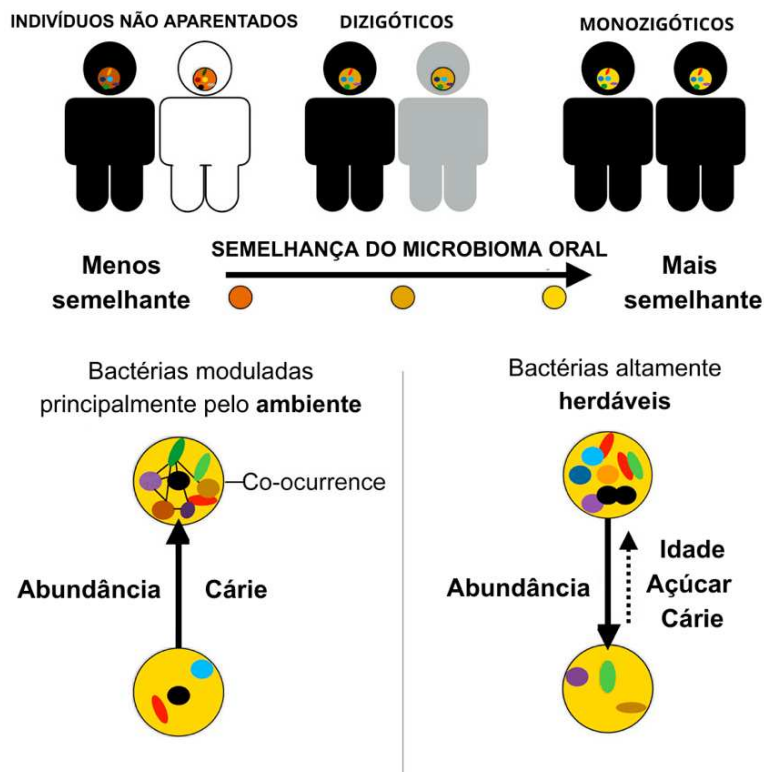


Figura 5. Comparação entre a composição microbiana oral de indivíduos não aparentados, gêmeos DZ e gêmeos MZ. Adaptado de Gomez et al. (2017).

2.2. Diferenciação entre fatores genéticos e ambientais

A distinção entre os fatores de origem genética e os fatores ambientais é uma das principais vantagens dos estudos com gêmeos, especialmente quando aplicados à investigação do microbioma oral. A possibilidade de comparar gêmeos MZ com gêmeos DZ oferece um modelo natural altamente controlado para avaliar o peso relativo desses dois tipos de influência sobre características biológicas complexas (Gomez et al., 2017; Mukherjee et al., 2021).

Nos estudos sobre o microbioma, essa diferenciação tem se mostrado crucial para compreender como a composição e a função microbiana respondem à predisposição genética por um lado, e a fatores ambientais por outro, como dieta, práticas de higiene oral, uso de antibióticos ou exposição a poluentes (Freire et al., 2020; Kasimoglu et al., 2020). Enquanto a presença de determinadas espécies bacterianas pode refletir diretamente o perfil genético do hospedeiro, outras são mais sensíveis aos estilos de vida, mudando de acordo com hábitos comportamentais ou alterações ambientais.

Estudos mostraram que diferenças na presença de doenças orais, como cárie ou gengivite, em gêmeos geneticamente idênticos podem ser atribuídas a fatores como o tipo de alimentação, a frequência da escovação ou a exposição precoce a antibióticos (Kasimoglu et al., 2020; Mukherjee et al., 2021). Isso indica que, mesmo em contextos genéticos similares, o ambiente exerce um papel modulador determinante sobre o microbioma oral. Em contrapartida, certos microrganismos são considerados altamente hereditários como espécies do gênero *Leptotrichia*, que parecem conservar padrões estáveis entre gêmeos MZ, independentemente das exposições externas, sugerindo que a genética pode influenciar não apenas a composição, mas também a resiliência da microbiota oral (Gomez, 2022). A identificação desses padrões permite classificar os microrganismos em função de sua heritabilidade ou sensibilidade ambiental, o que pode ter implicações importantes para estratégias de prevenção personalizadas.

Em suma, ao permitir uma comparação com diferentes níveis de semelhança genética, os modelos com gêmeos oferecem uma estrutura única para estimar a contribuição relativa de fatores genéticos e ambientais na formação do microbioma. Essa abordagem facilita a compreensão dos mecanismos que regulam a diversidade microbiana.

2.3. Metodologias dos estudos

Os estudos com gêmeos aplicados à investigação do microbioma oral recorrem a metodologias específicas que visam dissociar os efeitos dos fatores genéticos daqueles mediados pelo ambiente.

A combinação de análises moleculares avançadas com abordagens estatísticas e epidemiológicas tem permitido mapear, com crescente precisão, os determinantes da composição e função microbiana oral (Gomez et al., 2017; Freire et al., 2020; Alia-García et al., 2021).

Uma das técnicas mais amplamente utilizadas nesses estudos é a sequenciação do gene 16S rARN. Essa abordagem é particularmente eficaz para análises comparativas entre gêmeos MZ e DZ, possibilitando detectar diferenças ou semelhanças na diversidade microbiana associadas a fatores genéticos versus ambientais (Mi et al., 2024).

A robustez das análises também depende da integração de variáveis contextuais, como fatores climáticos, dados demográficos, hábitos alimentares, higiene oral, uso de medicamentos e exposição a antibióticos, que são frequentemente coletados por meio de questionários padronizados e registros clínicos (Gomez et al., 2017). Essa integração possibilita compreender como os fatores ambientais interagem com a predisposição genética e afetam a estrutura e dinâmica do microbioma oral (Mukherjee et al., 2021).

Estudos longitudinais são particularmente valorizados na pesquisa com gêmeos, pois permitem acompanhar a evolução do microbioma ao longo do tempo, evidenciando transições microbianas relacionadas ao envelhecimento, mudanças hormonais, alterações dietéticas ou introdução de práticas de higiene (Freire et al., 2020; Stahring et al., 2012). Estas abordagens temporais revelam não apenas tendências estáticas, mas também padrões dinâmicos que reforçam a plasticidade do microbioma frente às experiências de vida distintas entre os gêmeos, mesmo quando geneticamente idênticos.

De salientar, que as metodologias aplicadas nos estudos com gêmeos vão muito além da simples caracterização bacteriana. Elas integram dados genéticos, ambientais e temporais, e representam um modelo analítico poderoso para decifrar a complexa rede de fatores que moldam o microbioma oral humano.

2.4. Vantagens, limitações e desafios

O uso de gêmeos como modelo na investigação do microbioma oral oferece inúmeras vantagens metodológicas, especialmente pela capacidade de dissociar com maior precisão os efeitos da genética dos fatores ambientais. Gêmeos MZ, permitem um controle das variáveis genéticas, sendo assim ideais para isolar o impacto de variáveis extrínsecas (Gomez et al., 2017; Du et al., 2014). Quando comparados com gêmeos DZ, os estudos podem ainda estimar a heritabilidade de características microbianas específicas, como a prevalência de certos taxa ou perfis funcionais. Essa abordagem contribui significativamente para a compreensão dos mecanismos que modulam o microbioma oral, permitindo, por exemplo, identificar espécies com forte componente hereditária, como demonstrado por Gomez (2022), ou destacar o papel dominante do ambiente na aquisição inicial da microbiota, como proposto por Mukherjee et al. (2021).

No entanto, apesar dessas vantagens, existem limitações relevantes. Uma das principais limitações é o tamanho da amostra: populações de gêmeos disponíveis para estudos longitudinais com colheita de amostras biológicas e dados comportamentais detalhados são geralmente pequenas, o que reduz o poder estatístico e limita a generalização dos resultados obtidos. Além disso, muitos estudos são conduzidos em populações específicas, como em centros urbanos de alto poder socioeconômico, o que levanta questões de representatividade e viés sociodemográfico (Kasimoglu et al., 2020; Alia-García et al., 2021).

