

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ALTERAÇÃO DO MICROBIOMA DA DOENÇA
PERIODONTAL SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE
CANCROS ORAIS**

Trabalho submetido por
Maxime Christophe Gueit
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina

julho de 2023

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ALTERAÇÃO DO MICROBIOMA DA DOENÇA PERIODONTAL SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE CANCROS ORAIS

Trabalho submetido por
Maxime Christophe Gueit
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Professor Doutor Carlos Manuel Zagalo Fernandes Ribeiro

e coorientado por
Prof.^a Doutora Maria Alzira Cavacas
Prof. Doutor José Grillo Evangelista

julho de 2023

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Doutor Carlos Manuel Zagalo , e coorientadores José Francisco Grillo Evangelista e Maria Alzira Cavacas por terem aceitado o meu convite e por toda a ajuda e encorajamento que me deram ao longo destes últimos meses. Agradeço-vos pelo vosso envolvimento, partilha e esforços na aprendizagem durante estes 5 anos.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz que possibilitou a minha formação como Médica Dentista.

Ao meu pai, por toda a dedicação, valores, força e encorajamento que ele me dá todos os dias. Por me ter apoiado em todos estes anos difíceis.

Aos meus amigos, pela grande amizade, pela ajuda e cumplicidade ao longo de todo o percurso académico.

Resumo

A presente dissertação aborda a relação bidirecional entre o cancro oral e a periodontite. Uma pesquisa eletrônica, usando Google Scholar, Pubmed, ScienceDirect e Cochrane, foi feita para realizar este trabalho.

A doença periodontal é uma doença inflamatória crônica que afeta as estruturas de suporte do dente, resultando na perda de tecidos de suporte periodontal, aumento da mobilidade dentária, e possivelmente a perda de dentes.

A microbiota bacteriana saudável e a homeostase são importantes para o funcionamento normal do corpo humano. O microbioma oral desempenha um papel essencial na manutenção da fisiologia oral normal, e tem sido atualmente dada mais atenção à possível causalidade entre as instabilidades da dinâmica microbiana e o cancro.

Neste trabalho, vários estudos foram resumidos mostrando uma associação entre cancro e má saúde oral, presença de bactérias associadas à periodontite, e sinais clínicos de periodontite. As vias pró-inflamatórias também foram resumidas. Tais vias são ativadas por infecções mono ou polimicrobianas, resultando em aumento da expressão de moléculas pró-inflamatórias como IL-6, IL-8, IL-1 β e TNF- α .

Foi demonstrado pela síntese dos artigos vistos que a periodontite e os cancros orais estão ligados por vários mecanismos complexos, incluindo proliferação celular, apoptose celular, ciclo e transporte celular.

No entanto, mais estudos são necessários para determinar o efeito combinado de espécies orais na carcinogénese, mesmo que uma boa quantidade de estudos nos tenha permitido entender como infecções monoespécies ativam vias envolvidas na tumorigénese.

Palavras-chave: doença periodontal, cancros orais, microbioma oral, mecanismo de alteração do microbioma

Abstract

This dissertation addresses the bidirectional relationship between oral cancer and periodontitis. An electronic search, using Google Scholar, Pubmed, ScienceDirect, and Cochrane, was performed to accomplish this work.

Periodontal disease is a chronic inflammatory disease that affects the supporting structures of the tooth, resulting in loss of periodontal support tissues, increased tooth mobility, and possibly tooth loss.

Healthy bacterial microbiota and homeostasis are important for the normal functioning of the human body. The oral microbiome plays an essential role in maintaining normal oral physiology, and more attention is currently being paid to possible causality between instabilities in microbial dynamics and cancer.

In this thesis, several studies were summarized showing the association between cancer and poor oral health, presence of bacteria associated with periodontitis, and clinical signs of periodontitis. Pro-inflammatory pathways were also summarized. Such pathways are activated by mono- or polymicrobial infections, resulting in increased expression of pro-inflammatory molecules such as IL-6, IL-8, IL-1 β and TNF- α .

It has been demonstrated by the synthesis of the articles seen that periodontitis and oral cancers are linked by several complex mechanisms, including cell proliferation, cell apoptosis, cell cycle and cell transport.

However, further studies are needed to determine the combined effect of oral species on carcinogenesis even if a good amount of studies has allowed us to understand how monospecies infections activate pathways involved in tumorigenesis.

Keywords: periodontal disease, oral cancers, oral microbiome, mechanism of microbiome change

Résumé

Cette thèse porte sur la relation bidirectionnelle entre le cancer oral et la parodontite. Une recherche électronique, utilisant Google Scholar, Pubmed, ScienceDirect et Cochrane, a été effectuée pour accomplir ce travail.

La maladie parodontale est une maladie inflammatoire chronique qui affecte les structures de soutien de la dent, entraînant la perte des tissus de soutien parodontaux, une mobilité dentaire accrue et éventuellement la perte de dents.

Le microbiote bactérien sain et l'homéostasie sont importants pour le fonctionnement normal du corps humain. Le microbiome oral joue un rôle essentiel dans le maintien d'une physiologie orale normale, et une plus grande attention est actuellement accordée à la causalité possible entre les instabilités de la dynamique microbienne et le cancer.

Dans ce travail, plusieurs études ont été résumées montrant une association entre le cancer et une mauvaise santé bucco-dentaire, la présence de bactéries associées à la parodontite et les signes cliniques de la parodontite. Les voies pro-inflammatoires ont également été résumées. Ces voies sont activées par des infections mono ou polymicrobiennes, entraînant une expression accrue de molécules pro-inflammatoires telles que IL-6, IL-8, IL-1 β et TNF- α .

Il a été démontré par la synthèse des articles consultés que la parodontite et les cancers de la bouche sont liés par plusieurs mécanismes complexes, notamment la prolifération cellulaire, l'apoptose cellulaire, le cycle cellulaire et le transport.

Cependant, d'autres études sont nécessaires pour déterminer l'effet combiné des espèces orales sur la cancérogénèse, même si bon nombre d'études ont permis de comprendre comment les infections monospécifiques activent les voies impliquées dans la tumorigénèse.

Mots-clés : maladie parodontale, cancers oraux, microbiome oral, mécanisme de modification du microbiome

Índice Geral

I. INTRODUÇÃO.....	13
II. DESENVOLVIMENTO.....	15
1. Periodontite	15
1.1. Periodonto saudável	15
1.2. Definição da periodontite	16
1.3. Etiologia da periodontite	18
1.4. Mecanismo da inflamação periodontal	22
1.4.1. Biofilme periodontal e agentes patogénicos orais encontrados na periodontite	22
1.4.2. Papel da comunidade subgengival e das vias pró-inflamatórias	24
2. A correlação entre a inflamação periodontal e o processo de cancro	29
2.1. Definição do cancro oral	29
2.1.1. Lesões potencialmente malignas da mucosa oral.....	30
2.1.1.1. Leucoplasia.....	30
2.1.1.2. Eritroplasia	31
2.1.1.3. Líquen plano oral.....	32
2.1.1.4. Fibrose Submucosa.....	32
2.1.1.5. Inflamação crónica.....	33
2.1.2. Lesões malignas	33
2.1.2.1. Melanoma oral.....	33
2.2. Diagnóstico precoce.....	34
2.3. Hipóteses para a etiologia da relação entre a periodontite e o cancro oral	35
2.4. Os processos cancerígenos induzidos por bactérias e mediadores inflamatórios associados a periodontite.....	36
2.4.1. Subprodutos metabólicos que favorecem para carcinogénese	37
2.4.2. Fomento da replicação celular.....	39
2.4.3. Bloqueio da morte celular programada.....	40
2.4.4. Estímulo a viabilidade celular	42
2.4.5. Promoção de invasão celular.....	43
2.5. Distúrbios comunitários microbianos orais	44
3. Controlar a microbiota oral em doentes com cancro	46
3.1. Prevenção da microbiota oral ligada a carcinogénese.....	47
III. CONCLUSÃO	49

IV. BIBLIOGRAFIA.....	51
-----------------------	----

Índice de Figuras

Figura 1: Constituintes do periodonto	15
Figura 2: Progressão da doença periodontal	16
Figura 3: Suscetibilidade a doenças periodontais	21
Figura 4: Frequência da detecção de espécies bacterianas associadas à periodontite na saúde e gengivite.....	23
Figura 5: Um modelo da patogénese da periodontite	28
Figura 6: Representação esquemática de potenciais processos envolvidos na relação doença periodontal/cancro oral.....	36
Figura 7: Mecanismos de patógenos periodontais impactando o cancro oral.....	37
Figura 8: O processo de autofagia é regulado positivamente e promove a sobrevivência das células cancerígenas	42
Figura 9: Os efeitos sinérgicos e antagónicos entre as bactérias orais no cancro oral ..	45

Lista de Abreviaturas

OMS	Organização Mundial da Saúde
EFP	Federação Europeia de Periodontologia
CAL	Perda de ligação clínica
DP	Doença periodontal
BOP	Sangramento na sondagem
CO	Cancro oral
TNF-α	Fator de necrose tumoral- α
IL	Interleucina
IFN	Interferões
TH	Linfócitos T auxiliares
MMP-8	Matrízes metaloproteinases
TLR	Recetor de Toll-like
GEC	Células epiteliais gengivais
PGE2	Prostaglandina E2
LPS	Lipopolissacarídeo bacteriano
OSCC	Carcinoma oral de células escamosas
PMOEL	Lesões epiteliais orais potencialmente malignas
LPO	Líquen plano oral
PVL	Leucoplasia verrucosa proliferativa
POM	Melanoma oral primário
H2S	Sulfureto de hidrogénio
4NQO	4 nitroquinolina 1-óxido
FOXO	Forkhead box-O
FIMa	Proteína fimbrial de <i>P. gingivalis</i>
EMT	Transição epitelial para mesenquimal
CAF	Fibroblastos associados ao cancro

I. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o cancro tornou-se uma doença crescente tanto nas sociedades desenvolvidas como nas não desenvolvidas. Muitos estudos analisaram os fatores responsáveis pela incidência do cancro e do seu mau prognóstico. Em 2018, GLOBOCAN relatou um total de 18 milhões de novos casos de cancro e 9,5 milhões de mortes relacionadas com o cancro a nível mundial. Quase 4 milhões de novos casos e 1,5 milhões de mortes relacionadas com o cancro, em comparação com os registados em 2012 (Bray et al., 2018).

A saúde oral é cada vez mais vista como um aspeto médico que influencia a saúde geral de cada paciente. A cavidade oral é considerada como a porta de entrada para muitas bactérias e não oferece limites à sua propagação para a circulação geral. A microbiota oral desempenha um papel importante no microbioma humano e na saúde, e os desequilíbrios entre micróbios e os seus hospedeiros podem levar a doenças sistémicas e inflamação crónica, que é geralmente causada por bactérias e contribui para o cancro (Zhang et al., 2020).

A doença periodontal ou periodontite é uma doença infecciosa multifatorial que é caracterizada pela inflamação dos tecidos periodontais (tecidos de suporte do dente), sinais de inflamação gengival e destruição óssea (bolsas periodontais). Recentemente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) salientou a importância de reforçar o controlo da doença periodontal em todo o mundo (OMS, 2022).

De acordo com a OMS, as doenças crónicas não transmissíveis, incluindo doenças cardiovasculares, cancro, doenças respiratórias crónicas, e diabetes, continuam a ser as principais causas, cerca de 70%, da morte ao nível mundial. Além disso, a doença periodontal é uma das doenças orais mais importantes que contribuem para o desenvolvimento de doenças crónicas e, por conseguinte, representa um importante problema de saúde pública (OMS, 2022).

Recentemente, agentes infecciosos, que têm sido estudados como desempenhando um papel importante no desenvolvimento e progressão dos cancros orais, têm gradualmente emergido. O microbioma oral desempenha um papel essencial na

manutenção duma fisiologia oral normal, e atualmente tem sido dada mais atenção à possível causalidade entre as instabilidades de dinâmica microbiológica e cancro (Li et al., 2022). Algumas bactérias manipulam diretamente a sua célula hospedeira para afetar a integridade e contribuir para a formação de tumores em várias fases do seu ciclo de infecção. Tais como fragmentos de superfície bacteriana, toxinas de proteínas bacterianas podem induzir danos no DNA da célula hospedeira, interferindo assim com as vias de sinalização essenciais envolvidas no desenvolvimento de células cancerosas (Li et al., 2022). É precisamente esta nova hipótese de associação positiva com a carcinogénese que vai interessar-nos ao longo desta tese.

O impacto na saúde pública poderia ser potencialmente enorme se as medidas de intervenção que ajudam na prevenção e gestão das doenças periodontais também poderia ajudar a reduzir o risco de desenvolver cancro ou a sua progressão (Li et al., 2022). O objetivo desta revisão bibliográfica é recolher estudos de 2000 a 2022 sobre a relação entre a periodontite e os cânceros orais, realizar uma análise e fazer uma breve síntese no final da leitura. Isto permitirá-nos confirmar ou refutar a hipótese inicial. Em primeiro lugar, descreveremos a periodontite e os seus mecanismos, salientando o papel do microbioma gengival e das vias inflamatórias na inflamação periodontal crónica. Iremos então rever e sintetizar os estudos para realçar a influência da doença periodontal na patologia do cancro oral. Finalmente, veremos alguns meios de prevenção e controlo para reduzir o processo cancerígeno.

II. DESENVOLVIMENTO

1. Periodontite

1.1. Periodonto saudável

O periodonto é um conjunto de tecidos que suportam o dente e permitem a sua ancoragem ao osso maxilar. Este é constituído por cinco elementos que garantem a boa saúde dentária e a sua sustentabilidade ao longo do tempo: gengiva; ligamento periodontal; osso alveolar propriamente dito; cemento; osso alveolar (Lindhe et al., 2008c) (figura 1).

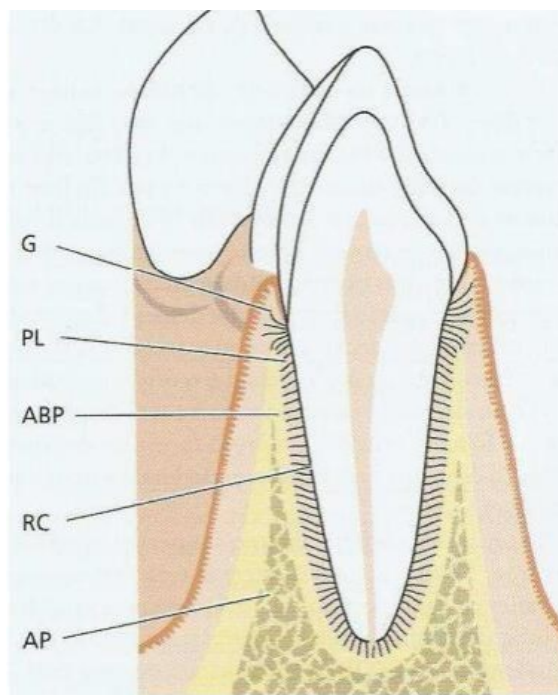


Figura 1: Constituintes do periodonto (Clinical Periodontology and Implant Dentistry” Lindhe, (2008c).

(G) gengiva; (PL) ligamento periodontal; (ABP) osso alveolar propriamente dito; (RC) cemento; (AP) osso alveolar. Retirada e adaptada de: livro “Clinical Periodontology and Implant Dentistry” Lindhe, (2008c)

Segundo a EFP (European Federation of Periodontology), um fator-chave na definição de saúde periodontal foi o reconhecimento de que a saúde periodontal pode existir a nível local e em toda a boca, bem como sobre um periodonto intacto ou reduzido. Um periodonto intacto é um periodonto sem perda de ligação clínica (CAL) ou perda óssea. Num estado saudável, o periodonto rodeia toda a raiz do dente (Chapple, 2019).

1.2. Definição da periodontite

A doença periodontal (DP) é uma inflamação crónica que afeta o osso alveolar, ligamento periodontal, cemento e gengiva. É mais comum em adultos, e tem sido tradicionalmente dividida em duas categorias: gengivite e periodontite (Figura 2). A gengivite pode progredir até à periodontite. A DP é causada principalmente por bactérias gram-negativas. A infecção bacteriana crónica na DP resulta em dores e gengivas que sangram, destruição óssea alveolar, estimulando em última análise a resposta inflamatória (Hwang et al., 2014).

