



CESPU
INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Implicações do microambiente oral na
carcinogénese do cancro oral: papéis-chave das
Fusobacterium nucleatum e Porphyromonas
gingivalis.
Revisão Sistemática Integrativa.**

Arianna Maggiolini

Dissertação conducente ao Grau de Mestre em Medicina Dentária (Ciclo Integrado)

—

Gandra, maio de 2024

Arianna Maggiolini

**Dissertação conducente ao Grau de Mestre em Medicina Dentária
(Ciclo Integrado)**

Implicações do microambiente oral na carcinogénese do cancro oral:
papéis-chave das *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas*
gingivalis.

Revisão Sistemática Integrativa.

Trabalho realizado sob a Orientação do Professor Doutor Luís Miguel
Moutinho da Silva Monteiro
e Co-orientador José Manuel Barbas do Amaral

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Eu, acima identificado, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste trabalho, confirmo que em todo o trabalho conducente à sua elaboração não recorri a qualquer forma de falsificação de resultados ou à prática de plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria do trabalho intelectual pertencente a outrem, na sua totalidade ou em partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores foram referenciadas ou redigidas com novas palavras, tendo neste caso colocado a citação da fonte bibliográfica.

Agradecimentos

Gostaria de expressar a minha profunda gratidão a todas as pessoas que me apoiaram ao longo da minha jornada académica.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha família pelo constante apoio, encorajamento e amor incondicional. Sem o seu apoio, não teria sido capaz de alcançar esta conquista. Muito obrigada à minha mãe e ao meu pai por estarem sempre ao meu lado e por terem permitido alcançar este objetivo.

Um agradecimento especial aos meus amigos, que me acompanharam nesta experiência, compartilhando os desafios e as alegrias deste caminho. Obrigado pelos momentos de alegria que compartilhamos e pelo seu encorajamento. Agradeço também a todas as pessoas que conheci aqui em Portugal, que se tornaram uma segunda família.

Também gostaria de expressar a minha gratidão ao meu orientador, Prof. Doutor Luís Monteiro, e ao co-orientador, Prof. Doutor Barbas do Amaral, cujo apoio e valiosos conselhos contribuíram significativamente para a realização desta tese.

Muito obrigada a todos por tornarem possível esta importante conquista na minha vida.

RESUMO

Introdução: O cancro oral é um dos tumores mais comuns na área da cabeça e pescoço, sendo o consumo de álcool e o tabagismo os principais fatores de risco. Globalmente, os casos de cancro oral estão em ascensão, mesmo entre pessoas com estilo de vida saudável, sugerindo a influência de outros fatores. A influência da microbiota oral tem-se destacado, como possível contribuinte para o desenvolvimento da doença.

Objetivos: Investigar o papel das bactérias *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis* na progressão do cancro oral.

Materiais e método: Uma pesquisa bibliográfica foi conduzida na PUBMED utilizando palavras-chave como "cancro oral", "microbiota", "carcinoma de células escamosas oral", "Porphyromonas gingivalis", "Fusobacterium nucleatum" e "microbioma humano".

Resultados: Foram identificados 204 artigos, dos quais 20 foram selecionados para análise, com base na relevância dos dados sobre o papel das bactérias *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis* no cancro oral e sua influência no desenvolvimento da patologia.

Discussão: O desequilíbrio das bactérias orais pode gerar um estado inflamatório persistente, contribuindo para o desenvolvimento de neoplasias. Especificamente, as bactérias *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis* ajudam as células tumorais a escapar ao controle do sistema imunológico, promovendo o desenvolvimento e a disseminação do tumor.

Conclusões: A presença de disbiose oral pode, em alguns casos, predispor à formação de neoplasias. No entanto, os estudos disponíveis ainda são limitados, exigindo mais investigações para resultados mais conclusivos.

Palavras-Chave: cancro oral, microbiota, carcinoma de células escamosas oral, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, microbioma humano.

ABSTRACT

Introduction: Oral cancer is one of the most common tumors in the head and neck region, with alcohol consumption and smoking being the main risk factors. Globally, cases of oral cancer are on the rise, even among individuals with a healthy lifestyle, suggesting the influence of other factors. The microbiota is gaining prominence as a possible contributor to the development of the disease.

Objectives: To investigate the role of *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis* bacteria in the progression of oral cancer.

Materials and method: A literature search was conducted on PUBMED using keywords such as "oral cancer," "microbiota," "oral squamous cell carcinoma," "Porphyromonas gingivalis," "Fusobacterium nucleatum," and "human microbiome".

Results: A total of 204 articles were identified, of which 20 were selected for analysis based on the relevance of the data regarding the role of *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis* bacteria in oral cancer and their influence on the development of the pathology.

Discussion: Imbalance in oral bacteria can lead to a persistent inflammatory state, contributing to the development of neoplasms. Specifically, *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis* bacteria help tumor cells evade the immune system control, promoting tumor development and dissemination.

Conclusion: The presence of oral dysbiosis may predispose to the formation of neoplasms in some cases. However, available studies are still limited, requiring further investigation for more conclusive results.

Keywords: oral cancer, microbiota, oral squamous cell carcinoma, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, human microbiome.

Índice Geral

1.	Introdução	1
2.	Objetivos.....	5
3.	Materiais e método.....	7
3.1.	Protocolo Desenvolvido.....	7
3.2.	Foco da questão PICO	7
3.3.	Questão PICO	7
3.4.	Estratégia de Pesquisa.....	8
3.5.	Termos de Pesquisa.....	8
3.6.	Critérios de inclusão e exclusão	8
3.7.	Seleção dos estudos	9
3.8.	Extração de dados	9
4.	Resultados	11
5.	Discussão.....	29
6.	Conclusão	43
7.	Referências Bibliográficas.....	45

Índice de Figuras

Figura 1- Estratégia PICOS.....	7
Figura 2 – Fluxograma da seleção dos artigos	13

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Critérios de inclusão e de exclusão.....	8
Tabela 2 – Resultados obtidos da pesquisa por expressão de pesquisa.....	11
Tabela 3 – Tabela de Resultados.....	13

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

CCE- carcinoma de células escamosas

CO- cancro oral

CECO- carcinoma oral de células escamosas

HPV- vírus do papiloma humano

CCECP- carcinoma células escamosas da cabeça e pescoço

F. nucleatum- *Fusobacterium nucleatum*

Pg/P. Gingivalis- *Porphyromonas gingivalis*

PCV-CECO- lesões pré-cancerígenas verrucopapilares associadas ao carcinoma escamoso oral

LPC- lesões pré-cancerosas

TAM- macrófagos associados ao tumor

LH- leucoplasia homogénea

LVP- leucoplasia verrucosa proliferativa

LVP-CECO- carcinoma oral de células escamosas precedido por leucoplasia verrucosa proliferativa

SG- sobrevivência global

TNF- α - fator de necrose tumoral alfa

RTL- receptores toll-like

MMP- metaloproteinase

CEO- células epiteliais humanas

EMT- epitélio mesenquimal transicional

1. Introdução

O carcinoma de células escamosas da cavidade oral (CCEO) é um dos tumores malignos mais comuns da cabeça e pescoço⁽¹⁾, é a neoplasia mais frequente na cavidade oral⁽²⁾, e um dos dez tipos de cancro mais encontrado globalmente⁽³⁾.

É conhecido pela sua agressividade, rápido desenvolvimento, tendência à metastização precoce e prognóstico desfavorável⁽¹⁾. Além disso, nos últimos anos, os casos de CCEO têm aumentado^(1,3).

