

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**O PAPEL DO MICROBIOMA ORAL NAS DOENÇAS ORAIS E
ESOFÁGICAS**

Trabalho submetido por
Adrien Pierre Alastair Edouard de Beaumont
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Fevereiro de 2024

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

O PAPEL DO MICROBIOMA ORAL NAS DOENÇAS ORAIS E ESOFÁGICAS

Trabalho submetido por
Adrien Pierre Alastair Edouard de Beaumont
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Profª Doutora Lucinda Bessa

Fevereiro de 2024

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora, Prof. Doutora Lucinda Bessa, pela sua paciência e disponibilidade, e por me ter sempre apoiado apesar de tudo. Sei que não fui o aluno mais fácil de acompanhar e não podia ter esperado melhor orientadora.

Quero também agradecer ao Instituto Egas Moniz por estes 5 anos felizes, que me permitiu formar-me para a profissão de dentista que desejava seguir, e que me permitiram constituir uma nova família.

Ao meu parceiro de clínica Allan, obrigado por tudo, és uma das pessoas que me ajudaram a melhorar como dentista, e ser-te-ei sempre grato.

Obrigado também ao meu segundo colega de quarto Antoine, estes 5 anos não teriam sido os mesmos sem ti.

Obrigado aos meus pais que me deram a oportunidade de estudar o que eu queria fazer desde o início.

A todos os meus amigos que fiz neste contexto tão especial de estudar num país que não é o meu, o acolhimento foi fabuloso.

Por fim, obrigado a todos os meus professores dos últimos 5 anos que me ajudaram a tirar o máximo partido dos meus estudos.

Resumo

O microbioma oral pode ser definido como a comunidade de microrganismos que pode incluir bactérias, fungos, protozoários e archaea, mas também vírus, e que colonizam a cavidade oral e esses microrganismos integram biofilmes complexos e interdependentes que desempenham uma importante função fisiológica. O microbioma oral tem, portanto, um papel fundamental na manutenção de um ambiente oral saudável e um estado de eubiose, de equilíbrio, e que contribui para a homeostasia do hospedeiro. Qualquer alteração na composição e diversidade deste microbioma, normalmente pela integração de microrganismos patogénicos, pode levar a um estado de desequilíbrio, de disbiose, associado a um estado de patologia/doença.

O estudo dos microbiomas tornou-se possível e intensificou-se devido ao avanço das metodologias moleculares de sequenciação e ao aparecimento da metagenómica. A intensificação de estudos de metagenómica sobre o microbioma oral, evidenciou que o microbioma oral tem um papel importante em diversas patologias, que não só as doenças orais. De facto, a cavidade oral é uma porta de entrada para os sistemas respiratório e digestivo, e a sua elevada vascularização permite o contacto constante com os outros microbiomas do corpo humano. Assim, alterações no microbioma oral estão diretamente ligadas ao desenvolvimento de doenças orais comuns, tais como periodontite, gengivite e cárie dentária, mas podem também levar ao desenvolvimento de outras doenças sistémicas, afetando diferentes partes do corpo.

O objetivo desta revisão narrativa foi avaliar a influência do microbioma oral em determinadas doenças orais e gastrointestinais. Em particular, foi abordado o papel do microbioma oral nas seguintes doenças orais e esofágicas: cárie dentária, doença periodontal, peri-implantite, cancro orais, cancro esofágicos, esófago de Barret, e refluxo gastroesofágico. Para isso, foi feita uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science, tendo sido considerados artigos científicos publicados entre 2009 e 2023.

Palavras-chaves: microbioma oral; doenças orais; doenças esofágicas; refluxo gastroesofágico.

Abstract

The oral microbiome can be defined as the community of microorganisms that can include bacteria, fungi, protozoa and archaea, but also viruses, which colonize the oral cavity and these microorganisms form complex and interdependent biofilms that perform an important physiological function. Therefore, the oral microbiome plays a fundamental role in maintaining a healthy oral environment and a state of balance, eubiosis, which contributes to the host's homeostasis. Any alteration in the composition and diversity of this microbiome, usually due to the integration of pathogenic microorganisms, can lead to a state of imbalance, dysbiosis, associated with a state of pathology/disease.

The study of microbiomes has become possible and has intensified due to advances in molecular methodologies and sequencing and the emergence of metagenomics. The increase of metagenomics studies on the oral microbiome has shown that the oral microbiome plays an important role in various pathologies, not just oral diseases. In fact, the oral cavity is a gateway to the respiratory and digestive systems, and its high vascularization allows it to be in constant contact with the other microbiomes of the human body. Thus, alterations in the oral microbiome are directly linked to the development of common oral diseases such as periodontitis, gingivitis and dental caries, but can also lead to the development of other systemic diseases affecting different parts of the body.

This narrative review aimed to evaluate the influence of the oral microbiome on certain oral and gastrointestinal diseases. In particular, the role of the oral microbiome in the following oral and esophageal diseases was addressed: dental caries, periodontal disease, peri-implantitis, oral cancers, esophageal cancers, Barret's esophagus, and gastroesophageal reflux. For this purpose, a bibliographic search was conducted in the Pubmed, Scopus and Web of Science databases, considering scientific articles published between 2009 and 2023.

Keywords: oral microbiome; oral diseases; oesophageal diseases; gastro-oesophageal reflux.

Índice geral

I. INTRODUÇÃO.....	13
II. OBJETIVO.....	15
III. DESENVOLVIMENTO.....	17
1. Microbioma no ser humano, tecnologias e métodos para o seu estudo.....	17
1.1 Definição e função do microbioma humano.....	17
1.2 Microbiota vs Microbioma.....	18
1.3 Microbioma humano e “ <i>The Human Microbiome Project</i> (HMP)”....	18
1.4 Métodos para o estudo do microbioma.....	19
2. Microbioma oral.....	21
2.1 Disbiose do microbioma oral: as diferenças entre um estado saudável e um estado patológico.....	21
2.2 Distinções entre os vários nichos da cavidade oral.....	22
3. Doenças orais.....	27
3.1 Cárie dentária.....	27
3.2 Doença periodontal.....	31
3.3 Peri-implantite.....	36
3.4 Cancro oral.....	40
4. Doenças esofágicas.....	45
4.1 Cancro esofágico.....	45
4.2 Esófago de Barrett.....	47
4.3 Refluxo gastroesofágico.....	49
IV. CONCLUSÃO.....	51
V. BIBLIOGRAFIA.....	53

Índice de Tabelas

Tabela 1. Código e classificação ICDAS II.....	28
---	----

Índice de Figuras

Figura 1. Nove locais anatómicos da cavidade oral usados para caracterização do microbioma oral no projeto HMP (Gao et al., 2018).....	23
Figura 2. Formação de um biofilme cariogénico e interações hospedeiro-patógeno (em <i>S. mutans</i>) (Lemos et al., 2019).....	29
Figura 3. <i>P. gingivalis</i> induz a disbiose, prejudicando as defesas inatas do hospedeiro e promovendo respostas inflamatórias nas células fagocíticas (Lamont et al., 2018).....	33
Figura 4. As interações reforçadas reciprocamente entre disbiose e a inflamação conduzem a periodontite crónica (Lamont et al., 2018).....	35

Lista de siglas

HMP – *Human Microbiome Project*

NIH – *National Institute of Health*

ICDAS – *International Caries Detection and Assessment System*

FCG – Fluido Crevicular Gengival

TNF – Fator de Necrose Tumoral

COCE – Carcinoma Oral das Células Escamosas

HPV – Papilomavírus Humano

LPS – Lipopolissacarídeos

CCEE – Carcinoma das Células Escamosas Esofágicas

ACE – Adenocarcinoma do Esófago

DRGE – Doença do Refluxo Gastroesofágico

IBP – Inibidores da Bomba de Protões

I INTRODUÇÃO

Desde o nascimento, o corpo humano é exposto a uma grande variedade de microrganismos, tais como bactérias, protozoários, fungos e archaea, assim como vírus, que o colonizam. Num estado de saúde, esta população microbiana vive em harmonia com o seu hospedeiro numa relação simbiótica conhecida como eubiose ou homeostase (Redford et al., 2012).

O termo "microbioma" foi introduzido pela primeira vez pelo microbiologista americano Joshua Lederberg para definir a totalidade dos organismos num ecossistema e, por extensão, a totalidade dos seus genes (Peterson et al., 2009). Estes numerosos microrganismos desempenham um papel fundamental em muitas funções importantes do corpo humano, desde a absorção e digestão de nutrientes até ao desenvolvimento do sistema imunitário e à proteção contra agentes patogénicos (Blum, 2017).

No entanto, quando o microbioma humano é perturbado e a homeostase é interrompida, normalmente pela integração de microrganismos patogénicos, isso pode levar a um estado de desequilíbrio, de disbiose, e que está associado ao desenvolvimento de várias doenças (Khanna & Tosh, 2014).

Desde há vários anos, graças à evolução dos métodos de sequenciação genética, o microbioma humano tem sido um campo de investigação muito estudado, com o objetivo de compreender melhor o impacto que a sua estabilidade pode ter na saúde e como a disbiose desse microbioma, quando a homeostasia é perturbada, pode estar na origem do desenvolvimento de várias patologias.

O exemplo do microbioma oral reflete a complexidade do microbioma humano; de facto, o microbioma oral é essencial para a manutenção da saúde oral e, ao mesmo tempo, tem um papel crucial também na etiologia e progressão de várias patologias orais, como a cárie dentária, a gengivite, a periodontite, a peri-implantite entre outras (Wade, 2013).

II OBJETIVO

O objetivo desta revisão narrativa é apresentar uma visão geral do conhecimento atual sobre a influência do microbioma oral no desenvolvimento de patologias orais e esofágicas. Em particular, pretendeu-se abordar o papel do microbioma oral nas seguintes doenças orais e esofágicas: cárie dentária, doença periodontal, peri-implantite, cancro oral, cancro esofágico, esófago de Barrett, e refluxo gastroesofágico.

Para isso foi feita uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science, usando várias palavras-chave e combinações entre elas das quais se destacam: microbioma oral; doenças orais; doenças esofágicas; refluxo gastroesofágico. Foram consideradas as publicações científicas publicadas entre 2009 e 2023.

III DESENVOLVIMENTO

1. Microbioma no ser humano, tecnologias e métodos para o seu estudo

1.1 Definição e função do microbioma humano

Para compreender melhor o impacto que o microbioma oral pode ter na saúde, é necessário, em primeiro lugar, compreender o que é o microbioma humano.

Este pode ser definido como uma comunidade de microrganismos que colonizam várias partes do corpo humano, como a pele, o trato respiratório, a cavidade oral, o trato gastrointestinal ou o sistema urogenital (Manos, 2022).

Essa comunidade forma um ecossistema complexo e dinâmico que desempenha um papel importante na manutenção da saúde e da homeostasia do organismo (Lloyd-Price et al., 2016). Inclui fungos, leveduras, archaea, vírus, mas é composto maioritariamente por bactérias. Por exemplo, sabe-se que um adulto tem cerca de dez vezes mais células bacterianas do que células humanas (Zhang et al., 2018).

A maioria destas bactérias vive no trato gastrointestinal, o que faz dele o microbioma do nosso corpo sobre o qual dispomos de mais informação, tendo sido caracterizadas mais de 1000 espécies diferentes (Lloyd-Price et al., 2016). Estas bactérias ajudam-nos a digerir os alimentos, por exemplo, e estão intimamente ligadas à nossa saúde imunitária (Kogut et al., 2020). O nosso corpo fornece aos microrganismos um ambiente seguro e nutrientes para crescerem e, em troca, as bactérias residentes fornecem ao organismo humano os benefícios necessários para o nosso desenvolvimento normal.

Centenas de milhares de anos de coexistência simbiótica fizeram com que as funções desses microrganismos sejam, hoje em dia, indispensáveis para nós. No entanto, é importante manter uma situação de homeostase; de facto, um desequilíbrio no microbioma intestinal (disbiose), por exemplo, pode levar ao desenvolvimento de várias doenças, como infeções entéricas, cancro colorrectal, doença inflamatória intestinal, síndrome do intestino irritável e até obesidade (Ganji et al., 2016).

O microbioma, seja qual for a sua localização no corpo humano, é específico para cada indivíduo e varia de acordo com diversos fatores, como alimentação, idade, ambiente e higiene, entre outros (Blum, 2017).

1.2 Microbiota vs microbioma

Microbioma e microbiota são dois termos intimamente relacionados e que frequentemente são usados, erradamente, como sinónimos para referir todos os microrganismos que vivem dentro e sobre o corpo humano, incluindo bactérias, fungos, protozoários ou archaea e até entidades não vivas como os vírus (Avila et al., 2009).

O termo microbioma, no entanto, é um termo mais abrangente e completo. Concretamente, o microbioma, e segundo a definição recente proposta por Berg e colaboradores (Berg et al., 2020), inclui a microbiota (a comunidade de microrganismos) e vírus, mas também elementos estruturais como proteínas polissacarídeos, ácidos nucleicos que compõem uma matriz extracelular produzida por esses próprios microrganismos e que os envolve e protege num biofilme. Portanto, inclui os microrganismos planctónicos, mas também microrganismos organizados em biofilme. Fazem parte também do microbioma, os vírus e DNA extracelular, assim como metabolitos e moléculas de sinalização produzidas pela microbiota. Isso significa que a microbiota está incluída no microbioma. A diferença, embora importante para definir, é mais semântica do que factual, pois na verdade, qualquer que seja o termo usado, genericamente está-se a falar de comunidades microbianas.

Adicionalmente, ainda há outro termo relacionado, que é o termo metagenoma e que se refere ao genoma destes microrganismos que compõem o microbioma.

1.3 Microbioma humano e “The *Human Microbiome Project*” (HMP)

Falar do microbioma humano, pressupõe falar do *Human Microbiome Project* (HMP). Lançado em 2007 pelo NIH (*National Institute of Health*), foi uma das primeiras iniciativas de grande envergadura para estudar o microbioma humano. E isso contribuiu muito para desenvolver o nosso conhecimento sobre os diferentes tipos de microbiomas do corpo humano. Este projeto foi lançado na sequência de uma reunião internacional em Paris, em 2005, sobre o interesse de definir com maior precisão o microbioma intestinal humano (Proctor et al., 2019). Na sequência desta reunião, o NIH decidiu lançar o HMP com o objetivo de estudar o microbioma humano de forma mais ampla em quatro locais anatómicos: o trato gastrointestinal, a boca, a vagina e a pele.

O objetivo primordial era provar que era possível caracterizar o microbioma humano suficientemente bem para estudar as suas variações e identificar melhor a sua potencial influência no desenvolvimento de patologias (Peterson et al., 2009).

O HMP foi realizado ao longo de 10 anos em duas fases; a primeira fase, durante os primeiros 5 anos, concluiu, entre outras coisas, que a composição do microbioma não estava especificamente ligada ao fenótipo do indivíduo (Proctor et al., 2019).

Este postulado serviu então de base para a segunda fase do projeto (iHMP), que visava analisar as interações entre o microbioma e o seu hospedeiro através do estudo de vários elementos, como a resposta imunitária, o próprio metabolismo do hospedeiro ou a atividade molecular em constante evolução, a fim de obter uma visão mais global das interações dinâmicas entre o hospedeiro e o seu microbioma ao longo do tempo (Proctor et al., 2019). Este projeto foi um verdadeiro catalisador para o desenvolvimento e caracterização dos diferentes microbiomas que colonizam o corpo humano.

1.4 Métodos para o estudo do microbioma

Todos os estudos realizados sobre o microbioma humano foram possíveis graças ao desenvolvimento considerável de tecnologias de sequenciação de nova geração e que vieram permitir a análise metagenómica das comunidades microbianas.