As doenças periodontais podem ser definidas como doenças infecciosas multifatoriais. Caracterizam-se por diferentes sintomas e sinais clínicos (Hwang et al., 2014):

- inflamação que pode ou não ser visível
- hemorragias gengivais espontâneas ou provocadas de importância variável
- formação de bolsas em ligação com a perda de fixação e osso alveolar
- mobilidade dentária que pode levar à perda de dentes

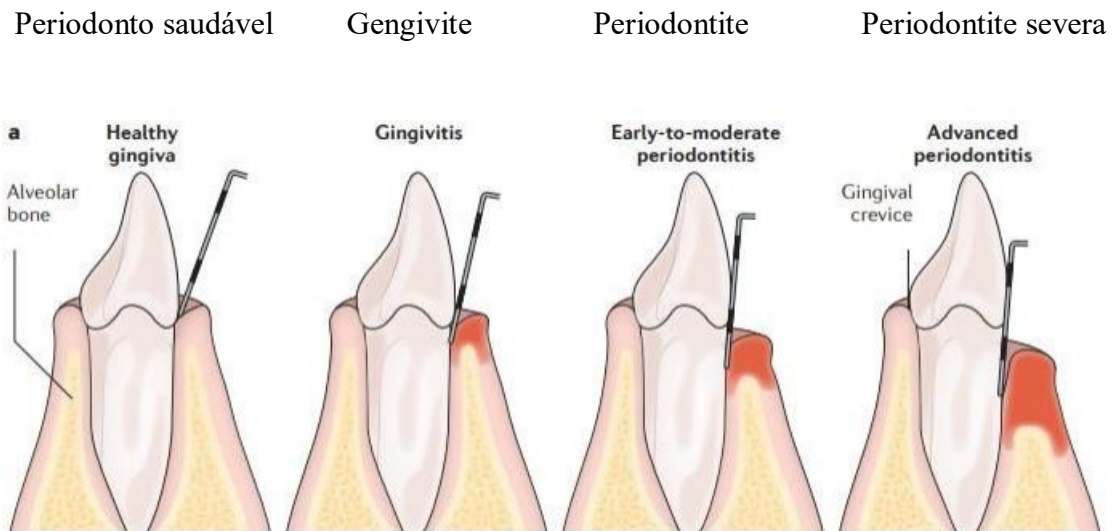


Figura 2: Progressão da doença periodontal (Kinane et al., 2017).

De acordo com Sanz e Tonetti (2019), um sistema de classificação e encenação multidimensional foi concebido para descrever com mais detalhes as diferentes manifestações da periodontite em casos individuais. Os graus fornecem uma indicação adicional das suas características biológicas enquanto os estádios descrevem a gravidade e complexidade da doença (Tonetti & Sanz, 2019).

A classificação indicou que a hemorragia à sondagem (hemorragia na sondagem) é a ferramenta de diagnóstico mais confiável e validada para a avaliação da inflamação gengival e a incorporou na definição de caso de saúde periodontal, gengivite, periodonto reduzido, mas saudável, e inflamação gengival em um paciente tratado com periodontite (Tonetti & Sanz, 2019).

A unidade de classificação também identificou limites específicos para os valores no BOP (hemorragia na sondagem) para definir saúde periodontal e gengivite (10% BOP na ausência de perda de inserção), bem como periodonto reduzido, mas saudável após a conclusão do tratamento (BOP 10% na presença de perda de inserção, mas sem profundidade de sondagem superior a 3 mm) e inflamação gengival em paciente com periodontite (BOP > 10% na presença de perda de inserção, mas sem profundidade de sondagem superior a 3 mm). Isso requer a introdução do BOP como parte do exame dentário de rotina para identificar casos de saúde periodontal e gengivite e controlar indivíduos tratados (Tonetti & Sanz, 2019).

A classificação requer a identificação de 10% de sangramento nos locais de sondagem para distinguir entre saúde periodontal e gengivite e, portanto, requer avaliação e registo completos da boca. Tal abordagem representa uma oportunidade importante, pois, além da necessidade de diagnóstico, o registo do sangramento à sondagem juntamente com a placa representa a abordagem chave para avaliar a higiene bucal do paciente e planejar programas preventivos individualizados (Tonetti & Sanz, 2019).

Em segundo lugar, a unidade de classificação salientou a necessidade de estabelecer a perda de ligação clínica (CAL) como a definição primária de periodontite (com o entendimento de que quando a perda óssea alveolar marginal está presente em radiografias de diagnóstico de qualidade, pode ser uma medida alternativa adequada de CAL) (Tonetti & Sanz, 2019).

Durante o exame, portanto, os clínicos devem reconhecer os sinais de CAL e diferenciá-los de outras condições clínicas também associadas a CAL, como recessão

gingival, fraturas radiculares verticais, lesões endoperiodontais, perda na parte distal dos segundos molares inferiores associada a sisos inclusos, ou perda de inserção secundária a cáries ou restaurações cervicais (Tonetti & Sanz, 2019).

O reconhecimento da presença de perda de inserção entre os dentes na presença de periodontite é mais fácil do que normalmente apreciado e requer estabelecer se a junção amelocementária interdentária é ou não visível, ou se a ponta da sonda periodontal atinge a superfície radicular no espaço interdental. Este é um aspeto importante da nova classificação, pois a falta de implicação desse parâmetro na definição e diagnóstico do caso leva ao paradoxo de que a gravidade da periodontite pode melhorar à medida que os dentes mais comprometidos são perdidos (Tonetti & Sanz, 2019).

A esse respeito, não há nenhum critério estabelecido além de questionar o paciente se o dente foi perdido ou extraído ou não ou se o dente extraído era “sadio” e não comprometido pela cárie (Tonetti & Sanz, 2019).

1.3. Etiologia da periodontite

A doença periodontal tem sido relatada desde os tempos antigos, tornando-se uma das doenças orais mais frequentes e afetando pessoas de todas as idades e géneros em muitas partes do mundo. A DP é uma patologia extremamente comum com variações muito grandes segundo o país.

Gjerme et al. realizaram estudos clínicos sobre a associação da doença periodontal com a idade e estimaram que 15% das pessoas com 31-50 anos e 30% das pessoas com 50 anos ou mais tinham periodontite (Gjerme et al., 2002). De facto, existem muitos fatores de risco de doença periodontal e a sua identificação e gestão tornaram-se elementos-chave no tratamento de pacientes periodontais. Fatores de causalidade relevantes para as questões da saúde humana podem ser definidas como: “um fator é uma causa de doença ou condição relacionada com a saúde se o seu funcionamento aumenta a frequência da doença ou condição” (Genco & Borgnakke, 2013).

Muitos estudos, como o de AlJehani (2014), destacaram fatores de risco modificáveis e fatores não modificáveis. Primeiramente, os principais fatores de risco, considerados modificáveis, são:

- microrganismos orais: as bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros* envolvidos na patogenicidade da doença periodontal
- tabagismo: maior taxa de desenvolvimento de doenças periodontais em pacientes que fumam
- Diabetes tipo I e II
- doenças cardiovasculares
- certos medicamentos (anti-hipertensivos, tranquilizantes, etc)
- stress
- obesidade

Finalmente, aqueles que não são considerados modificáveis são:

- osteoporose
- resposta do hospedeiro específica para cada paciente
- alterações hormonais na mulher e na gravidez
- distúrbios hematológicos

Além disso, características como idade, sexo, nível socioeconômico, grau de escolaridade, genética individual e nível de proteína reativa podem influenciar o aparecimento e a gravidade da doença periodontal (AlJehani, 2014).

A segunda comunidade microbiana mais heterogênea do corpo humano é a cavidade oral. Podemos encontrar uma grande variedade de microrganismos como bactérias, vírus, fungos e protozoários. Estudos mostram que já foram encontradas cerca de 700 espécies de bactérias, no entanto apenas metade foram identificadas (Kilian et al., 2016).

A seguir significativa investigação, foi descoberto que a componente microbiana tem o papel mais importante no desenvolvimento da doença periodontal na sua forma destrutiva, com os outros fatores que sejam favoráveis ou predisponentes. O papel

particular da flora bacteriana merece ser individualizado. O desenvolvimento da doença periodontal tem sido associado à presença de várias bactérias e pela formação de um biofilme através da cooperação bacteriana (Gjerme et al., 2002).

Quando a placa bacteriana se encontra organizada e em equilíbrio, predominam bactérias gram-positivas aeróbias (*Streptococcus sp* e *Actinomyces sp*) na placa supragengival e bactérias gram-negativas (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Prevotella intermédia*) na placa subgengival (Kilian et al., 2016).

Os dados atuais sugerem que um pequeno grupo de anaeróbios predominantemente gram-negativos ou bactérias microaerófilas no biofilme estão frequentemente associadas à iniciação e progressão da DP. Os organismos fortemente envolvidos como agentes etiológicos durante o período ativo ("periodontite adulta ativa") incluem *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) e *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) (Gjerme et al., 2002).

Estas alterações favorecidas por alterações ecológicas associadas à acumulação de placa, gengivite e exsudado gengival aumentam o número de microrganismos e alteram as suas proporções, mas nenhuma espécie aparece em sítios ativos que também não estejam normalmente presentes em sítios inativos (Gjerme et al., 2002). A microbiota oral contribui para o bem-estar oral e geral, e a sua perda pode ser prejudicial para a saúde do indivíduo (Kilian et al., 2016).

O complexo equilíbrio entre as espécies residentes na cavidade oral é responsável para a manutenção de um estado saudável (em simbiose) ou um estado associado à doença (em disbiose) (Figura 3). No microbioma disbiótico, a diversidade e as proporções relativas das espécies ou taxas dentro da microbiota são perturbadas (Marsh et al., 2015). Estas sucessões incluem modificações específicas do ambiente local no biofilme que selecionam grupos específicos de bactérias e eventualmente induzir alterações nas comunidades bacterianas subgengivais que conduzem a uma comunidade disbiótica capaz de induzir uma desregulamentação da resposta inflamatória do hospedeiro e eventualmente causar inflamação crónica (Kilian et al., 2016).

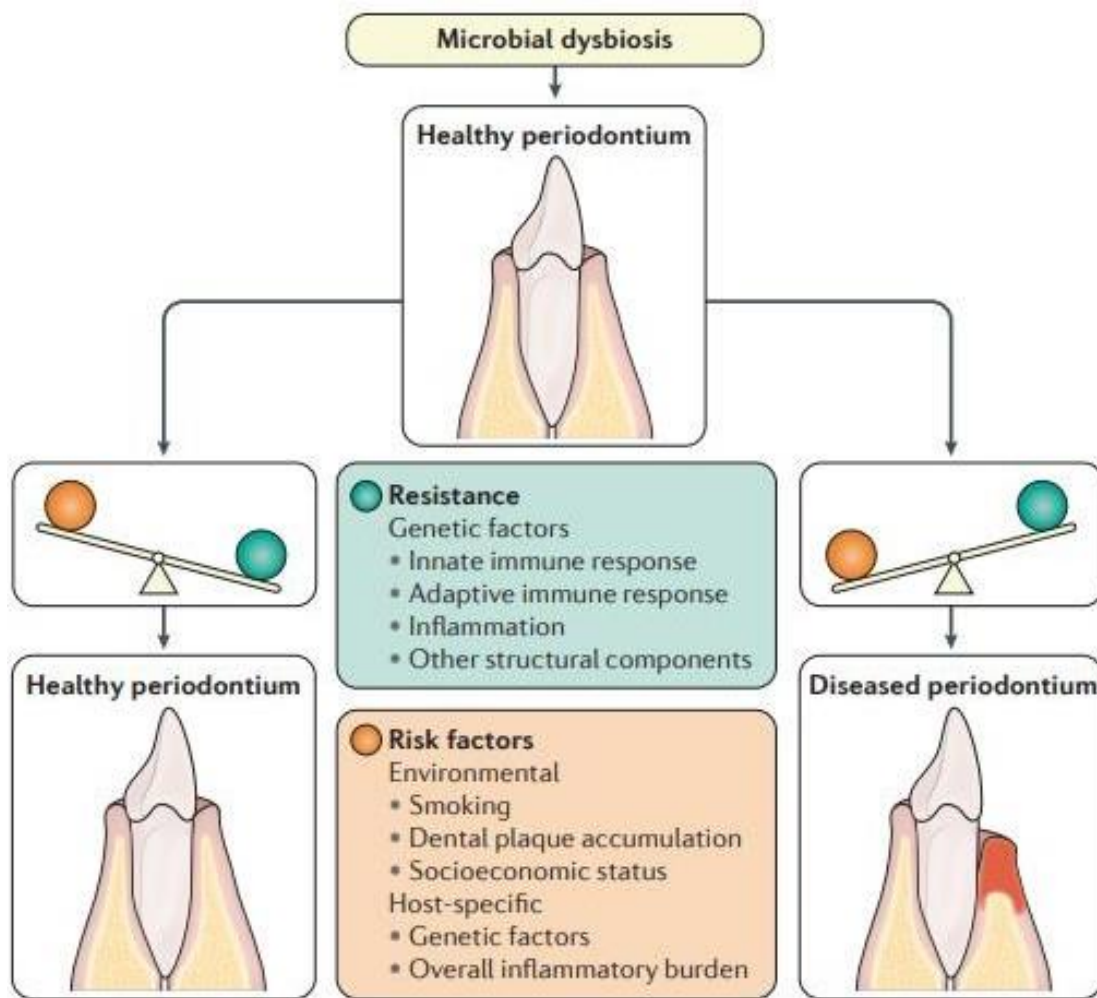


Figura 3: Suscetibilidade a doenças periodontais (Kinane et al., 2017).

A progressão da doença depende da extensão e gravidade do desafio do biofilme microbiano (disbiose microbiana) e da resposta do hospedeiro, que é influenciada por fatores protetores (resistência) e fatores promotores (fatores de risco) (Kinane et al., 2017).

A relação entre o microbioma oral e o seu hospedeiro é dinâmica e, enquanto na boca saudável a composição de comunidades microbianas é notavelmente estável, (depois de o microbioma ter amadurecido na infância), mudanças biológicas na vida de uma pessoa podem afetar o equilíbrio das espécies dentro estas comunidades (Marsh et al., 2015).

1.4. Mecanismo da inflamação periodontal

1.4.1. Biofilme periodontal e agentes patogénicos orais encontrados na periodontite

O desenvolvimento da periodontite é acompanhado por profundas alterações na composição das comunidades subgengivais, com o surgimento de espécies maioritariamente gram-negativas diferentes das enriquecidas durante a gengivite, que excedem os valores associados à saúde (Curtis et al., 2020). Entre as espécies enriquecidas, encontram-se as tríades classicamente descritas como complexo vermelho de *T. denticola*, *P. gingivalis* e *Tannerella forsythia*. Outros como *Treponema spp.* também aparecem como componentes abundantes das comunidades de periodontite, de acordo com os estudos clássicos de microscopia, que indicavam que a abundância de espiroquetas estava associada à gravidade da destruição periodontal (Curtis et al., 2020).

Graças aos estudos de sequenciamento do 16S RNAr, como o realizado por Curtis et al. em 2020, foi entendido quais espécies aparecem associadas à saúde periodontal e a periodontite. Os estudos mostram as espécies mais fortemente associadas à saúde ou periodontite, a julgar pela sua aparição repetida em inquéritos moleculares realizados por diferentes grupos em Coortes de doentes distintos; *Actinomyces spp.*, *Rothia spp* e *S. sanguinis* aparecem como os principais organismos associados à saúde diminuídos em periodontite, enquanto um grupo diversificado de gram-negativos na sua maioria são enriquecido em periodontite (Curtis et al., 2020).

O maior número de espécies associadas à periodontite do que as espécies associadas à saúde é consistente com a maior diversidade de comunidades de periodontites, nas quais as espécies estão distribuídas duma maneira mais uniforme e, portanto, mais espécies podem ser detetadas com um esforço de sequenciação semelhante ao das comunidades saudáveis menos diversas, que tendem a ser dominadas por uma minoria de espécies (Figura 4) (Hong et al., 2015; Kirst et al., 2015; Abusleme et al., 2013).