Apesar das melhorias recentes no tratamento abrangente da patologia, as perspectivas para doentes com doença avançada e o risco de recorrência para aqueles que superaram a doença ainda permanecem insatisfatórias. Como resultado, há um esforço constante para entender melhor os processos celulares e moleculares que desencadeiam a formação de tumores na boca e promovem a sua disseminação para outras partes do corpo⁽²⁾. As bactérias presentes na boca desempenham um papel fundamental na manutenção da saúde oral, e alterações no seu equilíbrio têm sido associadas a várias doenças humanas, incluindo o cancro⁽⁴⁾.

As infeções crónicas desempenham um papel significativo no desenvolvimento do cancro. Cerca de 20% dos tumores malignos humanos podem ser atribuídos a agentes infecciosos⁽³⁾. As bactérias associadas à periodontite são conhecidas por causar inflamação de longo prazo no tecido gengival⁽⁵⁾. Na verdade, uma flora microbiana oral disbiótica leva à doença periodontal crónica⁽⁶⁾.

Estudos epidemiológicos demonstram uma correlação entre periodontite e cancro oral⁽³⁾. Os patogénicos periodontais são um fator de risco independente em indivíduos sem principais fatores de risco para o CCE oral⁽⁵⁾.

Recentemente, foi observada a presença de bactérias dentro dos próprios tumores, conhecidas como "*microbiota intratumoral*"⁽⁴⁾.

Alguns tipos específicos de bactérias foram identificados como estreitamente relacionados com o carcinoma escamoso da cavidade oral, como a *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis*⁽²⁾.

Fusobacterium nucleatum está associado às fases iniciais da patologia⁽⁷⁾, evidenciando um ambiente imunitário único, com maior prevalência em doentes idosos que não consomem álcool, e está correlacionado com um prognóstico positivo⁽⁴⁾.

Porphyromonas gingivalis é uma bactéria que se adapta ao ambiente oral e está associada à periodontite, onde consegue permanecer e prosperar no epitélio oral ⁽⁸⁾, está mais abundante nos estádios avançados da doença⁽⁹⁾ e promove a carcinogénese oral e o desenvolvimento do cancro⁽¹⁰⁾.

2. Objetivos

Esta revisão sistemática integrativa tem como objetivo, analisar quais as bactérias da microbiota oral que mais influenciam o desenvolvimento do cancro bucal e como essas bactérias atuam a nível celular.

3. Materiais e método

3.1. Protocolo Desenvolvido

Para a elaboração desta revisão sistemática integrativa, foi desenvolvido um protocolo detalhado e de acordo com a declaração PRISMA (guia de referência para revisões sistemáticas).

3.2. Foco da questão PICO

Os critérios aplicados à questão PICO são:

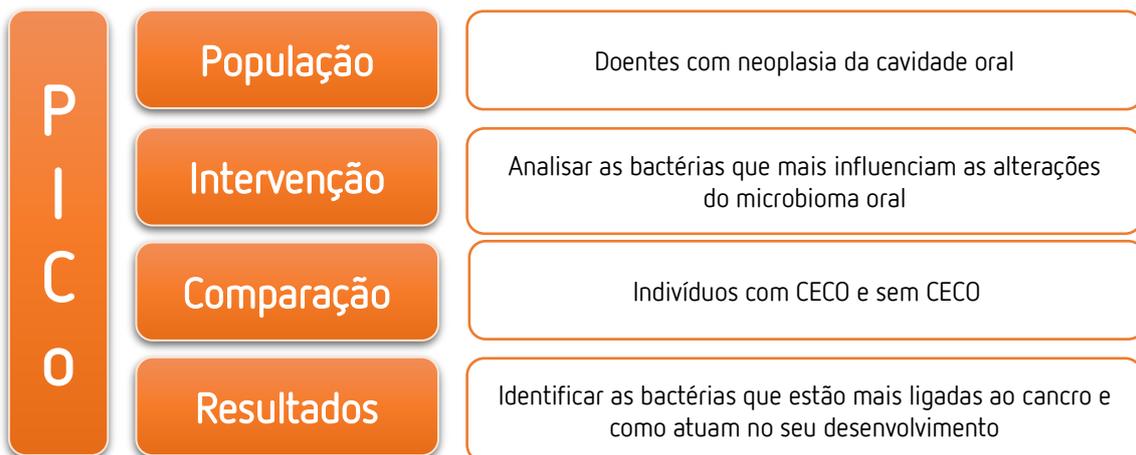


Figura 1 – Estratégia PICOS

3.3. Questão PICO

Foi definida a seguinte questão norteadora de acordo com o desenho do estudo, população, intervenção, comparação e resultados:

“Quais as bactérias que mais influenciam o desenvolvimento do cancro oral e de que forma atuam?”

3.4. Estratégia de Pesquisa

A pesquisa bibliográfica foi realizada utilizando as bases de dados PubMed (via National Library of Medicine) entre os dias 4 de setembro e o 31 de dezembro de 2023, sendo o dia 31 de dezembro de 2023 a data da última pesquisa.

Foi definido um período de 10 anos de inclusão dos estudos (2013-2023).

3.5. Termos de Pesquisa

Foi realizada a pesquisa avançada de dados na PubMed utilizando as seguintes conjunções de “Mesh Terms” e com limite temporal de 10 anos:

- ((oral cancer [MeSH Terms]) AND (microbiota [MeSH Terms]))
- ((oral squamous cell carcinoma [MeSH Terms]) AND (Porphyromonas gingivalis [MeSH Terms]))
- ((oral squamous cell carcinoma [MeSH Terms]) AND (human microbiome [MeSH Terms]))
- (((Fusobacterium nucleatum [MeSH Terms])) AND (Porphyromonas gingivalis [MeSH Terms]))

3.6. Critérios de inclusão e exclusão

Todos os artigos incluídos foram lidos e avaliados individualmente segundo os critérios de inclusão e exclusão.

Critérios de Inclusão	Critérios de Exclusão
Artigos que abordam o tema visado	Artigos que não abordassem os interesses deste estudo
Estudos clínicos in vitro em humanos e animais	Revisões sistemática, revisões de literatura
Artigos escritos na língua inglesa	Artigos não redigidos em inglês
Artigos entre 2013-2023	Artigos publicados antes de 2013

Tabela 1 – Critérios de inclusão e de exclusão

3.7. Seleção dos estudos

Após a eliminação dos artigos duplicados a etapa inicial da seleção dos artigos foi realizada por leitura dos títulos e resumos dos artigos. Estudos que não completavam os critérios de elegibilidade foram descartados. Na segunda fase da seleção foram aplicados os mesmos critérios de elegibilidade para os estudos restantes em texto completo.

3.8. Extração de dados

Foi desenvolvida uma tabela de extração de dados. Nesta tabela (Tabela 3), constam informações como artigo, tipo de estudo, objetivo ou materiais e métodos, resultados, conclusão.

4. Resultados

4.1. Resultados da pesquisa

A pesquisa inicial resultou na identificação de 204 artigos.

Base de Dados	Estratégia de busca	Artigos encontrados	Artigos selecionados
PubMed	((“oral cancer” AND (“microbiota”)))	124	11
PubMed	((“oral squamous cell carcinoma”) AND (“Porphyromonas gingivalis”))	15	3
Pubmed	((“oral squamous cell carcinoma”) AND (“human microbiome”))	50	3
Pubmed	((((“Fusobacterium nucleatum”) AND (“Porphyromonas gingivalis”) AND (“oral cancer”))))	15	3

Tabela 2 – Resultados obtidos da pesquisa por expressão de pesquisa

Destes, 204 foram eliminados 35 por duplicidade utilizando o Mendeley Citation Manager. Dos 169 artigos restantes, 124 foram eliminados pela leitura do título e abstract, por não obedecerem aos critérios de elegibilidade. Apenas 45 artigos foram selecionados através da avaliação do texto completo. Após a leitura total dos artigos apenas 20 artigos foram selecionados aplicando os conteúdos definidos pelos critérios de inclusão e exclusão na pesquisa avançada de dados na PubMed utilizando as conjugações de “Mesh Terms”.