Outro desafio crítico é a dificuldade de controlar de fatores ambientais complexos. Mesmo entre gêmeos criados juntos, é difícil garantir que todos os aspectos comportamentais e ambientais sejam equivalentes. Diferenças subtis, como preferências alimentares individuais, uso diferencial de antibióticos ao longo da vida ou práticas de higiene não monitorizadas, podem introduzir variabilidade difícil de controlar (Stahring et al., 2012). Em gêmeos adultos, a divergência de estilo de vida tende a aumentar com o tempo, o que, embora seja útil para avaliar a plasticidade do microbioma, complica a interpretação causal dos dados.

Além disso, em termos analíticos, o volume e a complexidade dos dados obtidos exigem o uso de ferramentas avançadas de bioinformática e estatística multivariada, que nem sempre estão acessíveis a todos os grupos de investigação.

Em síntese, apesar das limitações relacionadas com o tamanho da amostra, representatividade e controle ambiental, os resultados obtidos por essa abordagem têm um enorme potencial para informar práticas clínicas futuras, promover a medicina personalizada e aprofundar a compreensão dos mecanismos de saúde oral e doenças associadas ao microbioma.

3. A influência da genética na modulação do microbioma oral baseada em gêmeos

A modulação do microbioma oral resulta de uma interação dinâmica entre fatores genéticos, epigenéticos e ambientais. Estudos têm destacado o modelo de gêmeos como um modelo metodológico robusto para distinguir as influências hereditárias das

ambientais na composição e função das comunidades microbianas da cavidade oral (Gomez et al., 2017; Stahringer et al., 2012). Comparações entre gêmeos MZ e DZ demonstram que os primeiros apresentam uma maior similaridade na composição microbiana oral, sugerindo uma forte componente genética na configuração deste ecossistema bacteriano (Gomez et al., 2017).

A influência genética manifesta-se em diversos aspectos do ambiente oral, como o pH salivar, a produção de mucinas, a estrutura da mucosa e a resposta imunitária local todos moduladores relevantes da colonização bacteriana (Mukherjee et al., 2021). No entanto, essa hereditariedade não é estática.

Para além da composição bacteriana, variantes genéticas humanas têm sido associadas à abundância específica de certos taxa orais e ao risco acrescido de desenvolvimento de doenças como a cárie dentária e a periodontite, apontando para um efeito genético que se estende não só à diversidade, mas também à função do microbioma (Esberg et al., 2020). A integração de dados genômicos do hospedeiro com análises metagenômicas tem permitido a identificação de biomarcadores microbianos com valor preditivo para patologias orais, evidenciando a importância da genética na modulação imunitária e ecológica da cavidade oral (Alia-García et al., 2021; Gomez, 2022).

3.1. “Hereditariedade” do microbioma oral

O conceito de hereditariedade do microbioma refere-se ao grau em que a composição e a estrutura das comunidades microbianas são determinadas por fatores genéticos do hospedeiro. Embora o microbioma seja predominantemente adquirido do ambiente após o nascimento especialmente durante o parto, amamentação e primeiros contatos familiares, há evidências de que certos componentes da microbiota oral possuem uma assinatura genética hereditária, refletindo variações controladas pelo genótipo do indivíduo (Gomez et al., 2017; Du et al., 2014).

Certos estudos têm demonstrado que a arquitetura genética do hospedeiro influencia fatores como o pH salivar, os níveis de fluxo salivar, a composição das glicoproteínas da mucosa, a resposta inflamatória e a expressão de recetores de reconhecimento microbiano (Esberg et al., 2020; Gomez et al., 2017). Todos esses fatores

são elementos que moldam seletivamente as comunidades bacterianas da cavidade oral. Essa influência genética pode criar um ambiente oral predisposto à colonização por determinados taxa, resultando em perfis microbianos relativamente estáveis e consistentes em indivíduos com composição genética similar (Gomez, 2022). No entanto, a magnitude da hereditariedade varia amplamente entre os diferentes microrganismos.

Há evidências de que gêneros como *Leptotrichia*, *Actinomyces*, *Streptococcus* e *Granulicatella*, apresentam alta hereditariedade, enquanto outros taxa parecem ser fortemente modulados por fatores ambientais e comportamentais (Stahringer et al., 2012; Mukherjee et al., 2021). É particularmente interessante observar que gêneros como *Streptococcus* e *Actinomyces*, cuja presença mostra alta hereditariedade, participam na colonização inicial da cavidade oral e na formação do biofilme dentário. A sua prevalência tem sido associada à manutenção da saúde oral, destacando a relevância clínica da herança microbiana estável (Baker et al., 2024; Nath et al., 2024).

Comparando gêmeos MZ e DZ, os investigadores conseguem calcular coeficientes de heritabilidade baseados na similaridade microbiana dentro de cada grupo. Se os gêmeos MZ apresentarem perfis microbianos significativamente mais semelhantes entre si do que os DZ, isso indica uma contribuição genética substancial na composição da microbiota oral (Gomez et al., 2017).

No estudo de Gomez et al. (2017) com mais de 750 pares de gêmeos, foi observado que a abundância de certos microrganismos apresentava heritabilidade significativa, sendo influenciada por variantes genéticas específicas do hospedeiro. Além disso, foi identificado que alguns genomas humanos estavam associados à presença diferencial de taxa orais, sugerindo que certos genes humanos podem atuar como reguladores da ecologia microbiana oral.

Outro estudo relevante, conduzido por Freire et al. (2020), mostrou que, ao longo do tempo, mesmo em gêmeos MZ, fatores ambientais cumulativos e mudanças comportamentais podem superar a influência inicial da genética, especialmente durante a adolescência e idade adulta. Isso sugere que a hereditariedade microbiana não é fixa, mas pode ser modulada por exposições ambientais, dieta, uso de antibióticos e práticas de higiene oral.

Complementando esses dados, Mukherjee et al. (2021) demonstraram, por meio de análises em gêmeos e famílias, que a aquisição inicial do microbioma oral é predominantemente determinada por fatores ambientais, com a genética influenciando de maneira mais sutil e localizada. No entanto, mesmo assim, a persistência de alguns microrganismos hereditários ao longo da vida reforça a ideia de que há uma assinatura genética reconhecível no microbioma oral.

Além da composição, aspectos funcionais do microbioma também têm sido objeto de investigação, como abordado por Alia-García et al. (2021), que utilizaram ferramentas de *machine learning* para identificar biomarcadores microbianos com possível valor preditivo de cáries em crianças MZ. A presença ou ausência de certos genes bacterianos pode, assim, refletir não só o ambiente, mas também a expressão de características herdadas do hospedeiro.

3.2. Genes e diversidade bacteriana

Estudos com gêmeos têm desempenhado um papel crucial na identificação de associações entre variantes genéticas humanas e a composição bacteriana da cavidade oral, reforçando a ideia de que o genoma do hospedeiro exerce uma influência seletiva sobre as comunidades microbianas (Gomez et al., 2017; Du et al., 2014).

A presença de genes reguladores da imunidade inata, como os genes do sistema HLA (antígenos leucocitários humanos), ou os receptores do tipo Toll (TLRs), pode influenciar o reconhecimento de microrganismos e a intensidade da resposta inflamatória, afetando assim a colonização e persistência de determinados gêneros bacterianos (Gomez, 2022). Polimorfismos genéticos que afetam a composição da saliva como os que regulam o pH, a produção de mucinas e enzimas antimicrobianas também são apontados como determinantes indiretos da diversidade bacteriana oral.

Nos estudos com gêmeos, essa influência genética torna-se evidente quando se observa que gêmeos MZ partilham uma composição microbiana significativamente mais semelhante do que os DZ, mesmo quando vivem em ambientes distintos (Stahring et al., 2012). Essa semelhança é especialmente notável em gêneros como *Actinomyces*, *Leptotrichia*, *Veillonella* e *Streptococcus*, que demonstraram altos coeficientes de

heritabilidade em análises de regressão genética (Gomez et al., 2017). Além disso, certas variantes genéticas humanas estão associadas à abundância específica de certos taxa orais, o que permite traçar correlações diretas entre alelos e perfis microbianos.