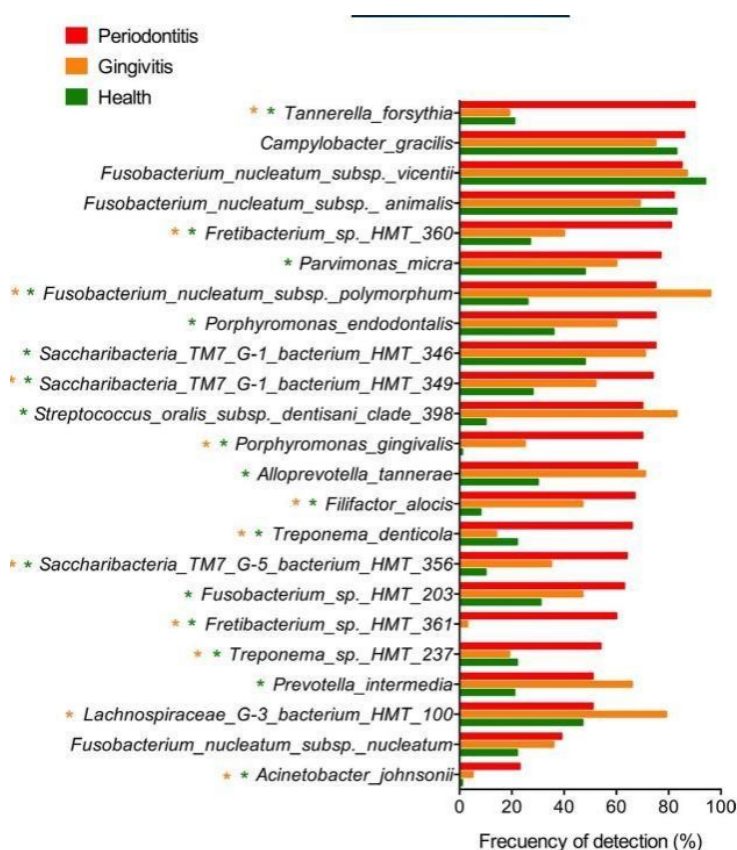


Figura 4: Frequência da detecção de espécies bacterianas associadas à periodontite na saúde e gengivite (Abusleme et al., 2021).

O gráfico de barras mostra espécies bacterianas representadas em termos de abundância relativa em periodontite (determinada utilizando LEfSe). As barras representam a percentagem de amostras em que a espécie foi detetada. As espécies com um * mostram uma frequência de detecção diferente em relação à saúde ou gengivite. Um asterisco verde indica espécies mais frequentemente detetadas na periodontite do que na saúde, e um asterisco laranja indica espécies mais frequentemente detetadas na periodontite do que na gengivite (Abusleme et al., 2021).

Curiosamente, para além de ter determinado tanto a periodontite como as bactérias associadas à saúde, um terceiro grupo chamado "espécies centrais", que são igualmente prevalentes e encontradas na mesma proporção, foi caracterizada, sendo o *F. nucleatum* o mais abundante neste grupo (Abusleme et al., 2013; Hong et al., 2015c). *F. nucleatum* desempenha um papel central no papel do biofilme subgengival, uma vez que interage fisicamente com outros microrganismos subgengivais (Hoare et al., 2019): *P. gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella spp*, *Streptococcus gordonii*, *Cândida albicans*, e outros (Hoare et al., 2019). Interações tão estreitas com várias espécies no biofilme refletem-se no facto de que o *F. nucleatum* atua como uma ponte que liga os primeiros colonizadores como *Streptococcus spp.* e outras espécies

facultativas e tardias colonizadores tais como *P. gingivalis* (Kolenbrander et al., 2006). Este processo é essencial para as sucessões ecológicas que estabelecem a placa subgengival e determinar a progressão da periodontite, na qual milhares de espécies colonizam a área subgengival de forma ordenada (Hoare et al., 2019).

Estas sucessões incluem modificações específicas do ambiente local no biofilme (Bowen et al., 2018) que selecionam grupos específicos de bactérias e eventualmente acabam por induzir alterações nas comunidades bacterianas subgengivais que conduzem a uma comunidade disbiótica capaz de induzir uma desregulamentação da resposta inflamatória do hospedeiro e eventualmente causar inflamação crónica (Hoare et al., 2019).

1.4.2. Papel da comunidade subgengival e das vias pró-inflamatórias

Durante muito tempo, os estudos têm tentado estabelecer os mecanismos do microbioma bacteriano subgengival que conduzem à doença periodontal. Na periodontite, são observadas alterações inflamatórias nos tecidos de suporte dos dentes. Vários agentes patogénicos orais, tais como bactérias, fungos, e vírus, são responsáveis por causar inflamação. A inflamação é uma das primeiras respostas protetoras do organismo contra qualquer agente patogénico externo. Enquanto a inflamação aguda ocorre durante alguns dias, a inflamação crónica pode durar meses e anos. Na periodontite, existe uma inflamação crónica, que é mediada por diferentes mediadores inflamatórios (Bhuyan et al., 2022).

Em ambientes fisiológicos, existe um equilíbrio delicado entre a resposta imunitária local e a microbiota. Quando todos os elementos da microbiota são alterados após a colonização por um agente patogénico "chave" como o *P. gingivalis*, a patogenicidade de toda a comunidade é elevada, e a homeostase do tecido é alterada (Kilian et al., 2016).

Tecido conjuntivo gengival, ligamento periodontal, e osso alveolar são todos destruídos por mediadores inflamatórios. A perda do cementoblasto exterior produz alterações na superfície da raiz, resultando em lesões superficiais de reabsorção de cimento. As endotoxinas, que são produzidas por bactérias, irritam os tecidos moles e impedem a ativação de mecanismos de cura (Nakamura et al., 2012).

As imunidades específicas e não específicas complementam-se mutuamente. A inflamação que permanece limitada ao nível gengival é o resultado duma simbiose

equilibrada entre o biofilme e os tecidos hospedeiros, e o desenvolvimento da DP é o resultado do desequilíbrio de tais simbiose, que é modificada pelo ambiente e por fatores genéticos. As citocinas pró-inflamatórias são produzidas durante uma resposta inflamatória e promovem a sua progressão, tais como a interleucina-1 (IL-1), IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interferões (IFN), e granulócitos e macrófagos (Bloemen et al., 2011).

Além disso, as células CD4⁺ T produzem RANK-L, uma citocina que promove a reabsorção óssea. Também tem sido descrito que as células T contribuem para respostas imunitárias mediadas por células, estimulando os linfócitos auxiliares (T-helper), tais como Th1, Th2, Th9, Th17 e Th22 e a desregulamentação desta resposta poderia estar ligada ao aparecimento da doença e à sua cronicidade (Aranha e coll., 2013; Gemmell & Seymour, 2004). Para além dos mediadores inflamatórios produzidos pelas células imunitárias, o epitélio gengival também liberta outras citocinas tais como IL-1, IL-8, e TNF- α , que por sua vez promove o recrutamento de macrófagos (Noh et al., 2013).

Concordantemente com estes estudos realizados *in vitro*, nas amostras num tecido de periodontite, um aumento do RNAm de IL-1 β , IL-6, IL8, e TNF- α , regulado após ativação da célula T normal exprimidas e secretada pela proteína-1 monocitária quimiotático, foi observada, em comparação com a gengiva saudável (Davarian et al., 2012). No mesmo contexto, uma expressão mais elevada de IL-1 β foi observada em fluido gengival em locais mais profundos de pacientes com periodontite (Lomba et al., 2015).

Como consequência desta resposta inflamatória, ocorrem alterações ecológicas na região subgengival, que contribuem para as sucessões ecológicas na área subgengival que estão associadas à progressão da periodontite. Curiosamente, algumas bactérias associadas à periodontite demonstraram contribuir diretamente para a inflamação crónica através da ativação de vias intracelulares específicas (Hoare et al., 2019).

Devido à natureza polimicrobiana da periodontite e considerando que as interações interbacterianas que ocorrem no biofilme subgengival contribuem para a doença, modelos atuais de periodontite incluem o estudo do efeito de múltiplas espécies na estimulação da resposta imunitária (Hoare et al., 2019).

Em 2018, Herrero et al. mostraram que a exposição de culturas epiteliais e fibroblastos a um biofilme disbiótico aumentou a expressão de IL-6, IL-8, IL-1 β , TNF- α ,

e matrizes metaloproteinases (MMP-8) (Herrero et al., 2018). No mesmo contexto, outros estudos demonstraram que as células epiteliais produzem níveis mais elevados de citocinas quando expostas a biofilmes monoespecíficos ou multiespecíficos (Ramage et al., 2017).

Do mesmo modo, infecção polimicrobiana (*P. gingivalis*, *T. denticola*, e *T. forsythia*) usando um murino do modelo ósseo calvaria afetou a expressão de vários genes relacionados com a proliferação celular, ciclo celular, apoptose, transporte, resposta imunitária, e resposta inflamatória. No contexto pró-inflamatório, as principais citocinas que aumentaram foram IL-1, IL-6, e TNF- α , que são precisamente aquelas relacionadas na inflamação crónica e danos ósseos crónicos (Bakthavatchalu et al., 2011).

Diversos estudos utilizando bactérias planctónicas determinaram a contribuição de espécies chave encontradas no processo inflamatório. Estes mesmos estudos demonstraram que a bactéria *T. denticola* estava envolvida no mesmo processo. Consideremos o exemplo do estudo de A. Beklen et al. em 2009 que mostrou que a bactéria pode ativar o recetor de Toll-like 5 (TLR5) através de flagelina, o componente principal do flagelum bacteriano. Esta interação leva a um aumento de IL-1 β e TNF- α (Beklen et al., 2009). Outro exemplo de um estudo de J. E. Shin et al. em 2010 sugere que *T. denticola* também pode suprimir a acção de peptídeos antimicrobianos como o β -defensin 3 humano, regulando a via de sinalização ativada por TLR2 (Shin et al., 2010). Finalmente, o estudo de Tanabe et al. de 2009 salientou que o péptido de *T. denticola* induz a secreção de citocinas pró-inflamatórias tais como IL-8, IL-6, e TNF- α , em macrófagos murinos, estimulando a produção de prostaglandina E2 (PGE2) e diminuindo a sua viabilidade (Tanabe et al., 2009). Um estudo de Settem et al. de 2013 mostraram que a glicosilação da camada S de *T. denticola*, que é importante para a estabilização mecânica e proteção da bactéria, pode desregular a resposta imunitária ao prevenir a produção de Th17, provavelmente inibindo o recrutamento de neutrófilos para o local da infecção. Este efeito produz destruição tecidual e óssea (Settem et al., 2013).

Uma bactéria anaeróbica gram-positiva que tem aparecido como uma espécie associada à periodontite é *F. alocis*. A infecção das células epiteliais gengivais (GECs) por *F. alocis* estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 β , IL-6, e TNF- α . Isto é importante, uma vez que estas as citocinas estão relacionadas com a estimulação dos osteoclastos e reabsorção óssea (Moffatt et al., 2011).

Apesar dos estudos crescentes que demonstram a relevância de uma série de espécies na progressão da periodontite, uma das espécies mais estudadas é *P. gingivalis*. Através de tais estudos, atualmente, temos um bom entendimento do seu papel na patogênese da periodontite. Esta bactéria é internalizada por macrófagos e é também capaz de induzir a sua própria internalização pelas GECs. Uma vez dentro das GECs, a bactéria pode utilizar o funcionamento da célula hospedeira para a sua sobrevivência e persistência (Hoare et al., 2019).

Por exemplo, as GECs infectadas ativam vias antiapoptóticas, tais como o JAK/STAT e phosphatidylinositol 3-quinase (PI3K/Akt), que inibem a via intrínseca da apoptose, provavelmente para persistir nuns períodos mais longos. Ambos os caminhos também têm sido relacionados com a inflamação. O caminho PI3K/Akt, por outro lado, está envolvido no aumento do RNAm de TLR4, em resposta ao lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) (Jiang et al., 2014). Finalmente, a fosforilação do Akt e a sua consequente ativação aumenta a transcrição dos genes antiapoptóticos (Lieberthal & Levine, 2009).

Durante a progressão da periodontite, os danos dos tecidos ocorrem pela via direta dos fatores de virulência bacteriana e a desregulação da resposta do sistema imunitário. *P. gingivalis* interage com as GECs através dos TLRs mediados pelo reconhecimento dos fatores de virulência de *P. gingivalis*, tais como a fimbria e o LPS. Tem sido demonstrado que esta interação aumenta a transcrição de TLR2 e TLR4 nas GECs (Soto et al., 2016).

Baseado no estudo de S. Sugawara et al. realizado em 2000, *P. gingivalis* desenvolveu estratégias para fugir ou atrasar a resposta imunitária. Por exemplo, dentro dos seus fatores de virulência, possui proteases gingipains que degradam o CD14 (um coreceptor de TLR4 e TLR2), interferindo com o ótimo reconhecimento do LPS bacteriano (Sugawara et al., 2000). *P. gingivalis* também pode modificar a expressão da adesão aos recetores como E-selectina para adesão de leucócitos e transmigração, impedindo a sua proliferação. Neste contexto, as proteases gingipains produzidas por *P. gingivalis* degradam a molécula da adesão intracelular 1 (ICAM-1) nas GECs, perturbando a interação neutrofílica/epitelial das células (Tada et al., 2003).

Curiosamente, para além da inflamação induzida por bactérias associadas à periodontite, algumas "espécies centrais" têm também estado ligadas à inflamação. Por exemplo, tem sido demonstrado que o *F. nucleatum* aumenta a produção de MMP-13 e IL-

8, através do caminho MAPK/p38 nas células epiteliais (Krisanaprakornkit et al., 2000). Além disso, o *F. nucleatum* eleva os níveis da IL-8 do RNAm através da ativação de NF- κ B nas GECs humanos (Huang et al., 2004). Semelhante a *P. gingivalis*, *F. nucleatum* também ativa NLRP3 inflammasome, induzindo as libertações de padrões moleculares associados a danos (DAMPs) tais como os “*high mobility group box 1 protein*” (HMGB1) e proteínas que recrutam e ativam caspases (ASC), aumentando a inflamação nas GECs (Bui et al., 2016).

No seu conjunto, os dados sugerem que a resposta inflamatória e o microbioma estão em equilíbrio bidirecional na saúde oral (homeostasia) e desequilíbrio bidirecional na periodontite (Figura 5) (Kilian et al., 2016).

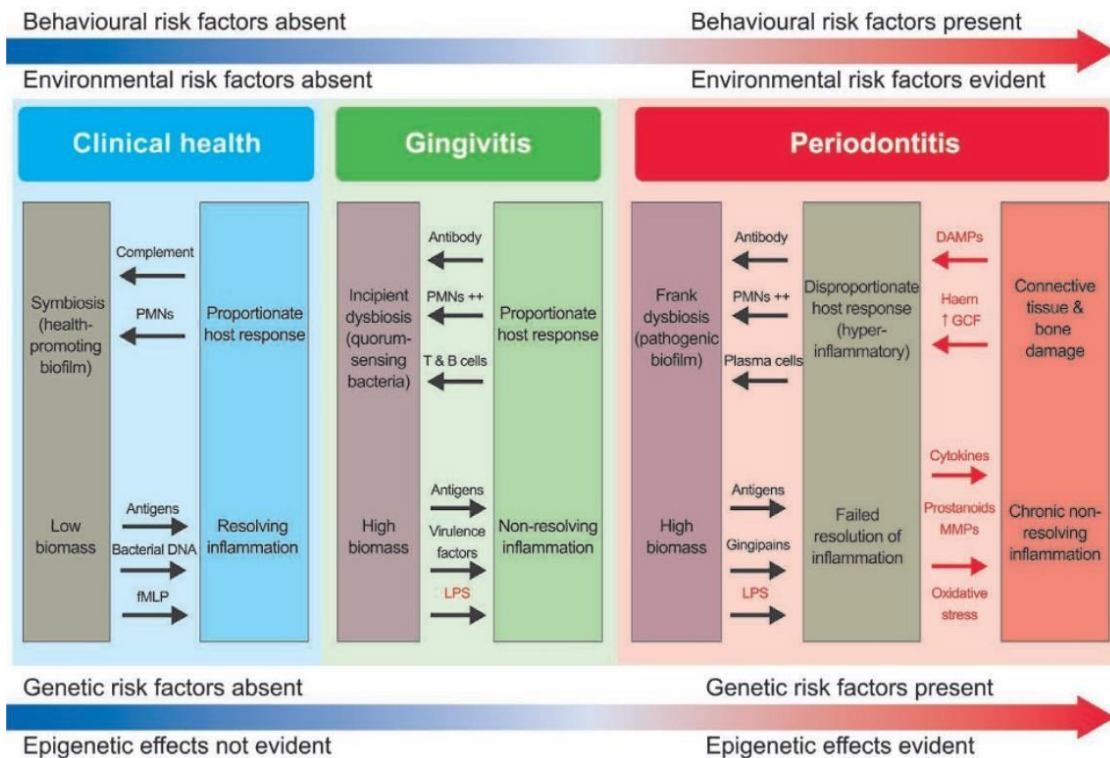


Figura 5: Um modelo da patogênese da periodontite (Kilian et al., 2016).