O resultado da seleção resultou em 20 artigos (Figura 2)

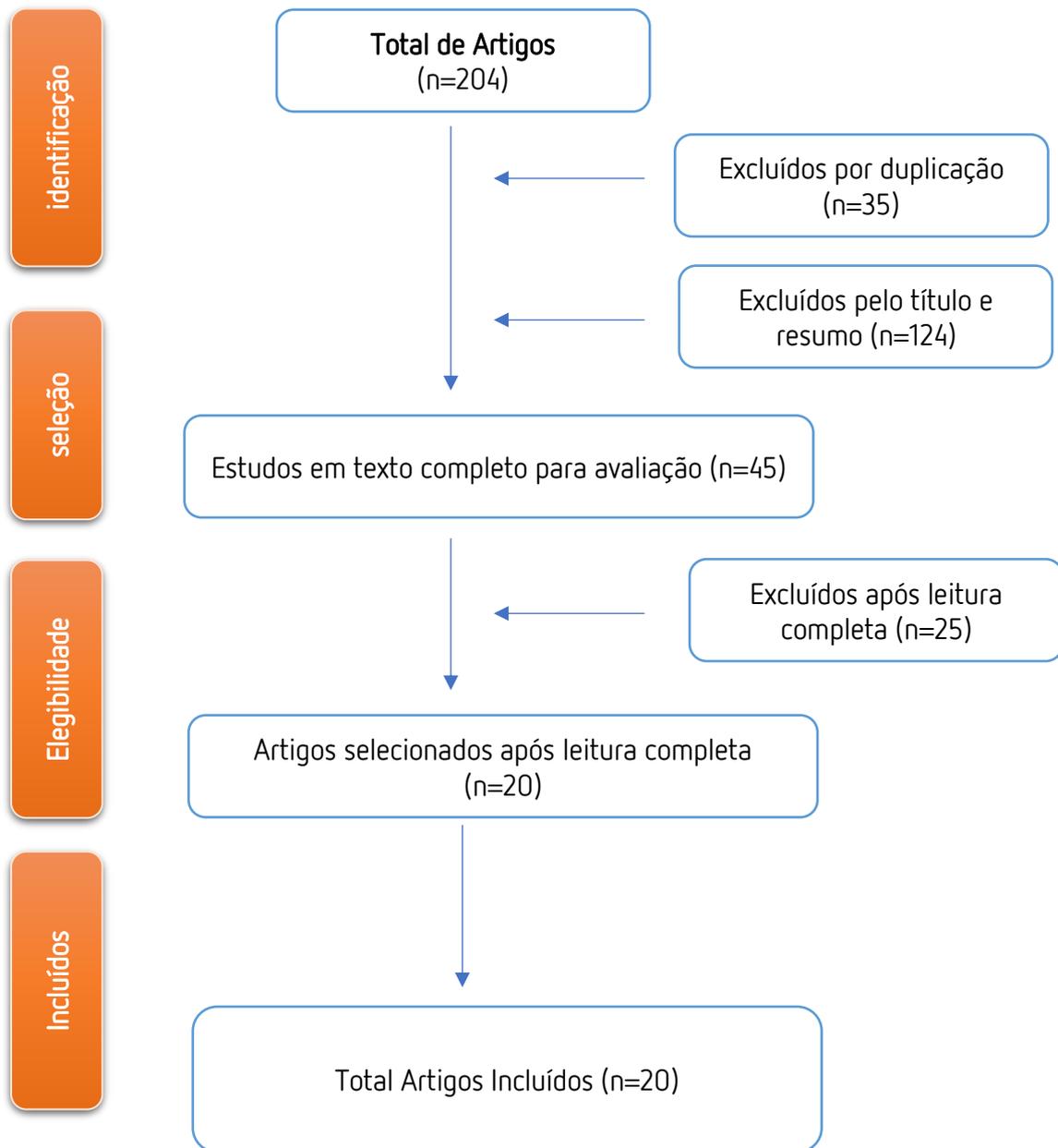


Figura 3 - Fluxograma de estratégia de pesquisa

Artigo	Tipo de estudo	Objetivo	Materiais e métodos	Técnica utilizada para avaliação	Conclusão
Fujiao Nie, et al., 2022 Characteristics of microbial distribution in different oral niches of oral squamous cell carcinoma	Estudo observacional transversal	Compreender se existem bactérias específicas relacionados com o cancro oral e a sua distribuição na boca e nas diferentes fases da doença	305 amostras de 65 doentes com carcinoma de células escamosas orais (CECO), incluindo tecido tumoral, tecido normal adjacente; tecido paracanceroso; tecido canceroso superficial, mucosa normal contralateral anatomicamente compatível, saliva e revestimento da língua	O sequenciamento do DNA ribossômico 16S rDNA foi empregado para analisar e comparar as comunidades microbianas	Os tecidos tumorais e para cancerosos exibiram uma maior diversidade microbiana em comparação com outras regiões da boca. Amostras de tumores revelaram um aumento na presença de bactérias associadas à periodontite, como <i>Fusobacterium</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Campylobacter</i> e <i>Aggregatibacter</i> , bem como bactérias anaeróbicas. Além disso, o tipo de microrganismos presentes estava fortemente relacionado com as características clínicas e patológicas do tumor
S F Monk, et al., 2017 The oral microbiome community variations associated with normal, potentially malignant disorders and malignant lesions of the oral cavity	Estudo observacional transversal	Identificar as diferenças nas comunidades microbianas entre condições orais normais e distúrbios que têm o potencial de se tornarem malignos	3 grupos: Indivíduos normais (n = 9) Amostras de OPMD (n=9) e cancro (n=9)	Foram colhidas duas amostras utilizando cotonetes, que foram passados pela cavidade oral para colher material. As amostras foram então colocadas em uma solução específica para armazenamento e mantidas à temperatura	A análise de variância molecular revelou uma diferença estatisticamente significativa entre a microbiota oral típica e a microbiota oral encontrada em pessoas com cancro, porém não houve diferença significativa entre os casos de OPMD e os outros