Para seguir a evolução dos métodos de análise do mundo microbiano, podemos remontar a Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723), um naturalista amador que foi um dos primeiros a observar uma colónia microbiana depois de ter raspado os dentes e analisado a amostra com um microscópio por ele próprio fabricado (Pray et al. 2013). Só cerca de dois séculos mais tarde, com o advento de microscópios mais avançados, é que pudemos realmente analisar os microrganismos que nos rodeiam. A microbiologia foi fortemente influenciada pelos trabalhos de Koch e Pasteur durante cerca de um século, as suas observações foram efetuadas principalmente em organismos isolados manipulados sobre a forma de culturas puras, o que conduziu a observações importantes nos domínios da saúde e do ambiente (Williamson & Yooseph, 2012). No entanto, verificou-se que certas bactérias observadas ao microscópio em colónias de bactérias não eram posteriormente encontradas quando se tentava cultivá-las. Foi nos anos 1980 que alguns microbiólogos começaram a virar-se para as técnicas independentes da cultura, graças, nomeadamente,

ao desenvolvimento do método de sequenciação do gene 16S rARN por Carl Woese (Berg et al., 2020).

A sequenciação do gene 16S rARN é um método de sequenciação de ADN utilizado para caracterizar a diversidade bacteriana de uma comunidade de microrganismos presentes numa amostra. É por isso uma técnica de metagenómica, comumente designada de técnica de sequenciação metagenómica de amplicão 16S. Uma outra variante idêntica desta metodologia visa o gene 18S rARN presente nos fungos. A sequenciação de amplicão consiste na extração de ADN, amplificação por PCR usando primers universais para os genes alvo - 16S rARN (nas bactérias) ou 18S rARN (nos fungos), e posterior sequenciação (Popovic & Parkinson, 2018).

A análise bioinformática dos dados obtidos vai permitir obter uma classificação taxonómica e filogenética das bactérias ou fungos presentes na amostra. Existe ainda outro método de sequenciação metagenómica mais complexo e avançado, que é a sequenciação metagenómica shotgun. Ao contrário das técnicas de sequenciação tradicionais, que visam um único gene de cada vez, a análise metagenómica shotgun permite sequenciar todos os genes simultaneamente. O princípio envolve a extração do ADN total da amostra, a sua fragmentação e a sequenciação individual de cada fragmento utilizando técnicas de sequenciação de elevado rendimento (Illumina ou PacBio). A sequenciação obtida é então analisada bioinformaticamente através de montagem (*assembly*) e de anotação (*annotation*) para identificar os genes e consequentemente identificar os organismos presentes na amostra. Permite assim caracterizar a composição e a diversidade do microbioma de uma amostra e determinar as funções genéticas e metabólicas associadas a cada espécie (Liu et al., 2021). O desenvolvimento destas técnicas de análise contribuiu grandemente para a caracterização dos vários microbiomas do corpo humano e para a compreensão do papel que podem desempenhar tanto a nível fisiológico como patológico.

2. Microbioma oral

2.1 Disbiose do microbioma oral: as diferenças entre um estado saudável e um estado patológico

Atualmente, é consensual na comunidade científica que as interações entre os microrganismos que colonizam o corpo humano e o sistema imunitário são essenciais para manter a homeostasia geral do organismo (Manos, 2022).

Estudos preliminares neste domínio centraram-se na procura de uma comunidade microbiana que estaria presente em todos os indivíduos saudáveis e que permitiria, assim, caracterizar um microbioma oral saudável, facilitando a identificação das bactérias responsáveis pelo desenvolvimento de diferentes condições patológicas (Lloyd-Price et al., 2016). No entanto, rapidamente se tornou claro que esse conjunto de bactérias não era identificável porque a diversidade das comunidades bacterianas entre vários indivíduos saudáveis estudados era demasiado grande (Proctor et al., 2019).

A ideia de caracterizar um microbioma oral "saudável" como um conjunto ideal de microrganismos específicos foi, portanto, abandonada. Mas foi avançada uma outra hipótese, baseada no facto de os indivíduos saudáveis possuírem um *core* bacteriano funcional que assegura funções metabólicas complementares e por vezes necessárias, específicos de diferentes nichos do corpo humano, mas os microrganismos envolvidos diferem de um indivíduo para outro (Lloyd-Price et al., 2016).

Em suma, não é possível encontrar exatamente o mesmo microbioma oral entre dois adultos saudáveis, mas existem semelhanças nas bactérias mais abundantes, e na presença de um conjunto de bactérias diferentes, mas que estão em equilíbrio formando uma relação simbiótica com o corpo humano. No entanto, existem alguns géneros bacterianos dominantes presentes na cavidade oral, tais como: *Gemella*, *Fusobacterium*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella* e *Actinomyces* (Vasapolli et al., 2019).

Em geral, o microbioma oral sofre perturbações físicas e químicas diariamente através da ingestão de alimentos e das medidas de higiene pessoal, mas apesar disso, as relações comensais não se perdem e o microbioma oral mantém-se relativamente estável. Contudo há situações em que a composição do microbioma se torna de tal forma desequilibrada, que propicia o aparecimento e desenvolvimento de doenças. Este desequilíbrio designado por disbiose ocorre geralmente na sequência de perturbações ambientais significativas que desestabilizam o equilíbrio entre o microbioma e o

organismo hospedeiro (Radaic & Kapila, 2021). Essas perturbações podem ser causadas por vários fatores, incluindo a alimentação, a falta de higiene, tabagismo, etc.

Uma alimentação desequilibrada, demasiado rica em carboidratos ou lípidos, pode favorecer o crescimento de certas bactérias, conduzindo a um desequilíbrio do microbioma oral e a uma perda de homeostasia (Santonocito et al., 2022). Igualmente, uma higiene oral inadequada, sem escovagem regular ou sem uso do fio dentário desequilibram o microbioma normal.

O tabagismo e o consumo de álcool são alguns dos fatores mais importantes no desenvolvimento de patologias orais, uma vez que favorece o crescimento de bactérias patogénicas (Chattopadhyay et al., 2019).

Certas doenças como a diabetes, a xerostomia ou as infeções orais recorrentes podem também perturbar a homeostasia do microbioma oral, bem como alguns fármacos, como antibióticos ou imunossuppressores, cujos efeitos secundários podem alterar a composição bacteriana da cavidade oral (Kuang et al., 2018).

Outros fatores incluem o stress crónico e a idade, que, ao influenciarem o sistema imunitário, podem também impactar a composição do microbioma (Q. Jiang et al., 2019). É importante salientar que estes fatores (que não são os únicos) estão frequentemente ligados e influenciam-se mutuamente no desenvolvimento da disbiose. O microbioma oral disbiótico, para além de influenciar o desenvolvimento de patologias orais como a cárie dentária, as doenças gengivais e periodontais pode influenciar uma série de patologias sistémicas ao longo do eixo microbioma oral-intestino-cérebro, tais como doenças auto-imunes e mediadas por inflamação, desnutrição, obesidade e perturbações neurológicas (Dinan & Cryan, 2017).

2.2 Distinções entre os vários nichos da cavidade oral

A cavidade oral pode ser dividida em vários nichos, cada um dos quais alberga microbiomas distintos, dependendo da sua composição anatómica. De facto, os tecidos duros e moles, da boca não têm a mesma comunidade microbiana porque, devido as suas distintas características físico-químicas, vão permitir a adesão de microrganismos diferentes; cada nicho tem, portanto, um ecossistema único (Zhang et al., 2018).

No projeto HMP (já mencionado anteriormente), a caracterização e a investigação do microbioma oral foi realizada através de perfis baseados na sequenciação do gene 16S

rRNA através da recolha de amostras em 9 locais anatómicos da cavidade oral (Figura 1), representando mais da metade dos sítios analisados em todo o corpo humano (18 para as mulheres e 15 para os homens), o que demonstra claramente a grande variedade de microbiomas em diferentes nichos da cavidade oral (Gao et al., 2018).

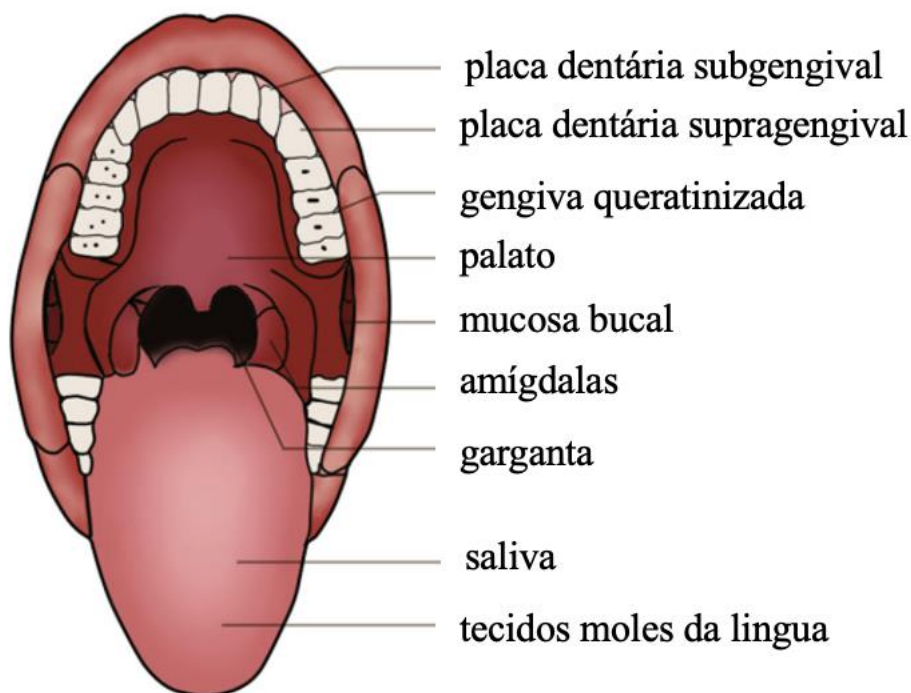


Figura 1. Nove locais anatómicos da cavidade oral usados para caracterização do microbioma oral no projeto HMP (adaptado de Gao et al., 2018).

A análise das amostras colhidas destes nove nichos demonstrou uma grande diversidade microbiana, sendo que se verificou predominância de *Streptococcus* spp. na maioria dos nichos, uma elevada presença de *Pasteurellaceae* não-classificada na mucosa oral, de *Corynebacterium* spp. na placa supragengival e de *Prevotella* spp. na placa subgengival (Li et al., 2013). Assim, cada nicho tem um microbioma altamente diversificado que ainda não foi possível caracterizar com precisão na totalidade; vários estudos tem vindo a contribuir para se atinja esse objetivo.

Além disso, existem também diferenças entre cada indivíduo, seja num estado de equilíbrio, onde a homeostase é mantida, ou quando o microbioma oral está num estado de disbiose. De facto, a alimentação, a idade, a genética, o ambiente ou os hábitos (tabaco, álcool, drogas, medicamentos, etc.) implica necessariamente disparidades no

desenvolvimento das comunidades bacterianas entre cada uma delas (Dewhirst et al., 2010).

A saliva não é propriamente um nicho, uma vez que está em contacto com todo o interior da cavidade oral, mas não é desprovida de comunidades microbianas, bem pelo contrário, contém mais de 10^9 microrganismos/mL e pode ser definida como a fase planctónica do microbioma oral. Atua como a principal fonte de colonização bacteriana para todas as áreas da cavidade oral, influenciando a composição bacteriana dos diferentes nichos presentes (e também do trato gastro-esofágico; estima-se que cerca de 5g de bactérias são engolidas todos os dias através da deglutição) (Arweiler & Netuschil, 2016).

A maioria das bactérias encontra-se, em maior ou menor quantidade, em múltiplos nichos; é raro encontrar uma espécie bacteriana num único nicho (Hall et al., 2017).

Existem também comunidades fúngicas na cavidade oral, agrupadas sobre o termo "micobioma oral", o mais comum são as espécies do género *Candida*, que se encontram em mais de 70% dos doentes saudáveis. Dentro deste grupo, a mais comum é a *Candida albicans*, com uma prevalência de 40-80% em pessoas saudáveis, seguida da *Candida glabrata*. Estas duas espécies podem também tornar-se patogénicas em determinadas condições (Radaic & Kapila, 2021).

No que diz respeito aos tecidos moles, é importante fazer uma distinção entre os diferentes nichos; existe a mucosa "de revestimento" (pavimento da boca, bochechas e palato mole) composta por epitélio não queratinizado, a mucosa mastigatória (região gengival e palato duro), que é composta por epitélio queratinizado, e a mucosa especializada do dorso da língua, composta por papilas e estruturas específicas (Yamashita & Takeshita, 2017).

Certos epitélios terão, portanto, uma renovação escamosa mais frequente (interior das bochechas, palato) do que outros tecidos moles com uma superfície mais "estável", como a língua. Assim, as bochechas e o palato têm apenas uma camada de bactérias que se renova regularmente, ao passo que o microbioma da língua é constituído por várias camadas de bactérias que têm tempo para se acumular, o que faz com que a língua tenha uma comunidade bacteriana maior e mais diversificada.

Um estudo realizado em 2017 mostrou que a língua era o nicho da cavidade oral que continha o microbioma com mais bactérias em comum entre diferentes indivíduos, sendo principalmente pertencentes aos géneros *Streptococcus*, *Actinomyces* e *Fusobacterium*, e que se encontravam na parte do dorso da língua (Hall et al., 2017).

A superfície irregular da língua é também um ambiente favorável ao crescimento de microrganismos anaeróbios, que podem influenciar o aparecimento da halitose. Embora este não seja o único nicho da cavidade oral envolvido no desenvolvimento da halitose e, em geral, o aparecimento de disbiose num nicho pode levar a uma perda de homeostasia nos outros nichos, no entanto, é importante manter uma boa higiene da língua, pois é um ambiente favorável ao desenvolvimento de disbiose microbiana (Zhang et al., 2018).

Relativamente aos tecidos duros, também é necessário distinguir as localizações, concretamente as microfissuras dentárias e a placa supragengival e a placa subgengival. As comunidades bacterianas são confrontadas com um pH e uma temperatura muito diferentes quando observamos a placa bacteriana que se estende abaixo da junção amelo-cementar ao longo da raiz. O ambiente é necessariamente mais anaeróbio e está também muito menos exposto à saliva, embora continue a haver comunicação através do fluido crevicular. Isto implica necessariamente o desenvolvimento de comunidades bacterianas diferentes (Zijnge et al., 2010).

3. Doenças orais

3.1 Cárie dentária

No mundo da saúde oral, a cárie dentária é um dos inimigos mais persistentes e generalizados, sendo considerada como a doença não transmissível mais comum (Zewdu et al., 2021).

Num estudo sobre as doenças mais comuns; *The Global Burden of Disease Study*, a cárie dentária não tratada ocupa o primeiro lugar em termos de prevalência entre as 291 condições médicas estudadas, com mais de 2,5 mil milhões de pessoas afetadas em todo o mundo (Kassebaum et al., 2015).

Embora a prevalência tenha diminuído consideravelmente nos países desenvolvidos ao longo das últimas décadas, graças a programas de prevenção cada vez mais desenvolvidos, dirigida sobretudo aos jovens (educação para a saúde oral na escola), na maior parte do mundo, ainda não é esse o caso, principalmente devido à falta de recursos para a prevenção e ao acesso muito limitado das populações mais pobres aos cuidados de saúde. Assim, a cárie dentária, embora em grande parte evitável, continua a causar estragos na nossa boca, provocando dor, desconforto e perturbação da qualidade de vida.

A cárie dentária consiste numa lesão, inicialmente no esmalte, que, se não for tratada a tempo, progredirá para a dentina e, eventualmente, chegará à câmara pulpar, com consequências deletérias para a vitalidade do dente. Existem, portanto, várias fases de desenvolvimento da cárie de acordo com a classificação do *International Caries Detection and Assessment System* ICDAS (Tabela 1). Frequentemente é descrita de forma simplificada como um fenómeno físico-químico de desmineralização e remineralização, mas na realidade é um processo multifatorial (microbiologia, genética, imunologia, comportamento, ambiente) mais complexo (Struzycka Izabela, 2014).

Tabela 1. Critérios de avaliação da cárie dentária segundo o ICDAS.