No estudo de Gomez et al. (2017), por exemplo, foram identificadas ligações entre variantes no gene *IRF6* conhecido pelo seu papel no desenvolvimento orofacial e a presença de *Corynebacterium matruchotii*, sugerindo uma possível co-evolução entre genes humanos e espécies orais comensais. O gene *IRF6*, implicado no desenvolvimento orofacial, desempenha um papel na formação do epitélio oral e da estrutura da mucosa. A sua associação com a presença de *Corynebacterium matruchotii*, uma bactéria estrutural do biofilme supragengival, ilustra como características anatómicas determinadas geneticamente podem favorecer a colonização por espécies específicas (Gomez et al., 2017).

Estudos com gêmeos também possibilitam avaliar a estabilidade temporal dessas associações. Como observado por Freire et al. (2020), mesmo a longo prazo, certos microrganismos mantêm-se mais estáveis entre gêmeos MZ do que em indivíduos não aparentados, o que sustenta a noção de que o genoma humano atua como um molde estrutural da comunidade bacteriana oral, ainda que modulado dinamicamente por fatores ambientais.

Entretanto, é importante destacar que a influência genética não é uniforme em todo o microbioma. Enquanto alguns gêneros apresentam forte associação com o genótipo do hospedeiro, outros são altamente plásticos e respondem rapidamente a mudanças ambientais, como dieta, antibióticos e higiene oral (Mukherjee et al., 2021). A diversidade bacteriana, portanto, é o resultado de uma interação contínua entre predisposição genética e pressões seletivas externas.

A integração de análises genômicas do hospedeiro através de sequenciação metagenômica do microbioma, abordagem conhecida como “*microbiome-wide association studies*” (MWAS) tem permitido mapear com mais precisão essas interações gene-microbiota. Essa abordagem, aliada a técnicas de *machine learning* como demonstrado por Alia-García et al. (2021), amplia o potencial de descoberta de biomarcadores genéticos ligados à suscetibilidade a doenças orais.

3.3. Predisposição genética para doenças orais

A predisposição genética para doenças orais, como cárie dentária, gengivite e periodontite, é um campo em rápido crescimento, impulsionado por descobertas sobre o papel do microbioma oral e suas interações com o genoma do hospedeiro.

Evidências acumuladas a partir de estudos com gêmeos têm demonstrado que certas variantes genéticas humanas podem modular a suscetibilidade às doenças orais, influenciando a colonização, diversidade e atividade funcional de comunidades bacterianas específicas (Gomez et al., 2017; Alia-García et al., 2021).

Nos estudos com gêmeos monozigóticos (MZ), observou-se que mesmo em contextos ambientais similares, há uma correlação consistente entre genótipo e prevalência de cárie, especialmente em crianças.

A pesquisa conduzida por Alia-García et al. (2021) mostrou, por meio de algoritmos de *machine learning*, que marcadores microbianos associados à presença ou ausência de cárie dentária apresentavam perfis semelhantes em irmãos MZ, sugerindo que o risco de doença está parcialmente ancorado em fatores genéticos herdados, refletidos também na composição do microbioma.

Esse tipo de predisposição pode ser mediado por genes que regulam fatores protetores naturais da cavidade oral, como a composição da saliva (incluindo enzimas, imunoglobulinas e mucinas), a resposta inflamatória do epitélio oral, a capacidade de regeneração do tecido gengival, além da estrutura dentária e da morfologia oclusal, que podem favorecer o acúmulo de biofilme (Esberg et al., 2020).

Por exemplo, variantes nos genes das interleucinas IL-1 e IL-6 têm sido associadas a uma resposta inflamatória mais intensa frente ao acúmulo de placa bacteriana, aumentando o risco de periodontite (Santamaria et al., 2023)

Essas associações genético-imunológicas podem, por sua vez, favorecer o crescimento de bactérias periodontopatogênicas, criando um ciclo de inflamação e disbiose microbiana.

Estudos como os de Gomez et al. (2017) também apontam que certos genes ligados ao desenvolvimento orofacial e à imunidade inata podem indiretamente favorecer

a instalação de perfis microbianos disbióticos, predispondo o indivíduo a doenças como cárie ou gengivite, mesmo na presença de bons hábitos de higiene.

Contudo, é importante reconhecer que a predisposição genética não atua isoladamente. Fatores ambientais como dieta rica em açúcares, higiene oral inadequada, uso frequente de antibióticos ou condições socioeconômicas podem acentuar ou atenuar o risco genético, sendo frequentemente mais determinantes a longo prazo (Stahring et al. 2012; Mukherjee et al., 2021). Isso ressalta a importância do modelo *gene versus* ambiente na interpretação da suscetibilidade às doenças orais.

Assim, compreender a interação entre fatores genéticos e ambientais no contexto da predisposição às doenças orais é essencial não apenas para identificar grupos de risco, mas também para orientar estratégias preventivas e terapêuticas mais personalizadas.

3.4. Genética e resposta imunitária

A interação entre fatores genéticos e a resposta imunitária constitui um dos eixos centrais na modulação do microbioma oral, influenciando diretamente tanto a diversidade quanto a resiliência das comunidades microbianas que colonizam a cavidade oral. O sistema imunitário do hospedeiro, regulado por determinantes genéticos, atua como mecanismo de vigilância e controle, sendo capaz de distinguir entre microrganismos comensais e patogênicos. Genes que codificam receptores Toll-like (TLRs), componentes do complexo principal de histocompatibilidade (HLA), e citocinas inflamatórias como IL-1, IL-6, TNF- α e IL-10 desempenham papéis cruciais na modulação desta resposta (Gomez et al., 2017; Alia-García et al., 2021).

Apesar de partilharem praticamente o mesmo genoma, gêmeos MZ podem apresentar perfis imunológicos distintos devido à influência de fatores ambientais e epigenéticos (Freire et al., 2020). Diferenças na expressão de genes da resposta imunitária podem alterar significativamente a composição microbiana, favorecendo a dominância de certas espécies e modificando a ecologia oral (Seidel et al., 2020). O modelo de estudo com gêmeos oferece uma abordagem eficaz para isolar os efeitos herdados daqueles mediados pelo ambiente na regulação da resposta imunitária.

Um estudo longitudinal demonstrou que modificações epigenéticas, como a metilação do DNA e a atuação de microRNAs, modulam de forma dinâmica a expressão genética mesmo entre indivíduos geneticamente idênticos, contribuindo para perfis imunológicos divergentes (Alia-García et al., 2021). Estas alterações têm implicações diretas na resistência a microrganismos patogênicos e na predisposição à inflamação crônica, uma vez que os mecanismos epigenéticos regulam genes-chave da resposta imunitária, favorecendo desequilíbrios inflamatórios que impactam a estabilidade do microbioma oral (Gomaa, 2022). Por exemplo, diferenças nos níveis de expressão de IL-6 e IL-10 entre gêmeos MZ foram associadas a alterações na abundância de gêneros como *Porphyromonas* e *Prevotella*, indicando que perfis imunológicos divergentes modulam diretamente a ecologia microbiana da cavidade oral (Seidel et al., 2020; Zheng et al., 2018).

Um estudo recente de Smatti et al. (2025) destaca que a correlação na resposta imunitária entre gêmeos está fortemente associada ao grau de similaridade genética, demonstrando que fatores genéticos desempenham um papel determinante na variabilidade imunológica frente a infecções e vacinação. A Figura 6 ilustra este conceito, mostrando que gêmeos MZ tendem a exibir respostas imunitárias mais semelhantes do que gêmeos DZ, sugerindo uma contribuição genética significativa para o fenótipo imunológico. O esquema da Figura 6 também destaca como fatores ambientais compartilhados como o microbioma, o estilo de vida ou exposições prévias modulam adicionalmente esta resposta, apoiando um modelo multifatorial na determinação da imunidade.