				ambiente. Posteriormente, o DNA foi extraído das amostras e sequenciado, focando no DNA ribossômico 16S	dois grupos. Observou-se uma sobreposição da microbiota oral associada ao OPMD com os grupos considerados normais e com cancro
Susan Yost, et al., 2018 Increased virulence of the oral microbiome in oral squamous cell carcinoma revealed by metatranscriptome analyses	Estudo comparativo transversal	Analisar a expressão de mRNA em todo o microbioma oral no CECO para identificar quais as funções moleculares que estão relacionadas com essa doença	Doentes do sexo masculino (doentes e controles) com idade entre 40 e 64 anos, com mais de 15 dentes naturais e com bom estado geral de saúde. Doentes com CECO não metastático recém-diagnosticado, HPV negativo, não fumadores. Não foram elegíveis caso tivessem feito cirurgia, radioterapia e/ou quimioterapia anteriormente, estivessem grávidas ou amamentando, tivessem recebido antibióticos ou terapêutica periodontal nos últimos três meses, tivessem qualquer doença sistêmica, incluindo diabetes, ou se tivessem condições imunocomprometidas	Foram obtidas amostras de cotonete oral de quatro locais diferentes: o local do tumor CECO, um local saudável correspondentemente ao tumor, um local saudável de um indivíduo sem tumor e um local adjacente ao CECO, todos dentro da cavidade oral. Cada amostra foi armazenada individualmente em tubos contendo RNA e congelada a -80°C. Em seguida, o RNA foi extraído das amostras, amplificado e sequenciado usando a tecnologia de iluminação	Observou-se que as maiores mudanças na composição das comunidades ativas ocorreram ao comparar os locais de tumor CECO com os locais orais de indivíduos saudáveis. Nas áreas do tumor, as <i>Fusobactérias</i> estavam mais ativas, enquanto as <i>Porphyromonas</i> estavam mais ativas nos locais saudáveis de controle. Em particular, as <i>Fusobactérias</i> apresentaram uma expressão de transcrição significativamente maior em locais tumorais e adjacente a tumores em doentes com cancro, em comparação com os controles saudáveis examinados
Steven He, et al., 2023 Metaproteomic analysis of an oral squamous cell carcinoma dataset suggests diagnostic potential of	Estudo transversal retrospectivo	Encontrar proteínas e tipos específicos de microrganismos que podem ser utilizados como indicadores diagnósticos para o CECO	Foram incluídas apenas amostras da cavidade oral que testaram negativo para o vírus HPV. Essas amostras totalizaram 49, sendo 23 provenientes de doentes com tecido normal	Técnica Trans-Proteomic Pipeline	Observou-se a presença de <i>Fusobactérias</i> exclusivamente em casos de CECO. Este é o primeiro relato de baixa diversidade de espécies virais e bacterianas. Essa ocorrência

the mycobiome			adjacente compatível e 26 apenas com tecido tumoral. A análise foi conduzida considerando todos os estádios do cancro em conjunto, comparando-os com condições não cancerígenas		provavelmente é resultado de possíveis falhas nos dados devido ao uso de desinfetantes de superfície.
Raghwendra Pratap Singh, et al., 2023 Intratumoral microbiome changes with tumor stage and influences the immune signature of oral squamous cell carcinoma	Estudo observacional transversal	Examinar a quantidade de microrganismos presentes em estádios iniciais e avançados do cancro oral, e avaliar como essa abundância microbiana afeta as características clínicas, patológicas e imunológicas da doença	Foram recrutados 95 participantes para este estudo, incluindo 11 indivíduos saudáveis como grupo de controlo, 15 com lesões pré-cancerosas e 69 com diferentes estádios do CECO, variando de T1 a T4. Amostras de sangue periférico foram colhidas de todos os participantes. Além disso, amostras de tecido foram obtidas por meio de cirurgia para remoção das lesões tumorais e de áreas normais adjacentes (controlo adjacente) de 69 doentes com OSCC. As amostras de lesões pré-cancerosas foram colhidas de doentes diagnosticados com leucoplasia, fibrose e eritroplasia. Importante ressaltar que nenhum dos participantes estava em tratamento com antibióticos durante o estudo	O microbioma presente nas amostras de biópsia de tecido foi analisado utilizando uma técnica de sequenciamento de amplificação 16S rRNA, que permite identificar a composição das comunidades microbianas. Enquanto isso, o perfil imunológico dentro do tumor e no sistema circulatório foi investigado por meio de citometria de fluxo e análises imunohistoquímicas, que são métodos que permitem estudar as células do sistema imunológico e suas interações com o tecido tumoral	Houve uma diferença significativa na composição bacteriana entre os estádios de pré-cancro, cancro precoce e cancro avançado, com uma maior presença de <i>Fusobacterium</i> no grupo de cancro. Parece que a espécie <i>Fusobacterium</i> está relacionada com os estádios iniciais do cancro
Brian Schmidt, et al., 2014 Change in	Estudo observacional transversal	Propor um modelo para investigar o microbioma	O estudo foi conduzido em duas etapas distintas. Na primeira etapa, colheram-se	Para colher amostras de áreas com cancro ou pré-cancro, a lesão	As Fusobactérias foram encontradas em maior quantidade em tumores do que em amostras

<p>abundance of oral microbiome associated with oral cancer</p>		<p>oral como uma ferramenta de acompanhamento do surgimento, evolução e recorrência do cancro oral</p>	<p>amostras de cinco doentes diagnosticados com cancro oral, bem como de regiões clinicamente normais na cavidade oral, que eram anatomicamente correspondentes ao lado oposto. Na segunda etapa, o estudo incluiu doentes com cancro oral, lesões pré-cancerosas e indivíduos saudáveis</p>	<p>foi seca com gaze e, em seguida, esfregada com um cotonete mantido em um ângulo de aproximadamente 20 graus em relação à superfície da lesão. Uma das extremidades do cotonete foi esfregada na lesão 10 vezes, aplicando uma leve pressão para baixo. Em seguida, o cotonete foi rodado em 180 graus e a outra extremidade foi esfregada 10 vezes na lesão da mesma</p>	<p>de doentes saudáveis retiradas de regiões anatomicamente correspondentes no lado oposto. No entanto, essa diferença de concentração não alcançou significância estatística nos resultados.</p>
<p>Alejandro Herreros-Pomares, et al., 2023 On the oral microbiome of oral potentially malignant and malignant disorders: dysbiosis, loss of diversity, and pathogens enrichment</p>	<p>Estudo observacional transversal</p>	<p>Caracterizar e comparar o microbioma oral de leucoplasia homogênea (LH), leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP), CECO e CECO precedido por LVP (LVP-CECO)</p>	<p>Cinquenta biópsias orais foram obtidas de HL (n = 9), PVL (n = 12), CECO (n = 10), PVL-OSCC (n = 8), saudáveis (n = 11)</p>	<p>A sequência da região V3-V4 do gene 16S rRNA foi utilizada para analisar a composição e diversidade das populações bacterianas</p>	<p><i>Fusobacterium</i>: HL: 19%, PVL: 14%, OSCC: 25%, PVL-OSCC: 26% <i>Porfiromonas</i>: HL: 3%, PVL: 6%, OSCC: 3%, PVL-OSCC: 3%</p>
<p>Xinxuan Zhou, et al., 2021 The clinical potential of oral microbiome as a screening tool for a oral squamous cell carcinoma</p>	<p>Estudo observacional transversal</p>	<p>Examinar se doentes diagnosticados com OSCC possuem composições microbianas distintas quando comparados a indivíduos saudáveis</p>	<p>O estudo foi realizado em três fases, envolvendo um total de 47 doentes com idades entre 34 e 78 anos, todos diagnosticados com carcinoma de células escamosas oral. Os critérios de inclusão exigiam que os doentes não consumissem álcool, tabaco,</p>	<p>Os participantes receberam instruções para não comer nem escovar os dentes por um período de 12 horas antes da colheita de amostras. Foram orientados a evitar engolir</p>	<p>A precisão do diagnóstico em cinco locais diferentes e na saliva foi de 98,17% e 95,70%, respectivamente. Foi evidenciado que as espécies de <i>Fusobacterium</i> estão fortemente associadas ao carcinoma de células escamosas orais</p>