Código	Descrição
0	Sem qualquer evidência de cárie
1	Primeira alteração visual do esmalte
2	Alteração visual distinta no esmalte
3	Degradação localizada do esmalte (sem sinais clínicos visuais de envolvimento da dentina)
4	Sombra escura subjacente da dentina
5	Cavidade distinta com dentina visível
6	Cavidade extensa e distinta com dentina visível

Vários estudos demonstraram que a cárie dentária se desenvolve num ambiente ácido, através da desmineralização do esmalte, quando a prevalência de microrganismos acidogénicos e acidúricos aumenta, causando assim um desequilíbrio na homeostase (Kutsch, 2014) (Armfield et al., 2013) (Watanabe et al., 2014) (Anderson et al., 2021).

O aumento de bactérias acidogénicas deve-se geralmente a uma dieta demasiado rica ou frequente em açúcar, porque o seu metabolismo provoca uma descida do pH, o que leva à seleção destes microrganismos acidogénicos em detrimento das bactérias orais benéficas como *Streptococcus mitis*, que, num ambiente saudável, contribui para a manutenção da estabilidade homeostática através de vários mecanismos, como a produção de compostos básicos, bacteriocinas e peróxido de hidrogénio, e que prefere um pH neutro (Qi & Kreth, 2017).

As bactérias acidogénicas produzem ácidos como subprodutos metabólicos, e estes ácidos atacam o esmalte dos dentes, desmineralizando-o (Tanner et al., 2018). E à medida que estas bactérias se acumulam, o microambiente torna-se cada vez mais anaeróbio, perturbando o equilíbrio homeostático. Assim, se este biofilme não for removido (através de higiene oral contínua), as condições microbianas deletérias vão se tornar persistentes na superfície do dente e levarão ao desenvolvimento de lesões cariosas.

A queda transitória do pH dura, em média, 30 minutos, pelo que se o consumo de açúcar for relativamente pouco frequente e espaçado no tempo, o seu impacto permanece mínimo, especialmente porque a cavidade oral está bem concebida, na medida em que a saliva desempenha um papel duplo de limpeza e tampão, permitindo que um pH neutro seja restabelecido rapidamente e que uma comunidade microbiana estável seja mantida no dente (Takahashi & Nyvad, 2011). Por outro lado, um indivíduo que consome regularmente alimentos açucarados ao longo do dia expõe constantemente os seus dentes a níveis elevados de acidez. As bactérias acidogénicas e acidúricas irão então estabelecer-

se permanentemente no biofilme dentário, causando disbiose neste, que assim adquire características particulares e que se passa a designar de biofilme cariogénico (Guo et al., 2015). Na Figura 2 estão ilustradas as alterações ecológicas e estruturais que acontecem aquando da formação do biofilme cariogénico.

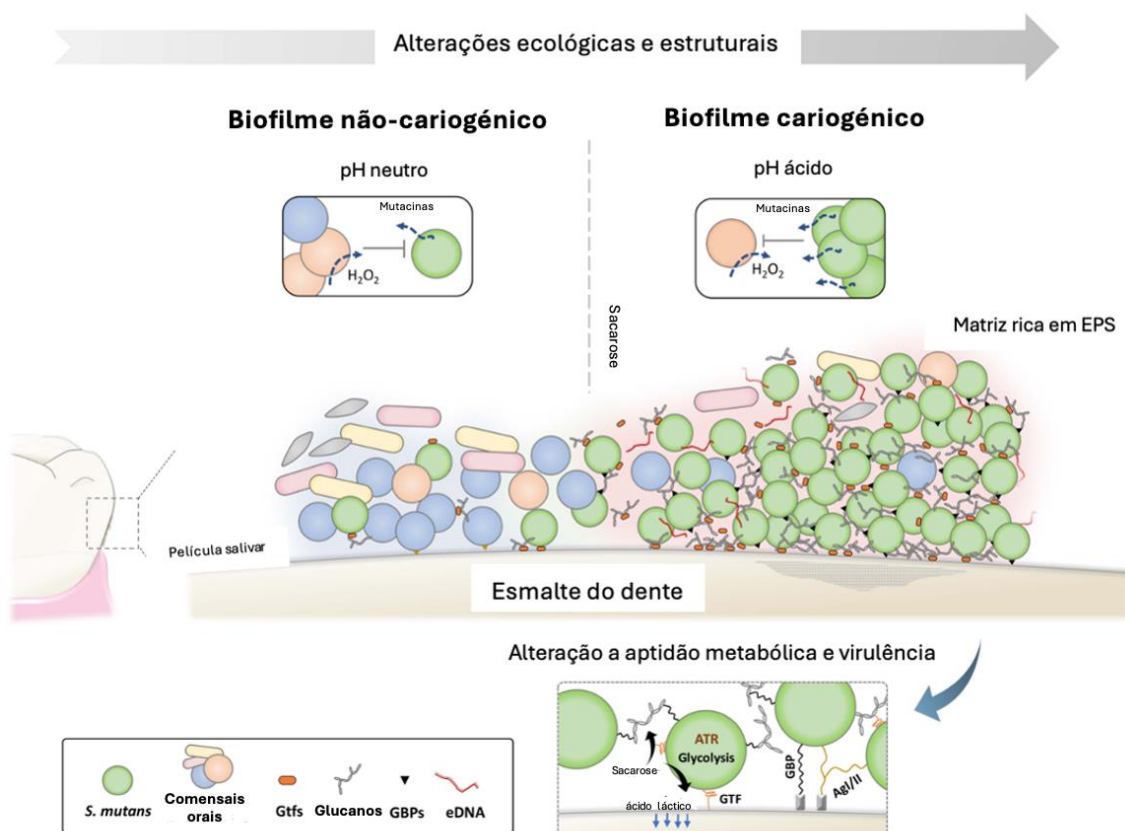


Figura 2. Formação de um biofilme cariogénico e interações hospedeiro-patógeno (*S. mutans*) (adaptado de Lemos et al., 2019).

É também necessário distinguir entre açúcares intrínsecos (naturalmente presentes nos alimentos) e extrínsecos (modificados e adicionados), uma vez que a sua carcinogenicidade não é a mesma. Os açúcares naturalmente presentes nos alimentos são mais difíceis de extrair através da mastigação e da dissolução na saliva do que os açúcares adicionados artificialmente (Sluik et al., 2016).

Da mesma forma, nem todos os açúcares são igualmente favoráveis ao desenvolvimento de cáries, mas os açúcares fermentáveis, como a glucose e a sacarose, são particularmente problemáticos.

Também foi estabelecido (embora seja difícil separar realmente um do outro) que a frequência do consumo de açúcar tem um impacto maior do que a quantidade de açúcar.

Durante muito tempo, pensou-se que a cárie dentária era uma doença infecciosa transmissível causada pela bactéria *Streptococcus mutans* (Simón-Soro & Mira, 2015). Por conseguinte, durante muitas décadas, a investigação sobre o tratamento centrou-se numa estratégia anti-*S. mutans* baseada num paradigma "1 agente patogénico, 1 doença", em que o objetivo era eliminar esta bactéria através de tratamentos antibacterianos tópicos (Simón-Soro & Mira, 2015). No entanto, graças ao desenvolvimento de técnicas de metagenómica, sabemos agora que estas bactérias, *S. mutans*, também estão presentes em sítios saudáveis onde não há cáries, ou que as cáries podem desenvolver-se na ausência de *S. mutans* (Marsh, 2018).

Embora os estudos mostrem que, efetivamente, *S. mutans* está frequentemente envolvido, devido à sua capacidade de fermentar a sacarose em ATP e ácido láctico como produto residual, contribuindo assim para a acidificação conducente ao desenvolvimento de cáries, sabemos que muitas outras bactérias estão presentes, como por exemplo, *Lactobacillus* spp. (já reconhecidos como patogénicos desde há alguns anos), mas também uma comunidade de bactérias não-estreptocócicas como *Bifidobacterium* spp., *Scardovia* spp., *Actinomyces* spp. e fungos como *Candida albicans* (E. Hajishengallis et al., 2017). Contudo, a composição microbiana pode diferir consoante a sua localização no dente. Estes microrganismos interagem uns com os outros de forma dinâmica para criar o biofilme cariogénico, e toda esta comunidade também varia à medida que a cárie progride no dente.

É agora aceite que a patogenicidade provém de uma comunidade bacteriana desequilibrada e não pode ser atribuída a uma única bactéria (Lamont et al., 2018). E, portanto, à luz do conhecimento atual sabe-se que o aparecimento de cáries é consequência da perda de homeostase da placa dentária, causada por um aumento substancial de bactérias acidogénicas normalmente presentes em quantidades menores, devido ao consumo excessivo de açúcar, e que pode ser agravado por vários fatores, como a má higiene oral, o consumo de tabaco ou a redução do fluxo salivar.

Em suma, é essencial limitar o consumo de açúcar. Neste sentido, a Organização Mundial de Saúde (OMS) emitiu em 2015 recomendações com o objetivo de limitar o consumo de açúcares adicionados a 5-10% da ingestão total de energia (WHO, 2015). É igualmente essencial manter uma boa higiene oral para prevenir as cáries.

3.2 Doença periodontal

Tal como a cárie dentária, a doença periodontal é uma das doenças mais comuns no mundo e é também uma das principais causas de perda de dentes (Kassebaum et al., 2014). A doença periodontal afeta os tecidos que suportam os dentes, em particular as gengivas, o osso alveolar e os ligamentos periodontais (Berglundh et al., 2018) e é frequentemente subestimada.

Engloba uma série de patologias consoante o grau de desenvolvimento, desde a gengivite, que consiste numa inflamação relativamente ligeira e reversível das gengivas, até às formas mais graves de periodontite, caracterizada pela destruição das estruturas de suporte dentário, com perda óssea. Estas condições têm um impacto considerável na qualidade de vida das pessoas afetadas, alterando a sua mastigação, fonética, autoestima e, por vezes, até a sua vida social.

A doença periodontal é o resultado de uma interação complexa entre fatores comportamentais, ambientais e um importante componente microbiológico (Kwon et al., 2021).

Os últimos avanços da investigação permitiram compreender melhor os desenvolvimentos subjacentes a estas doenças e, tal como noutras patologias do trato gastrointestinal, a influência do microbioma oral que, quando comensal, equilibrado e simbiótico, ajuda a manter a saúde oral, mas que, quando sofre uma disbiose, se transforma num ambiente potencialmente nocivo (Curtis et al., 2020).

Assim, a doença periodontal é induzida por diversas comunidades microbianas que desencadeiam uma resposta inadequada e destrutiva no organismo através de um mecanismo conhecido como sinergia polimicrobiana e disbiose (Lamont et al., 2018). Foi estabelecido que os microrganismos da mesma comunidade interagem entre si de forma sinérgica, seja para desenvolver a colonização, a persistência bacteriana ou a patogenicidade.

No caso da doença periodontal, foi proposta uma hipótese no final dos anos 80, que implica que o desenvolvimento da patogenicidade estava inicialmente ligado a um complexo microbiano subgengival sinérgico composto por bactérias anaeróbias Gram-negativas, tais como *Prevotella intermedia*, *Prevotella micros*, *Prevotella nigrescens* e *Fusobacterium nucleatum* nomeado “Orange complex”, e que, com a evolução da doença, se transformou numa tríade de bactérias conhecida como “red complex”, composta por *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*, estas bactérias

são conhecidas como "patobiontes" em vez de "patogénicas" porque também estão presentes, em quantidades menores, no microbioma de indivíduos saudáveis (Shaikh et al., 2018).

No entanto, as hipóteses evoluíram gradualmente ao longo das últimas três décadas e ainda hoje são objeto de debate. Parece ser mais realista perspetivar a influência de outras bactérias e não apenas desta tríade. Por exemplo, estudos moleculares modernos independentes de cultura trouxeram à luz novos agentes patobiontes, tais como *Filifactor alocis* (bactéria Gram-positiva, anaeróbia estrita), *Peptonanaerobacter stomatis*, espécies dos géneros *Prevotella*, *Desulfobulbus*, e *Synergistes* bem como muitos outros microrganismos (Abusleme et al., 2013).

O mecanismo pelo qual estas comunidades bacterianas levam à formação de um biofilme disbiótico é ainda objeto de investigação. Parece que isso se deve a alterações das condições ambientais: pH, concentração de oxigénio, maior ou menor disponibilidade de nutrientes e presença ou ausência de mediadores inflamatórios (Rosier et al., 2014). Esta transformação de uma associação simbiótica entre o hospedeiro e o microbioma para uma associação patogénica ocorre durante um longo período. Em primeiro lugar, isto implicaria a colonização da placa gengival por certos "*keystone pathogens*" (microrganismos que, apesar da sua fraca presença numérica, desempenham um papel decisivo no desenvolvimento da patogenicidade), nomeadamente *Porphyromonas gingivalis* (Hajishengallis et al., 2011). Esta bactéria possui um certo número de capacidades essenciais para promover um estado disbiótico; é capaz de atuar sobre a resposta imunitária e de a manipular em seu benefício; produz moléculas capazes de ativar o recetor do complexo *Toll-like 2* (TLR2-TLR9) e secretar exoenzimas gingipains, que atuam sobre o complemento C5 para gerar o ligando C5a em grandes quantidades, que por sua vez se liga ao recetor do complemento C5a (C5aR1), promovendo uma resposta inflamatória através da PI3K (Figura 3) (Lamont et al., 2018).

Porphyromonas gingivalis é, portanto, capaz de coativar TLR2 e C5aR1 em neutrófilos ou macrófagos, o que impede MyD88 de iniciar a atividade bactericida das células fagocitárias, promovendo assim uma resposta pró-inflamatória e antifagocitária (Maekawa et al., 2014). Isto cria um ambiente ideal para a progressão da patogenicidade através da resposta inflamatória, enquanto impede o organismo de reagir eficazmente através da sua atividade bactericida contra a colonização de agentes patogénicos.

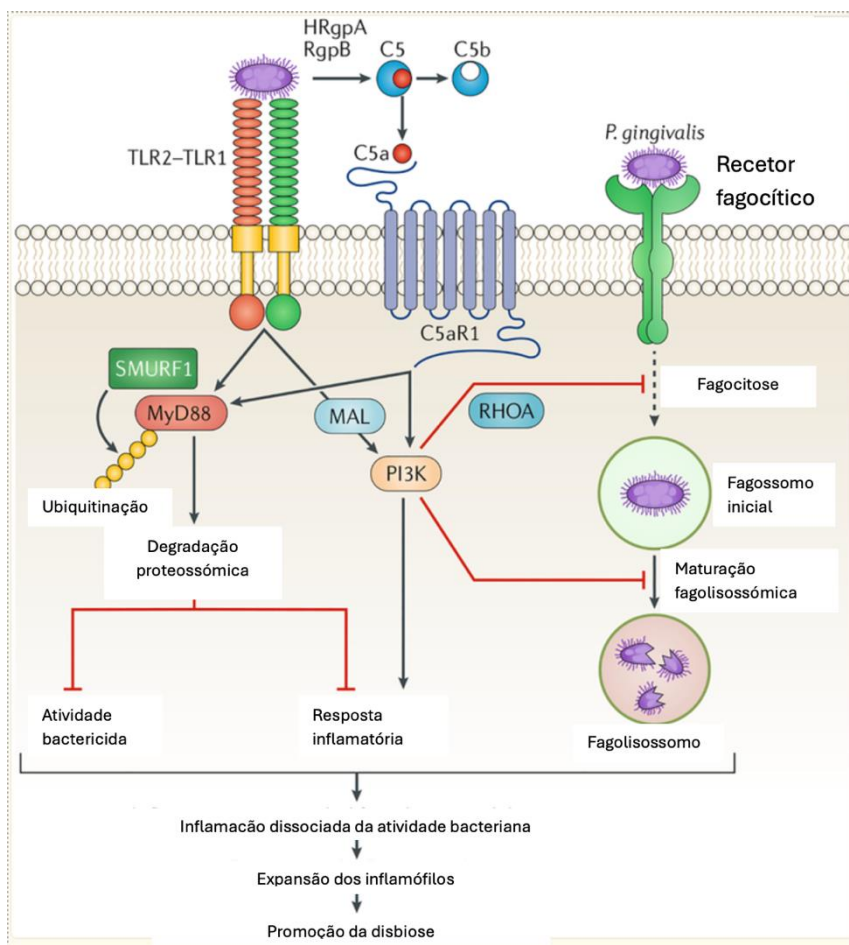


Figura 3. *P. gingivalis* induz a disbiose, prejudicando as defesas inatas do hospedeiro e promovendo respostas inflamatórias nas células fagocíticas (adaptado de Lamont et al., 2018).