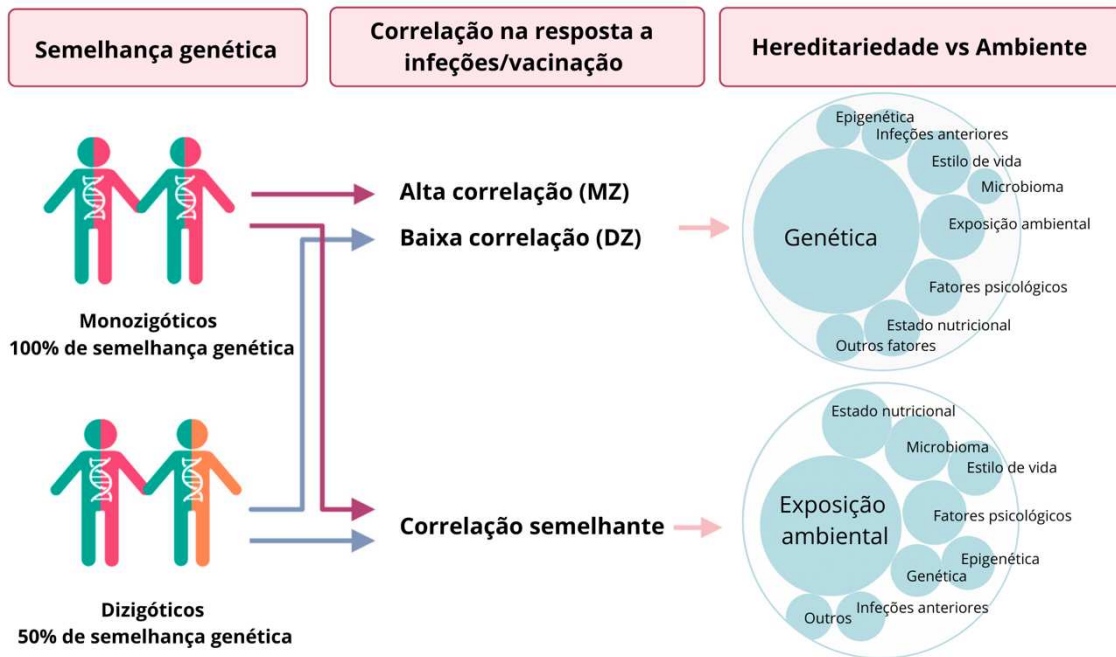


Figura 6. Influência da similaridade genética na resposta imunitária entre gêmeos. Adaptado de Smatti et al. (2025).

Dados transcriptômicos e epigenômicos evidenciam que fatores como a dieta, o uso de antibióticos, a higiene oral e o stress psicossocial exercem um papel decisivo na ativação ou supressão de vias imunitárias específicas, influenciando de forma adaptativa o equilíbrio do microbioma oral (Zheng et al., 2018; Stahringer et al., 2012). A variabilidade imunológica entre indivíduos geneticamente idênticos evidencia o caráter dinâmico e adaptável do sistema imunitário humano (Gomez, 2022).

3.5. Discordância fenotípica entre gêmeos

A discordância fenotípica entre gêmeos MZ constitui um modelo natural valioso para explorar de que forma fatores epigenéticos e ambientais modulam a expressão genética, influenciando diretamente a saúde oral. Apesar de compartilharem um genótipo praticamente idêntico, estes indivíduos apresentam frequentemente diferenças clínicas e imunológicas, como variações na incidência de cárie entária ou de doenças periodontais,

o que sugere que fatores não herdados são determinantes na expressão fenotípica (Freire et al., 2020; Wu et al., 2018; Kasimoglu et al., 2020). Estas discrepâncias podem ser explicadas por mecanismos epigenéticos, como a metilação do DNA, alterações pós-transcricionais mediadas por microRNAs ou padrões distintos de expressão genética imunitária frequentemente influenciados por fatores como a dieta, infecções prévias, exposição a fármacos e hábitos comportamentais (Gomaa, 2022; Zheng et al., 2018). Pequenas variações nas experiências de vida são suficientes para provocar diferenças na composição do microbioma e na ativação de vias inflamatórias, mesmo quando os gêmeos partilham o mesmo ambiente durante a infância (Freire et al., 2020; Dzidic et al., 2018). Esta variabilidade representa uma oportunidade única para identificar marcadores biológicos que ajudem a explicar por que razão um gêmeo desenvolve uma condição oral patológica enquanto o outro permanece saudável.

Um estudo longitudinal de Freire et al. (2020), com amostras de placa supragengival recolhidas em três momentos distintos, demonstrou que gêmeos MZ apresentam maior semelhança microbiana inicial, mas esta tende a diminuir ao longo do tempo, indicando a crescente influência dos fatores ambientais na composição do microbioma oral.

A Figura 7 ilustra a dissimilaridade entre microbiomas orais, estimada pelo índice de Bray–Curtis, ao longo do tempo. Observa-se que gêmeos MZ apresentam maior semelhança microbiana no início, V1, mas essa diferença tende a diminuir nos 6 e 12 meses mais tarde, V2 e V3, respetivamente, sugerindo que fatores ambientais contribuem progressivamente para a divergência da composição microbiana.

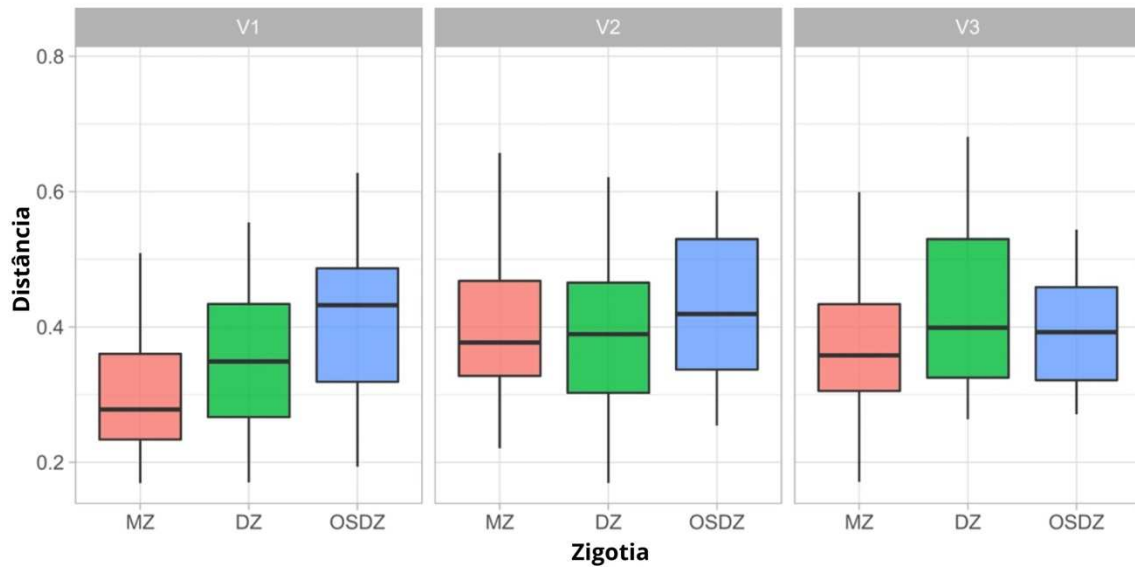


Figura 7. Variação da dissimilaridade microbiana oral entre gêmeos MZ, DZ e dizigotos de sexos opostos (OSDZ) ao longo do tempo. Dados do microbioma obtidos por meio de amostras de placa bacteriana de 143 gêmeos (70 pares de gêmeos e 1 trio de trigêmeos), sendo 62 MZ e 81 DZ (36 OSDZ e 45 do mesmo sexo), foram analisados. Indivíduos elegíveis foram amostrados três vezes (V1, V2 e V3), em intervalos de aproximadamente seis meses. Adaptado de Freire et al. (2020).

Técnicas de *machine learning* têm permitido identificar perfis microbianos divergentes entre gêmeos MZ com diferentes estados de saúde oral, mesmo em idades precoces (Alia-García et al., 2021). Essa observação é reforçada por evidências de que alterações imunológicas mínimas podem desencadear diferenças profundas na composição do microbioma, mesmo entre gêmeos que partilham o mesmo ambiente (Gomez, 2022). A investigação destes marcadores, especialmente com recurso a tecnologias de alto rendimento como a epigenômica, tem impulsionado avanços relevantes na medicina personalizada (Deo & Deshmukh, 2019; Corrêa et al., 2024). O reconhecimento da plasticidade da resposta imunitária reforça a importância de adotar uma abordagem integrada que considere simultaneamente os fatores genéticos, epigenéticos e ambientais (Esberg et al., 2020).