			<p>antibióticos, cortisona, citocinas ou medicamentos immunossuppressores nos seis meses anteriores à colheita das amostras. Doentes com índice CPO superior a 4, índice de tártaro igual ou superior a 2, ou que apresentassem doenças fúngicas ou da mucosa oral foram excluídos do estudo. As amostras foram colhidas antes do início do tratamento, incluindo 47 amostras de saliva, 18 da placa subgingival, 21 de superfícies tumorais, 16 de mucosa oral saudável e 16 de tecido tumoral</p>	<p>por 1 minuto e colher 5 ml de saliva em um tubo de ensaio. Para a colheita da placa, foram utilizados cotonetes <i>buccais</i>. Para obter amostras da flora bacteriana da mucosa oral, foram utilizados cotonetes para limpar a lesão e a mucosa oral por 10 segundos, evitando o dente e o interior do tumor. Todas as amostras foram então transferidas para uma solução salina tamponada com PBS e armazenadas imediatamente a -80°C. As amostras de tumor foram colhidas e imersas em iodopovidona estéril por 3 minutos. Em seguida, as amostras tumorais foram divididas em duas partes, uma delas imersa em tampão Tris-EDTA (pH = 7,) e armazenada a -80°C, enquanto a outra parte foi usada para cultivo. O DNA foi extraído e amplificado por PCR</p>	
Shih-Chi Su, et al., 2021	Estudo observacional	Descrever as alterações na comunidade	O estudo incluiu 74 doentes do sexo	Foram colhidos cotonetes orais	As <i>Fusobactérias</i> foram encontradas em

<p>Oral microbial dysbiosis and its performance in predicting oral cancer</p>	<p>prospectivo</p>	<p>microbiana da cavidade oral, principalmente devido ao desenvolvimento do cancro oral</p>	<p>masculino, com uma idade média de início da doença de 53 anos, todos com tumores na mucosa oral que não haviam sido tratados anteriormente. Os doentes que apresentavam inflamação periodontal evidente, cáries visíveis ou antecedentes de diabetes mellitus ou distúrbios imunológicos foram excluídos do estudo. Os participantes receberam orientações para evitar comer, fumar, beber ou realizar atividades de higiene oral por uma hora antes da colheita dos cotonetes orais.</p>	<p>das áreas áreas tumorais e das áreas normais correspondentes no lado oposto. Além disso, uma coorte adicional de 42 doentes diagnosticados com carcinoma espinocelular oral foi recrutada para validação, pelo sequenciamento do gene 16S rRNA</p>	<p>maior quantidade nos tecidos lesados e demonstraram uma boa capacidade de identificar com sucesso regiões de tecido normal não canceroso. No entanto, causaram uma classificação incorreta significativa das lesões de carcinoma de células escamosas</p>
<p>Wei-Hsiang Lee, et al., 2017 Bacterial alterations in salivary microbiota and their association in oral cancer</p>	<p>Investigação observacional</p>	<p>Encontrar relações potenciais entre os estilos de vida e a composição do microbioma em pessoas que sofrem de CCE</p>	<p>Foram colhidas 376 amostras de saliva humana, incluindo 125 casos CECO 124 casos de displasia, hiperplasia ou hiperqueratose, e 127 controles normais com doenças não malignas na cavidade oral. Apenas doentes com CECO primário não tratado foram recrutados, excluindo aqueles com histórico de diabetes mellitus</p>	<p>Foram colhidas amostras de saliva (5 ml) de cada participante sem estímulo, após um período de pelo menos 1 hora após comer, beber ou fumar, ou após bochechar a boca. Essas amostras foram colhidas em tubos e armazenadas a -80°C. O DNA</p>	<p>A alteração na composição do microbioma pode ser potencialmente empregada como biomarcadores para antecipar a transição do desenvolvimento patológico da lesão precursora epitelial oral para o cancro</p>

			<p>ou doenças imunomediadas. Todos os participantes não receberam antibióticos nos três meses anteriores ao estudo. A amostra final do estudo consistiu em 99 doentes. Além disso, 28 doentes foram reexaminados após o tratamento, com um acompanhamento de 48 meses. Também foram examinados 101 casos de controles saudáveis</p>	<p>foi extraído diretamente das amostras de saliva e o DNA ribossômico 16S (rDNA) da região V4 foi sequenciado</p>	
<p>Anna I. Mäkinen, et al., 2023 Salivary microbiome profiles of oral cancer patient analyzed before and after treatment</p>	<p>Estudo observacional longitudinal</p>	<p>Explorar mudanças potenciais nos padrões do microbioma presente na saliva de doentes com CECO antes e após o tratamento do cancro, e comparar essas mudanças com os padrões observados em indivíduos saudáveis sem histórico de cancro</p>	<p>99 doentes com CCE antes da ressecção cirúrgica do tumor e outras terapêuticas adjuvantes.</p>	<p>Antes do tratamento do tumor, os doentes forneceram uma amostra de saliva estimulada e medida a taxa de fluxo salivar. Após o tratamento, 28 doentes com CECO foram reexaminados com tempo médio de seguimento de 48 meses. Além disso, 101 controles saudáveis foram examinados. Após extração e purificação do DNA, a região hipervariável V4 do gene 16S rRNA foi amplificada e sequenciada usando Illumina MiSeq</p>	<p>Doentes diagnosticados com CECO mostraram uma maior presença de espécies de <i>Fusobacterium nucleatum</i> em comparação com outros tipos de bactérias. No entanto, a presença de <i>Porphyromonas gingivalis</i> não foi significativamente diferente entre os doentes com CECO. Além disso, os perfis da microbiota salivar variam entre doentes saudáveis e aqueles com CECO, e também há diferenças entre os perfis de microbiota antes e depois do tratamento do cancro</p>
<p>Qingli Chen, et al., 2021</p>	<p>Estudo observacional</p>	<p>Avaliar a correlação entre</p>	<p>95 doentes, (65 homens, 30</p>	<p>Foram colhidas um</p>	<p>Doentes com CCE</p>

<p>Salivary Porphyromonas gingivalis predicts outcome in oral squamous cell carcinoma: a cohort study</p>	<p>onal longitudinal</p>	<p><i>Porphyromonas gingivalis</i> e CCE</p>	<p>mulheres), com idades entre 21 e 82 anos. Grupo controle 39 doentes sem CECO (21 homens, 18 mulheres), com idade entre 33-76 anos, com diagnóstico de doença das glândulas salivares, linfadenopatia, linfoma, infecção crônica da boca ou língua, epúlida, rânula, lipoma, cisto linfoepitelial e carcinoma da glândula sebácea</p>	<p>total de 134 amostras de saliva entre e 8h da manhã, após um período de jejum noturno e sem escovagem dentária. Os participantes receberam instruções para fazer um bochecho vigoroso com 40 ml de água destilada esterilizada por 1 minuto e, em seguida, cuspir em outro recipiente. As amostras de saliva foram centrifugadas a 14.000 rpm por 15 minutos, e o sedimento celular resultante foi suspenso em 1 ml de tampão TE estéril. As amostras de saliva foram então armazenadas a -80°C até serem processadas. O DNA bacteriano foi extraído e amplificado por PCR</p>	<p>apresentaram valores elevados de <i>Porphyromonas gingivalis</i>.(Pg) Altos níveis de <i>Porphyromonas gingivalis</i> salivar indicam um estágio avançado de patologia, mas um tempo livre de patologia grave. A abundância de Pg foi considerada um fator de prognóstico positivo</p>
<p>Shiyu Liu, et al., 2020 Porphyromonas gingivalis promotes immunoevasion of oral cancer by protecting cancer from macrophage attack</p>	<p>Estudo experimental in vivo e in vitro</p>	<p>analisar a função de <i>P.gingivalis</i> na evasão do sistema imunológico no CECO</p>	<p>Culturas de células</p>	<p>Cultura anaeróbica de <i>P. gingivalis</i> ATCC 33277 em caldo de infusão de cérebro e coração com adição de sangue de ovelha desfibrinado, hemina e vitamina K.</p>	<p><i>F. nucleatum</i> não apresenta capacidade de inibir a fagocitose em macrófagos, enquanto <i>P. gingivalis</i> desempenha um papel distinto na inibição da fagocitose</p>