Um modelo de patogênese da periodontite (adaptado de Meyle & Chapple) que evoluiu a partir do modelo clássico de Page & Kornman (Kilian et al., 2016).

A resposta inflamatória pode contribuir para alterações microbiológicas e expressão de fatores de virulência bacteriana. O controlo ativo do excesso de inflamação pode ter um impacto positivo na gestão da disbiose e da periodontite (Curtis et al., 2020).

2. A correlação entre a inflamação periodontal e o processo de cancro

2.1. Definição do cancro oral

Os cancros orais, juntamente com os cancros orofaríngeos, são a sexta malignidade mais comum em todo o mundo (Warnakulasuriya, 2009). Globalmente, são diagnosticados anualmente mais de 400.000 novos casos estimados de cancro oral, dois terços dos quais ocorrem em países asiáticos, tais como o Sri Lanka, Indonésia, Índia, Paquistão e Bangladesh. (Warnakulasuriya, 2009; Montero & Patel, 2015).

Nestes países de alto risco, o cancro oral é a malignidade mais comum, sendo responsável por mais de 25% de todos os novos casos de cancro em cada ano (Warnakulasuriya, 2009). A incidência de cancro oral aumenta com a idade e é mais elevada acima dos 60 anos, embora os casos em pessoas com menos de 40 anos estejam a aumentar (Warnakulasuriya, 2009).

Os cancros orais são carcinomas de células escamosas (OSCC) em mais de 90% dos casos (Warnakulasuriya, 2009); outros tumores da cavidade oral incluem os das glândulas salivares menores, melanomas e linfomas (Dhanuthai et al., 2017). Os OSCC podem ter vários níveis de diferenciação e dão frequentemente origem a metástases nodais. A propagação linfática no pescoço está diretamente relacionada com a fase T, bem como a profundidade da invasão e a espessura do tumor. Os dentistas e dentistas especialistas são os médicos de referência comuns para um doente com cancro da cavidade oral (Kane et al., 2006).

O cancro oral tem mau prognóstico, com taxas de sobrevivência global de 5 anos tão baixas como 40%, embora, se diagnosticadas nas fases iniciais (I e II), as taxas de sobrevivência podem exceder 80% (Warnakulasuriya, 2009; Silverman et al., 2010). Até 50% dos cancros orais são diagnosticados numa fase avançada (fase III e IV), uma vez que a maioria dos doentes não são sintomáticos no início e não procuram ajuda médica até que apresentem sintomas claros como dor, hemorragia ou uma massa na boca ou no pescoço se a propagação linfática já estiver presente (McCullough et al., 2010).

A fase clínica e patológica no diagnóstico permanece o fator mais importante que influencia o prognóstico (Chow, 2020). Dada a elevada taxa de mortalidade, a deteção precoce de malignidade oral e antecipação do diagnóstico resulta em melhores prognósticos e taxas de sobrevivência e menos morbidez do tratamento (Ford & Farah, 2013).

Os fatores de risco de cancro oral incluem tipicamente o uso de tabaco (incluindo tabaco sem fumo), consumo de bebidas alcoólicas, e inflamação crónica. O papel oncogénico do microbioma oral, da inflamação das mucosas, e dos traumas das mucosas orais provocados por dentes e dispositivos protéticos tem recebido uma atenção crescente em vários estudos clínicos e científicos (Singhvi et al., 2017).

Atualmente, de acordo com a OMS, 30-50% dos cânceros podem ser prevenidos, evitando fatores de risco e aplicando estratégias preventivas baseadas em provas. O fardo do cancro também pode ser reduzido através da deteção precoce, tratamento e gestão adequados dos pacientes. Muitos cânceros têm uma elevada probabilidade de cura se detetados precocemente e tratados adequadamente (OMS, 2022).

2.1.1. Lesões potencialmente malignas da mucosa oral

Lesões epiteliais orais potencialmente malignas (PMOELs) são um grupo de condições e doenças orais que podem estar presentes antes do início do OSCC e incluem um grupo de lesões da mucosa oral clinicamente suspeitas, como (Maymone et al., 2019):

- leucoplasia
- eritroplasia
- fibrose submucosa
- líquen plano
- inflamação crónica

2.1.1.1. Leucoplasia

Em 1978, a OMS definiu a leucoplasia oral como uma mancha branca da mucosa oral que não pode ser esfregada e classificada de outra forma, nem clínica nem histopatologicamente. As leucoplasias não se referem à presença ou ausência de qualquer fase de displasia epitelial, uma vez que se trata duma definição clínica e não está ligado a uma histologia específica (Van Der Waal, 2014). A prevalência da leucoplasia tem sido relatada sendo 1-3%, com uma maior incidência nos homens e um pico de ocorrência na quinta a sétima década. A taxa de transformação da leucoplasia é de cerca de 2 a 3% ao ano em pacientes que apresentam essas lesões; a transformação maligna também pode ocorrer em outras áreas da cavidade oral e no trato aerodigestivo superior, e não apenas no local da lesão (Van Der Waal, 2014).

Os locais mais comuns em que estas lesões aparecem normalmente são a mucosa alveolar, seguida da mucosa oral, paladar, língua e pavimento da boca. Não é raro que um doente tenha lesões múltiplas. A Leucoplasia não é apenas um pré-malignidade, mas também um marcador de um maior risco de cancro da mucosa oral (Bewley & Farwell, 2017).

As leucoplasias orais podem ser classificadas clinicamente em dois grupos: lesões homogêneas e não homogêneas. As leucoplasias homogêneas são mais comuns e geralmente benignas; são uniformes e planas na aparência, com pequenas rachaduras superficiais. As leucoplasias não homogêneas podem ter uma variedade de características diferentes; elas podem ser planas e salpicadas, brancas e vermelhas (eritroleucoplasia), nodulares, exofíticas ou papilares/verrucosas. A distinção entre os dois tipos é puramente clínica e é de extrema importância, pois sabe-se que as leucoplasias não homogêneas apresentam um risco muito maior de transformação maligna (Wetzel & Wollenberg, 2020).

A leucoplasia verrucosa proliferativa (PVL) é um tipo multifocal de leucoplasia rara, de alto risco, que afeta principalmente mulheres na sexta década de vida sem histórico de uso de tabaco ou álcool. A PVL apresenta-se como pequenas manchas ou placas brancas não homogêneas que evoluem para se tornarem progressivamente verrucosas e exofíticas; as áreas mais comumente envolvidas são a gengiva, mucosa alveolar, mucosa oral e língua (Wetzel & Wollenberg, 2020).

2.1.1.2. Eritroplasia

A eritroplasia apresenta-se como uma lesão vermelha geralmente bem definida, com uma textura aveludada, e muito menos frequente (McCullough et al., 2010). As lesões são geralmente assintomáticas e os pacientes referem uma sensação de ardor e/ou dor. O sítio mais comum para a ocorrência desta lesão é o palato mole, seguida da parte ventral da língua, do pavimento da boca, e tonsila (Villa et al., 2011).

A eritroplasia não é tão comum como a leucoplasia; a sua prevalência na população em geral não é bem conhecida e tem sido relatada como estando entre 0,02% e 0,2%. A percentagem de transformação da eritroplasia não é completamente conhecida, mas considera-se que é muito mais elevada do que a leucoplasia, já que até 85% de eritroplasias mostram sinais histológicos de malignidade (Villa et al., 2011).

Por esta razão, alguns autores afirmam que qualquer lesão da mucosa oral com aspeto avermelhado e aveludado, com ou sem componentes brancos, deve ser considerada como cancro *in situ* no mínimo até prova em contrário (Villa et al., 2011).

2.1.1.3. Líquen plano oral

Líquen Plano é uma doença inflamatória crónica de origem imunológica que afeta geralmente doentes de meia-idade, particularmente mulheres com idades compreendidas entre os 30 e os 60 anos. Afeta normalmente a pele, e mais frequentemente a mucosa jugal, seguida pela gengiva e a língua (Maymone et al., 2019).

O líquen plano oral é principalmente uma doença crónica, enquanto a forma cutânea pode regredir dentro de 6 a 12 meses. O LPO pode se manifestar de diferentes formas e os subtipos podem ser classificados como reticular (o tipo mais comum, caracterizado por estrias de Wickham e placas ou pápulas hiperqueratóticas), papular, em placas, atrófico, erosivo com áreas de ulceração associadas a estrias brancas ceratóticas e bolhoso, com bolhas que podem se romper e levar à ulceração (Villa et al., 2011). Ainda se contesta se o líquen plano oral pode transformar-se em carcinoma espinocelular, com taxas de transformação relatadas que variam entre 0% e 12,5% (Villa et al., 2011).

2.1.1.4. Fibrose Submucosa

A fibrose submucosa é uma lesão fibrótica crónica da mucosa oral. É provavelmente a expressão de uma ferida que cicatriza em excesso, respondendo a agressões crónicas ao revestimento da mucosa, quer mecânicos quer químicos. Esta lesão é amplamente aceite como tendo um potencial maligno, com uma taxa de transformação estimada em 9% (Warnakulasuriya et al., 2007).

A fibrose submucosa é caracterizada pela perda de fibro-elasticidade no tecido afetado, resultando em bandas fibrosas palpáveis que podem afetar a mobilidade da língua e limitar abertura da boca. Esta condição afeta mais frequentemente a mucosa jugal, seguida pela língua, lábio, palato e gengiva; foi encontrada uma predominância em homens (Maymone et al., 2019).

2.1.1.5. Inflamação crónica

A inflamação crónica da mucosa tem sido postulada como um fator etiológico para o cancro oral. A inflamação crónica causa a libertação dos mediadores tais como as citocinas, levando a stress oxidativo e subsequentes danos no DNA celular, resultando num processo cancerígeno (Van Der Waal, 2014).

Traumas crónicos na mucosa oral incluem aqueles devidos a dentes quebrados e/ou mútuos, dentaduras e dentaduras mal ajustadas, implantes e hábitos de trabalho (ou seja, sucção de mucosa oral, empurrando a língua). A inflamação crónica da mucosa tem sido reconhecida tanto como um fator de iniciativa como um fator de progresso para cancro oral, pois pode causar lesões na mucosa saudável ou agravar as lesões existentes (Piemonte et al., 2010).

2.1.2. Lesões malignas

2.1.2.1. Melanoma oral

O melanoma é um tumor maligno composto por melanócitos, que são células derivadas da crista neural que constituem o pigmento melanina na camada basal do epitélio. Embora a maioria dos melanomas surja na pele, eles também podem surgir de superfícies mucosas ou em outros locais onde as células da crista neural migram. O melanoma oral primário (POM) é uma neoplasia rara (representando aproximadamente 2% de todos os melanomas) e é conhecido por compartilhar algumas características clínicas com sua contraparte cutânea. Como resultado, há uma escassez de dados elucidando sua etiopatogenia e fatores preditivos (Femiano et al., 2008).

Ao todo, os melanomas primários da mucosa comportam-se de forma mais agressiva e têm um prognóstico pior do que seus equivalentes cutâneos. Devido às localizações anatômicas não comuns em que ocorrem, eles são facilmente confundidos com outras doenças em condições muito mais comuns e, devido à falta de sinais e sintomas precoces, os melanomas mucosos são sempre diagnosticados em estágios avançados, a taxa de sobrevivência em 5 anos é de 15 –38% (Ebenezer, 2006).

Os locais mais comuns de POM na cavidade oral são o palato e a gengiva do maxilar. A POM é um pouco mais comum em homens e geralmente não é diagnosticado antes dos 40 anos. O pico de idade para o diagnóstico do melanoma mucoso é entre 65 e

79 anos, em média uma a duas décadas mais tarde do que o melanoma cutâneo (Ebenezer, 2006).

O melanoma pigmentado costuma ser de fácil diagnóstico clínico, pois muitas vezes há variação de cor do vermelho ao preto ao marrom, assimetria e contorno irregular, mas lesões amelanóticas também foram relatadas. Infelizmente, os POMs geralmente permanecem assintomáticos com o reconhecimento da lesão ocorrendo quando há rutura do epitélio sobrejacente ou hemorragia (Femiano et al., 2008).

2.2. Diagnóstico precoce

A detecção precoce e o tratamento de PMOELs são de extrema importância para melhorar a sobrevida e reduzir a mortalidade. O diagnóstico inicia-se a partir do exame clínico oral, que consiste na inspeção visual e palpação digital da cavidade oral. Uma inspeção clínica completa da cavidade oral pode detetar até 99% dos cânceros orais (Walsh et al., 2013).

As lesões suspeitas devem ser avaliadas posteriormente: conforme inicialmente proposto pela Organização Mundial da Saúde e pelo Instituto Nacional de Pesquisa Dentária e Craniofacial e conforme declarado no recente protocolo baseado em evidências da American Dental Association, qualquer lesão da mucosa que persista por duas semanas ou mais, após remoção de possíveis irritantes locais (dentes quebrados, próteses e aparelhos dentários mal ajustados, placa dentária, etc.), deve ser biopsiada, pois o exame histológico é o *gold standart* no diagnóstico do OSCC (Walsh et al., 2013).

Atualmente, o exame citológico de rotina de um esfregaço coletado da superfície epitelial da mucosa oral não tem sensibilidade e especificidade suficientes para servir como uma ferramenta diagnóstica preditiva para o carcinoma de células escamosas, apesar da baixa invasão da coleta da amostra. Nas últimas décadas, métodos mais modernos em citologia oral como “brush-biópsia” e microbiópsia têm sido propostos, úteis principalmente no acompanhamento de lesões pré-cancerosas, evitando a repetição de biópsias cirúrgicas mais invasivas (Walsh et al., 2013).

A biópsia continua sendo o padrão-ouro, mas pode apresentar uma série de desvantagens, que desencorajam os pacientes a aceitar o procedimento, incluindo medo, stress, dor e possíveis danos aos tecidos saudáveis, risco de infecção, desconforto, incapacidade temporária e preocupações estéticas. É importante sublinhar que o exame

clínico objetivo e a biópsia cirúrgica continuam sendo os métodos diagnósticos mais importantes e eficazes para o cancro oral e lesões pré-malignas (Walsh et al., 2013).

2.3. Hipóteses para a etiologia da relação entre a periodontite e o cancro oral

A doença periodontal pode ser um sintoma dum problema do sistema imunitário subjacente ou uma causa direta do cancro (Bui et al., 2019). A DP pode ser potencialmente um bom indicador de um sistema imunitário vulnerável, ou pode influenciar diretamente o risco de cancro devido a carga inflamatória (Yang et al., 2018). Existem várias explicações prováveis para a relação entre periodontite e cancro.

Vários vírus, como o citomegalovírus humano e o carcinogénico vírus Epstein-Barr, foram encontrados na periodontite e são considerados ligados ao cancro, incluindo linfoma e carcinoma nasofaríngeo. Existe também alguma indicação de que determinadas estirpes de candidíase são mais comuns em doentes com cancro oral (Loos, 2005).

A periodontite crónica do adulto pode indicar que o sistema imunitário de uma pessoa é incapaz de eliminar a infecção e, como resultado, é incapaz de detetar a progressão do tumor. A periodontite pode ser um sinal de um certo tipo de função imunológica que influencia crescimento e progressão tumoral. Ficou demonstrado que a inflamação periodontal crónica induziu danos genéticos pela geração de produtos químicos oxidantes, como espécies reativas de oxigénio e azoto, que têm sido associados a um aumento do risco de cancro (Loos, 2005).

Citocinas de plasma pró-inflamatórias, glóbulos brancos periféricos, prostanóides, proteases (incluindo matriz de metaloproteínas) e proteínas de fase aguda são exemplos de indicadores inflamatórios produzidos na resposta imunológica à doença periodontal (Loos, 2005).

Outra explicação potencial para os resultados comunicados é o aumento da formação de nitrosaminas cancerígenas. Higiene oral deficiente, doença periodontal, uso de cigarros, e certas variáveis alimentares estimulam todas a geração de nitrosaminas endógenas na cavidade oral por bactérias redutoras de nitratos (Figura 6) (Loos, 2005). Os mecanismos essenciais que controlam a resposta inflamatória periodontal falham.