Estudos comparativos demonstram que a ativação desigual de vias de sinalização imunitária entre gêmeos pode modificar significativamente o equilíbrio do microbioma oral, com implicações na suscetibilidade a infecções e na resposta a intervenções terapêuticas (Gomaa, 2022; Alia-García et al., 2021). Resultados semelhantes foram observados por Boullerne et al. (2020), que, utilizando sequenciação metagenômica profunda, identificaram diferenças marcadas no microbioma oral entre gêmeos MZ

discordantes quanto à gravidade da esclerose múltipla. Este estudo reforça a hipótese de que variações no estado clínico, mesmo entre indivíduos geneticamente idênticos, podem estar associadas a alterações ambientais e imunológicas que impactam diretamente a estrutura microbiana da cavidade oral.

4. A influência do ambiente na modulação do microbioma oral baseada em gêmeos

A modulação do microbioma oral em estudos com gêmeos tem evidenciado de forma consistente a forte influência dos fatores ambientais, que interagem de maneira dinâmica com a constituição genética do hospedeiro para moldar a estrutura e a função da comunidade microbiana da cavidade oral. Embora a genética forneça uma base biológica para a colonização inicial, são sobretudo as exposições e experiências individuais que condicionam a evolução e a estabilidade do ecossistema microbiano ao longo do tempo (Freire et al., 2020; Mukherjee et al., 2021).

A comparação entre MZ permite dissociar com maior precisão os efeitos da herança genética dos fatores externos. Esta abordagem possibilita quantificar o impacto de variáveis ambientais que, isoladamente ou em interação, contribuem para a diversidade fenotípica observada entre gêmeos e, em particular, para a divergência do seu microbioma oral (Stahring et al., 2012; Gomez et al., 2017).

Fatores como a higiene oral, os padrões alimentares, o estilo de vida, o consumo de tabaco e álcool, o uso de antibióticos e outros fármacos, bem como as condições sociais e geográficas, revelam-se determinantes na modelação deste microbioma. Por exemplo, pequenas diferenças no uso de antibióticos durante a infância já são suficientes para alterar significativamente a composição bacteriana oral entre gêmeos MZ (Kasimoglu et al., 2020). A análise destas variáveis em estudos com gêmeos oferece não apenas dados sobre a suscetibilidade a doenças orais e sistêmicas, mas também caminhos promissores para a personalização de estratégias preventivas e terapêuticas com base no contexto ambiental de cada indivíduo (Alia-García et al., 2021; Corrêa et al., 2024).

4.1. Higiene oral

A higiene oral é um dos fatores ambientais mais diretamente implicados na estruturação do microbioma da cavidade oral. Práticas como a escovagem regular, o uso de fio dentário e colutórios, bem como visitas periódicas ao dentista, promovem a remoção mecânica da placa bacteriana e contribuem para a estabilidade ecológica da microbiota oral, prevenindo o crescimento excessivo de espécies patogênicas associadas a cárie dentária e doença periodontal (Mi et al., 2024; Corrêa et al., 2024).

Estudos com gêmeos, tanto MZ como DZ, demonstraram que diferenças nos hábitos de higiene podem originar variações significativas no perfil microbiano, independentemente do grau de proximidade genética. Em particular, Stahringer et al. (2012) observaram que alterações na frequência e na qualidade da escovagem e do uso de produtos de higiene oral estavam associadas a divergências notórias na composição bacteriana, sugerindo que este fator ambiental atua de forma decisiva na manutenção de comunidades microbianas saudáveis.

A escolha dos produtos de higiene oral, como pastas dentífricas fluoretadas e soluções antissépticas, exerce um efeito seletivo sobre a microbiota oral. Embora o flúor contribua para o controlo de espécies cariogênicas, colutórios antissépticos de largo espectro, como os que contêm clorexidina, podem reduzir significativamente a diversidade microbiana, promovendo o desequilíbrio ecológico e a proliferação de microrganismos oportunistas (Willis & Gabaldón, 2020). Baker et al. (2024) complementam essa visão ao indicar que o impacto desses produtos na comunidade microbiana depende da frequência e duração do uso, podendo alterar a composição de nichos específicos e afetar a resiliência do microbioma a agressões externas. Assim, a utilização racional desses produtos deve considerar o equilíbrio entre eficácia terapêutica e preservação da diversidade microbiana. Mesmo gêmeos criados no mesmo ambiente, mas com diferenças na rotina de higiene oral, apresentaram perfis distintos de colonização bacteriana (Freire et al., 2020).

Outro aspeto relevante é a adoção precoce de cuidados orais durante a infância. A introdução consistente de práticas de higiene nos primeiros anos de vida tem mostrado influência duradoura na maturação da microbiota oral. Vários estudos identificaram

discrepâncias entre gémeos DZ no que respeita à presença de bactérias cariogénicas, associadas a diferenças nos cuidados orais e ida ao dentista e na frequência de higiene oral (Dzidic et al., 2018; Xiao et al., 2020; Kasimoglu et al. 2020).

Assim, os dados disponíveis reforçam que, independentemente do perfil genético, a higiene oral representa um determinante ambiental chave na modelação do microbioma oral, com potencial para prevenir disbioses e suas manifestações clínicas.

4.2. Dieta e estilo de vida

A alimentação e o estilo de vida são fatores ambientais com impacto direto sobre a diversidade e a estabilidade do microbioma oral. Dietas ricas em hidratos de carbono fermentáveis favorecem o crescimento de bactérias acidogénicas, como *Streptococcus mutans*, implicadas na etiologia da cárie dentária. Por outro lado, regimes alimentares equilibrados, com baixo teor de açúcar e ricos em fibras e polifenóis, tendem a promover uma microbiota oral mais diversa e funcionalmente estável (Parveen et al., 2024; Xiao et al., 2020).

A dieta também influencia mecanismos fisiológicos que afetam indiretamente o ambiente oral. Alimentações ricas em fibras e nutrientes naturais promovem uma mastigação mais eficaz e estimulam o fluxo salivar, o que contribui para a limpeza mecânica da boca e o controlo do pH, favorecendo o equilíbrio ecológico da microbiota. Yang et al. (2023) demonstraram que padrões alimentares caracterizados por uma maior ingestão de alimentos pouco processados estão associados a um aumento da diversidade microbiana oral, que é um marcador frequentemente relacionado com efeitos benéficos na saúde geral.

Estudos com gémeos MZ e DZ demonstraram que diferenças nos hábitos alimentares estão associadas a alterações significativas na composição microbiana oral, mesmo entre indivíduos com genética idêntica ou semelhante. Wu et al. (2018) mostraram que MZ com padrões alimentares divergentes apresentavam perfis microbianos distintos, com maior presença de espécies cariogénicas em indivíduos com elevada ingestão de sacarose.

Para além da alimentação, o estilo de vida incluindo níveis de atividade física, padrões de sono e gestão do stress influencia o estado imunitário do hospedeiro e, por consequência, a sua microbiota oral. A prática regular de exercício físico e a redução de fatores de stress aumentam a resiliência do sistema imunitário frente a microrganismos oportunistas, contribuindo para a manutenção da homeostase oral (Kasimoglu et al., 2020).

Freire et al. (2020), num estudo longitudinal com gêmeos, constataram que o microbioma oral tende a divergir progressivamente ao longo da vida em função da adoção de estilos de vida distintos, independentemente da origem genética partilhada.

Em suma, os dados provenientes da investigação com gêmeos reforçam que a dieta e o estilo de vida não só modulam diretamente a composição do microbioma oral, como também podem atuar como fatores de risco ou de proteção para patologias associadas à disbiose oral, incluindo doenças periodontais e inflamatórias sistémicas.