				<p>Cultura da linhagem celular de carcinoma espinocelular oral Cal-27 e macrófagos derivados da medula óssea de camundongos BALB/c.</p> <p><i>P. gingivalis</i> foi inativado por antibiótico e aquecimento, e a capacidade dos macrófagos fagocitarem células tumorais Cal-27 incubadas com <i>P. gingivalis</i> foi então avaliada por sequenciamento de RNA</p>	
<p>Yangyang Wang, et al., 2022</p> <p>A comprehensive analysis of intratumoral microbiome in head and neck squamous cell carcinoma</p>	<p>Estudo observacional transversal</p>	<p>Analisar a assinatura do microbioma intratumoral do carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço</p>	<p>Número total de amostras 177. 15 amostras de tecido tumoral e 22 amostras de tecido normal adjacente, obtidas do banco de dados do TCMA. Além disso, a base de dados TCGA foi utilizada para obter os dados clinicopatológicos destas 177 amostras</p>	<p>os 155 exemplares tumorais foram categorizados em subconjuntos com base no sexo, local de biópsia, estágio tumoral e classificação histológica da neoplasia</p>	<p>O perfil microbiano difere entre o carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço e os tecidos normais adjacentes. As assinaturas do microbioma intratumoral estão correlacionadas clinicopatologicamente no HNSC. As assinaturas do microbioma também podem refletir a biologia humana em estado de saúde e doença</p>
<p>Cindy Neuzillet, et al., 2021</p> <p>Prognostic value of intratumoral <i>F. nucleatum</i> and association with immune-related gene</p>	<p>Estudo observacional retrospectivo</p>	<p>Investigar a relação entre a presença de <i>F. nucleatum</i> dentro do tumor e as características clínico-patológicas, a recorrência do câncer</p>	<p>Coorte n1: 122 doentes com carcinoma de células escamosas da cavidade oral 61; orofaringe 22; hipofaringe 17; laringe 22. Coorte n2: 90</p>	<p>Os doentes com carcinoma de células escamosas orais foram divididos em dois grupos e as suas amostras</p>	<p>Coorte 1: Na população geral de carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço observou-se uma tendência, embora não significativa, para</p>

<p>expression in oral squamous cell carcinoma</p>		<p>cro e a sobrevida global (SG) dos doentes</p>	<p>doentes com CCE</p>	<p>de tumor foram congeladas em azoto líquido logo após a cirurgia. O DNA e o RNA foram extraídos posteriormente dessas amostras, que foram armazenadas a -80°C</p>	<p>uma maior sobrevida em doentes com tumores que testaram positivo para <i>F. nucleatum</i>. Coorte 2: Houve também uma tendência não significativa para uma sobrevida global mais longa entre os doentes cujos tumores foram positivos para <i>F. nucleatum</i></p> <p>Coorte 1 e 2 agrupadas: Quando os dados das duas coortes foram combinados, os resultados mostraram que os doentes com tumores positivos para <i>F. nucleatum</i> tiveram significativamente melhor desempenho em comparação com os 27 doentes cujos tumores testaram negativo para <i>F. nucleatum</i></p>
<p>Ian Ganly, et al., 2019 Periodontal pathogens are a risk factor of oral cavity squamous cell carcinoma, independent of tobacco, alcohol and HPV</p>	<p>Estudo caso-controle</p>	<p>Explorar se existe alguma relação entre o microbioma oral e o CECCO em doentes não fumadores que são negativos para o HPV</p>	<p>Os dois grupos consistiram em 18 casos de carcinoma espinocelular oral negativo para a tipos de papilomavírus humano de alto risco e 8 casos de lesões pré-cancerosas. Além disso, foram incluídos 12 controles negativos, que eram doentes normais com nódulos da tireóide benignos ou malignos</p>	<p>Os participantes bochecharam a boca vigorosamente com solução salina estéril e depois cuspiram. As bactérias presentes neste líquido foram colhidas por meio de um processo de centrifugação. Os resíduos resultantes foram</p>	<p>Todos os doentes com cancro apresentaram resultado negativo para HPV de alto risco e não eram fumadores. A diversidade do microbioma oral não apresentou diferenças significativas entre os grupos com doença e o grupo controle. Testes subsequentes mostraram que as diferenças foram significativas</p>

				transferidos para tubos de 2 ml e armazenados a -80°C. O DNA foi extraído e as regiões V3 e V4 dos genes bacterianos 16S rRNA amplificadas	entre CECCO e controles, mas não entre LPC e controles negativos, nem entre CECCO e PML.
Adi Binder Gallimidi, et al., 2015 Periodontal pathogens Pg e <i>F. nucleatum</i> promote tumor progression in an oral-specific chemical carcinogenesis model	Estudo experimental em animais	Examinar se as bactérias que causam doenças gengivais podem estar envolvidas no desenvolvimento do CCE	Os ratos foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos (com 7 ratos em cada grupo) e receberam 50 partes por milhão de 4NQO na água potável durante um período de 8 semanas. Um grupo foi exposto repetidamente a uma combinação de bactérias <i>P. gingivalis</i> e <i>F. nucleatum</i> , administradas por via oral três vezes por semana, começando duas semanas antes da administração de 4NQO, e continuando duas vezes por semana durante 8 semanas após a interrupção do 4NQO. Durante o período em que os camundongos receberam 4NQO não foram expostos à mistura bacteriana. O segundo grupo recebeu apenas o veículo utilizado para administrar as substâncias. Todos os camundongos foram sacrificados na semana 18 e as línguas foram colhidas e preparadas para análise histológica e imunocoloração	As amostras das línguas foram tratadas com formaldeído a 4% para preservação, e depois foram incorporadas em parafina e cortadas em seções muito finas para análise adicional usando técnicas de imunocoloração. Simultaneamente, algumas amostras foram congeladas para permitir o isolamento do RNA. A avaliação das lesões cancerosas foi realizada de forma cega por um patologista oral experiente. A invasão tumoral foi categorizada em uma escala de 0 a 3. 0 indicava ausência de invasão, 1 indicava a presença de células malignas próximas à camada basal, sem invasão	O cancro de língua foi encontrado em 6 dos 7 camundongos infectados e em 5 dos 7 camundongos não infectados. A maioria dos tumores foi classificada como moderadamente diferenciada, exceto um no grupo infectado por bactérias, que foi classificado como pouco diferenciado. Análises morfológicas e imunocitoquímicas demonstraram que a infecção crônica por <i>P. gingivalis</i> e <i>F. nucleatum</i> aumentou significativamente a gravidade dos tumores da língua. Os tumores em camundongos infectados, em comparação com camundongos não infectados, eram 2,5 vezes maiores e apresentavam maior invasividade. A expressão da ciclina D1 foi significativamente