Estudos demonstraram que a inibição química de C5aR1 ou TLR2 em ratinhos previne que *P. gingivalis* desencadeie disbiose, levando ao aparecimento de periodontite (Mackawa et al., 2014) (Hajishengallis et al., 2011) (Makkawi et al., 2017). No entanto, é necessária mais investigação para descobrir se pode ser adaptada aos seres humanos como terapia.

Além disso, *P. gingivalis* parece ter também a capacidade de suprimir seletivamente a expressão de IL-8 e de T helper 1; quimiocinas envolvidas no recrutamento de neutrófilos nas células do epitélio juncional gengival, que são muito importantes para a manutenção homeostática do periodonto (Abdulkareem et al., 2023). Esta capacidade de bloquear as quimiocinas pode assim enfraquecer a vigilância imunitária durante a formação de um biofilme disbiótico.

No entanto, tal como acontece com qualquer alteração de um microbioma saudável para um microbioma disbiótico, é demasiado restritivo considerar uma única

bactéria como o fator desencadeante. Por exemplo, estreptococos orais do grupo Mitis (que permitem a colonização das superfícies dentárias através da expressão de adesinas), foram durante muito tempo considerados como sendo apenas comensais. Contudo, os cientistas aperceberam-se de que uma coinfeção de *Streptococcus mitis* com *P. gingivalis* induzia uma maior perda óssea do que uma infeção com apenas *P. gingivalis*, e que uma monoinfeção de *S. mitis* não mostrava sinais de desenvolvimento patológico (Whitmore & Lamont, 2011). Assim, a presença de *P. gingivalis* (e de outros "keystone pathogens") parece ser necessária para o aparecimento da doença periodontal, mas é toda uma comunidade microbiana (não necessariamente a mesma entre indivíduos diferentes, ou dentro do mesmo indivíduo entre vários locais na cavidade oral) que trabalha sinergicamente para estabelecer condições conducentes à disbiose.

Portanto, a origem da inflamação e, consequentemente, a perda de homeostase, pode ser explicada pela colonização do biofilme por vários "keystone pathogens" (sendo *P. gingivalis* o mais conhecido), que irá influenciar o recrutamento de outros agentes patogénicos em grandes quantidades, desequilibrando o equilíbrio homeostático e provocando uma resposta pró-inflamatória nos tecidos gengivais (Figura 4) (Lamont et al., 2018). É esta resposta inflamatória que permite que os microrganismos patogénicos se desenvolvam no biofilme subgengival. Parece que os nutrientes libertados pela destruição dos tecidos, tais como componentes que contêm hemoglobina, fontes de aminoácidos e ferro, ou colagénio degradado, são implantados no biofilme subgengival através do fluido crevicular gengival (FCG), e influenciam o crescimento de bactérias proteolíticas e assacarolíticas com a capacidade de se ligarem ao ferro (Hajishengallis, 2014), favorecendo ainda mais o recrutamento de certas bactérias patogénicas e mais propensas a causar inflamação em detrimento de outras bactérias, promovendo assim este estado de disbiose e de inflamação.

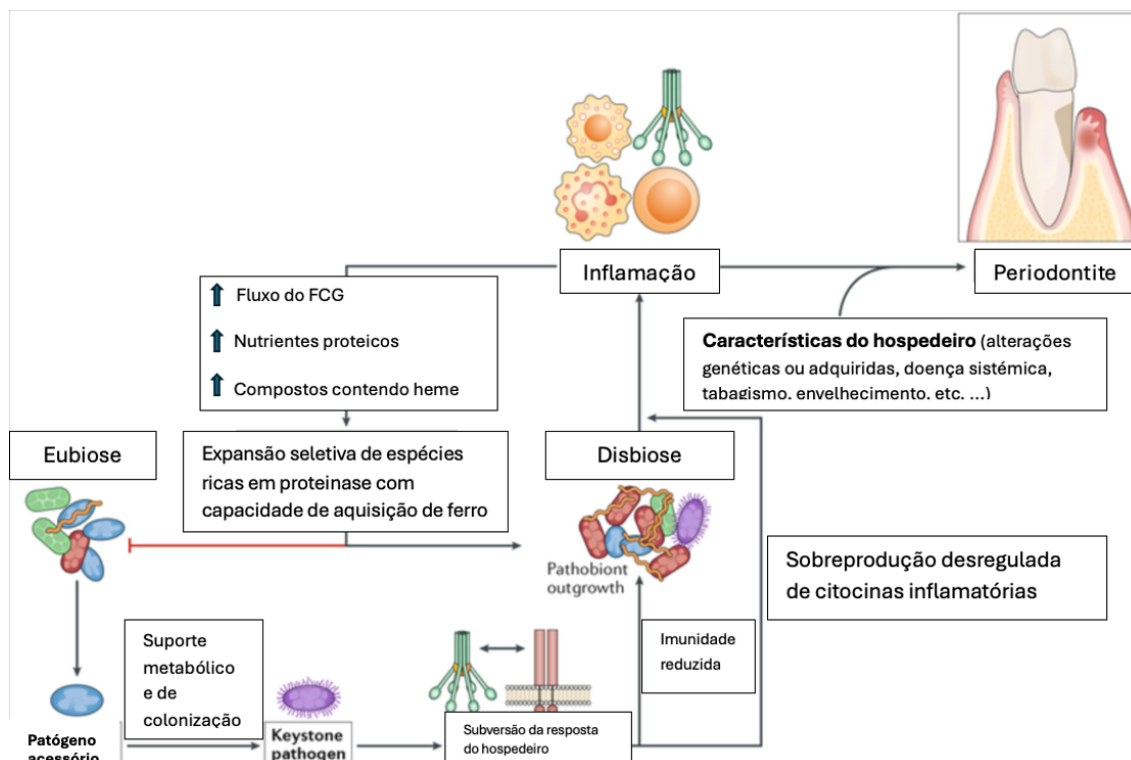


Figura 4. As interações reforçadas reciprocamente entre disbiose e a inflamação conduzem a periodontite crônica (adaptado de Lamont et al., 2018).

Embora seja difícil dizer se a inflamação é a causa ou a consequência da perda de homeostasia, parece claro que ambas se influenciam mutuamente no desenvolvimento de uma situação patológica deletéria.

Quando a situação pró-inflamatória e antifagocitária se instala, o organismo, em resposta, começa a ativar excessivamente os osteoclastos, o que leva a um aumento da reabsorção óssea (Hienz et al., 2015).

A interação entre o microbioma degradado e as células do hospedeiro conduzirá à secreção de uma onda inicial de citocinas, que contribuirá depois para o círculo vicioso de recrutamento e ativação desregulada de células imunitárias específicas, tais como macrófagos e neutrófilos, para a área de infecção subgengival, e depois para a cascata de citocinas, como os representantes da família das interleucinas; IL-1 e IL-6, bem como o fator de necrose tumoral (TNF), que podem ativar os osteoclastos, amplificando a resposta pró-inflamatória e a destruição dos tecidos (Silva et al., 2015). A estimulação destas citocinas levará também à ativação de vias de sinalização e à maturação de certas células estromais mesenquimais que estão envolvidas na regulação da formação e da reabsorção óssea (Pan et al., 2019).

Certas citocinas são também capazes de ativar enzimas como as metaloproteinases da matriz, que degradam a matriz extracelular do tecido ósseo, enfraquecendo a estrutura do osso e contribuindo assim para a sua reabsorção (Checchi et al., 2020).

A interação complexa das citocinas, das células imunitárias e de certas enzimas está, portanto, envolvida no estabelecimento e no aprofundamento de um ambiente inflamatório que conduz à reabsorção óssea progressiva através da sobre-ativação dos osteoclastos (Barth et al., 2013).

Em conclusão, a doença periodontal é uma doença oral complexa e multifatorial. O seu desenvolvimento é o resultado da interação entre vários fatores, incluindo a presença de bactérias “*keystone pathogens*”, uma resposta inflamatória exacerbada do hospedeiro, comportamentos individuais como a higiene oral inadequada, o tabagismo, a dieta e fatores sistêmicos como as doenças crônicas. A compreensão destes fatores é essencial para a prevenção, o diagnóstico e o tratamento da doença periodontal. É imperativo promover comportamentos de saúde oral, apoiar a investigação em curso sobre os mecanismos subjacentes e sensibilizar para a importância da saúde periodontal na manutenção de uma boa saúde geral.

3.3 Peri-implantite

A peri-implantite é uma condição que afeta os tecidos de suporte que circundam os implantes dentários. Semelhante à doença periodontal, esta condição é caracterizada pela inflamação do tecido gengival e pela destruição progressiva do osso em torno do implante (Smeets et al., 2014).

Com os implantes a tornarem-se uma opção de substituição cada vez mais comum, a compreensão da peri-implantite é de importância crescente na medicina dentária.

A peri-implantite tem semelhanças significativas com a periodontite, tanto do ponto de vista etiológico como clínico. Tal como na doença periodontal, a acumulação de biofilme bacteriano nas superfícies dos implantes dentários é o ponto de partida da doença. Esta placa dentária gera uma resposta inflamatória nos tecidos gengivais, iniciando a fase de mucosite peri-implantar. Se não for tratada eficazmente, esta condição inflamatória irá progredir para peri-implantite, caracterizada por perda óssea e possibilidade de complicações clínicas. No entanto, existem diferenças, nomeadamente no que diz respeito à composição bacteriana envolvida (Kumar et al., 2012).

Existem vários fatores de risco. Fumar é um fator de risco bem estabelecido que pode reduzir a circulação sanguínea e alterar a resposta imunitária. Um historial de doença periodontal, uma má conceção do implante ou um mau ajuste podem criar bolsas onde a placa se pode acumular e encorajar o desenvolvimento de peri-implantite são outros fatores de risco (Sakka et al., 2012). A qualidade do osso alveolar também pode influenciar a patologia, uma vez que um osso com fraca qualidade pode tornar o implante menos estável e mais vulnerável a infeções. A idade avançada, a imunodeficiência, os hábitos alimentares pouco saudáveis e a má higiene oral são também fatores a ter em conta (Fujii et al., 2023). O acompanhamento regular do implante após a sua colocação é essencial para reconhecer e tratar os primeiros sinais de peri-implantite o mais rapidamente possível (Darby, 2022).

É difícil estabelecer a prevalência exata desta doença, mas uma revisão narrativa por Derks e Tomasi estima que está presente em 1 a 47% dos indivíduos portadores de implantes dentários (Derks & Tomasi, 2015), pelo que é importante conhecer melhor os mecanismos que levam ao desenvolvimento desta patologia, bem como soluções preventivas e potenciais tratamentos.

Durante muitos anos, as opções de tratamento foram modeladas de acordo com as utilizadas para a periodontite, antes de os estudos demonstrarem a sua ineficácia. As primeiras observações efetuadas sobre a peri-implantite, que remontam ao início dos anos 90, mostraram uma destruição progressiva do suporte ósseo à volta do implante de uma forma muito semelhante aos danos causados pela periodontite, pelo que os investigadores rapidamente associaram estas duas patologias (Kotsakis & Olmedo, 2021). De facto, ambas as condições são caracterizadas pela forte influência de sinais pró-inflamatórios e pela presença de biofilmes periodontais ou peri-implantares desequilibrados (Koutouzis et al., 2013), o que levou à hipótese de os mecanismos que conduzem à patogenicidade serem os mesmos. No entanto, quando os doentes foram tratados para a peri-implantite da mesma forma que para a periodontite, apesar dos resultados a curto prazo, a doença regressou quase sistematicamente após um ou mais anos (Esposito et al., 2012). Esta falta de eficiência dos tratamentos antibacterianos, aliada às recentes descobertas relacionadas com os microbiomas, levou à necessidade de rever os mecanismos pelos quais a peri-implantite se desenvolve.

Existem, portanto, certos processos semelhantes entre o desenvolvimento da periodontite e da peri-implantite, em particular a forte influência da inflamação desregulada, mas parece que as bactérias envolvidas não são necessariamente as mesmas.

De facto, os últimos avanços nos métodos de identificação de microrganismos independentes da cultura demonstraram diferenças significativas entre as bactérias que constituem os biofilmes que envolvem os dentes e os que envolvem os implantes. Assim um estudo de Kumar e colaboradores (Kumar et al., 2012) mostrou, por exemplo, níveis mais baixos de *Prevotella* spp., *Streptococcus* spp. (que não *S. mutans*), *Lactobacillus* spp., *Leptotrichia* spp., e *Actinomyces* spp. nas comunidades microbianas peri-implantares, e inversamente, níveis mais elevados de *Peptococcus* spp., *Mycoplasma* spp., *Eubacterium* spp., *S. mutans*, *Butyrivibrio* spp., *Campylobacter* spp. e *Treponema* spp. em comparação com os biofilmes periodontais, tanto em estados saudáveis como patológicos.

Em primeiro lugar, é importante fazer a distinção entre mucosite peri-implantar, que apenas afeta o tecido mole em redor do implante, e peri-implantite, que também afeta o tecido ósseo de suporte e provoca a sua reabsorção. Tal como acontece com a doença periodontal, a mucosite peri-implantar é a fase inicial que conduz à peri-implantite se não for tratada a tempo. Os primeiros sinais de mucosite peri-implantar são a supuração à volta do implante e a hemorragia à sondagem, o que demonstra a presença de inflamação. Da mesma forma, o aprofundamento de uma bolsa gengival em comparação com a última avaliação indica geralmente um agravamento da situação (Berglundh et al., 2018).

Parece que a mucosite peri-implantar se desenvolve como resultado de uma acumulação de biofilmes bacterianos à volta de um implante dentário, da mesma forma que a gengivite. No entanto, um estudo realizado por Song e colaboradores (Song et al., 2015) demonstrou que, devido à diferença estrutural entre o metal titânio que constitui a maioria dos implantes e o esmalte orgânico mineralizado dos dentes, as comunidades bacterianas que colonizam estes dois ambientes diferentes não podem ser necessariamente semelhantes. De facto, parece lógico que as propriedades químicas e eletroquímicas do biomaterial que compõe o implante influenciem a formação e a composição do biofilme.

Por exemplo, embora esteja mais ou menos estabelecido que *Streptococcus* spp., desempenha um papel fundamental na colonização primária do implante e do dente devido a sua capacidade de adesão, as seguintes bactérias a se estabelecerem no esmalte do dente são *Actinomyces naeslundii*, enquanto nos implantes de titânio tendem a ser agregados de *Veillonella* spp., e quantidades muito mais pequenas de *A. naeslundii* (Sánchez et al., 2014).

Os materiais utilizados nos implantes influenciarão, por isso, a composição do microbioma que rodeia o implante, tendo assim uma maior ou menor influência no desenvolvimento da disbiose.

Os implantes de titânio revestidos com uma camada de hidroxiapatita, por exemplo, foram dos primeiros biomateriais utilizados em implantes, graças à sua capacidade de resistir à corrosão através da criação de uma película de óxido de titânio para proteger o ambiente hospedeiro do metal. No entanto, estudos recentes efetuados por Souza e colaboradores (Souza et al., 2020) têm mostrado uma tendência desses implantes de titânio revestidos por hidroxiapatite para favorecer a formação de biofilmes e a acumulação de microrganismos, contribuindo para o desenvolvimento de infeções peri-implantares. Além disso, parece que as micropartículas de titânio que se desprendem do implante e que se encontram no biofilme que rodeia o implante podem desequilibrar a homeostase, causando disbiose (Chen et al., 2023).