4.3. Tabaco, álcool e outros hábitos

O consumo de tabaco e de bebidas alcoólicas constitui um fator ambiental significativo na modulação do microbioma oral, com efeitos adversos bem documentados. Estudos demonstram que ambos os hábitos estão associados à redução da diversidade microbiana, ao aumento da proporção de bactérias anaeróbias e à disbiose geral da cavidade oral (Al Kawas et al., 2021; Gandhi et al., 2024). Estes efeitos podem favorecer o desenvolvimento de patologias como a periodontite, gengivite crónica, leucoplasias e até carcinomas orais (Kadam et al., 2021).

Foi observado que gêmeos MZ expostos de forma desigual ao tabagismo apresentavam composições bacterianas claramente distintas, com maior abundância de espécies periodontopatogénicas no gêmeo fumador (Stahringer et al., 2012). Estes dados reforçam a noção de que o tabaco atua como um fator independente da constituição genética, promovendo alterações ecológicas que comprometem a homeostase microbiana (Kadam et al., 2021).

O consumo de álcool tem sido associado a um aumento da permeabilidade mucosa e à proliferação de bactérias produtoras de acetaldeído, um composto potencialmente

carcinogénico (Stornetta et al., 2018). Gandhi et al. (2024) observaram que a ingestão regular de bebidas alcoólicas favorece o crescimento de microrganismos como *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella* spp., implicados tanto em processos inflamatórios como em transformações pré-malignas da mucosa oral.

Outros comportamentos, como o bruxismo, a respiração oral crónica ou o uso frequente de pastilhas com açúcar, também têm sido estudados enquanto potenciais moduladores ambientais do microbioma. Embora menos estudados em coortes de gémeos, estes hábitos comportamentais parecem atuar de forma cumulativa sobre a dinâmica microbiana oral, favorecendo a instalação de nichos ecológicos desequilibrados (Corrêa et al., 2024).

Em gémeos DZ, que partilham apenas metade do material genético, a divergência no consumo de tabaco e álcool foi associada a perfis microbiológicos ainda mais discrepantes, sugerindo uma interação sensível entre estes hábitos e a suscetibilidade genética individual (Kasimoglu et al., 2020).

Assim, os dados disponíveis apontam para o papel crítico de estilos de vida nocivos na alteração da ecologia oral, sendo o modelo com gémeos particularmente útil para isolar os seus efeitos e compreender melhor os mecanismos de disbiose induzida por exposições comportamentais.

4.4. Efeito do uso de antibióticos e outros fármacos

A administração de antibióticos, antissépticos e de outros fármacos constitui um dos fatores ambientais mais impactantes na composição e na estabilidade do microbioma oral. Antibióticos de largo espectro, em particular, promovem uma redução significativa da diversidade bacteriana, favorecendo a seleção de espécies resistentes e a instalação de disbioses que podem perdurar após o fim do tratamento (Almeida et al., 2020; Mi et al., 2024).

Mukherjee et al. (2021) mostraram que gémeos expostos precocemente a múltiplos ciclos de antibióticos apresentavam uma menor diversidade bacteriana e maior

predominância de bactérias oportunistas, em comparação com os seus irmãos não expostos.

Fármacos imunossupressores, corticosteroides, anti-histamínicos ou anticoncepcionais orais também foram associados a alterações na composição e função do microbioma oral. Corrêa et al. (2024) destacam que estes medicamentos podem interferir com a produção salivar, o pH da cavidade oral e a resposta imunitária local, afetando assim o equilíbrio microbiano. Em gêmeos DZ com tratamentos farmacológicos distintos, Kasimoglu et al. (2020) observaram diferenças notáveis nos gêneros bacterianos predominantes, sugerindo que o tipo de medicação pode atuar como modulador independente, sobrepondo-se a fatores genéticos.

Adicionalmente, o uso repetido de antibióticos durante a infância foi associado a uma menor resistência ecológica do microbioma oral, tornando-o mais vulnerável a futuras disbioses. Dzidic et al. (2018) demonstraram que alterações na composição microbiana induzidas por antibióticos nos primeiros anos de vida persistem durante a adolescência, mesmo entre gêmeos criados no mesmo ambiente.

Estes dados sugerem que a utilização de antibióticos e de fármacos de uso crônico tem um papel decisivo na modelação do microbioma oral, podendo induzir alterações duradouras que escapam à influência da genética. O estudo com gêmeos, ao permitir a comparação direta entre indivíduos com exposição farmacológica diferenciada, oferece uma perspectiva única sobre os efeitos a longo prazo destes agentes terapêuticos na saúde microbiana oral.

4.5. Fatores sociais e geográficos

Os fatores sociais e geográficos têm emergido como determinantes importantes na modulação do microbioma oral, ao influenciarem direta e indiretamente as exposições ambientais, os comportamentos de saúde e o acesso a cuidados médicos e preventivos. Estes fatores contribuem para diferenças significativas entre indivíduos, mesmo entre gêmeos criados juntos, especialmente ao longo do tempo (Stahringer et al., 2012; Freire et al., 2020).

Elementos como o nível socioeconómico, o grau de escolaridade, as condições de habitação, a densidade populacional ou o acesso à água potável e a alimentos frescos exercem influência sobre os hábitos de higiene, a dieta e o uso de medicamentos, que são fatores que, por sua vez, moldam a ecologia microbiana oral (Parveen et al., 2024; Nath et al., 2024). Estudos demonstram que crianças de contextos socioeconómicos desfavorecidos tendem a apresentar maior prevalência de espécies associadas à cárie e a doenças periodontais, com menor diversidade microbiana (Xiao et al., 2020).

O local de residência urbano ou rural está também associado a perfis bacterianos distintos. Nath et al. (2024) identificaram variações marcadas na microbiota oral de indivíduos saudáveis em diferentes regiões da Austrália, com géneros bacterianos predominantes variando conforme fatores ambientais locais, como clima, altitude, densidade populacional e composição da dieta regional.

Em estudos com MZ e DZ, tem sido observado que gémeos que migraram ou passaram a viver em contextos geográficos distintos desenvolvem microbiomas progressivamente divergentes, mesmo mantendo hábitos semelhantes (Freire et al., 2020). Estes dados sugerem que os determinantes geográficos e socioculturais afetam o microbioma não apenas através de variáveis comportamentais, mas também por meio de exposições ambientais como poluição, qualidade do ar e da água, e carga microbiana ambiental.

A investigação baseada em gémeos reforça que fatores sociais e geográficos atuam como moduladores relevantes do microbioma oral, podendo inclusive sobrepor-se à influência genética quando as exposições externas são suficientemente distintas. A compreensão do seu papel é essencial para o desenvolvimento de políticas públicas de saúde oral adaptadas a diferentes realidades populacionais.

III. CONCLUSÃO

Nesta revisão foi explorada a interação entre a genética do hospedeiro e os fatores ambientais na modulação do microbioma oral, um ecossistema fundamental para a saúde humana.

Para distinguir o inato do adquirido na composição, função e evolução desta comunidade microbiana, os estudos com gêmeos são um modelo de referência. Ao comparar gêmeos monozigóticos e dizigóticos, estes estudos permitem uma dissociação rigorosa entre fatores genéticos e ambientais.

Apoiada por tecnologias de sequenciação de nova geração e por análises bioinformáticas, esta abordagem revelou que certos grupos microbianos apresentam uma marca parcialmente hereditária. Parâmetros como o pH salivar, a resposta imunitária ou a morfologia tecidual parecem igualmente influenciados pelo genoma do hospedeiro.

No entanto, os estudos analisados indicam que fatores ambientais, como a alimentação, a higiene oral, o uso de antibióticos, a exposição a toxinas ou o estatuto socioeconómico exercem, frequentemente, uma influência mais determinante, explicando as discordâncias fenotípicas observadas entre gêmeos geneticamente idênticos.

O advento das abordagens metagenômicas e metatranscriptômicas permitiu ultrapassar a simples descrição taxonômica, possibilitando uma análise funcional do microbioma: não apenas identificar as espécies presentes, mas compreender os seus papéis e interações. Estas metodologias revelaram diferenças significativas na expressão genética, na imunidade mucosa e nos perfis bacterianos, refletindo trajetórias de saúde distintas, apesar de uma base genética comum.