				do músculo estriado; 2 indicava uma invasão mínima no músculo estriado; e 3 indicava uma invasão que atravessava completamente o músculo estriado	aumentada em camundongos infectados em comparação com camundongos não infectados, tanto no epitélio canceroso quanto no não canceroso. Apenas três administrações consecutivas de <i>P. gingivalis</i> / <i>F. nucleatum</i> foram suficientes para ativar fortemente o STAT3 no epitélio da língua observou-se que <i>P. gingivalis</i> e <i>F. nucleatum</i> ativam a sinalização do receptor Toll-like no epitélio pré-canceroso/canceroso, resultando em expressão elevada de IL-6 derivada do epitélio
Jungnam Lee, et al., 2017 Human primary epithelial cell acquire an ETM phenotype during long-term infection by the oral opportunistic pathogen, Pg	Estudo de cultura celular in vitro	Examinar a expressão e ativação dos principais mediadores da TEM em células epiteliais orais primárias	Células epiteliais orais humanas primárias foram obtidas de doentes adultos, selecionados aleatoriamente e anonimamente entre aqueles que foram submetidos alongamento de coroa dentária ou extração de terceiros molares impactados	A bactéria <i>P. gingivalis</i> ATCC 33277 foi cultivada anaerobicamente a 37°C durante a noite e colhida durante a fase de crescimento ativo através de centrifugação. As bactérias foram então ressuspensas em solução salina tamponada com PBS estéril de Dulbecco contendo cálcio e magnésio. Da mesma forma, a <i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586 foi cultivada nas mesmas condições.	Durante a infecção por <i>P. gingivalis</i> , é observado aumento da fosforilação da proteína GSK3β nas CEO. Além disso, uma diminuição significativa na expressão da proteína E-caderina é observada em CEO dentro de 120 horas após a infecção por <i>P. gingivalis</i> , causando a liberação de β-catenina no citoplasma e promovendo a

				<p>Células epiteliais orais primárias, que atingiram aproximadamente 60% de confluência, foram infetadas com a bactéria em alta concentração em todas as experiências. Os CEO foram cultivados em placas e infetados com um grande número de bactérias durante um período de 72 horas. Durante este período, o meio de cultura celular foi substituído a cada 24 horas. Às 72 horas após a infeção, foi feito um arranhão em cada poço para avaliar a capacidade das células migrarem. As células migrantes foram então monitorizadas usando um microscópio durante um período de 12 horas</p>	<p>progressão tumoral. A infeção por <i>P. gingivalis</i> também leva ao aumento dos níveis de vimentina nas CEO, promovendo a motilidade celular e um fenótipo invasivo que pode estar relacionado ao potencial metastático de tumores de origem epitelial. Além disso, observa-se que <i>P. gingivalis</i> promove a migração de CEO primários, com um aumento na morfologia das células mesenquimais durante a infeção em comparação com células não tratadas ou infetadas por <i>F. nucleatum</i>. Em contraste, a infeção por <i>F. nucleatum</i> leva a uma morfologia arredondada e dispersa de CEO primários, o que poderia indicar um fenótipo mais invasivo</p>
<p>L. Wen, et al. 2020 Pg promotes oral squamous cell carcinoma progression in an immune microenvironment</p>	<p>Estudo realizado em cultura celular</p>	<p>Entender como o <i>P. gingivalis</i> contribui para a progressão do CCE e como está relacionado</p>	<p>Doentes com carcinoma espinocelular oral camundongos C57BL selvagens de seis semanas de idade e queratinócitos orais displásicos humanos</p>	<p>Cepas de <i>P. gingivalis</i> foram cultivadas em caldo cérebro-coração sob condições anaeróbicas</p>	<p>A infeção por <i>P. gingivalis</i> parece ser um fator preditivo significativo para redução da sobrevivência global em doentes com CECO, enquanto a</p>

		com o sistema imunológico local		<p>Queratinócitos orais displásicos humanos foram cultivados em meio de crescimento específico. Os camundongos foram tratados com o carcinogénio químico 4NQO e divididos em grupos controle e experimental, com inoculação oral de <i>P. gingivalis</i> em um grupo específico. Após um período de tempo definido, os tecidos e órgãos dos camundongos foram colhidos para análise. imunohistoquímica e hibridização <i>in situ</i> por fluorescência (FISH) foram usadas para detectar colonizações de <i>P. gingivalis</i></p>	<p>associação com sobrevida livre de recorrência não obteve significância estatística</p>
<p>Chungrong Chang, et al., 2018 The prevalence rate of periodontal pathogens and its association with CECCO</p>	<p>Estudo observacional transversal</p>	<p>Explorar como as bactérias podem contribuir para o desenvolvimento do CECCO</p>	<p>Foram colhidas amostras de tecido tumoral, tecidos paracancerosos e tecidos normais da boca, bem como amostras de placa subgingival.</p> <p>Todos os 61 doentes (39 homens, 22 mulheres) tinham apenas tumores na boca, sem nenhum</p>	<p>Os tecidos da Boca foram fixados em em formol e incluídos em parafina e então seccionados. As seções resultantes foram submetidas a análises imuno-histoquímicas e coloração hematoxilina e</p>	<p>Nos três grupos analisados, a porcentagem de placa subgingival positiva para bactérias foi de 92,1%, enquanto nos tecidos tumorais e paracancerosos foi respectivamente de 78,1% e 78,9%. <i>Fusobacterium</i> e <i>Porphyromonas</i> eram mais comuns nos tecidos tumorais. Além</p>

			<p>outro tipo de tumor maligno.</p> <p>Não tinham feito radioterapia, tratamentos biológicos ou quimioterapia antes da cirurgia, nem tinham doenças infecciosas graves. Após a desinfeção do local cirúrgico, as amostras de tecido tumoral e paracanceroso foram removidas em condições estéreis. A placa subgengival foi raspada usando instrumentos estéreis antes da cirurgia para o CECCO</p>	<p>eosina e tratadas com anticorpos antiP-CK e anti-Ki-67. Além disso, foi realizada a extração de DNA e sequenciamento do gene 16S rRNA. Cada fragmento de DNA foi amplificado usando <i>primers</i> universal saís marcados com códigos de barras que abrangem as regiões variáveis V3-V4</p>	<p>disso, observamos que a composição bacteriana nos tecidos tumorais e paracancerosos era mais semelhante entre si do que na placa subgengival. Ao analisar os dados clínicos, constatamos que doentes com condições periodontais piores tendiam a ter uma maior probabilidade de desenvolver metástases ganglionares, baixa diferenciação tecidual e um estágio clínico mais avançado</p>
--	--	--	--	---	---

Tabela 3- Tabela de resultados

5. Discussão

O cancro oral (CO) está incluído na categoria mais ampla dos tumores da cabeça e pescoço, é uma forma de cancro que se apresenta dentro da boca, envolvendo partes como os lábios, a língua, as gengivas, o pavimento da boca, o palato e outras regiões relacionadas⁽¹¹⁾. Entre todos os tipos de tumores da cabeça e pescoço, o carcinoma oral de células escamosas é o tipo mais comum e representa 80% a 90% das neoplasias da cavidade oral⁽⁷⁾.

Em países em desenvolvimento, os tumores da cavidade oral, em particular, ocupam o oitavo lugar entre os tumores mais comuns em homens. De forma alarmante, parece que a incidência desses tumores está aumentando em várias regiões do mundo⁽¹²⁾. O CO representa uma séria ameaça ao bem-estar físico e psicológico da população e, segundo as estatísticas globais sobre o cancro em 2018, foram registrados cerca de 350.000 novos casos e 170.000 mortes devido aos tumores da cavidade oral⁽¹²⁾. Em Portugal, para o cancro da cavidade oral e lábio em 2022, registaram-se 1293 novos casos, com uma incidência de 1,9 % e uma taxa de mortalidade de 1,3%. Para a orofaringe registaram-se 570 novos casos, com uma incidência de 0,82% e uma taxa de mortalidade de 0,81%⁽¹³⁾. Ao contrário de muitas outras localizações orgânicas onde o número de casos está diminuindo, a incidência do CO está aumentando, especialmente entre os jovens e as mulheres. Pesquisas recentes têm destacado um aumento nos casos de CO entre pessoas com menos de 45 anos, criando assim a necessidade de perceber melhor as causas e desenvolver estratégias terapêuticas direcionadas de forma mais urgente e esclarecida⁽¹⁴⁾.