Assim, estão a ser estudadas várias alternativas na tentativa de combinar uma boa biocompatibilidade, uma boa capacidade de osteointegração e uma menor afinidade à formação de biofilmes e à adesão de bactérias patogénicas.

Podemos assim citar o dióxido de zircónio que tem uma baixa afinidade para biofilmes bacterianos, e em particular para a adesão de *P. gingivalis*, que é bem conhecida pelo seu papel pró-inflamatório. No entanto, tende a sofrer mais fraturas do que os implantes de titânio devido à sua maior fragilidade. A combinação do titânio com o dióxido de zircónio permitiria, portanto, obter a resistência do titânio associada a um baixo desenvolvimento de biofilme (Jo et al., 2021). No entanto, são necessários mais estudos para confirmar de forma significativa estes efeitos.

É igualmente importante referir que os erros estruturais na conceção e posicionamento dos implantes também têm um forte impacto no potencial desenvolvimento de infeções, de facto, estes erros conduzem frequentemente à exposição das superfícies dos implantes, permitindo a acumulação de microrganismos e a alteração do microbioma (Zahng et al., 2021).

Em suma, parece que, inicialmente, as bactérias patogénicas se acumulam à volta do implante, causando uma inflamação dos tecidos moles, o que se designa por mucosite peri-implantar, e que ainda é reversível, uma vez que ainda não danificou o osso de suporte (Baseri et al., 2020). Em resposta, o corpo libertará macrófagos, células dendríticas e neutrófilos que contribuirão para promover uma inflamação descontrolada, por exemplo, ativando a libertação de citocinas IL-1 e TNF-alfa, que iniciarão uma

resposta osteolítica criando bolsas peri-implantares, o que apenas amplificará a acumulação bacteriana e, consequentemente, a disbiose do ambiente (Baseri et al., 2020), e nesse caso já se fala de peri-implantite. A peri-implantite está associada a um biofilme desregulado e complexo, não necessariamente semelhante ao envolvido na periodontite, mas incluindo certos agentes patogênicos característicos da inflamação, tais como *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus salivarius* e *Staphylococcus aureus* (Mulla et al., 2021).

A peri-implantite é, portanto, uma patologia complexa e multifatorial, cujos mecanismos ainda não são totalmente compreendidos, mas onde a influência da disbiose microbiana parece desempenhar um papel fundamental em relação ao material e à boa integração ou não do implante.

3.4 Cancro oral

O envolvimento do microbioma oral no cancro oral é uma área de investigação em rápido desenvolvimento que levanta questões cruciais sobre os mecanismos subjacentes à carcinogénese oral.

Embora a relação entre o tabagismo, o consumo de álcool e o cancro oral já esteja bem estabelecida (Abati et al., 2020), é cada vez mais claro que o microbioma oral também desempenha um papel no desenvolvimento de cancros orais. Os microrganismos presentes na cavidade oral podem influenciar a inflamação, a resposta imunitária e a resposta a determinados tratamentos, todos eles fatores-chave no desenvolvimento e progressão do cancro oral (Multhoff et al., 2012).

O objetivo é, portanto, explorar os mecanismos pelos quais o microbioma oral pode contribuir para a carcinogénese oral, incluindo a produção de metabolitos tóxicos, a modificação da resposta imunitária local e as interações com as células hospedeiras.

A influência das bactérias no desenvolvimento do cancro foi subestimada durante muito tempo e só nos anos 80 é que os investigadores (Marshall e Warren) demonstraram que *Helicobacter pylori* desempenhou um papel importante no desenvolvimento do cancro gástrico através do seu envolvimento no desenvolvimento de úlceras duodenais e gástricas, infeções crónicas que demonstraram promover o cancro do estômago (Amieva & Peek, 2016). Foi a partir desta altura que se intensificou a investigação sobre o impacto do microbioma no desenvolvimento dos cancros e, em particular, o que nos interessa aqui, a influência do microbioma oral em vários tipos de cancro oral, incluindo o carcinoma

oral das células escamosas (COCE), que é o mais difundido e, por conseguinte, o mais estudado dos cancros da cabeça e do pescoço.

O COCE não apresenta sintomas facilmente identificáveis, sendo a sua deteção feita por exame clínico; caroços no pescoço ou na boca, dificuldades ou dores ao engolir, bem como lesões persistentes na cavidade oral com sangramento que podem ser sinais de patogenicidade potencial (Chamoli et al., 2021).

Foi estabelecido que uma infeção pré-existente por papilomavírus humano (HPV) é o fator de risco mais importante (Johnson et al., 2020).

A OMS também propôs vários estadios precursores ao desenvolvimento do COCE (Warnakulasuriya et al., 2007). O líquen plano oral, que, embora assintomático na maioria dos doentes, pode, em 0,1 a 3% dos casos, tornar-se maligno e evoluir para COCE (Mortazavi et al., 2014). Mesmo que os mecanismos que conduzem ao aparecimento do líquen plano sejam ainda desconhecidos, foi observada uma disbiose do microbioma oral nos doentes afetados, nomeadamente uma maior presença dos géneros *Porphyromonas*, *Solobacterium*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia* e da espécie *Prevotella melaninogenica*, e, por outro lado, níveis muito mais baixos de espécies dos géneros *Haemophilus*, *Corynebacterium*, *Cellulosimicrobium* e *Campylobacter* (Wang et al., 2016).

A leucoplasia e a eritroplasia são igualmente precursoras: em mais de 50% dos doentes com eritroplasia, a lesão progride para o COCE; nos indivíduos com leucoplasia, a percentagem situa-se entre 15 e 39% (Mortazavi et al., 2014).

O consumo de tabaco é também um fator de risco importante, de facto foi demonstrado que o consumo de tabaco influencia a composição microbiana, reduzindo a sua diversidade e, em particular, facilitando a prevalência excessiva de *Rhodotorula mucilaginosa*, *Streptococcus salivarius* (Yu et al., 2017), *Prevotella* spp., *Veillonella* spp. e *Leptotrichia* spp. (Lee et al., 2017) que são bactérias que demonstraram estar presentes em níveis elevados em doentes com COCE (Schmidt et al., 2014) (Yang et al., 2018).

É importante separar as diferentes fases na progressão do COCE, porque embora o perfil microbiano ao longo da progressão ainda não esteja bem estabelecido, parece que a composição microbiana evolui de fase para fase, com certas bactérias a aumentarem drasticamente em prevalência e outras a estarem cada vez menos presentes, resultando numa quebra do equilíbrio homeostático. Assim, foi destacada uma redução gradual de *Streptococcus* spp., *Haemophilus* spp., *Porphyromonas* spp., *Actinomyces* spp., enquanto se registou um aumento significativo de *Fusobacterium periodonticum*, *Parvimonas*

micra, *Streptococcus constellatus*, *Haemophilus influenza* e *Filifactor alocis* à medida que o carcinoma progride (Yang et al., 2018).

A investigação também se centrou na correlação entre a doença periodontal e o desenvolvimento de cancros orais; os doentes que sofrem de periodontite apresentariam um risco mais elevado de desenvolver cancro oral (Michaud et al., 2017). Uma potencial associação entre inflamação crónica e cancro foi demonstrada pela primeira vez no século XIX por Rudolf Virchow, que observou a presença de leucócitos no ambiente tumoral (Irani et al., 2020). É atualmente reconhecido que existe uma associação entre a doença periodontal e vários cancros, em particular o CECO, através de uma situação de inflamação descontrolada (Galvão-Moreira & da Cruz, 2016).

A presença desregulada de *P. gingivalis* que, como já foi referido, é uma das principais causas que contribuem para o desenvolvimento da periodontite, mas também outros agentes patogénicos tradicionalmente implicados na doença periodontal, tais como *Fusobacterium nucleatum* e *Treponema denticola*, desempenham um papel na malignidade das lesões orais que conduzem ao COCE (Lamont et al., 2022).

Vários estudos demonstraram um aumento significativo da presença de *P. gingivalis* em amostras de gengiva de pacientes com COCE em comparação com amostras de pacientes saudáveis (Zhang et al., 2020). De facto, a capacidade de *P. gingivalis* para induzir uma resposta pró-inflamatória e anti-apoptótica, que influenciam a sobrevivência e proliferação de células tumorais (Gao et al., 2021). Portanto, *P. gingivalis* tem a capacidade de modificar as respostas celulares e influenciar certas vias de sinalização, que são mecanismos que também podem ser usados para induzir a proliferação descontrolada de células tumorais. Antes de mais, *P. gingivalis* pode interagir com as células do hospedeiro na cavidade oral para promover a proliferação celular, em particular através da proteína FimA que constitui a adesina fimbrial de *P. gingivalis* e que conduz a uma proliferação mais rápida (Gao et al., 2021). A proliferação também pode ser estimulada por proteases gingipains de *P. gingivalis* ativando a via de sinalização Notch 1 nas células epiteliais (Al-Attar et al., 2018).

Além disso, os lipopolissacarídeos (LPS) secretados por *P. gingivalis* são capazes de ativar a alfa serina/treonina quinase (Akt), uma via de sinalização utilizada no recrutamento de citocinas como o TNF-alfa, envolvidas na proliferação de células tumorais, na neovascularização e na resistência à apoptose (Lamont et al., 2022). Estes LPS também podem estimular a síntese de angiopoietina-2 através das células epiteliais gengivais infetadas, e a angiopoietina-2 pode promover a angiogénese (necessária para a

migração celular) e aumentar a produção de citocinas IL-1beta e TNF, que promovem um ambiente pró-angiogénico, através de um feedback autócrino (Ohno et al., 2017).

Porphyromonas gingivalis também teria a capacidade de estimular a produção, pelo hospedeiro, de metaloproteínas da matriz, que desempenham um papel fundamental na migração das células tumorais, degradando certas proteínas da matriz extracelular, como o colagénio e a fibronectina (Lamont et al., 2022).

Por fim, a capacidade de *P. gingivalis* de induzir uma inflamação descontrolada, suprimindo a atividade bactericida das células fagocíticas através do bloqueio do MyD88, desempenha também um papel na promoção de condições favoráveis à tumorigénese (Sahingur & Yeudall, 2015). De facto, esta inflamação está ligada a danos no ADN das células estaminais e à libertação de espécies reativas de oxigénio, que estão implicadas no desenvolvimento do cancro (Singh et al., 2019).

Assim, a ligação entre o microbioma oral e o desenvolvimento de cancros orais é uma área de investigação em rápido crescimento, permitindo uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes ao aparecimento de lesões tumorais. Vários estudos mostram que a perda da homeostase oral desempenha um papel fundamental na inflamação crónica, na estimulação e proliferação celular e na regulação da resposta celular, que são fatores que contribuem para o desenvolvimento de cancros orais (Gao et al., 2021) (Wang & Gao, 2023) (Niklander, 2021) (Deo & Deshmukh, 2020). No entanto, é de salientar que a investigação nesta área é recente e ainda está em curso, pelo que parecem ser necessários mais estudos para investigar os mecanismos subjacentes e os potenciais alvos terapêuticos. O facto é que o estudo do microbioma oral e do seu impacto nos cancros orais parece proporcionar um avanço promissor que poderá melhorar a prevenção, o diagnóstico e o tratamento destas doenças.

4. Doenças esofágicas

4.1 Cancro esofágico

Tal como no caso do cancro oral, o impacto do microbioma oral no desenvolvimento do cancro do esófago é atualmente um campo de estudo particularmente interessante. De facto, o cancro do esófago é um dos dez cancros com maior incidência a nível mundial (Smyth et al., 2017), e tem uma elevada taxa de mortalidade devido à dificuldade de o diagnosticar, nomeadamente devido à ausência de sintomas clínicos. A taxa de sobrevivência para além dos 5 anos é inferior a 10% (Huang & Yu, 2018).

Por conseguinte, é importante compreender melhor os mecanismos que conduzem ao seu aparecimento e, em particular, a forma como os desequilíbrios no microbioma oral o podem influenciar, a fim de implementar uma melhor prevenção e um diagnóstico e um tratamento adequados.

Os fatores de risco incluem o tabagismo e o consumo excessivo de álcool, bem como deficiências de vitamina A, selénio e zinco, dietas pobres em fruta e legumes e o consumo de bebidas quentes (Akhtar et al., 2012).

A esmagadora maioria dos cancros do esófago são carcinomas das células escamosas do esófago (CCEE), representando cerca de 90% de todos os cancros do esófago, os restantes 10% estão ligados ao adenocarcinoma do esófago (ACE) (Wang et al., 2018).

O CCEE tem uma prevalência mais elevada nos 2/3 superiores do trato gastroesofágico e é precedido por certos estadios precursores como a displasia escamosa, uma lesão escamosa resultante de inflamação crónica (Jain & Dhingra, 2017). Por conseguinte, nota-se já a semelhança com certos mecanismos envolvidos no desenvolvimento de cancros orais em resultado do impacto do microbioma oral.

E, de facto, parece bastante lógico que as bactérias orais possam estar envolvidas no desenvolvimento de cancros do esófago, simplesmente porque o conteúdo do esófago passou antes pela cavidade oral, nomeadamente os alimentos e a saliva.

Vários estudos recentes destacaram a presença de duas bactérias orais no trato gastroesofágico de pacientes com CCEE, *P. gingivalis* e *Streptococcus anginosus* (Morita et al., 2003) (Kageyama et al., 2019), e, em particular, uma associação entre a presença de *P. gingivalis* e um prognóstico desfavorável. Foi identificada outra bactéria, *T. forsythia*, mas desta vez mais relacionada com o ACE (Peters et al., 2017).

Streptococcus anginosus é uma bactéria oral que estimula o recrutamento de neutrófilos e monócitos que, se desregulada, pode causar displasia epitelial, e depois neoplasia, promovendo a proliferação celular (Jiang et al., 2021). Além disso, um estudo aponta o dedo para a capacidade de *S. anginosus* de transformar o etanol (um dos principais fatores de risco do CCEE) em acetaldeído, que, através de mutações no ADN, participa na carcinogénese (Tagaino et al., 2019).

Tannerella forsythia, por outro lado, é uma bactéria anaeróbica, Gram-negativo que demonstrou sobre-expressar GLUT1 e GLUT4, que estão envolvidos no aumento da expansão do tumor ao permitir um melhor fornecimento de nutrientes (Malinowski et al., 2019). Pensa-se também que *T. forsythia* está envolvida na promoção de uma situação pró-inflamatória através da sua proteína FDF (*Forsythia detachment fator*), que tem a capacidade de produzir IL-8 (Stasiewicz & Karpiński, 2022).

Tal como no caso dos cancros orais, observou-se uma alteração progressiva do microbioma da saliva e do primeiro terço do esófago à medida que o CCEE progredia, com uma perda gradual da diversidade microbiana e com certas bactérias a ocuparem cada vez mais espaço, por exemplo: *Gemella* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Solobacterium* spp., *Bosea* spp. (Yang et al., 2021), perturbando assim o equilíbrio homeostático.

Os mecanismos pelos quais o microbioma oral pode influenciar os cancros do esófago são, portanto, mais ou menos os mesmos que para os cancros orais, começando com uma perda homeostática que levaria a um aumento de bactérias patogénicas, tais como *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *S. anginosus* mas também *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans* ou *F. nucleatum* (Kawasaki et al., 2021). Estas bactérias são depois transportadas para o trato gastroesofágico (através da saliva, por exemplo), exportando assim a disbiose e criando uma inflamação crónica e desregulada que favorece um ambiente pró-tumoral. No entanto, as bactérias envolvidas nos cancros da boca e do esófago nem sempre são as mesmas, devido a condições de pH e de exposição ao oxigénio que não são necessariamente semelhantes. Por exemplo, encontram-se grandes quantidades de *S. anginosus* no CCEE, não acontecendo o mesmo no COCE (Morita et al., 2003).