Uma abordagem integrativa da saúde oral, baseada no conhecimento dos determinantes genéticos e ambientais do microbioma oral é fundamental. Compreender estas interações permitirá identificar biomarcadores preditivos, avaliar a suscetibilidade individual a patologias e desenvolver estratégias de prevenção e tratamento mais direcionadas.

Para além da esfera oral, os estudos com gêmeos têm-se revelado valiosos em diversas áreas da dermatologia à psiquiatria, passando pela ortodontia e a sua capacidade

de distinguir a marca genética continua a torná-los uma ferramenta essencial na era da medicina personalizada.

Em última análise, é a compreensão profunda da articulação entre hereditariedade e experiência que permitirá decifrar as dinâmicas do microbioma oral, uma interface viva entre os nossos genes e o nosso modo de vida, ainda parcialmente revelados, delineiam os contornos de uma medicina do futuro mais preditiva, preventiva e personalizada.

IV. BIBLIOGRAFIA

Al Kawas, S., Al-Marzooq, F., Rahman, B. et al. The impact of smoking different tobacco types on the subgingival microbiome and periodontal health: a pilot study. *Sci Rep* 11, 1113 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80937-3>

Alia-García, E., Ponce-Alonso, M., Saralegui, C., Halperin, A., Paz Cortés, M., Baquero, M. R., Parra-Pecharromán, D., Galeano, J., & del Campo, R. (2021). Machine Learning Study in Caries Markers in Oral Microbiota from Monozygotic Twin Children. *Diagnostics*, 11(5), 835. <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS11050835>

Almeida VdSM, Azevedo J, Leal HF, Queiroz ATld, da Silva Filho HP, et al. (2020) Bacterial diversity and prevalence of antibiotic resistance genes in the oral microbiome. *PLOS ONE* 15(9): e0239664. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239664>

Baker, J. L., Mark Welch, J. L., Kauffman, K. M., McLean, J. S., & He, X. (2024). The oral microbiome: diversity, biogeography and human health. *Nature reviews. Microbiology*, 22(2), 89–104. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00963-6>

Benjamin, W., Wang, K., Zarins, K., Bellile, E., Blostein, F., Argirion, I., ... & Rozek, L. (2023). Oral microbiome community composition in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancers*, 15(9), 2549. <https://doi.org/10.3390/cancers15092549>

Bessa LJ, Egas C, Pires C, Proença L, Mascarenhas P, Pais RJ, Barroso H, Machado V, Botelho J, Alcoforado G, Mendes JJ and Alves R (2025) Linking peri-implantitis to microbiome changes in affected implants, healthy implants, and saliva: a cross-sectional pilot study. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 15:1543100. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1543100>

Blum, J., Silva, M., Byrne, S. J., Butler, C. A., Adams, G. G., Reynolds, E. C., & Dashper, S. G. (2022). Temporal development of the infant oral microbiome. *Critical*

Reviews in *Microbiology*, 48(6), 730–742.
<https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.2025042>

Boullerne, A. I., Adami, G. R., Schwartz, J. L., Skias, D., Maienschein-Cline, M., Green, S. J., & Feinstein, D. L. (2020). Deep DNA metagenomic sequencing reveals oral microbiome divergence between monozygotic twins discordant for multiple sclerosis severity. *Journal of neuroimmunology*, 343, 577237.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2020.577237>

Darban-Sarokhalil, D., et al. (2024). Oral microbiota and metabolites: Key players in oral health and disorder, and microbiota-based therapies. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1431785. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1431785>

Corrêa JD, Carlos PPS, Faria GA, et al. The Healthy Oral Microbiome: A Changing Ecosystem throughout the Human Lifespan. *Journal of Dental Research*. 2024;104(3):235-242. <https://doi.org/10.1177/00220345241297583>

Dalman, M., Simison, B., Nielson, D., et al. (2023). Characterizing the microbiome composition of the nares, oropharynx, and hand of monozygotic twins and its interplay with *Staphylococcus aureus* carriage. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3443129/v1>

Deo, Priya Nimish; Deshmukh, Revati. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* 23(1):p 122-128, Jan–Apr 2019. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_304_18

Do, T., Deng, D., & Dame-Teixeira, N. (2024). Editorial: Applications of next generation sequencing (NGS) technologies to decipher the oral microbiome in systemic health and disease, volume II. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1532762. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1532762>

Dos Anjos, A. M. C., Moura de Lima, M. de D., Muniz, F. W. M. G., Lima, C. C. B., Moura, L. de F. A. de D., Rösing, C. K., & de Moura, M. S. (2023). Is there an association between dental caries and genetics? Systematic review and meta-analysis

of studies with twins. *Journal of Dentistry*, 135.
<https://doi.org/10.1016/j.jdent.2023.104586>

Du, Q., Wang, Y., Xu, X., Li, Y., Li, M., Zou, J., & Zhou, X. (2014). [Analysis of the oral microbiota in twin children]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi = Huaxi Kouqiang Yixue Zazhi = West China Journal of Stomatology*, 32(2), 182–185.
<https://doi.org/10.7518/HXKQ.2014.02.017>

Dzidic, M., Collado, M. C., Abrahamsson, T., Artacho, A., Stensson, M., Jenmalm, M. C., & Mira, A. (2018). Oral microbiome development during childhood: an ecological succession influenced by postnatal factors and associated with tooth decay. *The ISME journal*, 12(9), 2292–2306. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0204-z>

Edlund, A., Yang, Y., Yooseph, S., He, X., Shi, W., & McLean, J. (2018). Uncovering complex microbiome activities via metatranscriptomics during 24 hours of oral biofilm assembly and maturation. *Microbiome*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0591-4>

Esberg, A., Haworth, S., Kuja-Halkola, R., Magnusson, P. K. E., & Johansson, I. (2020). Heritability of Oral Microbiota and Immune Responses to Oral Bacteria. *Microorganisms*, 8(8), 1126.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8081126>

Espinoza, J. L., Harkins, D. M., Torralba, M., Gomez, A., Highlander, S. K., Jones, M. B., Leong, P., Saffery, R., Bockmann, M., Kuelbs, C., Inman, J. M., Hughes, T., Craig, J. M., Nelson, K. E., & Dupont, C. L. (2018). Supragingival Plaque Microbiome Ecology and Functional Potential in the Context of Health and Disease. *mBio*, 9(6), e01631-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.01631-18>

Freire, M., Moustafa, A., Harkins, D. M., Torralba, M. G., Zhang, Y., Leong, P., Saffery, R., Bockmann, M., Kuelbs, C., Hughes, T., Craig, J. M., & Nelson, K. E. (2020). Longitudinal Study of Oral Microbiome Variation in Twins. *Scientific reports*, 10(1), 7954. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64747-1>

Gandhi, U. H., Benjamin, A., Gajjar, S., et al. (2024, June 12). Alcohol and periodontal disease: A narrative review. *Cureus*, 16(6), e62270. <https://doi.org/10.7759/cureus.62270>

Gomaa N. Social Epigenomics: Conceptualizations and Considerations for Oral Health. *Journal of Dental Research*. 2022;101(11):1299-1306. <https://doi.org/10.1177/00220345221110196>

Gomez, A. (2022). Heritable oral microbes and their importance in microbiome research for public health. *Cell Host & Microbe*, 30(4), 439–443. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2022.03.005>

Gomez, A., Espinoza, J. L., Harkins, D. M., Leong, P., Saffery, R., Bockmann, M., et al. (2017). Host genetic control of the oral microbiome in health and disease. *Cell Host & Microbe*, 22(3), 269–278.e3. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.08.013>

Goodrich, Julia K., Davenport, E. R., Beaumont, M., Jackson, M. A., Knight, R., Ober, C., Spector, T. D., Bell, J. T., Clark, A. G., & Ley, R. E. (2016). Genetic determinants of the gut microbiome in UK Twins. *Cell Host & Microbe*, 19(5), 731. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2016.04.017>

Hu, S., Mok, J., Gowans, M., Ong, D., Hartono, J., & Lee, J. (2022). Oral microbiome of crohn's disease patients with and without oral manifestations. *Journal of Crohn S and Colitis*, 16(10), 1628-1636. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjac063>