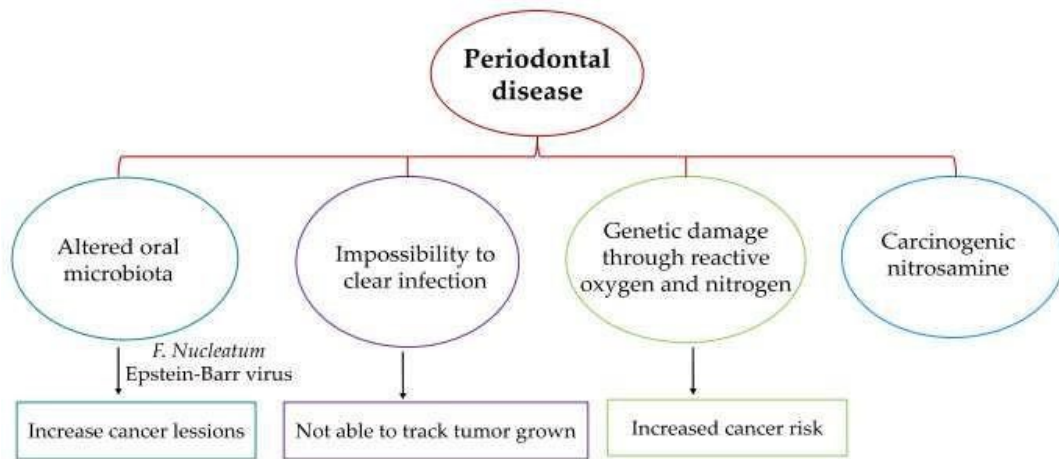


Figura 6: Representação esquemática de potenciais processos envolvidos na relação doença periodontal/câncer oral (Surlari et al., 2021).

No século XIX, Rudolf Virchow foi o primeiro a sugerir uma relação entre a inflamação e o câncer. Ele observou infiltração de leucócitos no microambiente do tumor e que a inflamação persistente pode ser um fator de progressão do câncer (Schultz, 2008).

2.4. Os processos cancerígenos induzidos por bactérias e mediadores inflamatórios associados a periodontite

Numerosos estudos demonstraram que alguns agentes patogênicos periodontais podem afetar percursos intracelulares específicos, promover a sobrevivência celular, ativar percursos oncogênicos, reduzir a expressão proapoptótica de proteínas, e aumentar a migração e invasão celular (Figura 7).

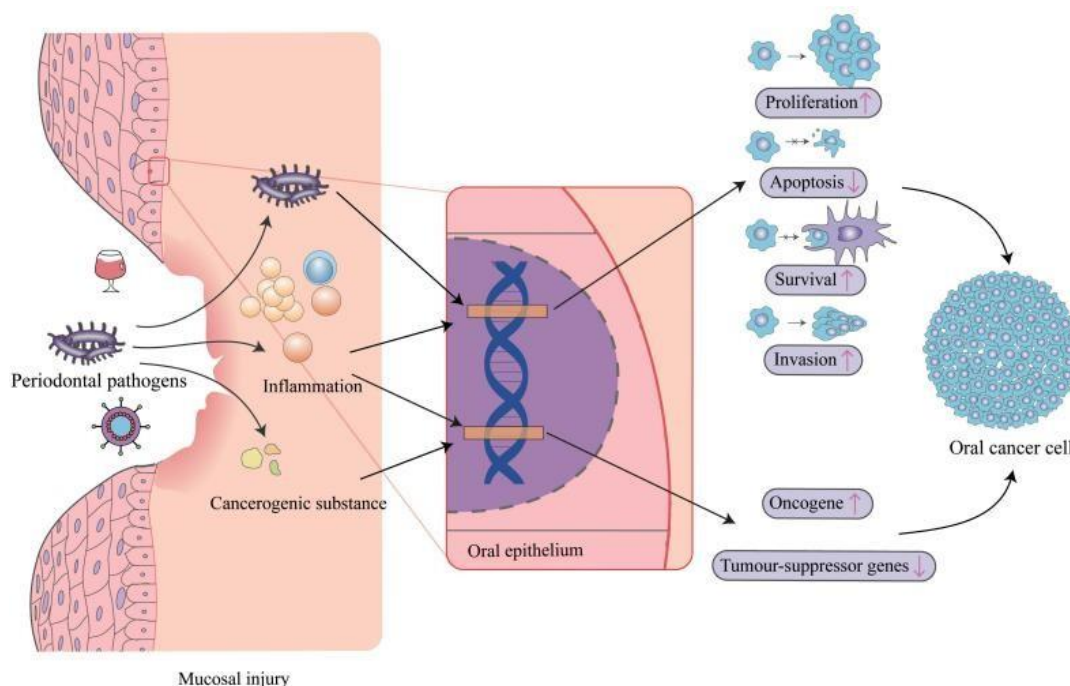


Figura 7: Mecanismos de patógenos periodontais impactando o cancro oral (Li et al., 2022).

Os patógenos periodontais podem invadir as células epiteliais orais e afetar diretamente os genes-alvo para causar alterações na proliferação celular, apoptose, sobrevivência e invasão. Os patógenos também desencadeiam a inflamação, que também afeta essas vias biológicas e, de maneira semelhante, atua em oncogenes e genes supressores de tumor, assim como algumas substâncias cancerígenas produzidas por patógenos periodontais. Além disso, a inflamação induz sequencialmente a lesão da mucosa, levando à suscetibilidade a vírus e outros agentes cancerígenos, como o álcool.

2.4.1. Subprodutos metabólicos que favorecem para carcinogénese

A microflora existente no microambiente tumoral pode ajudar na tumorigênese para alguns dos seus derivados metabólicos ser capaz de induzir danos no DNA, mutagênese, e hiperproliferação secundária das células orais. O acetaldeído, um metabólito do etanol, provou ser carcinogénico em modelos animais e estudos *in vitro*. Foi demonstrado que algumas estirpes de *Neisseria* e estirpes de *Streptococcus* (especialmente *estreptococos* do grupo viridans, ou seja, *Streptococcus salivarius*, *S. intermedius* e *S. mitis*) metabolizam o etanol em acetaldeído cancerígeno na saliva pelo álcool desidrogenase (Tagaino et al., 2019).

Sulfureto de hidrogénio (H₂S), um gasotransmissor que exerce importantes funções fisiológicas e patológicas em todo o corpo, pode ser produzido por algumas bactérias orais incluindo agentes patogénicos periodontais *T. denticola* e *P. gingivalis*.

Considerando que o H₂S representa um índice de higiene oral, foi entendido que está associado a doenças orais, incluindo a DP e CO (Zhang et al., 2010).

Em 2016, Zhang et al. demonstraram pela primeira vez que o H₂S promove a proliferação de células do CO através do eixo COX2/AKT/ERK1/2. No entanto, os mecanismos subjacentes que regulam as múltiplas funções do H₂S em muitos tecidos e órgãos permanecem desconhecidos (Zhang et al., 2016).

A nitrosamina, considerada um potencial cancerígeno, pode ser produzida por bactérias comensal e a *Candida spp.* Tal cancerígeno pode induzir mutações pontuais que levam à ativação de oncogenes específicos e ao início do desenvolvimento de CO (Oliveira et al., 2007).

O ácido gordo livre, produção de metabolismo de ácidos gordos, pode contribuir para a carcinogênese oral. Wu et al. em 2018, demonstraram que *P. gingivalis* estava envolvido no metabolismo dos ácidos gordos da carcinogênese oral (Wu et al., 2018). Eles estabeleceram um sistema experimental combinado de modelo de carcinoma oral induzido por 4 nitroquinolina 1-óxido (4NQO) e modelo de periodontite crônica tratada com *P. gingivalis*, e foi encontrado que ratos tratados com *P. gingivalis* desenvolveram mais e maiores tumores na língua como em comparação com o grupo de carcinógenos isolados. Mostrou que o nível de ácido gordo livre foi significativamente aumentado na língua e tecidos hepáticos de ratos infetados com *P. gingivalis* tratados com 4NQO. Isso apoia a especulação anterior de que as células cancerígenas podem utilizar ácidos gordos livres circulantes de seu microambiente, um microambiente favorável para a tumorigênese, alimentando a sobrevivência e a proliferação das células cancerígenas (Wu et al., 2018).

Esses resultados indicam uma estreita associação entre *P. gingivalis*, metabolismo lipídico e carcinogênese oral, no entanto, o mecanismo molecular subjacente entre eles ainda permanece obscuro (Wu et al., 2018).

2.4.2. Fomento da replicação celular

Alguns genes que controlam o crescimento celular normal e a proliferação são alterados pela exposição aos mutagêneos exógenos ou endógenos, causando subsequentemente o crescimento clonal das células pré-cancerosas resultantes. Os agentes patogênicos periodontais podem perturbar diversas vias que limitam a resposta proliferativa em células normais na maioria dos cânceros (Kuboniwa et al., 2008).

FimA, a proteína fimbrial de *P. gingivalis*, pode acelerar a progressão das GECs primárias através da fase S do ciclo celular por manipulação de ciclina dependente de quinases (CDKs) reduzindo o nível e a atividade do supressor tumoral p53, aumentando assim os níveis de fosfo-inossídico 3-cinase (PI3K) e fosfoinosite-dependente da proteína-serina quinase 1 (PDK1) (Kuboniwa et al., 2008).

Nas células dos OSCC, *P. gingivalis* regula a expressão da ciclina D1 através da via de sinalização de *feedback* negativo miR-21/PDCD4/AP-1 para aumentar a proliferação celular (Chang et al., 2019).

Exposição das células epiteliais orais a *P. gingivalis* e *F. nucleatum* desencadeia receptores tipo Toll-like, biomoléculas pivotal do sistema imunitário. Este desencadeamento pode resultar na produção de IL-6 que ativa a STAT3 que, por sua vez induz o crescimento da ciclina D1 que conduz ao crescimento do OSCC. A infecção de *P. gingivalis* diminui tanto o nível como a atividade da p53, de forma consistente com uma maior taxa de proliferação das GECs infetadas (Kuboniwa et al., 2008).

Além disso, os agentes patogênicos podem ter impacto na sinalização de β -catenin, um dos principais caminhos que contribui para o controlo da proliferação celular e tumorigênese. Gingipain, uma proteinase da superfície celular de *P. gingivalis*, desempenha um papel fundamental no processo β -catenin. *P. gingivalis* induz a ativação de β -catenina e a dissociação do complexo de destruição de β -catenina pelo processo proteolítico dependente de gingipaín. A β -catenina processada pode ser transferida para o núcleo, onde se liga ao elemento promotor TCF/LEF e, finalmente, estimula a expressão de Myc e ciclina D1 (Zhou et al., 2015).

No OSCC, os estudos constataram que a infecção por *F. nucleatum* promove a capacidade de proliferação de células do carcinoma escamoso da língua, causando danos no DNA através da via Ku70/p53 (Geng et al., 2020). Ku70 e p53 são ambas as principais

proteínas envolvidas na regulação da reparação da “*nonhomologous end-joining*” (NHEJ), que é a via de reparação do “*double-strand break*” (DSB) do DNA mais comum em células de mamíferos para prevenir a transformação maligna (Mari et al., 2006).

Além disso, *P. gingivalis* pode aumentar a expressão gênica de α defensinas, que demonstraram exercer efeitos multiplicadores na proliferação de células dos cânceros orais via recetor direto do fator de crescimento epidérmico (EGFR) na ativação de queratinócitos dérmicos. No entanto, *A. actinomycetemcomitans* é capaz de aumentar a morte celular, que teve um efeito oposto no comportamento de proliferação de células cancerígenas (Hoppe et al., 2016).

Até agora, o impacto da infecção por *P. gingivalis* na proliferação de células hospedeiras permanece controverso. Embora a maioria dos estudos tenha descoberto que a infecção por *P. gingivalis* promove a proliferação de células cancerígenas e contribui ainda mais para a carcinogénese, alguns investigadores observaram que *P. gingivalis* inibe a proliferação de células cancerígenas por meio da indução de sua apoptose (Cho et al., 2014).

2.4.3. Bloqueio da morte celular programada

A apoptose é um modo distinto de morte celular que é responsável pela deleção de células em tecidos normais. Ele pode destruir a célula rompida e impedir que ela se transforme num tumor maligno (Lowe & Lin, 2000). Existem várias evidências de patógenos orais suprimindo a apoptose e potencialmente promovendo a carcinogénese. *P. gingivalis* por exemplo, ativa a sinalização Jak1/Akt/Stat3 para controlar as vias de apoptose mitocondrial intrínseca. Na membrana mitocondrial, a atividade de efetores pró-apoptóticos como BAD (agonista de morte celular associado a BCL2) é inibida, e a relação entre o fator antiapoptótico Bcl2 e os fatores pró-apoptóticos Bax (Proteína X associada a Bcl-2) é também melhorada, o que consequentemente reduz a libertação do efeito apoptose ou citocromo C (Yao et al., 2010).

O homólogo do nucleosídeo difosfato quinase (NDK) de *P. gingivalis*, um efetor bacteriano, é secretado fora de célula e serve a uma variedade de funções de manutenção celular, como clivagem/reparo do DNA, regulação da transcrição, proliferação celular e apoptose (Yu et al., 2017). *P. gingivalis* pode inibir a apoptose das GECs induzida pela ligação ATP do recetor purinérgico P2X7, e esse efeito é mediado por NDK (Yilmaz et al., 2008).

Forkhead box-O (FOXO)1, um dos fatores de transcrição forkhead, controla as respostas ao estresse oxidativo, a produção de citocinas inflamatórias e a sobrevivência celular. *P. gingivalis* induz a desfosforização e ativação de FOXO1, enquanto a destruição de FOXO1 pode impedir a transcrição do gene antiapoptose induzida por *P. gingivalis* (Wang et al., 2015).

FimA de *P. gingivalis*, visando o recetor de quimiocina tipo 4 (CXCR4), desempenha um papel primordial na promoção do crescimento tumoral do OSCC através da via dependente do fosfo-Akt1 (pAKT1)-pFOXO1. Curiosamente, esta via resistente à apoptose também envolve imunossupressão através da indução do “*myeloid-derived dendritic suppressor cells*” (MDDSCs), predominantemente dependentes “*dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin*” (DC-SIGN) visando Mfa1 fimbriae de *P. gingivalis*. Isso sugere que Mfa1, alta expressão em amostras de periodontite crônica, pode estar envolvida na imunossupressão na patogénese da periodontite através da via pAKT1-pFOXO1. O FOXO1 fosforilado também regula a expressão FOXP3 através do seu mecanismo de circuito regulador de retroação, de acordo com a estimulação consistente e contínua das estirpes de *P. gingivalis* em MDDSC, para promover a resistência à apoptose e imunossupressão (Arjunan et al., 2018).

Como mencionado anteriormente, os agentes patogénicos orais como *P. gingivalis* exibem fenótipos proapoptótica e antiapoptótico, que pode estar dependente de indicações contextuais e temporais (Byrne & Ojcius, 2004).

Por exemplo, a apoptose pode ser induzida em alguns tipos de células por componentes de *P. gingivalis*, como proteases, enquanto outros constituintes celulares, como fimbrias e lipopolissacarídeo, podem suprimir ou induzir a apoptose, dependendo do tipo de célula hospedeira. Além disso, a invasão de *P. gingivalis* metabolicamente ativo pode favorecer a sobrevivência da célula hospedeira, em contraste com os efeitos apoptóticos induzidos por *P. gingivalis* não invasivo (Li et al., 2022).

2.4.4. Estímulo a viabilidade celular

Os patógenos periodontais podem aumentar a sobrevivência das células tumorais através de algumas abordagens de mecanismos intracelulares ou extracelulares além da inibição da apoptose. A autofagia, um processo catabólico intracelular, serve para capturar e degradar componentes intracelulares para a homeostase. Pacientes com periodontite apresentaram maior nível de atividade autofágica em comparação com pacientes em estado periodontal saudável (Wei et al., 2018). Tem sido sugerido que a autofagia protege as células periodontais da apoptose, promove a angiogênese e facilita que as bactérias orais como *P. gingivalis* escapem das respostas do hospedeiro (Figura 8) (Wei et al., 2018).

Da mesma forma, no câncer, incluindo CO, o processo de autofagia também é regulado positivamente e promove a sobrevivência das células cancerígenas (Wei et al., 2018).