Embora, tal como no caso dos cancros orais, sejam necessários mais estudos para validar estas investigações iniciais, parece que um desequilíbrio do microbioma provocado por certas bactérias patogénicas poderia efetivamente desempenhar um papel na carcinogénese e na proliferação tumoral dos cancros do esófago. As investigações mais

recentes centram-se também na presença de certas bactérias no microbioma oral, que atuam como biomarcadores, como indicador do potencial desenvolvimento do cancro do esófago, com o objetivo de permitir uma deteção mais precoce do que a atual (Peters et al., 2017).

O controlo da presença na cavidade oral ou no trato gastroesofágico de certos estadios precursores potencialmente iniciadores de malignidade, como a displasia escamosa, o esófago de Barrett ou o refluxo esofágico, faz igualmente parte da estratégia de prevenção.

4.2 Esófago de Barrett

O esófago de Barrett é uma doença complexa que envolve uma transformação das células que normalmente revestem o esófago. Pensa-se que esta transformação está ligada à exposição prolongada ao ácido gástrico, nomeadamente no contexto da doença do refluxo gastroesofágico (abordada na subsecção seguinte). O esófago de Barrett é uma doença particularmente vigiada porque está estreitamente associada ao risco de desenvolvimento de cancro do esófago, nomeadamente de ACE.

De seguida serão exploradas as suas características e causas, incluindo o papel do microbioma oral, que está a suscitar um interesse crescente como fator potencialmente influente.

Esta doença afeta mais homens do que mulheres e estima-se que a sua prevalência seja de 0,5% a 2% (Runge et al., 2015). O tabagismo e a obesidade são considerados fatores de risco, embora ainda se discuta se estão significativamente correlacionados (Thrift et al., 2014), no entanto, o fator de risco mais importante é a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE). Foi demonstrado que os doentes que sofrem de DRGE têm 6 a 8 vezes mais probabilidades de desenvolver esófago de Barrett, e o risco aumenta quanto mais crónica for a DRGE (De Jonge et al., 2014). No entanto, a origem exata do esófago de Barrett é ainda incerta.

Esta doença torna a qualidade de vida dos doentes bastante difícil devido aos sintomas que incluem regurgitação, dificuldade em engolir e azia. É também difícil de identificar e requer uma endoscopia digestiva alta, que é um procedimento dispendioso e invasivo.

Como já foi referido, trata-se de uma infeção precursora do desenvolvimento de ACE, pelo que a presença de displasia num indivíduo com esófago de Barrett pode ser

um indicador de um risco elevado de malignidade no ACE. Contudo, a dificuldade de identificar a presença de displasia sem recorrer à endoscopia invasiva pode atrasar o seu reconhecimento e limitar assim a sua utilidade na prevenção.

A investigação sobre a influência do microbioma e a presença de biomarcadores orais está em curso há vários anos para permitir que o esófago de Barrett seja detetado mais rapidamente e mais facilmente, reduzindo assim o risco de desenvolvimento de ACE (Konda & Souza, 2019).

De facto, alguns estudos mostraram que o microbioma oral em pacientes com esófago de Barrett está alterado (Snider et al., 2018). Embora as bactérias presentes na cavidade oral e no terço superior do esófago sejam mais ou menos semelhantes, devido à sua proximidade relativa e à passagem constante de saliva, existem, no entanto, algumas diferenças, nomeadamente na predominância do filo *Firmicutes* e de *Streptococcus* spp. no microbioma do esófago em comparação com o da cavidade oral (Dong et al., 2018).

Existem relativamente poucos estudos científicos sobre a prevalência de certos tipos de bactérias no microbioma oral e esofágico de indivíduos com esófago de Barrett em comparação com indivíduos saudáveis, e estes estudos são por vezes discordantes, no entanto, um estudo destaca uma redução de *Streptococcus* spp. em indivíduos com esófago de Barret (Yang et al., 2009). O mesmo estudo também encontrou um aumento significativo de bactérias Gram-negativas, em particular as dos géneros *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Campylobacter* e *Veillonella* (Yang et al., 2009). A proliferação destas bactérias pode resultar numa perda de homeostasia, levando a uma resposta pró-inflamatória, de facto, sabe-se que estas bactérias Gram-negativas estão envolvidas em reações inflamatórias nas patologias orais, nomeadamente através do recrutamento de citocinas pelos seus lipopolissacarídeos. Foi sugerido que estas alterações microbianas estão ligadas ao refluxo gástrico e aos ácidos biliares (Snider et al., 2016).

Por conseguinte, é bastante difícil compreender o papel funcional das bactérias no desenvolvimento do esófago de Barrett, mas parece bastante claro que existem alterações na composição e diversidade dos microbiomas oral e esofágico dos doentes afetados (Zhang et al., 2021), sem que se saiba o que afeta primeiro o quê e se a disbiose é uma causa ou uma consequência do esófago de Barrett.

São ainda necessários numerosos estudos para elucidar os mecanismos precisos que ligam o microbioma oral e as suas bactérias ao desenvolvimento do esófago de

Barrett, mas isso já abre caminho para explorar o desenvolvimento de estratégias de prevenção, detecção precoce e gestão do tratamento desta doença.

4.3 Refluxo gastroesofágico

A doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) é uma doença comum do sistema gastrointestinal, caracterizada pelo refluxo involuntário do conteúdo ácido do estômago para o esôfago, causando irritação e azia (Mahajan et al., 2022). Esta doença afeta milhões de pessoas em todo o mundo (Mahajan et al., 2022)

Existem vários fatores de risco, como uma dieta rica em alimentos picantes, ácidos ou gordos, ou alimentos que reduzem a pressão sobre o esfíncter esofágico inferior, como o chocolate, o álcool ou a cafeína (Katz et al., 2022), ou obesidade, que aumenta a pressão intra-abdominal (Richter, 2012), fumar ou tomar determinados medicamentos. No entanto, nenhum destes fatores pode prever com precisão o aparecimento da DRGE.

Embora seja uma doença bastante generalizada, as causas exatas e os mecanismos subjacentes ao seu desenvolvimento são ainda largamente desconhecidos, o que significa que as soluções de tratamento são por vezes ineficazes (Kumar & Katz, 2013). Pensa-se que a patogénese se deve, em parte, a uma redução da pressão ou a um relaxamento excessivo do esfíncter esofágico inferior, a uma hipersensibilidade do esôfago, a uma hérnia do hiato ou a uma rutura da barreira mucosa (Savarino et al., 2017).

O refluxo gastroesofágico crónico pode levar ao desenvolvimento de doenças mais graves, como o esôfago de Barrett, úlceras gástricas, esofagite ou ACE (Mehta et al., 2021).

Por conseguinte, estão a ser realizadas investigações para conhecer esta patogénese de forma mais precisa e também para compreender a relação com o microbioma oral e o seu potencial impacto.

Parece que a regurgitação ácida leva a uma redução do pH em todo o trato gastroesofágico e, por conseguinte, também na cavidade oral (Azzam, 2018). Isto pode levar ao desenvolvimento de um estado disbiótico com um aumento da prevalência de certas bactérias que preferem um ambiente com um pH mais ácido, e, inversamente, uma redução de outras bactérias presentes num pH mais básico (J. Chen & Brady, 2019). Isso perturba o equilíbrio da mucosa oral e esofágica, levando a uma inflamação que pode tornar-se crónica, e contribuindo assim para o agravamento dos sintomas de refluxo

gastroesofágico, como um círculo vicioso (Zheng et al., 2021). Um estudo mostrou uma redução de *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella pallens*, *Leptotrichia* spp. e *Solobacterium moorei* e outras bactérias na saliva de pacientes com DRGE (Kawar et al., 2021).

Outros estudos analisaram igualmente o impacto potencial dos inibidores da bomba de prótons (IBP) usados no tratamento de DRGE na diversidade do microbioma oral, (Kim, 2021) (Azzam, 2018). Voluntários saudáveis que tomaram IBP durante quatro semanas apresentaram uma redução substancial de *Neisseria* spp. e de *Veillonella* spp. e um aumento de *Streptococcus* spp. no microbioma salivar (Azzam, 2018). No entanto, em pacientes com refluxo, os IBP parecem ter o efeito desejado de aumentar o pH, e o estudo mostra que a diversidade do microbioma entre indivíduos saudáveis e indivíduos com DRGE tratados com IBP parece ser mais ou menos semelhante (Azzam, 2018). Além disso, Kawar e colaboradores mostraram que ocorrem alterações no microbioma oral em pacientes com refluxo não tratados com IBP, com uma redução nos níveis de 17 tipos diferentes de bactérias (Kawar et al., 2021).

Em suma, parece que ocorrem alterações na diversidade bacteriana do microbioma oral em indivíduos com DRGE. Este facto deve-se provavelmente à alteração do pH, mas são necessários estudos mais aprofundados para caracterizar esta relação e perceber se esta disbiose oral pode levar a complicações mais graves como a inflamação crónica no esófago, levando ao agravamento dos sintomas e até ao desenvolvimento de esófago de Barrett ou adenocarcinoma. Ou para compreender se a presença de determinadas bactérias no microbioma oral pode levar a uma melhor diagnóstico da DRGE.

IV CONCLUSÃO

O estudo do microbioma oral e do seu papel no desenvolvimento de várias doenças orais e esofágicas desenvolveu-se maioritariamente nas últimas décadas. Os novos métodos de sequenciação e de análise taxonómica que não necessitam de cultura, tais como os métodos metagenómicos, incluindo a sequenciação dos genes 16S rARN, melhoraram consideravelmente o nosso conhecimento dos microrganismos envolvidos. Este facto abriu caminho a novas gerações de investigadores motivados por encontrar novas perspectivas de diagnóstico, prevenção e tratamento de muitas destas doenças com base no estudo do microbioma.

Algumas correlações entre o efeito do microbioma oral e o desenvolvimento destas doenças orais e esofágicas foram já concretamente identificadas, enquanto outras, embora suspeitas, estão ainda a ser estudadas. Por exemplo, sabe-se que a perda homeostática do microbioma da placa dentária leva ao desenvolvimento de cáries dentárias através da fermentação da sacarose por certas bactérias patogénicas. No entanto, ainda existem dúvidas sobre todas as bactérias envolvidas e a diversidade microbiana que pode existir entre diferentes indivíduos com cáries.

Da mesma forma, no caso da doença periodontal, muitas hipóteses foram postuladas durante muitos anos, mas hoje parece claro que há agentes patogénicos fundamentais, como o *P. gingivalis*, que desempenham um papel determinante no desenvolvimento de uma reação inflamatória descontrolada que, se não for tratada a tempo, pode degenerar em reabsorção óssea com consequências deletérias para a saúde física e psicossocial dos indivíduos afetados.

No caso da peri-implantite, alguns mecanismos são semelhantes aos da doença periodontal, mas é importante compreender que o material e a qualidade do implante também têm implicações muito importantes na modulação dos biofilmes peri-implantares e, por conseguinte, no potencial de desenvolvimento patológico.

Estão igualmente em curso investigações sobre o impacto do microbioma no desenvolvimento dos cancros da boca e do esófago, tendo sido identificados alguns mecanismos, nomeadamente o impacto dos agentes patogénicos orais na proliferação dos tumores, mas há ainda muitas questões por responder, e que dificultam a prevenção e tratamento destes cancros.

Por último, no que diz respeito às doenças esofágicas, como o esófago de Barrett ou a doença do refluxo gastroesofágico, existem algumas evidências de alterações no

microbioma oral dos pacientes com estas doenças, mas atualmente faltam dados científicos e estudos para compreender se estas alterações microbianas são a causa ou a consequência do desenvolvimento destas doenças. Mesmo assim, parece que isto representa um potencial promissor para a detecção destas doenças, que ainda são bastante difíceis de detetar sem recorrer a técnicas complexas e invasivas.

Convém igualmente recordar que todas estas patologias têm origens multifatoriais e que o conhecimento do microbioma, por si só, não é suficiente para analisar em profundidade os mecanismos do seu aparecimento dessas doenças.

O estudo em constante evolução da relação entre o microbioma oral e as patologias oferece muitas oportunidades para melhorar a gestão de numerosas doenças, mas ainda é necessária uma investigação mais aprofundada para aumentar os nossos conhecimentos nesse campo.

V BIBLIOGRAFIA

Abati, S., Bramati, C., Bondi, S., Lissoni, A., & Trimarchi, M. (2020). Oral Cancer and Precancer: A Narrative Review on the Relevance of Early Diagnosis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(24), 9160. <https://doi.org/10.3390/ijerph17249160>

Abdulkareem, A. A., Al-Taweel, F. B., Al-Sharqi, A. J. B., Gul, S. S., Sha, A., & Chapple, I. L. C. (2023). Current concepts in the pathogenesis of periodontitis: from symbiosis to dysbiosis. *Journal of Oral Microbiology*, 15(1). <https://doi.org/10.1080/20002297.2023.2197779>

Abusleme, L., Dupuy, A. K., Dutzan, N., Silva, N., Burleson, J. A., Strausbaugh, L. D., Gamonal, J., & Diaz, P. I. (2013). The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *The ISME Journal*, 7(5), 1016–1025. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.174>

Akhtar, S., Sheikh, A. A., & Qureshi, H. U. (2012). Chewing areca nut, betel quid, oral snuff, cigarette smoking and the risk of oesophageal squamous-cell carcinoma in South Asians: A multicentre case–control study. *European Journal of Cancer*, 48(5), 655–661. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2011.06.008>

Al-Attar, A., Alimova, Y., Kirakodu, S., Kozal, A., Novak, M. J., Stromberg, A. J., Orraca, L., Gonzalez-Martinez, J., Martinez, M., Ebersole, J. L., & Gonzalez, O. A. (2018). Activation of Notch-1 in oral epithelial cells by *P. gingivalis* triggers the expression of the antimicrobial protein PLA2-IIA. *Mucosal Immunology*, 11(4), 1047–1059. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0014-7>

Amieva, M., & Peek, R. M. (2016). Pathobiology of *Helicobacter pylori*–Induced Gastric Cancer. *Gastroenterology*, 150(1), 64–78. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.09.004>

Anderson, M., Dahllöf, G., Warnqvist, A., & Grindefjord, M. (2021). Development of dental caries and risk factors between 1 and 7 years of age in areas of high risk for dental caries in Stockholm, Sweden. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 22(5), 947–957. <https://doi.org/10.1007/s40368-021-00642-1>

Armfield, J. M., Spencer, A. J., Roberts-Thomson, K. F., & Plastow, K. (2013). Water Fluoridation and the Association of Sugar-Sweetened Beverage Consumption and Dental Caries in Australian Children. *American Journal of Public Health*, 103(3), 494–500. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2012.300889>

Arweiler, N. B., & Netuschil, L. (2016). The Oral Microbiota 45–60. https://doi.org/10.1007/978-3-319-31248-4_4

Avila, M., Ojcius, D. M., & Zlem Yilmaz, O. (2009). The Oral Microbiota: Living with a Permanent Guest. *DNA and cell Biology* 28, 405–411. <https://10.1089=dna.2009.0874>

Azzam, R. S. (2018). *Arquivos de Gastroenterologia*, Are the persistent symptoms to proton pump inhibitor therapy due to refractory gastroesophageal reflux disease or to other disorders? 55(1), 85–91. <https://doi.org/10.1590/s0004-2803.201800000-48>

Barth, K., Remick, D. G., & Genco, C. A. (2013). Disruption of immune regulation by microbial pathogens and resulting chronic inflammation. *Journal of Cellular Physiology*, 228(7), 1413–1422. <https://doi.org/10.1002/jcp.24299>

Baseri, M., Radmand, F., Hamed, R., Yousefi, M., & Kafil, H. S. (2020). Immunological Aspects of Dental Implant Rejection. *BioMed Research International*, 2020, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2020/7279509>

Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., ... Schlöter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 8(1), <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>