Kadam, S., Vandana, M., Patwardhan, S., & Kaushik, K. S. (2021). Looking beyond the smokescreen: Can the oral microbiome be a tool or target in the management of tobacco-associated oral cancer? *Ecancermedicalscience*, 15. <https://doi.org/10.3332/ECANCER.2021.1179>

Kaan AM, Kahharova D, Zaura E. Acquisition and establishment of the oral microbiota. *Periodontol* 2000. 2021; 86: 123–ch141. <https://doi.org/10.1111/prd.12366>

Kasimoglu, Y., Koruyucu, M., Birant, S., Karacan, I., Topcuoglu, N., Tuna, E. B., Gencay, K., & Seymen, F. (2020). Oral microbiota and dental caries data from monozygotic and dizygotic twin children. *Scientific data*, 7(1), 348. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-00691-z>

Krishnan, K., Chen, T., & Paster, B. J. (2016). A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral Diseases*, 23(3), 276-286. <https://doi.org/10.1111/odi.12509>

Kurushima Y, Ikebe K, Matsuda Ki, Enoki K, Ogata S, et al. (2015) Examination of the Relationship between Oral Health and Arterial Sclerosis without Genetic Confounding through the Study of Older Japanese Twins. *PLOS ONE* 10(5): e0127642. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127642>

Li, L., Mendis, N., Trigui, H., Oliver, J. D., & Faucher, S. P. (2014). The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 5, 258. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00258>

Liu, Y., Li, Z., Qi, Y., Wen, X., & Zhang, L. (2022). Metagenomic analysis reveals a changing microbiome associated with the depth of invasion of oral squamous cell carcinoma. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.795777>

Mi, J., M. Zhi, W. Kang, Q. Liang, D. Tang, T. Wang, W. Song, T. Sun, M. Li, J. Shao, S. Ge, Q. Feng, VIEW. 2024, 5, 20230118. <https://doi.org/10.1002/VIW.20230118>

Mukherjee, C., Moyer, C. O., Steinkamp, H. M., Hashmi, S. B., Beall, C. J., Guo, X., Ni, A., Leys, E. J., & Griffen, A. L. (2021). Acquisition of oral microbiota is driven by environment, not host genetics. *Microbiome*, 9(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00986-8>

Nath, S., Zilm, P., Jamieson, L., Ketagoda, D. H. K., Kapellas, K., & Weyrich, L. (2024). Characterising healthy Australian oral microbiomes for ‘super donor’

selection. *Journal of Dentistry*, 151, 105435.
<https://doi.org/10.1016/j.jdent.2024.105435>

Nowicki, E., Shroff, R., Singleton, J., Renaud, D., Wallace, D., Drury, J., ... & Whiteley, M. (2018). Microbiota and metatranscriptome changes accompanying the onset of gingivitis. *Mbio*, 9(2). <https://doi.org/10.1128/mbio.00575-18>

Nuy, J., Bornemann, T., Beißer, D., Probst, A., & Boenigk, J. (2020). Comparing community measures in lake microbial ecology: metagenomes and metatranscriptomes and amplicons, oh my!.. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-29111/v1>

Parveen, S., Alqahtani, A. S., Aljabri, M. Y., Dawood, T., Khan, S. S., Gupta, B., Vempalli, S., Hassan, A. A. H. A. A., & Elamin, N. M. H. (2024). Exploring the Interplay: Oral-Gut Microbiome Connection and the Impact of Diet and Nutrition. *European Journal of General Dentistry*, 13(3), 165–176. <https://doi.org/10.1055/S-0044-1786154/ID/JR23120473-39/BIB>

Peng, X., Cheng, L., You, Y. *et al.* Oral microbiota in human systematic diseases. *Int J Oral Sci* 14, 14 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41368-022-00163-7>

Relvas, M., Regueira-Iglesias, A., Balsa-Castro, C. *et al.* Relationship between dental and periodontal health status and the salivary microbiome: bacterial diversity, co-occurrence networks and predictive models. *Sci Rep* 11, 929 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79875-x>

Santamaria, P., Bowyer, R. C. E., & Nibali, L. (2023). Associations between host genetic variants and Herpes Simplex Labialis in the TwinsUK cohort. *Archives of Oral Biology*, 145, 105587. ISSN 0003-9969. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2022.105587>

Seidel, C. L., Gerlach, R. G., Wiedemann, P., Weider, M., Rodrian, G., Hader, M., Frey, B., Gaipf, U. S., Bozec, A., Cieplik, F., Kirschneck, C., Bogdan, C., & Götz, L. (2020). Defining Metaniches in the Oral Cavity According to Their Microbial

Composition and Cytokine Profile. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8218. <https://doi.org/10.3390/ijms21218218>

Shaiber, A., Willis, A. D., Delmont, T. O., Roux, S., Chen, L. X., Schmid, A. C., Yousef, M., Watson, A. R., Lolans, K., Esen, Ö. C., Lee, S. T. M., Downey, N., Morrison, H. G., Dewhirst, F. E., Mark Welch, J. L., & Eren, A. M. (2020). Functional and genetic markers of niche partitioning among enigmatic members of the human oral microbiome. *Genome biology*, 21(1), 292. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02195-w>

Smatti, M. K., Yassine, H. M., Mbarek, H., & Boomsma, D. I. (2025). Understanding Heritable Variation Among Hosts in Infectious Diseases Through the Lens of Twin Studies. *Genes*, 16(2), 177. <https://doi.org/10.3390/genes16020177>

Stahringer, S. S., Clemente, J. C., Corley, R. P., Hewitt, J., Knights, D., Walters, W. A., Knight, R., & Krauter, K. S. (2012). Nurture trumps nature in a longitudinal survey of salivary bacterial communities in twins from early adolescence to early adulthood. *Genome research*, 22(11), 2146–2152. <https://doi.org/10.1101/gr.140608.112>

Stornetta, A., Guidolin, V., & Balbo, S. (2018). Alcohol-Derived Acetaldehyde Exposure in the Oral Cavity. *Cancers*, 10(1), 20. <https://doi.org/10.3390/cancers10010020>

Willis, J. R., & Gabaldón, T. (2020). The Human Oral Microbiome in Health and Disease: From Sequences to Ecosystems. *Microorganisms*, 8(2), 308. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020308>

Wu, H., Zeng, B., Li, B., Ren, B., Zhao, J., Li, M., Peng, X., Feng, M., Li, J., Wei, H., Cheng, L., & Zhou, X. (2018). Research on oral microbiota of monozygotic twins with discordant caries experience - in vitro and in vivo study. *Scientific Reports*, 8(1), 7267. <https://doi.org/10.1038/S41598-018-25636-W>

Yamamoto, T., Taniguchi, M., Matsunaga, K., Kawata, Y., Kawamura, M., Okubo, K., Yamashiro, K., Omori, K., & Takashiba, S. (2022). Analysis of subgingival

microbiota in monozygotic twins with different severity and progression risk of periodontitis. *Clinical case reports*, 10(4), e05725. <https://doi.org/10.1002/ccr3.5725>

Xiao, J., Fiscella, K.A. & Gill, S.R. Oral microbiome: possible harbinger for children's health. *Int J Oral Sci* 12, 12 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0082-x>

Xian, X., Zhang, Y., Fu, G., Li, Z., Chen, J., Wang, M., & Zheng, Q. (2025). Influencing Factors of Diabetic Patients of on Oral Health-Related Quality of Life: A Scoping Review. *Iranian journal of public health*, 54(3), 465–477. <https://doi.org/10.18502/ijph.v54i3.18240>

Yussof, A., Yoon, P., Krkljes, C., Schweinberg, S., Cottrell, J., Chu, T., ... & Chang, S. (2020). A meta-analysis of the effect of binge drinking on the oral microbiome and its relation to alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76784-x>

Zhang, Y., Wang, X., Li, H., Ni, C., Du, Z., & Yan, F. (2018). Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 99, 883–893. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.146>

Zheng, Y., Zhang, M., Li, J., Li, Y., Teng, F., Jiang, H., & Du, M. (2018). Comparative Analysis of the Microbial Profiles in Supragingival Plaque Samples Obtained From Twins With Discordant Caries Phenotypes and Their Mothers. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8, 361. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00361>