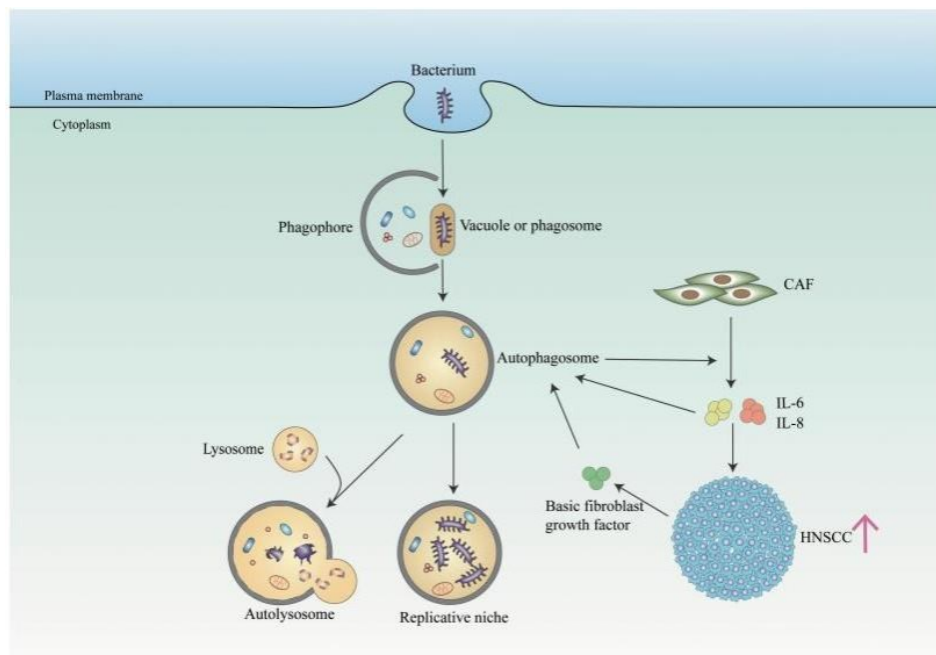


Figura 8: O processo de autofagia é regulado positivamente e promove a sobrevivência das células cancerígenas (Li et al., 2022).

As bactérias e a autofagia interagem nas células cancerosas. A bactéria (como a *P. gingivalis*) reside num vacúolo (ou fagossoma) contendo bactérias após a invasão das células hospedeiras. O fagossomo é constituído e começa a alongar-se para encerrar componentes citoplasmáticos sobre a estimulação da autofagia para formar o autofagossoma. O autofagossoma serve como uma réplica dum nicho em que não são eliminados. Além disso, alguma toxicidade bacteriana é degradada no auto-lisossoma gerado pela fusão do auto-fagossoma com o lisossoma. No OSCC, a autofagia regula a secreção de IL6 e IL8 dos fibroblastos associados ao câncer (CAFs), facilitando a migração de OSCC. E a secreção parácrina de

IL6, IL8, e fatores básicos de crescimento de fibroblastos promove a autofagia do CAF, que é ainda mantida através do *feedback* autocrino de IL6 e IL8 (Li et al., 2022).

Estudos recentes demonstraram que as células dos CO promovem a autofagia como um mecanismo adaptativo contra a invasão de bactérias, limitando a toxicidade e ajudando as células cancerígenas a subsistir (J. Huang & Brumell, 2014). Em 2017, New et al. descobriram que a secreção autofágica dependente de fatores promotores de tumores, nomeadamente IL6 e IL8, segregada pelos fibroblastos associados ao CO (CAFs) contribui para o desenvolvimento maligno do OSCC (New et al., 2017).

Os agentes patogénicos periodontais também ajudam a resistência das células cancerosas aos reagentes quimioterápicos do carcinoma escamoso das células orais. Sugeriu que *P. gingivalis* poderia desempenhar um papel no desenvolvimento da quimioresistência em relação ao OSCC. Curiosamente, os estudos descobriram que a orientação de vias de sinalização Notch e o uso profilático de medicamentos anti-inflamatórios (como o ibuprofeno) podem ser usados para superar a resistência aos medicamentos para a terapia do cancro (Song et al., 2019).

2.4.5. Promoção de invasão celular

A transição epitelial para mesenquimal (EMT) é um dos processos vitais da malignidade do cancro através da perda da sua morfologia dos tipos de células epiteliais para a morfologia dos tipos de células mesenquimais. O processo é executado pelos fatores chamados de transcrição EMT, principalmente das famílias SNAIL, TWIST e ZEB. *P. gingivalis* inicia o EMT através da expressão ZEB1 nas GECs, impulsionada por FimA, que fornece uma base mecânica para a contribuição de *P. gingivalis* para o OSCC, e *P. gingivalis* manteve a capacidade de aumentar ZEB1 quando co-infetado com espécies como *S. gordonii* ou *F. nucleatum* (Sztukowska et al., 2016).

A exposição prolongada e repetida à infecção por *P. gingivalis* induziu a aquisição de estirpes, o que foi indicado pelo aumento das expressões CD44 e CD133 e pela capacidade de formar esferas tumorais. Além disso, a infecção por *P. gingivalis* promove a migração celular, que foi ligeiramente reforçada pela co-infecção com *F. nucleatum* (Ha et al., 2015).

As matrizes metaloproteinases (MMPs), uma família de enzimas proteolíticas dependentes do zinco, promovem a migração e invasão das células cancerígenas e também desempenham um papel importante na destruição dos tecidos periodontais. *P. gingivalis* tem sido relatado para aumentar a produção de várias MMPs, nomeadamente, MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, e MMP-10, a partir das células epiteliais orais primárias e transformadas (Ha et al., 2015; Sztukowska et al., 2016). Essas produções de MMP são provadas para ser influenciadas por *P. gingivalis* induzidas pela IL-8. No mecanismo de invasão celular do OSCC, *P. gingivalis* induz a expressão da proenzima MMP-9 através do ERK1/2-ETS1, P38/HSP27 e PAR2/NF-KB, após o que a proenzima é ativada por gingipains (Inaba et al., 2014).

Verificou-se que a dentilisina, uma proteinase do tipo quimotripsina de *T. denticola* converte Pro-MMP-8 e 9 em suas formas ativas e foi capaz de degradar os inibidores da proteinase TIMP-1, TIMP-2, α -1 antitripsina e complemento C1q, que contribui para um ambiente geral mais proteolítico, favorecendo a invasão de células epiteliais (Nieminen et al., 2018).

2.5. Distúrbios comunitários microbianos orais

Assim como na DP, é provável que as comunidades, e não as espécies individuais, desempenhem o papel patogênico no CO. As interações entre os componentes bacterianos da comunidade podem ser sinérgicas e antagônicas (Figura 9). A promoção da progressão do CO por *P. gingivalis* pode ser ligeiramente aumentada pela co-infecção com *F. nucleatum* (Lee et al., 2017).

No entanto, a migração celular induzida por *P. gingivalis* é antagonizada por *Streptococcus gordonii* (*S. gordonii*) através da via regulatória negativa TAK1-NLK (Ohshima et al., 2019).

Da mesma forma, numerosos casos antagônicos foram relatados entre as bactérias orais. Por exemplo, *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*), uma parte da flora normal dos humanos, pode inibir o crescimento de *P. gingivalis* (Pudgar et al., 2021). *L. plantarum* também pode inibir o desenvolvimento de CO induzindo apoptose em células por regulação positiva de PTEN e regulação negativa de proteínas quinases ativadas por mitógenos (Asoudeh-Fard et al., 2017).

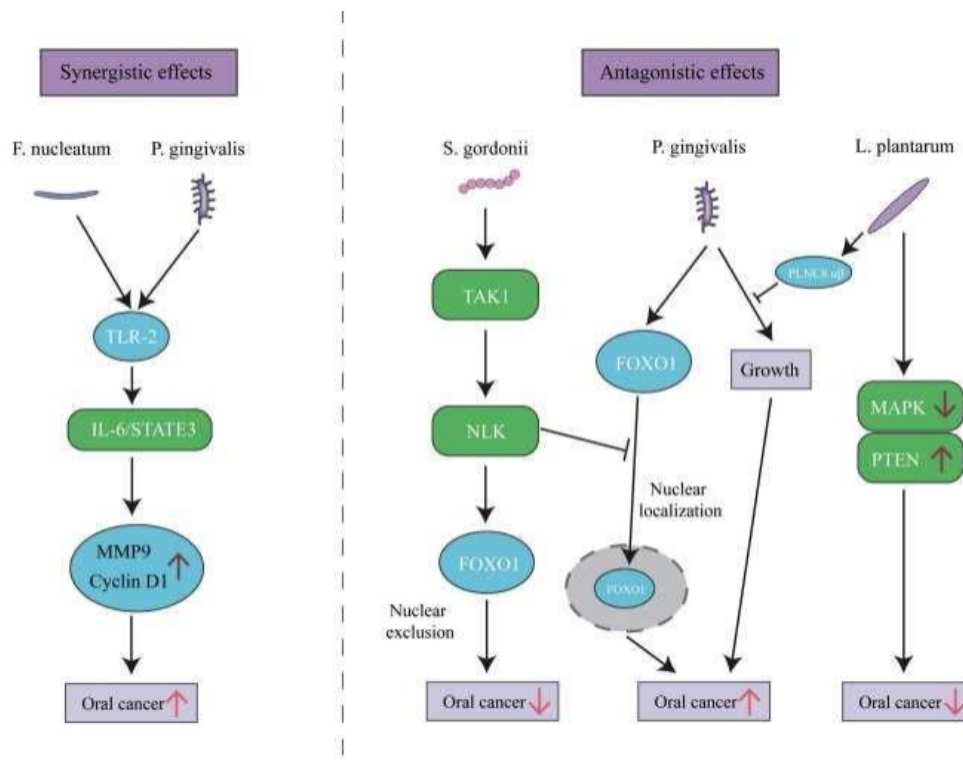


Figura 9: Os efeitos sinérgicos e antagônicos entre as bactérias orais no cancro oral (Li et al., 2022).

P. gingivalis e *F. nucleatum* desencadeiam a sinalização TLR, resultando na produção de IL-6 que ativa STAT3 que, por sua vez, induz o crescimento e a invasão do cancro oral. *P. gingivalis* pode localizar FOXO1 no núcleo para promover o cancro oral, enquanto a presença de *S. gordonii* pode ativar a via TAK1-NLK1, que substitui o efeito de *P. gingivalis* e transporta FOXO1 para o citoplasma, onde é inativo. *L. plantarum* pode inibir o cancro oral através da regulação positiva de PTEN e regulação negativa das vias MAPK, e sua bacteriocina PLNC8 $\alpha\beta$ pode suprimir o crescimento de *P. gingivalis* e a subsequente patogenicidade (Li et al., 2022).

As interações complexas e diversas dentro das comunidades polimicrobianas perturbam a homeostase do hospedeiro, o que leva a doenças como DP ou CO. Além disso, Yost et al. em 2018, realizaram uma análise metatranscriptômica piloto do microbioma oral associado a locais de OSCC humanos e encontraram mudanças claras nas atividades metabólicas microbianas no OSCC, independentemente da composição da comunidade. Essas atividades metabólicas incluem aquisição de ferro, resposta ao estresse oxidativo e atividade da peptidase. Estes estudos mostram que as atividades metabólicas estão mais correlacionadas com a doença do que a composição microbiana comunitária (Yost et al., 2018).

3. Controlar a microbiota oral em doentes com cancro

Potenciais focos de infecção oral precisam de ser diagnosticados e tratados antes de iniciar a terapia imunossupressora. Para evitar complicações, foram recomendados bochechos orais antissépticos. A clorexidina tem sido o *gold standart* no controlo da microbiota oral em doentes com cancro. As unidades e enfermarias oncológicas têm diretrizes que explicam como e em que fase do tratamento os bochechos orais devem ser administrados aos doentes. Clorexidina em geral mostrou-se eficaz na prevenção da dentogénese bacteremia (Meurman, 2010).

Por exemplo, num estudo realizado por Toma's et al. em 2007, a prevalência de bacteremia após a extração dentária utilizando clorexidina e grupos de controlo foram 79% vs. 96%. No seu estudo, as bactérias mais frequentemente identificadas foram *Streptococcus spp.*, particularmente do grupo dos viridans. Estes foram detetados a partir de culturas de sangue tanto do grupo clorexidina como do grupo de controlo (64% e 68% dos sujeitos, respetivamente) (Tomás et al., 2007). No entanto, as evidências científicas para a prática de recomendar clorexidina (ou qualquer outro produto químico) durante o tratamento do cancro são fracas e os resultados são parcialmente controversos. Por exemplo, num estudo sobre doentes com leucemia, um grupo efetuou bochechos com uma solução de clorexidina 0,2% duas vezes por dia, enquanto o outro grupo não. Os resultados mostraram que a clorexidina não teve efeito significativo em quaisquer parâmetros clínicos, tais como o número de dias com febre, número de lesões orais, pontuação de placa, pontuação de hemorragia gengival, ou a ocorrência de candidíase (Tomás et al., 2007).

Tendo em consideração as fracas provas científicas e os resultados parcialmente controversos dos estudos que investigam o controlo da microbiota oral em doentes com cancro oral, existe, contudo, consenso de que os cuidados de saúde oral são importantes durante e após o tratamento do cancro. O pessoal de saúde oral está numa posição chave em aconselhar os doentes (Chandu et al., 2002).

3.1. Prevenção da microbiota oral ligada a carcinogénese

Se existe de facto uma relação causal entre a microbiota oral e o cancro, então o objetivo final seria evitar o desenvolvimento do cancro, interferindo com o potencial cancerígeno do microbioma. A intervenção da carcinogénese relacionada com o acetaldeído tem sido investigada utilizando cisteína (Salaspuro et al., 2002). Este aminoácido não essencial liga eficazmente o acetaldeído ao formar um composto estável de ácido tiazolidinocarboxílico, eliminando assim o efeito carcinogénico local. Foi também demonstrado que a cisteína exerce um efeito inibidor sobre a atividade gelatinolítica das metaloproteinases de matriz e para reduzir as metástases em modelos animais. Os estudos estão agora em progresso para avaliar o efeito local da cisteína administrada oralmente sobre a microbiota oral nesta perspetiva. Em geral, este composto está amplamente disponível numa série de suplementos dietéticos (Salaspuro et al., 2002).

Vários outros compostos foram introduzidos para a prevenção do cancro oral. O principal alvo, contudo, tem sido a interferência com os mecanismos celulares cancerígenos em vez de abordar a microbiota oral. No entanto, muitos desses compostos também exercem atividade antimicrobianos (Kumar et al., 2010).

Muitas especiarias e ervas aromáticas naturais têm sido utilizadas desde os primórdios da história da humanidade nos alimentos e para tratar as doenças. Estas incluem especiarias como o alho, cominho, cravo-da-índia, canela, tomilho, mostarda e alecrim, que possuem propriedades antimicrobianas. No futuro, o desenvolvimento de produtos anticancerígenos a partir de compostos naturais é fascinante, mas certamente um grande desafio (Lai & Roy, 2004).

Tem sido sugerido que o consumo de produtos lácteos com bactérias probióticas do ácido láctico pode ter efeitos anti tumorais. Os mecanismos envolvidos são atribuídos à inibição de atividade mutagénica, a diminuição de várias enzimas envolvidas na geração de agentes cancerígenos, mutagénicos ou promotores de tumores, supressão de tumores, efeitos adjuvantes, incluindo modulação de respostas imunes mediadas por células, ativação do sistema reticuloendotelial, aumento das vias de citocinas e regulação de interleucinas e fatores de necrose tumoral (Kumar et al., 2010).

Finalmente, durante as duas últimas décadas, bactérias probióticas ou benéficas à saúde foram reintroduzidas para reforçar a função imunológica. A descoberta inicial na virada do século XIX pelo Prêmio Nobel Ilya Metchnikoff foi esquecida durante muito tempo até que o aumento global do problema de resistência a antibióticos e o conceito de alimentos funcionais trouxeram essas bactérias novamente à luz do dia (Meurman & Stamatova, 2007).

III. CONCLUSÃO

A periodontite é uma doença disbiótica, na qual a inflamação crônica é produzida em resposta a uma comunidade bacteriana multiespécie associada à doença estabelecida na área subgengival. O recrutamento de células imunes e a produção de vários mediadores inflamatórios contribuem para o dano tecidual.

Uma vez que muitos estudos epidemiológicos revelam uma ligação entre DP e CO, o envolvimento de patógenos periodontais é bem reconhecido como uma chave. Os dados disponíveis sugerem que os patógenos periodontais podem contribuir para a progressão do cancro (incluindo sobrevivência celular, proliferação, apoptose e invasão) tanto pelo efeito bacteriano direto quanto pela resposta inflamatória indireta e carcinógeno metabólico.

Acredita-se que o cancro precoce não detetado ou lesões pré-cancerosas facilitam a colonização e o crescimento de bactérias orais para promover ainda mais a progressão do tumor, o que sugere que o dentista deve considerar o paciente com DP como de alto risco para malignidade. No entanto, existem dados que sugerem que alguns patógenos também suprimem o crescimento do tumor; portanto, como equilibrar e reconhecer o papel de diferentes bactérias no cancro será benéfico para uma melhor prevenção e tratamento do cancro.