Berglundh, T., Armitage, G., Araujo, M. G., Avila-Ortiz, G., Blanco, J., Camargo, P. M., Chen, S., Cochran, D., Derks, J., Figuero, E., Hämmerle, C. H. F., Heitz-Mayfield, L. J. A., Huynh-Ba, G., Iacono, V., Koo, K., Lambert, F., McCauley, L., Quirynen, M., Renvert, S., ... Zitzmann, N. (2018). Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(20). <https://doi.org/10.1111/jcpe.12957>

Blum, H. E. (2017). The human microbiome. *Advances in Medical Sciences* 62(2), 414–420. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.04.005>

Chamoli, A., Gosavi, A. S., Shirwadkar, U. P., Wangdale, K. v., Behera, S. K., Kurrey, N. K., Kalia, K., & Mandoli, A. (2021). Overview of oral cavity squamous cell carcinoma: Risk factors, mechanisms, and diagnostics. *Oral Oncology*, 121. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2021.105451>

Chattopadhyay, I., Verma, M., & Panda, M. (2019). Role of Oral Microbiome Signatures in Diagnosis and Prognosis of Oral Cancer. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 18. <https://doi.org/10.1177/1533033819867354>

Checchi, V., Maravic, T., Bellini, P., Generali, L., Consolo, U., Breschi, L., & Mazzoni, A. (2020). The Role of Matrix Metalloproteinases in Periodontal Disease. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(14), 4923. <https://doi.org/10.3390/ijerph17144923>

Chen, J., & Brady, P. (2019). Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastroenterology Nursing*, 42(1), 20–28. <https://doi.org/10.1097/SGA.0000000000000359>

Chen, L., Tong, Z., Luo, H., Qu, Y., Gu, X., & Si, M. (2023). Titanium particles in peri-implantitis: distribution, pathogenesis and prospects. *International Journal of Oral Science*, 15(1), 49. <https://doi.org/10.1038/s41368-023-00256-x>

Curtis, M. A., Diaz, P. I., & van Dyke, T. E. (2020). The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontology* 2000, 83(1), 14–25. <https://doi.org/10.1111/prd.12296>

Darby, I. (2022). Risk factors for periodontitis & peri-implantitis. *Periodontology* 2000, 90(1), 9–12. <https://doi.org/10.1111/prd.12447>

De Jonge, P. J. F., van Blankenstein, M., Grady, W. M., & Kuipers, E. J. (2014). Barrett's oesophagus: epidemiology, cancer risk and implications for management. *Gut*, 63(1), 191–202. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305490>

Deo, P., & Deshmukh, R. (2020). Oral microbiome and oral cancer – The probable nexus. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 24(2), 361. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_20_20

Derks, J., & Tomasi, C. (2015). Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(16). <https://doi.org/10.1111/jcpe.12334>

Dewhirst, F. E., Chen, T., Izard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C. R., Yu, W.-H., Lakshmanan, A., & Wade, W. G. (2010). The Human Oral Microbiome. *Journal of Bacteriology*, 192(19), 5002–5017. <https://doi.org/10.1128/JB.00542-10>

Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2017). The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterology Clinics of North America*, 46(1), 77–89. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2016.09.007>

Dong, L., Yin, J., Zhao, J., Ma, S., Wang, H., Wang, M., Chen, W., & Wei, W. (2018). Microbial Similarity and Preference for Specific Sites in Healthy Oral Cavity and Esophagus. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01603>

Esposito, M., Grusovin, M. G., & Worthington, H. v. (2012). Interventions for replacing missing teeth: treatment of peri-implantitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004970.pub5>

Fujii, Y., Hatori, A., Minami, S., Kanno, Y., Hamada, H., Miyazawa, T., & Chikazu, D. (2023). Characteristics and Risk Factors for the Fracture of One-Piece Implants. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 22(4), 1091–1098. <https://doi.org/10.1007/s12663-023-02033-z>

Galvão-Moreira, L. V., & da Cruz, M. C. F. N. (2016). Oral microbiome, periodontitis and risk of head and neck cancer. *Oral Oncology*, 53, 17–19. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2015.11.013>

Ganji, L., Alebouyeh, M., Shirazi, M. H., Saeed Eshraghi, S., Mirshafiey, A., Daryani, N. E., & Zali, M. R. (2016). Dysbiosis of fecal microbiota and high frequency of *Citrobacter*, *Klebsiella* spp., and *Actinomyces* in patients with irritable bowel syndrome and gastroenteritis. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench* 9(4), 325–330.

Gao, L., Xu, T., Huang, G., Jiang, S., Gu, Y., & Chen, F. (2018). Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. In *Protein and Cell* 9(5), 488–500. <https://doi.org/10.1007/s13238-018-0548-1>

Gao, S., Liu, Y., Duan, X., Liu, K., Mohammed, M., Gu, Z., Ren, J., Yakoumatos, L., Yuan, X., Lu, L., Liang, S., Li, J., Scott, D. A., Lamont, R. J., Zhou, F., & Wang, H. (2021). *Porphyromonas gingivalis* infection exacerbates oesophageal cancer and promotes resistance to neoadjuvant chemotherapy. *British Journal of Cancer*, 125(3), 433–444. <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01419-5>

Guo, L., McLean, J. S., Lux, R., He, X., & Shi, W. (2015). The well-coordinated linkage between acidogenicity and aciduricity via insoluble glucans on the surface of *Streptococcus mutans*. *Scientific Reports*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/srep18015>

Hajishengallis, G. (2014). The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Molecular Oral Microbiology*, 29(6), 248–257. <https://doi.org/10.1111/omi.12065>

Hajishengallis, G., Liang, S., Payne, M. A., Hashim, A., Jotwani, R., Eskan, M. A., McIntosh, M. L., Alsam, A., Kirkwood, K. L., Lambris, J. D., Darveau, R. P., & Curtis, M. A. (2011). Low-Abundance Biofilm Species Orchestrates Inflammatory Periodontal Disease through the Commensal Microbiota and Complement. *Cell Host & Microbe*, 10(5), 497–506. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.006>

Hajishengallis, E., Parsaei, Y., Klein, M. I., & Koo, H. (2017). Advances in the microbial etiology and pathogenesis of early childhood caries. *Molecular Oral Microbiology*, 32(1), 24–34. <https://doi.org/10.1111/omi.12152>

Hall, M. W., Singh, N., Ng, K. F., Lam, D. K., Goldberg, M. B., Tenenbaum, H. C., Neufeld, J. D., G. Beiko, R., & Senadheera, D. B. (2017). Inter-personal diversity and temporal dynamics of dental, tongue, and salivary microbiota in the healthy oral cavity. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 3(1), 2. <https://doi.org/10.1038/s41522-016-0011-0>

Hienz, S. A., Paliwal, S., & Ivanovski, S. (2015). Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *Journal of Immunology Research*, 2015, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2015/615486>

Huang, F.-L., & Yu, S.-J. (2018). Esophageal cancer: Risk factors, genetic association, and treatment. *Asian Journal of Surgery*, 41(3), 210–215. <https://doi.org/10.1016/j.asjsur.2016.10.005>

Irani, S., Barati, I., & Badiei, M. (2020). Periodontitis and oral cancer - current concepts of the etiopathogenesis. *Oncology Reviews*, 14(1). <https://doi.org/10.4081/oncol.2020.465>

Jain, S., & Dhingra, S. (2017). Pathology of esophageal cancer and Barrett's esophagus. *Annals of Cardiothoracic Surgery*, 6(2), 99–109. <https://doi.org/10.21037/acs.2017.03.06>

Jiang, Q., Liu, J., Chen, L., Gan, N., & Yang, D. (2019). The Oral Microbiome in the Elderly with Dental Caries and Health. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00442>

Jiang, Z., Wang, J., Shen, Z., Zhang, Z., & Wang, S. (2021). Characterization of Esophageal Microbiota in Patients With Esophagitis and Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.774330>

Jo, Y., Kim, Y. T., Cho, H., Ji, M.-K., Heo, J., & Lim, H.-P. (2021). Atomic Layer Deposition of ZrO₂ on Titanium Inhibits Bacterial Adhesion and Enhances Osteoblast Viability. *International Journal of Nanomedicine*, 16, 1509–1523. <https://doi.org/10.2147/IJN.S298449>

Johnson, D. E., Burtness, B., Leemans, C. R., Lui, V. W. Y., Bauman, J. E., & Grandis, J. R. (2020). Head and neck squamous cell carcinoma. *Nature Reviews Disease Primers*, 6(1), 92. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00224-3>

Kageyama, S., Takeshita, T., Takeuchi, K., Asakawa, M., Matsumi, R., Furuta, M., Shibata, Y., Nagai, K., Ikebe, M., Morita, M., Masuda, M., Toh, Y., Kiyohara, Y., Ninomiya, T., & Yamashita, Y. (2019). Characteristics of the Salivary Microbiota in Patients with Various Digestive Tract Cancers. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01780>

Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L., & Marcenes, W. (2015). Global Burden of Untreated Caries. *Journal of Dental Research*, 94(5), 650–658. <https://doi.org/10.1177/0022034515573272>

Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L., & Marcenes, W. (2014). Global Burden of Severe Tooth Loss. *Journal of Dental Research*, 93(7), 20–28. <https://doi.org/10.1177/0022034514537828>

Katz, P. O., Dunbar, K. B., Schnoll-Sussman, F. H., Greer, K. B., Yadlapati, R., & Spechler, S. J. (2022). ACG Clinical Guideline for the Diagnosis and Management of Gastroesophageal Reflux Disease. *American Journal of Gastroenterology*, 117(1), 27–56. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000001538>

Kawar, N., Park, S. G., Schwartz, J. L., Callahan, N., Obrez, A., Yang, B., Chen, Z., & Adami, G. R. (2021). Salivary microbiome with gastroesophageal reflux disease and treatment. *Scientific Reports*, 11(1), 188. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80170-y>

Kawasaki, M., Ikeda, Y., Ikeda, E., Takahashi, M., Tanaka, D., Nakajima, Y., Arakawa, S., Izumi, Y., & Miyake, S. (2021). Oral infectious bacteria in dental plaque and saliva as risk factors in patients with esophageal cancer. *Cancer*, 127(4), 512–519. <https://doi.org/10.1002/cncr.33316>

Khanna, S., & Tosh, P. K. (2014). A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clinic Proceedings*, 89(1), 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.10.011>

Kim, G. H. (2021). Proton Pump Inhibitor-Related Gastric Mucosal Changes. *Gut and Liver*, 15(5), 646–652. <https://doi.org/10.5009/gnl20036>

Kogut, M. H., Lee, A., & Santin, E. (2020). Microbiome and pathogen interaction with the immune system. *Poultry Science*, 99(4), 1906–1913. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.011>

Konda, V. J. A., & Souza, R. F. (2019). Barrett's Esophagus and Esophageal Carcinoma: Can Biomarkers Guide Clinical Practice? *Current Gastroenterology Reports*, 21(4), 14. <https://doi.org/10.1007/s11894-019-0685-6>

Kotsakis, G. A., & Olmedo, D. G. (2021). Peri-implantitis is not periodontitis: Scientific discoveries shed light on microbiome-biomaterial interactions that may determine disease phenotype. *Periodontology 2000*, 86(1), 231–240. <https://doi.org/10.1111/prd.12372>

Koutouzis, T., Catania, D., Neiva, K., & Wallet, S. M. (2013). Innate Immune Receptor Expression in Peri-Implant Tissues of Patients With Different Susceptibility to Periodontal Diseases. *Journal of Periodontology*, 84(2), 221–229. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.120061>

Kuang, X., Chen, V., & Xu, X. (2018). Novel Approaches to the Control of Oral Microbial Biofilms. *BioMed Research International*, 2018, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2018/6498932>

Kumar, P. S., Mason, M. R., Brooker, M. R., & O'Brien, K. (2012). Pyrosequencing reveals unique microbial signatures associated with healthy and failing dental implants. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(5), 425–433. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2012.01856.x>

Kumar, A. R., & Katz, P. O. (2013). Functional esophageal disorders: a review of diagnosis and management. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 7(5), 453–461. <https://doi.org/10.1586/17474124.2013.811028>

Kutsch, V. K. (2014). Dental caries: An updated medical model of risk assessment. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 111(4), 280–285. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2013.07.014>

Kwon, T., Lamster, I. B., & Levin, L. (2021). Current Concepts in the Management of Periodontitis. *International Dental Journal*, 71(6), 462–476. <https://doi.org/10.1111/idj.12630>

Lamont, R. J., Koo, H., & Hajishengallis, G. (2018). The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 16(12), 745–759. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0089-x>

Lamont, R. J., Fitzsimonds, Z. R., Wang, H., & Gao, S. (2022). Role of *Porphyromonas gingivalis* in oral and orodigestive squamous cell carcinoma. *Periodontology 2000*, 89(1), 154–165. <https://doi.org/10.1111/prd.12425>

Lee, W.-H., Chen, H.-M., Yang, S.-F., Liang, C., Peng, C.-Y., Lin, F.-M., Tsai, L.-L., Wu, B.-C., Hsin, C.-H., Chuang, C.-Y., Yang, T., Yang, T.-L., Ho, S.-Y., Chen, W.-L., Ueng, K.-C., Huang, H.-D., Huang, C.-N., & Jong, Y.-J. (2017). Bacterial alterations in salivary microbiota and their association in oral cancer. *Scientific Reports*, 7(1), 16540. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16418-x>

Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., Abranches, J., & Brady, L. J. (2019). The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology Spectrum*, 7(1). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018>

Li, K., Bihan, M., & Methé, B. A. (2013). Analyses of the Stability and Core Taxonomic Memberships of the Human Microbiome. *PLoS ONE*, 8(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063139>

Liu, Y.-X., Qin, Y., Chen, T., Lu, M., Qian, X., Guo, X., & Bai, Y. (2021). A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. *Protein & Cell*, 12(5), 315–330. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00724-8>

Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G., & Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome Medicine*. 8(1). <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0307-y>

Maekawa, T., Krauss, J. L., Abe, T., Jotwani, R., Triantafilou, M., Triantafilou, K., Hashim, A., Hoch, S., Curtis, M. A., Nussbaum, G., Lambris, J. D., & Hajishengallis, G. (2014). Porphyromonas gingivalis Manipulates Complement and TLR Signaling to Uncouple Bacterial Clearance from Inflammation and Promote Dysbiosis. *Cell Host & Microbe*, 15(6), 768–778. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.05.012>

Mahajan, R., Kulkarni, R., & Stoopler, E. T. (2022). Gastroesophageal reflux disease and oral health: A narrative review. *Special Care in Dentistry*, 42(6), 555–564. <https://doi.org/10.1111/scd.12726>

Makkawi, H., Hoch, S., Burns, E., Hosur, K., Hajishengallis, G., Kirschning, C. J., & Nussbaum, G. (2017). Porphyromonas gingivalis Stimulates TLR2-PI3K Signaling to Escape Immune Clearance and Induce Bone Resorption Independently of MyD88. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00359>

Malinowski, B., Węsierska, A., Zalewska, K., Sokołowska, M. M., Bursiewicz, W., Socha, M., Ozorowski, M., Pawlak-Osińska, K., & Wiciński, M. (2019). The role of

Tannerella forsythia and Porphyromonas gingivalis in pathogenesis of esophageal cancer. *Infectious Agents and Cancer*, 14(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13027-019-0220-2>

Manos, J. (2022). The human microbiome in disease and pathology. *APMIS*. John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/apm.13225>

Marsh, P. D. (2018). In Sickness and in Health—What Does the Oral Microbiome Mean to Us? An Ecological Perspective. *Advances in Dental Research*, 29(1), 60–65. <https://doi.org/10.1177/0022034517735295>

Mehta, R. S., Staller, K., & Chan, A. T. (2021). Review of Gastroesophageal Reflux Disease. *JAMA*, 325(14), 1472. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.1438>

Michaud, D. S., Fu, Z., Shi, J., & Chung, M. (2017). Periodontal Disease, Tooth Loss, and Cancer Risk. *Epidemiologic Reviews*, 39(1), 49–58. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxx006>

Morita, E., Narikiyo, M., Yano, A., Nishimura, E., Igaki, H., Sasaki, H., Terada, M., Hanada, N., & Kawabe, R. (2003). Different frequencies of Streptococcus anginosus infection in oral cancer and esophageal cancer. *Cancer Science*, 94(6), 492–496. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2003.tb01471.x>

Mortazavi, H., Baharvand, M., & Mehdipour, M. (2014). Oral potentially malignant disorders: an overview of more than 20 entities. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 8(1), 6–14. <https://doi.org/10.5681/joddd.2014.002>

Mulla, M., Mulla, M., Hegde, S., & Koshy, A. v. (2021). In vitro assessment of the effect of probiotic lactobacillus reuteri on peri-implantitis microflora. *BMC Oral Health*, 21(1), 408. <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01762-2>

Multhoff, G., Molls, M., & Radons, J. (2012). Chronic Inflammation in Cancer Development. *Frontiers in Immunology*, 2. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2011.00098>

Niklander, S. E. (2021). Inflammatory Mediators in Oral Cancer: Pathogenic Mechanisms and Diagnostic Potential. *Frontiers in Oral Health*, 2. <https://doi.org/10.3389/froh.2021.642238>

Ohno, T., Yamamoto, G., Hayashi, J., Nishida, E., Goto, H., Sasaki, Y., Kikuchi, T., Fukuda, M., Hasegawa, Y., Mogi, M., & Mitani, A. (2017). Angiopoietin-like protein 2 regulates *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-induced inflammatory response in human gingival epithelial cells. *PLOS ONE*, 12(9), e0184825. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184825>

Pan, W., Wang, Q., & Chen, Q. (2019). The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *International Journal of Oral Science*, 11(3), 30. <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0064-z>

Peters, B. A., Wu, J., Pei, Z., Yang, L., Purdue, M. P., Freedman, N. D., Jacobs, E. J., Gapstur, S. M., Hayes, R. B., & Ahn, J. (2017). Oral Microbiome Composition Reflects Prospective Risk for Esophageal Cancers. *Cancer Research*, 77(23), 6777–6787. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-1296>

Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A., Bonazzi, V., McEwen, J. E., Wetterstrand, K. A., Deal, C., Baker, C. C., di Francesco, V., Howcroft, T. K., Karp, R. W., Lunsford, R. D., Wellington, C. R., Belachew, T., Wright, M., Giblin, C., ... Guyer, M. (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*, 19(12), 2317–2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>

Popovic, A., & Parkinson, J. (2018). *Characterization of Eukaryotic Microbiome Using 18S Amplicon Sequencing*, 29–48. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8728-3_3

Pray, L. A., Pillsbury, L., Tomayko, E., (2013). Institute of Medicine (U.S.). Food Forum, & Institute of Medicine (U.S.). Food and Nutrition Board. (n.d.). *The human microbiome, diet, and health : workshop summary*. <https://doi.org/10.17226/13522>

Proctor, L. M., Creasy, H. H., Fettweis, J. M., Lloyd-Price, J., Mahurkar, A., Zhou, W., Buck, G. A., Snyder, M. P., Strauss, J. F., Weinstock, G. M., White, O., & Huttenhower,

C. (2019). The Integrative Human Microbiome Project. *Nature*, 569(7758), 641–648. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1238-8>

Qi, F., & Kreth, J. (2017). *Methods to Study Antagonistic Activities Among Oral Bacteria*, 203–218. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6685-1_12

Radaic, A., & Kapila, Y. L. (2021). The oralome and its dysbiosis: New insights into oral microbiome-host interactions. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 1335–1360. <https://doi.org/10.1016/J.CSBJ.2021.02.010>

Redford, K. H., Segre, J. A., Salafsky, N., del Rio, C. M., & Mcaloose, D. (2012). Conservation and the Microbiome. *Conservation Biology*, 26(2), 195–197. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2012.01829.x>

Richter, J. E. (2012). Gastroesophageal Reflux Disease and Obesity: Not as Simple as We May Think. *Digestive Diseases and Sciences*, 57(7), 1748–1750. <https://doi.org/10.1007/s10620-012-2251-z>

Rosier, B. T., de Jager, M., Zaura, E., & Krom, B. P. (2014). Historical and contemporary hypotheses on the development of oral diseases: are we there yet? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00092>

Runge, T. M., Abrams, J. A., & Shaheen, N. J. (2015). Epidemiology of Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. *Gastroenterology Clinics of North America*, 44(2), 203–231. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2015.02.001>

Sahingur, S. E., & Yeudall, W. A. (2015). Chemokine Function in Periodontal Disease and Oral Cavity Cancer. *Frontiers in Immunology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00214>

Sakka, S., Baroudi, K., & Nassani, M. Z. (2012). Factors associated with early and late failure of dental implants. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 3(4), 258–261. <https://doi.org/10.1111/j.2041-1626.2012.00162.x>

Sánchez, M. C., Llama-Palacios, A., Fernández, E., Figuero, E., Marín, M. J., León, R., Blanc, V., Herrera, D., & Sanz, M. (2014). An in vitro biofilm model associated to dental implants: Structural and quantitative analysis of in vitro biofilm formation on different dental implant surfaces. *Dental Materials*, 30(10), 1161–1171. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.07.008>

Santonocito, S., Giudice, A., Polizzi, A., Troiano, G., Merlo, E. M., Sclafani, R., Grosso, G., & Isola, G. (2022). A Cross-Talk between Diet and the Oral Microbiome: Balance of Nutrition on Inflammation and Immune System's Response during Periodontitis. *Nutrients*, 14(12), 2426. <https://doi.org/10.3390/nu14122426>

Savarino, E., Bredenoord, A. J., Fox, M., Pandolfino, J. E., Roman, S., & Gyawali, C. P. (2017). Advances in the physiological assessment and diagnosis of GERD. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(11), 665–676. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.130>

Schmidt, B. L., Kuczynski, J., Bhattacharya, A., Huey, B., Corby, P. M., Queiroz, E. L. S., Nightingale, K., Kerr, A. R., DeLacure, M. D., Veeramachaneni, R., Olshen, A. B., & Albertson, D. G. (2014). Changes in Abundance of Oral Microbiota Associated with Oral Cancer. *PLoS ONE*, 9(6), e98741. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098741>

Shaikh, H. M., Patil, S., Pangam, T., & Rathod, K. (2018). Polymicrobial synergy and dysbiosis: An overview. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 22(2), 101. https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_385_17

Silva, N., Abusleme, L., Bravo, D., Dutzan, N., Garcia-Sesnich, J., Vernal, R., Hernández, M., & Gamonal, J. (2015). Host response mechanisms in periodontal diseases. *Journal of Applied Oral Science*, 23(3), 329–355. <https://doi.org/10.1590/1678-775720140259>

Simón-Soro, A., & Mira, A. (2015). Solving the etiology of dental caries. *Trends in Microbiology*, 23(2), 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.10.010>

Singh, N., Baby, D., Rajguru, J., Patil, P., Thakkannavar, S., & Pujari, V. (2019). Inflammation and cancer. *Annals of African Medicine*, 18(3), 121. https://doi.org/10.4103/aam.aam_56_18

Sluik, D., van Lee, L., Engelen, A., & Feskens, E. (2016). Total, Free, and Added Sugar Consumption and Adherence to Guidelines: The Dutch National Food Consumption Survey 2007–2010. *Nutrients*, 8(2), 70. <https://doi.org/10.3390/nu8020070>

Smeets, R., Henningsen, A., Jung, O., Heiland, M., Hammächer, C., & Stein, J. M. (2014). Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis – a review. *Head & Face Medicine*, 10(1), 34. <https://doi.org/10.1186/1746-160X-10-34>

Smyth, E. C., Lagergren, J., Fitzgerald, R. C., Lordick, F., Shah, M. A., Lagergren, P., & Cunningham, D. (2017). Oesophageal cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17048. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.48>

Snider, E. J., Compres, G., Freedberg, D. E., Giddins, M. J., Khiabani, H., Lightdale, C. J., Nobel, Y. R., Toussaint, N. C., Uhlemann, A.-C., & Abrams, J. A. (2018). Barrett's esophagus is associated with a distinct oral microbiome. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 9(3), e135. <https://doi.org/10.1038/s41424-018-0005-8>

Snider, E. J., Freedberg, D. E., & Abrams, J. A. (2016). Potential Role of the Microbiome in Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. *Digestive Diseases and Sciences*, 61(8), 2217–2225. <https://doi.org/10.1007/s10620-016-4155-9>

Song, F., Koo, H., & Ren, D. (2015). Effects of Material Properties on Bacterial Adhesion and Biofilm Formation. *Journal of Dental Research*, 94(8), 1027–1034. <https://doi.org/10.1177/0022034515587690>

Souza, J. G. S., Costa Oliveira, B. E., Bertolini, M., Lima, C. V., Retamal-Valdes, B., de Faveri, M., Feres, M., & Barão, V. A. R. (2020). Titanium particles and ions favor dysbiosis in oral biofilms. *Journal of Periodontal Research*, 55(2), 258–266. <https://doi.org/10.1111/jre.12711>

Stasiewicz, M., & Karpiński, T. M. (2022). The oral microbiota and its role in carcinogenesis. *Seminars in Cancer Biology*, 86, 633–642. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.11.002>

Struzycka Izabela. (2014). The Oral Microbiome in Dental Caries. *Polish Journal of Microbiology*, 63(2), 127–135.

Tagaino, R., Washio, J., Abiko, Y., Tanda, N., Sasaki, K., & Takahashi, N. (2019). Metabolic property of acetaldehyde production from ethanol and glucose by oral *Streptococcus* and *Neisseria*. *Scientific Reports*, 9(1), 10446. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46790-9>

Takahashi, N., & Nyvad, B. (2011). The Role of Bacteria in the Caries Process. *Journal of Dental Research*, 90(3), 294–303. <https://doi.org/10.1177/0022034510379602>

Tanner, A. C. R., Kressirer, C. A., Rothmiller, S., Johansson, I., & Chalmers, N. I. (2018). The Caries Microbiome: Implications for Reversing Dysbiosis. *Advances in Dental Research*, 29(1), 78–85. <https://doi.org/10.1177/0022034517736496>

Thrift, A. P., Kramer, J. R., Richardson, P. A., & El-Serag, H. B. (2014). No Significant Effects of Smoking or Alcohol Consumption on Risk of Barrett’s Esophagus. *Digestive Diseases and Sciences*, 59(1), 108–116. <https://doi.org/10.1007/s10620-013-2892-6>

Vasapolli, R., Schütte, K., Schulz, C., Vital, M., Schomburg, D., Pieper, D. H., Vilchez-Vargas, R., & Malfertheiner, P. (2019). Analysis of Transcriptionally Active Bacteria Throughout the Gastrointestinal Tract of Healthy Individuals. *Gastroenterology*, 157(4), 1081-1092.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.05.068>

Wade, W. G. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological Research*, 69(1), 137–143. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2012.11.006>

Wang, J., & Gao, B. (2023). Mechanisms and Potential Clinical Implications of Oral Microbiome in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Current Oncology*, 31(1), 168–182. <https://doi.org/10.3390/curroncol31010011>

Wang, K., Lu, W., Tu, Q., Ge, Y., He, J., Zhou, Y., Gou, Y., van Nostrand, J. D., Qin, Y., Li, J., Zhou, J., Li, Y., Xiao, L., & Zhou, X. (2016). Preliminary analysis of salivary microbiome and their potential roles in oral lichen planus. *Scientific Reports*, 6(1), 22943. <https://doi.org/10.1038/srep22943>

Wang, Q.-L., Xie, S.-H., Wahlin, K., & Lagergren, J. (2018). Global time trends in the incidence of esophageal squamous cell carcinoma. *Clinical Epidemiology*, 10, 717–728. <https://doi.org/10.2147/CLEP.S166078>

Warnakulasuriya, S., Johnson, Newell. W., & van der Waal, I. (2007). Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 36(10), 575–580. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x>

Watanabe, M., Wang, D.-H., Ijichi, A., Shirai, C., Zou, Y., Kubo, M., Takemoto, K., Masatomi, C., & Ogino, K. (2014). The Influence of Lifestyle on the Incidence of Dental Caries among 3-Year-Old Japanese Children. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(12), 12611–12622. <https://doi.org/10.3390/ijerph111212611>

Whitmore, S. E., & Lamont, R. J. (2011). The pathogenic persona of community-associated oral streptococci. *Molecular Microbiology*, 81(2), 305–314. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2011.07707.x>

WHO. (2015). *Guideline: Sugars intake for adults and children*. (<https://www.who.int/publications/i/item/9789241549028>)

Williamson, S. J., & Yooseph, S. (2012). *Bacterial to Microbial Ecosystems (Metagenomics)*. In: van Helden, J., Toussaint, A., Thieffry, D. (eds) Bacterial Molecular Networks. Methods in Molecular Biology, vol 804. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-361-5_3

Yamashita, Y., & Takeshita, T. (2017). The oral microbiome and human health. *Journal of Oral Science* 59(2), 201–206. Nihon University, School of Dentistry. <https://doi.org/10.2334/josnusd.16-0856>

Yang, C.-Y., Yeh, Y.-M., Yu, H.-Y., Chin, C.-Y., Hsu, C.-W., Liu, H., Huang, P.-J., Hu, S.-N., Liao, C.-T., Chang, K.-P., & Chang, Y.-L. (2018). Oral Microbiota Community Dynamics Associated With Oral Squamous Cell Carcinoma Staging. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00862>

Yang, L., Lu, X., Nossa, C. W., Francois, F., Peek, R. M., & Pei, Z. (2009). Inflammation and Intestinal Metaplasia of the Distal Esophagus Are Associated With Alterations in the Microbiome. *Gastroenterology*, 137(2), 588–597. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.04.046>

Yang, W., Chen, C.-H., Jia, M., Xing, X., Gao, L., Tsai, H.-T., Zhang, Z., Liu, Z., Zeng, B., Yeung, S.-C. J., Lee, M.-H., & Cheng, C. (2021). Tumor-Associated Microbiota in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.641270>

Yu, G., Phillips, S., Gail, M. H., Goedert, J. J., Humphrys, M. S., Ravel, J., Ren, Y., & Caporaso, N. E. (2017). The effect of cigarette smoking on the oral and nasal microbiota. *Microbiome*, 5(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0226-6>

Zahng, T.-T., Hu, X.-J., & Lin, L. (2021). Prevalence of peri-implantitis and peri-implant mucositis within 15 years of implant placement. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue = Shanghai Journal of Stomatology*, 30(3), 292–296.

Zewdu, T., Abu, D., Agajie, M., & Sahilu, T. (2021). Dental caries and associated factors in Ethiopia: systematic review and meta-analysis. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 26(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s12199-021-00943-3>

Zhang, L., Liu, Y., Zheng, H. J., & Zhang, C. P. (2020). The Oral Microbiota May Have Influence on Oral Cancer. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00476>

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>

Zhang, Z., Curran, G., Altinok Dindar, D., Wu, Y., Wu, H., Sharpton, T., Zhao, L., Lieberman, D., & Otaki, F. (2021). Insights Into the Oral Microbiome and Barrett's Esophagus Early Detection: A Narrative Review. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 12(9), e00390. <https://doi.org/10.14309/ctg.0000000000000390>

Zheng, Z., Shang, Y., Wang, N., Liu, X., Xin, C., Yan, X., Zhai, Y., Yin, J., Zhang, J., & Zhang, Z. (2021). Current Advancement on the Dynamic Mechanism of Gastroesophageal Reflux Disease. *International Journal of Biological Sciences*, 17(15), 4154–4164. <https://doi.org/10.7150/ijbs.65066>

Zijnge, V., van Leeuwen, M. B. M., Degener, J. E., Abbas, F., Thurnheer, T., Gmür, R., & M. Harmsen, H. J. (2010). Oral Biofilm Architecture on Natural Teeth. *PLoS ONE*, 5(2), e9321. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009321>