A maioria dos dados epidemiológicos resultou de estudos observacionais com dificuldades relacionadas ao uso de diversas medidas substitutas para a determinação da doença periodontal. Outros fatores, como o tabagismo, parecem potenciar esta associação. Há, portanto, uma necessidade de mais exploração usando ensaios clínicos randomizados controlados e grandes estudos prospectivos bem desenhados para ajudar a esclarecer a natureza da associação e, em particular, adicionar evidências para apoiar a causalidade entre a doença periodontal e o risco de cancro.

O papel da doença periodontal e dos microrganismos orais precisa também de ser mais estudado, incluindo como eles estão envolvidos na associação entre doença periodontal e o risco de cancro. Esses estudos podem levar a novas abordagens para prevenir alguns tipos de cancro. Uma vez que também há evidências indicando que a inflamação pode mediar a associação entre a doença periodontal e seus patógenos e o risco de cancro, mais pesquisas podem ajudar a obter uma melhor compreensão a esse

respeito. A inclusão de medições clínicas padronizadas nos estudos seria benéfica no contributo para a determinação do estadio da doença periodontal. Mais investigações também são necessárias para avaliar como a prevenção da doença periodontal e as estratégias de gerenciamento podem afetar o risco de cancro.

É a teoria de uma comunidade microbiana, não de espécies individuais, que é razoável para o desenvolvimento e tratamento do cancro que está gradualmente a ser aceite, mas os mecanismos para detrás desta comunidade organizada ainda precisam de ser melhor estudados.

No entanto, durante a redação desta revisão, fomos confrontados com a presença de muitas limitações nos estudos atuais da literatura científica. Isso nos impediu, para alguns estudos, de concluir associações positivas significativas. O desafio para estudos futuros reside nessa padronização de medidas diagnósticas para doença periodontal, a fim de estabelecer estudos comparáveis e obter conclusões mais confiáveis e significativas.

Contudo, tendo em vista as informações obtidas da análise dos estudos nesta revisão, é importante que os cuidados de saúde oral sejam incluídos na terapia oncológica. De facto, o papel do médico-dentista na deteção e diagnóstico precoce da doença periodontal deve estar no centro de sua prática. Para isso, o método preventivo mais eficaz seria um exame sistemático do periodonto, que pode ser auxiliado por testes de saliva, a fim de obter um diagnóstico confiável da doença para cada paciente, para garantir o acompanhamento e a terapia adequados. Assim, o objetivo desejado seria evitar a potencialização do risco de desenvolvimento de determinados cancrois orais.

IV. BIBLIOGRAFIA

1. 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>
2. Abusleme, L., Hoare, A., Hong, B. Y., & Diaz, P. I. (2021). Microbial signatures of health, gingivitis, and periodontitis. *Periodontology 2000*, 86(1), 57–78. <https://doi.org/10.1111/prd.12362>
3. AlJehani Y. A. (2014). Risk factors of periodontal disease: review of the literature. *International journal of dentistry*, 2014, 182513. <https://doi.org/10.1155/2014/182513> (Retraction published Int J Dent. 2021 Feb 12;2021:8735071)
4. Arjunan, P., Meghil, M. M., Pi, W., Xu, J., Lang, L., El-Awady, A., Sullivan, W., Rajendran, M., Rabelo, M. S., Wang, T., Tawfik, O. K., Kunde-Ramamoorthy, G., Singh, N., Muthusamy, T., Susin, C., Teng, Y., Arce, R. M., & Cutler, C. W. (2018). Oral Pathobiont Activates Anti-Apoptotic Pathway, Promoting both Immune Suppression and Oncogenic Cell Proliferation. *Scientific reports*, 8(1), 16607. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35126-8>
5. Asoudeh-Fard, A., Barzegari, A., Dehnad, A., Bastani, S., Golchin, A., & Omidi, Y. (2017). *Lactobacillus plantarum* induces apoptosis in oral cancer KB cells through upregulation of PTEN and downregulation of MAPK signalling pathways. *BioImpacts : BI*, 7(3), 193–198. <https://doi.org/10.15171/bi.2017.22>
6. Bakthavatchalu, V., Meka, A., Mans, J. J., Sathishkumar, S., Lopez, M. C., Bhattacharyya, I., Boyce, B. F., Baker, H. V., Lamont, R. J., Ebersole, J. L., & Kesavalu, L. (2011). Polymicrobial periodontal pathogen transcriptomes in calvarial bone and soft tissue. *Molecular oral microbiology*, 26(5), 303–320. <https://doi.org/10.1111/j.2041-1014.2011.00619.x>
7. Beklen, A., Sorsa, T., & Konttinen, Y. T. (2009). Toll-like receptors 2 and 5 in human gingival epithelial cells co-operate with T-cell cytokine interleukin-17. *Oral microbiology and immunology*, 24(1), 38–42. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2008.00473.x>
8. Bewley, A. F., & Farwell, D. G. (2017). Oral leukoplakia and oral cavity squamous cell carcinoma. *Clinics in dermatology*, 35(5), 461–467. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2017.06.008>
9. Bhuyan, R., Bhuyan, S. K., Mohanty, J. N., Das, S., Juliana, N., & Juliana, I. F. (2022). Periodontitis and Its Inflammatory Changes Linked to Various Systemic Diseases: A Review of Its Underlying Mechanisms. *Biomedicines*, 10(10), 2659. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10102659>
10. Bloemen, V., Schoenmaker, T., de Vries, T. J., & Everts, V. (2011). IL-1 β favors osteoclastogenesis via supporting human periodontal ligament fibroblasts. *Journal of cellular biochemistry*, 112(7), 1890–1897. <https://doi.org/10.1002/jcb.23109>
11. Bowen, W. H., Burne, R. A., Wu, H., & Koo, H. (2018). Oral Biofilms: Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. *Trends in microbiology*, 26(3), 229–242. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008>

12. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
13. Bui, F. Q., Almeida-da-Silva, C. L. C., Huynh, B., Trinh, A., Liu, J., Woodward, J., Asadi, H., & Ojcius, D. M. (2019). Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomedical journal*, 42(1), 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.12.001>
14. Bui, F. Q., Johnson, L., Roberts, J., Hung, S. C., Lee, J., Atanasova, K. R., Huang, P. R., Yilmaz, Ö., & Ojcius, D. M. (2016). *Fusobacterium nucleatum* infection of gingival epithelial cells leads to NLRP3 inflammasome-dependent secretion of IL-1 β and the danger signals ASC and HMGB1. *Cellular microbiology*, 18(7), 970–981. <https://doi.org/10.1111/cmi.12560>
15. Byrne, G. I., & Ojcius, D. M. (2004). Chlamydia and apoptosis: life and death decisions of an intracellular pathogen. *Nature reviews. Microbiology*, 2(10), 802–808. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1007>
16. Chandu, A., Stulner, C., Bridgeman, A. M., & Smith, A. C. (2002). Maintenance of mouth hygiene in patients with oral cancer in the immediate post-operative period. *Australian dental journal*, 47(2), 170–173. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2002.tb00323.x>
17. Chang, C., Wang, H., Liu, J., Pan, C., Zhang, D., Li, X., & Pan, Y. (2019). *Porphyromonas gingivalis* Infection Promoted the Proliferation of Oral Squamous Cell Carcinoma Cells through the miR-21/PDCD4/AP-1 Negative Signaling Pathway. *ACS infectious diseases*, 5(8), 1336–1347. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.9b00032>
18. Shapelle, L. (2019). Santé parodontale et gingivite. *EFP, New classification of periodontal and peri-implant diseases*. https://www.sfpio.com/images/Documents/FichePratique_01_Fr_Final_e.pdf
19. Cho, T. J., Wee, S. W., Woo, V. H., Choi, J. I., Kim, S. J., Shin, H. I., Lee, J. H., & Park, H. R. (2014). *Porphyromonas gingivalis*-induced autophagy suppresses cell proliferation through G1 arrest in oral cancer cells. *Archives of oral biology*, 59(4), 370–378. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.01.001>
20. Chow L. Q. M. (2020). Head and Neck Cancer. *The New England journal of medicine*, 382(1), 60–72. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1715715>
21. 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>
22. Davanian, H., Stranneheim, H., Båge, T., Lagervall, M., Jansson, L., Lundeberg, J., & Yucel-Lindberg, T. (2012). Gene expression profiles in paired gingival biopsies from periodontitis-affected and healthy tissues revealed by massively parallel sequencing. *PloS one*, 7(9), e46440. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046440>
23. Dhanuthai, K., Rojanawatsirivej, S., Thosaporn, W., Kintarak, S., Subarnbhesaj, A., Darling, M., Kryshtalskyj, E., Chiang, C. P., Shin, H. I., Choi, S. Y., Lee, S. S., & Aminishakib, P. (2017). Oral cancer: A multicenter study. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 23(1), e23–e29. <https://doi.org/10.4317/medoral.21999>

24. Ebenezer J. (2006). Malignant melanoma of the oral cavity. *Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research*, 17(2), 94–96. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.29882>
25. Femiano, F., Lanza, A., Buonaiuto, C., Gombos, F., Di Spirito, F., & Cirillo, N. (2008). Oral malignant melanoma: a review of the literature. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 37(7), 383–388. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2008.00660.x>
26. Ford, P. G., & Farah, C. S. (2013). Early detection and diagnosis of oral cancer : Strategies for improvement. *Journal of cancer policy*, 1(1-2), e2-e7. <https://doi.org/10.1016/j.jcpo.2013.04.002>
27. Gemmell, E., & Seymour, G. J. (2004). Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 35, 21–41. <https://doi.org/10.1111/j.0906-6713.2004.003557.x>
28. Genco, R. J., & Borgnakke, W. S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000*, 62(1), 59–94. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2012.00457.x>
29. Geng, F., Zhang, Y., Lu, Z., Zhang, S., & Pan, Y. (2020). *Fusobacterium nucleatum* Caused DNA Damage and Promoted Cell Proliferation by the Ku70/p53 Pathway in Oral Cancer Cells. *DNA and cell biology*, 39(1), 144–151. <https://doi.org/10.1089/dna.2019.5064>
30. Gjermo, P., Rösing, C. K., Susin, C., & Oppermann, R. (2002). Periodontal diseases in Central and South America. *Periodontology 2000*, 29, 70–78. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2001.290104.x>
31. Ha, N. H., Woo, B. H., Kim, D. J., Ha, E. S., Choi, J. I., Kim, S. J., Park, B. S., Lee, J. H., & Park, H. R. (2015). Prolonged and repetitive exposure to *Porphyromonas gingivalis* increases aggressiveness of oral cancer cells by promoting acquisition of cancer stem cell properties. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 36(12), 9947–9960. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3764-9>
32. Herrero, E. R., Fernandes, S., Verspecht, T., Ugarte-Berzal, E., Boon, N., Proost, P., Bernaerts, K., Quirynen, M., & Teughels, W. (2018). Dysbiotic Biofilms Deregulate the Periodontal Inflammatory Response. *Journal of dental research*, 97(5), 547–555. <https://doi.org/10.1177/0022034517752675>
33. Hoare, A., Soto, C., Rojas-Celis, V., & Bravo, D. (2019). Chronic Inflammation as a Link between Periodontitis and Carcinogenesis. *Mediators of inflammation*, 2019, 1029857. <https://doi.org/10.1155/2019/1029857>
34. Hong, B. Y., Furtado Araujo, M. V., Strausbaugh, L. D., Terzi, E., Ioannidou, E., & Diaz, P. I. (2015). Microbiome profiles in periodontitis in relation to host and disease characteristics. *PloS one*, 10(5), e0127077. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127077>
35. Hoppe, T., Kraus, D., Novak, N., Probstmeier, R., Frentzen, M., Wenghoefer, M., Jepsen, S., & Winter, J. (2016). Oral pathogens change proliferation properties of oral tumor cells by affecting gene expression of human defensins. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 37(10), 13789–13798. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5281-x>
36. Huang, G. T., Zhang, H. B., Dang, H. N., & Haake, S. K. (2004). Differential regulation of cytokine genes in gingival epithelial cells challenged by

- Fusobacterium nucleatum and Porphyromonas gingivalis. *Microbial pathogenesis*, 37(6), 303–312. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2004.10.003>
37. Huang, J., & Brumell, J. H. (2014). Bacteria-autophagy interplay: a battle for survival. *Nature reviews. Microbiology*, 12(2), 101–114. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3160>
38. Hwang, I. M., Sun, L. M., Lin, C. L., Lee, C. F., & Kao, C. H. (2014). Periodontal disease with treatment reduces subsequent cancer risks. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*, 107(10), 805–812. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcu078>
39. Inaba, H., Sugita, H., Kuboniwa, M., Iwai, S., Hamada, M., Noda, T., Morisaki, I., Lamont, R. J., & Amano, A. (2014). Porphyromonas gingivalis promotes invasion of oral squamous cell carcinoma through induction of proMMP9 and its activation. *Cellular microbiology*, 16(1), 131–145. <https://doi.org/10.1111/cmi.12211>
40. Jiang, D., Li, D., Cao, L., Wang, L., Zhu, S., Xu, T., Wang, C., & Pan, D. (2014). Positive feedback regulation of proliferation in vascular smooth muscle cells stimulated by lipopolysaccharide is mediated through the TLR 4/Rac1/Akt pathway. *PloS one*, 9(3), e92398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092398>
41. Kane, S. V., Gupta, M., Kakade, A. C., & D' Cruz, A. (2006). Depth of invasion is the most significant histological predictor of subclinical cervical lymph node metastasis in early squamous carcinomas of the oral cavity. *European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*, 32(7), 795–803. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2006.05.004>
42. Kilian, M., Chapple, I. L., Hannig, M., Marsh, P. D., Meuric, V., Pedersen, A. M., Tonetti, M. S., Wade, W. G., & Zaura, E. (2016). The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. *British dental journal*, 221(10), 657–666. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865>
43. Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017). Periodontal diseases. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17038. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>
44. Kolenbrander, P. E., Palmer, R. J., Jr, Rickard, A. H., Jakubovics, N. S., Chalmers, N. I., & Diaz, P. I. (2006). Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontology 2000*, 42, 47–79. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2006.00187.x>
45. Krisanaprakornkit, S., Kimball, J. R., Weinberg, A., Darveau, R. P., Bainbridge, B. W., & Dale, B. A. (2000). Inducible expression of human beta-defensin 2 by Fusobacterium nucleatum in oral epithelial cells: multiple signaling pathways and role of commensal bacteria in innate immunity and the epithelial barrier. *Infection and immunity*, 68(5), 2907–2915. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.5.2907-2915.2000>
46. Kuboniwa, M., Hasegawa, Y., Mao, S., Shizukuishi, S., Amano, A., Lamont, R. J., & Yilmaz, O. (2008). P. gingivalis accelerates gingival epithelial cell progression through the cell cycle. *Microbes and infection*, 10(2), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.10.011>
47. Kumar, M., Kumar, A., Nagpal, R., Mohania, D., Behare, P., Verma, V., Kumar, P., Poddar, D., Aggarwal, P. K., Henry, C. J., Jain, S., & Yadav, H. (2010). Cancer-preventing attributes of probiotics: an update. *International journal of*

- food sciences and nutrition*, 61(5), 473–496.
<https://doi.org/10.3109/09637480903455971>
48. Lai, P. K., & Roy, J. (2004). Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices. *Current medicinal chemistry*, 11(11), 1451–1460.
<https://doi.org/10.2174/0929867043365107>
 49. Lee, J., Roberts, J. S., Atanasova, K. R., Chowdhury, N., Han, K., & Yilmaz, Ö. (2017). Human Primary Epithelial Cells Acquire an Epithelial-Mesenchymal-Transition Phenotype during Long-Term Infection by the Oral Opportunistic Pathogen, *Porphyromonas gingivalis*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 493. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00493>
 50. Li, T. J., Hao, Y. H., Tang, Y. L., & Liang, X. H. (2022). Periodontal Pathogens: A Crucial Link Between Periodontal Diseases and Oral Cancer. *Frontiers in microbiology*, 13, 919633. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.919633>
 51. Lieberthal, W., & Levine, J. S. (2009). The role of the mammalian target of rapamycin (mTOR) in renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology* : *JASN*, 20(12), 2493–2502.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2008111186>
 52. Lindhe, J., Lang, N. P., & Karring, T. (2008c). Clinical Periodontology and Implant Dentistry, 2 Volumes. Wiley-Blackwell.
 53. Lomba, K. S., Beiler, T. F., Sete, M. R., Pires, F. R., & Figueredo, C. M. (2015). Use of minimally invasive gingival biopsies in the study of inflammatory mediators expression and their correlation with gingival fluid in patients with chronic periodontitis. *Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research*, 26(2), 126–130.
<https://doi.org/10.4103/0970-9290.159134>
 54. Loos B. G. (2005). Systemic markers of inflammation in periodontitis. *Journal of periodontology*, 76(11 Suppl), 2106–2115.
<https://doi.org/10.1902/jop.2005.76.11-S.2106>
 55. Lowe, S. W., & Lin, A. W. (2000). Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*, 21(3), 485–495. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.485>
 56. Mari, P. O., Florea, B. I., Persengiev, S. P., Verkaik, N. S., Brüggewirth, H. T., Modesti, M., Giglia-Mari, G., Bezstarosti, K., Demmers, J. A., Luider, T. M., Houtsmuller, A. B., & van Gent, D. C. (2006). Dynamic assembly of end-joining complexes requires interaction between Ku70/80 and XRCC4. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(49), 18597–18602. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609061103>
 57. Maria-Aggeliki, K. S., Nikolaos, K. L., Kyrias, G. M., & Vassilis, K. E. (2009). The potential clinical impact of probiotic treatment for the prevention and/or anti-inflammatory therapeutic effect against radiation induced intestinal mucositis. A review. *Recent patents on inflammation & allergy drug discovery*, 3(3), 195–200.
<https://doi.org/10.2174/187221309789257432>
 58. Marsh, P. D., Head, D. A., & Devine, D. A. (2015). Ecological approaches to oral biofilms: control without killing. *Caries research*, 49 Suppl 1, 46–54.
<https://doi.org/10.1159/000377732>
 59. Maymone, M. B. C., Greer, R. O., Kesecker, J., Sahitya, P. C., Burdine, L. K., Cheng, A. D., Maymone, A. C., & Vashi, N. A. (2019). Premalignant and malignant oral mucosal lesions: Clinical and pathological findings. *Journal of the*

- American Academy of Dermatology*, 81(1), 59–71.
<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.09.060>
60. McCullough, M. J., Prasad, G., & Farah, C. S. (2010). Oral mucosal malignancy and potentially malignant lesions: an update on the epidemiology, risk factors, diagnosis and management. *Australian dental journal*, 55 Suppl 1, 61–65.
<https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2010.01200.x>
61. McCullough, M. J., Prasad, G., & Farah, C. S. (2010). Oral mucosal malignancy and potentially malignant lesions: an update on the epidemiology, risk factors, diagnosis and management. *Australian dental journal*, 55 Suppl 1, 61–65.
<https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2010.01200.x>
62. Meurman J. H. (2010). Oral microbiota and cancer. *Journal of oral microbiology*, 2, 10.3402/jom.v2i0.5195. <https://doi.org/10.3402/jom.v2i0.5195>
63. Meurman, J. H., & Stamatova, I. (2007). Probiotics: contributions to oral health. *Oral diseases*, 13(5), 443–451. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2007.01386.x>
64. Moffatt, C. E., Whitmore, S. E., Griffen, A. L., Leys, E. J., & Lamont, R. J. (2011). Filifactor alocis interactions with gingival epithelial cells. *Molecular oral microbiology*, 26(6), 365–373. <https://doi.org/10.1111/j.2041-1014.2011.00624.x>
65. Montero, P. H., & Patel, S. G. (2015). Cancer of the oral cavity. *Surgical oncology clinics of North America*, 24(3), 491–508.
<https://doi.org/10.1016/j.soc.2015.03.006>
66. Nakamura, I., Takahashi, N., Jimi, E., Udagawa, N., & Suda, T. (2012). Regulation of osteoclast function. *Modern Rheumatology*, 22(2), 167–177.
<https://doi.org/10.3109/s10165-011-0530-8>
67. New, J., Arnold, L., Ananth, M., Alvi, S., Thornton, M., Werner, L., Tawfik, O., Dai, H., Shnayder, Y., Kakarala, K., Tsue, T. T., Girod, D. A., Ding, W. X., Anant, S., & Thomas, S. M. (2017). Secretory Autophagy in Cancer-Associated Fibroblasts Promotes Head and Neck Cancer Progression and Offers a Novel Therapeutic Target. *Cancer research*, 77(23), 6679–6691.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-1077~>
68. Nieminen, M. T., Listyarifah, D., Hagström, J., Haglund, C., Grenier, D., Nordström, D., Uitto, V. J., Hernandez, M., Yucel-Lindberg, T., Tervahartiala, T., Ainola, M., & Sorsa, T. (2018). Treponema denticola chymotrypsin-like proteinase may contribute to orodigestive carcinogenesis through immunomodulation. *British journal of cancer*, 118(3), 428–434.
<https://doi.org/10.1038/bjc.2017.409>
69. Noh, M. K., Jung, M., Kim, S. H., Lee, S. R., Park, K. H., Kim, D. H., Kim, H. H., & Park, Y. G. (2013). Assessment of IL-6, IL-8 and TNF- α levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Experimental and therapeutic medicine*, 6(3), 847–851. <https://doi.org/10.3892/etm.2013.1222>
70. Ohshima, J., Wang, Q., Fitzsimonds, Z. R., Miller, D. P., Sztukowska, M. N., Jung, Y. J., Hayashi, M., Whiteley, M., & Lamont, R. J. (2019). *Streptococcus gordonii* programs epithelial cells to resist ZEB2 induction by *Porphyromonas gingivalis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(17), 8544–8553. <https://doi.org/10.1073/pnas.1900101116>
71. Oliveira, P. A., Colaço, A., Chaves, R., Guedes-Pinto, H., De-La-Cruz P, L. F., & Lopes, C. (2007). Chemical carcinogenesis. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 79(4), 593–616. <https://doi.org/10.1590/s0001-37652007000400004>
72. Piemonte, E. D., Lazos, J. P., & Brunotto, M. (2010). Relationship between chronic trauma of the oral mucosa, oral potentially malignant disorders and oral

- cancer. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 39(7), 513–517. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2010.00901.x>
73. Pudgar, P., Povšič, K., Čuk, K., Seme, K., Petelin, M., & Gašperšič, R. (2021). Probiotic strains of *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum* as adjunct to non-surgical periodontal therapy: 3-month results of a randomized controlled clinical trial. *Clinical oral investigations*, 25(3), 1411–1422. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03449-4>
 74. Ramage, G., Lappin, D. F., Millhouse, E., Malcolm, J., Jose, A., Yang, J., Bradshaw, D. J., Pratten, J. R., & Culshaw, S. (2017). The epithelial cell response to health and disease associated oral biofilm models. *Journal of periodontal research*, 52(3), 325–333. <https://doi.org/10.1111/jre.12395>
 75. Rivera C. (2015). Essentials of oral cancer. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(9), 11884–11894.
 76. Salaspuro, V., Hietala, J., Kaihovaara, P., Pihlajarinne, L., Marvola, M., & Salaspuro, M. (2002). Removal of acetaldehyde from saliva by a slow-release buccal tablet of L-cysteine. *International journal of cancer*, 97(3), 361–364. <https://doi.org/10.1002/ijc.1620>
 77. Schultz, M. G. (2008). Rudolf Virchow. *Emerging Infectious Diseases*, 14(9), 1480–1481. <https://doi.org/10.3201/eid1409.086672>
 78. Settem, R. P., Honma, K., Nakajima, T., Phansopa, C., Roy, S., Stafford, G. P., & Sharma, A. (2013). A bacterial glycan core linked to surface (S)-layer proteins modulates host immunity through Th17 suppression. *Mucosal immunology*, 6(2), 415–426. <https://doi.org/10.1038/mi.2012.85>
 79. Shin, J. E., Kim, Y. S., Oh, J. E., Min, B. M., & Choi, Y. (2010). *Treponema denticola* suppresses expression of human {beta}-defensin-3 in gingival epithelial cells through inhibition of the toll-like receptor 2 axis. *Infection and immunity*, 78(2), 672–679. <https://doi.org/10.1128/IAI.00808-09>
 80. Silverman, S., Jr, Kerr, A. R., & Epstein, J. B. (2010). Oral and pharyngeal cancer control and early detection. *Journal of cancer education : the official journal of the American Association for Cancer Education*, 25(3), 279–281. <https://doi.org/10.1007/s13187-010-0045-6>
 81. Singhvi, H. R., Malik, A., & Chaturvedi, P. (2017). The Role of Chronic Mucosal Trauma in Oral Cancer: A Review of Literature. *Indian journal of medical and paediatric oncology : official journal of Indian Society of Medical & Paediatric Oncology*, 38(1), 44–50. <https://doi.org/10.4103/0971-5851.203510>
 82. Song, J. M., Woo, B. H., Lee, J. H., Yoon, S., Cho, Y., Kim, Y. D., & Park, H. R. (2019). Oral Administration of *Porphyromonas gingivalis*, a Major Pathogen of Chronic Periodontitis, Promotes Resistance to Paclitaxel in Mouse Xenografts of Oral Squamous Cell Carcinoma. *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2494. <https://doi.org/10.3390/ijms20102494>
 83. Soto, C., Bugueño, I., Hoare, A., Gonzalez, S., Venegas, D., Salinas, D., Melgar-Rodríguez, S., Vernal, R., Gamonal, J., Quest, A. F., Pérez-Donoso, J. M., & Bravo, D. (2016). The *Porphyromonas gingivalis* O antigen is required for inhibition of apoptosis in gingival epithelial cells following bacterial infection. *Journal of periodontal research*, 51(4), 518–528. <https://doi.org/10.1111/jre.12331>
 84. Sugawara, S., Nemoto, E., Tada, H., Miyake, K., Imamura, T., & Takada, H. (2000). Proteolysis of human monocyte CD14 by cysteine proteinases (gingipains) from *Porphyromonas gingivalis* leading to lipopolysaccharide

- hyporesponsiveness. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 165(1), 411–418. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.1.411>
85. Surlari, Z., Virvescu, D. I., Baciuc, E., Vasluianu, R., & Budală, D. G. (2021). The Link between Periodontal Disease and Oral Cancer—A Certainty or a Never-Ending Dilemma? *Applied sciences*, 11(24), 12100. <https://doi.org/10.3390/app112412100>
86. Sztukowska, M. N., Ojo, A., Ahmed, S., Carenbauer, A. L., Wang, Q., Shumway, B., Jenkinson, H. F., Wang, H., Darling, D. S., & Lamont, R. J. (2016). Porphyromonas gingivalis initiates a mesenchymal-like transition through ZEB1 in gingival epithelial cells. *Cellular microbiology*, 18(6), 844–858. <https://doi.org/10.1111/cmi.12554>
87. Tada, H., Sugawara, S., Nemoto, E., Imamura, T., Potempa, J., Travis, J., Shimauchi, H., & Takada, H. (2003). Proteolysis of ICAM-1 on human oral epithelial cells by gingipains. *Journal of dental research*, 82(10), 796–801. <https://doi.org/10.1177/154405910308201007>
88. 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>
89. Tanabe, S. I., Bodet, C., & Grenier, D. (2009). Treponema denticola peptidoglycan induces the production of inflammatory mediators and matrix metalloproteinase 9 in macrophage-like cells. *Journal of periodontal research*, 44(4), 503–510. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2008.01141.x>
90. Tomás, I., Alvarez, M., Limeres, J., Tomás, M., Medina, J., Otero, J. L., & Diz, P. (2007). Effect of a chlorhexidine mouthwash on the risk of postextraction bacteremia. *Infection control and hospital epidemiology*, 28(5), 577–582. <https://doi.org/10.1086/516663>
91. Tonetti, M. S., & Sanz, M. (2019). Implementation of the new classification of periodontal diseases: Decision-making algorithms for clinical practice and education. *Journal of clinical periodontology*, 46(4), 398–405. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13104>
92. van der Waal I. (2014). Oral potentially malignant disorders: is malignant transformation predictable and preventable?. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 19(4), e386–e390. <https://doi.org/10.4317/medoral.20205>
93. Villa, A., Villa, C., & Abati, S. (2011). Oral cancer and oral erythroplakia: an update and implication for clinicians. *Australian dental journal*, 56(3), 253–256. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2011.01337.x>
94. Walsh, T., Liu, J. L., Brocklehurst, P., Glenney, A. M., Lingen, M., Kerr, A. R., Ogden, G., Warnakulasuriya, S., & Scully, C. (2013). Clinical assessment to screen for the detection of oral cavity cancer and potentially malignant disorders in apparently healthy adults. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2013(11), CD010173. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010173.pub2>
95. Wang, Q., Sztukowska, M., Ojo, A., Scott, D. A., Wang, H., & Lamont, R. J. (2015). FOXO responses to Porphyromonas gingivalis in epithelial cells. *Cellular microbiology*, 17(11), 1605–1617. <https://doi.org/10.1111/cmi.12459>
96. Warnakulasuriya S. (2009). Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral oncology*, 45(4-5), 309–316. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2008.06.002>

97. Warnakulasuriya, S., Johnson, N. W., & van der Waal, I. (2007). Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 36(10), 575–580. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x>
98. Wei, W., An, Y., An, Y., Fei, D., & Wang, Q. (2018). Activation of autophagy in periodontal ligament mesenchymal stem cells promotes angiogenesis in periodontitis. *Journal of periodontology*, 89(6), 718–727. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0341>
99. Wetzel, S. L., & Wollenberg, J. (2020). Oral Potentially Malignant Disorders. *Dental clinics of North America*, 64(1), 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2019.08.004>
100. World Health Organization : WHO. (2022, february 18). Cancer. *WHO*. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cancer#:~:text=%C3%80%20l'heure%20actuelle%2C%2030,en%20charge%20appropri%C3%A9s%20des%20patients>
101. World Health Organization : WHO. (2022, november 18). Selon l’OMS, le défaut de soins bucco-dentaires touche près de la moitié de la population mondiale. *WHO*. <https://www.who.int/fr/news/item/18-11-2022-who-highlights-oral-health-neglect-affecting-nearly-half-of-the-world-s-population>
102. Wu, J. S., Zheng, M., Zhang, M., Pang, X., Li, L., Wang, S. S., Yang, X., Wu, J. B., Tang, Y. J., Tang, Y. L., & Liang, X. H. (2018). *Porphyromonas gingivalis* Promotes 4-Nitroquinoline-1-Oxide-Induced Oral Carcinogenesis With an Alteration of Fatty Acid Metabolism. *Frontiers in microbiology*, 9, 2081. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02081>
103. 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, 862. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00862>
104. Yao, L., Jermanus, C., Barbetta, B., Choi, C., Verbeke, P., Ojcius, D. M., & Yilmaz, O. (2010). *Porphyromonas gingivalis* infection sequesters pro-apoptotic Bad through Akt in primary gingival epithelial cells. *Molecular oral microbiology*, 25(2), 89–101. <https://doi.org/10.1111/j.2041-1014.2010.00569.x>
105. Yilmaz, O., Yao, L., Maeda, K., Rose, T. M., Lewis, E. L., Duman, M., Lamont, R. J., & Ojcius, D. M. (2008). ATP scavenging by the intracellular pathogen *Porphyromonas gingivalis* inhibits P2X7-mediated host-cell apoptosis. *Cellular microbiology*, 10(4), 863–875. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2007.01089.x>
106. Yost, S., Stashenko, P., Choi, Y., Kukuruzinska, M., Genco, C. A., Salama, A., Weinberg, E. O., Kramer, C. D., & Frias-Lopez, J. (2018). Increased virulence of the oral microbiome in oral squamous cell carcinoma revealed by metatranscriptome analyses. *International journal of oral science*, 10(4), 32. <https://doi.org/10.1038/s41368-018-0037-7>
107. Yu, H., Rao, X., & Zhang, K. (2017). Nucleoside diphosphate kinase (Ndk): A pleiotropic effector manipulating bacterial virulence and adaptive responses. *Microbiological research*, 205, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.001>

108. Zhang, J. H., Dong, Z., & Chu, L. (2010). Hydrogen sulfide induces apoptosis in human periodontium cells. *Journal of periodontal research*, 45(1), 71–78. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2009.01202.x>
109. 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, 476. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00476>
110. Zhang, S., Bian, H., Li, X., Wu, H., Bi, Q., Yan, Y., & Wang, Y. (2016). Hydrogen sulfide promotes cell proliferation of oral cancer through activation of the COX2/AKT/ERK1/2 axis. *Oncology reports*, 35(5), 2825–2832. <https://doi.org/10.3892/or.2016.4691>
111. Zhou, Y., Sztukowska, M., Wang, Q., Inaba, H., Potempa, J., Scott, D. A., Wang, H., & Lamont, R. J. (2015). Noncanonical activation of β -catenin by *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and immunity*, 83(8), 3195–3203. <https://doi.org/10.1128/IAI.00302-15>