A gestão do CECO geralmente envolve a remoção cirúrgica do tumor, possivelmente seguida por tratamentos adicionais como radioterapia ou quimioterapia. O enfoque cirúrgico muitas vezes inclui a reconstrução do defeito oncológico. Estes tratamentos podem causar problemas funcionais, como dificuldades na mastigação ou na articulação das palavras, e também podem causar xerostomia. Os gânglios linfáticos em risco de disseminação do cancro são tratados pela remoção cirúrgica ou radioterapia, o que pode afetar as glândulas salivares e reduzir a produção de saliva⁽¹⁵⁾. Mesmo com melhorias nas diversas opções de tratamento, a taxa de sobrevivência aos cinco

anos permanece baixa, à volta de 60%. Isso é principalmente devido a diagnósticos tardios, especialmente após o cancro se disseminar para os gânglios linfáticos⁽⁷⁾.

De facto, a maioria dos casos é diagnosticada quando o cancro já está em estágio avançado, levando a um prognóstico negativo. Isso ocorre porque nas fases iniciais o cancro pode não apresentar sintomas evidentes e também devido à falta de técnicas de diagnóstico confiáveis⁽²⁾.

Além disso, o carcinoma de células escamosas (CCE) tem uma notável tendência à recorrência e disseminação distante, e aqueles que superam um primeiro CO têm um risco mais elevado de desenvolver um segundo. As taxas de recorrência do CCE podem variar entre 32,7% e 44,9%⁽¹⁰⁾.

No entanto, quando o CO é identificado e tratado nas fases iniciais, os resultados são muito melhores. Nestes casos, a taxa de sobrevivência aos 3 anos pode chegar a 78-92%. Assim, reconhecer e tratar o cancro precocemente pode levar à sua cura, aumentar as possibilidades de sobrevivência e melhorar a qualidade de vida, graças a tratamentos menos invasivos⁽¹⁶⁾.

Os principais fatores que aumentam o risco de CCE da boca são o tabagismo, o consumo de álcool, a infecção pelo papilomavírus humano (HPV)⁽⁷⁾ e o consumo de *betel quid*⁽¹¹⁾.

Este aumento não pode ser explicado apenas pelo uso de substâncias de risco, uma vez que o CO afeta também indivíduos sem antecedentes de consumo destas. Embora o vírus do HPV tenha sido associado ao cancro da orofaringe, a sua presença nos tumores da boca é rara (2-4% dos casos) e, portanto, não contribui significativamente para a incidência do CO⁽¹⁴⁾. Os patogénicos periodontais são um fator de risco independente em indivíduos que não possuem outros fatores de risco significativos para CCE⁽⁵⁾.

Parece, pois, que outros fatores podem influenciar o risco de desenvolver cancro. A má higiene oral, problemas dentários e a inflamação associada a infeções persistentes têm sido associados à formação do cancro. A inflamação na boca está relacionada a alterações no microbioma local e não apenas ocorre com distúrbios orais como cárie e doença periodontal, mas também com doenças em outras localizações do corpo, como doenças cardíacas, distúrbios gastrointestinais e infeções vaginais⁽⁷⁾.

As infecções de longo prazo estão cada vez mais a ganhar importância como um importante fator ambiental no processo de desenvolvimento do cancro⁽³⁾. Recentemente, muitas pesquisas têm mostrado um interesse crescente em entender a ligação entre infecções por microrganismos e o desenvolvimento do cancro. Esse interesse concentra-se no papel potencial dessas infecções em causar diretamente o cancro ou em contribuir para ele, por meio da inflamação⁽⁸⁾.

Hoje, o microbioma humano é reconhecido como uma espécie de segundo genoma no nosso corpo. Recentemente, foram identificadas mutações moleculares que podem contribuir para o desenvolvimento de tumores, destacando que a assinatura genética pode variar entre os diferentes tipos de câncros⁽¹⁷⁾. O nosso corpo é habitado por um vasto número de organismos microscópicos, mais de 100 triliões, que coexistem em harmonia. O termo "microbioma" refere-se à totalidade dos genomas e dos produtos genéticos de todos os microrganismos presentes dentro de um organismo. A maioria desses microrganismos está localizada no intestino. Variações na composição do microbioma e a presença de bactérias específicas estão ligadas a várias doenças humanas, incluindo o cancro. Portanto, a mistura de bactérias presente na nossa boca é essencial para manter um ambiente oral saudável, e alterações no microbioma oral têm sido associadas ao desenvolvimento do cancro⁽⁴⁾.

O microbioma tem sido associado à formação e à evolução de diferentes tipos de tumores, incluindo o carcinoma de células escamosas da cabeça e do pescoço (CCECP). Em particular, observou-se que as bactérias presentes na boca podem influenciar o desenvolvimento do CO. Estudos recentes têm ligado variações na composição do microbiota oral à progressão do CECO, sugerindo a possibilidade de usar bactérias específicas como indicadores diagnósticos para o CECO. A alteração do microbioma na saliva e a produção de citocinas podem influenciar o CECO através de processos inflamatórios. Até agora, a maioria das pesquisas tem-se concentrado na análise de amostras biológicas como fezes, saliva ou outras secreções, em vez de tecidos tumorais ou normais diretamente. A análise da composição microbiana retirada diretamente do tumor ou do tecido circundante permite examinar como o

microbioma interage com o organismo hospedeiro e compreender melhor o papel da microbiota na formação do cancro⁽¹⁷⁾.

A associação entre bactérias e o desenvolvimento do OSCC pode derivar da lesão ao DNA nas células da boca causado pela inflamação desencadeada pelas toxinas produzidas pelas próprias bactérias. Foi identificado que algumas espécies bacterianas específicas, como *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis*, estão fortemente ligadas ao CECO e às lesões pré-cancerosas na boca⁽²⁾.

No tecido tumoral foi observada uma maior presença de flora bacteriana e anaeróbica associada à periodontite. Além disso, os microrganismos presentes no tecido tumoral podem servir como potenciais indicadores para o desenvolvimento e disseminação do CECO. No CECO, o equilíbrio dinâmico entre a microflora oral e o hospedeiro é alterado, o que pode ser o mecanismo-chave pelo qual as bactérias orais simbióticas influenciam o surgimento ou prevenção do CO. Além disso, amostras de tecido tumoral mostram uma maior concentração de anaeróbios. Isso pode ser devido ao fato de que as células tumorais vivem em um ambiente com baixos níveis de oxigênio e pH mais ácido do que os tecidos saudáveis, circunstâncias que favorecem o crescimento de bactérias anaeróbicas⁽¹⁾.

Interessante também é a comparação entre os locais adjacentes ao tumor e os locais da boca dos controles não tumorais, que revelou uma atividade semelhante nos locais adjacentes ao tumor e nos locais tumorais. Isso sugere a presença de uma disbiose difusa na cavidade oral de pacientes com CECO. Análises adicionais mostraram que os locais da boca não tumorais de doentes com CECO têm uma proporção maior de fatores de virulência superexpressos em comparação com os controles bucais saudáveis. Isso sugere que o microbioma oral pode influenciar o desenvolvimento do cancro mesmo em locais não diretamente afetados pelo tumor⁽¹⁸⁾. Especialmente as espécies *Fusobacterium nucleatum* (F. Nucleatum) e *Porphyromonas* (Pg) parecem desempenhar um papel significativo no desenvolvimento da carcinogénese, essas bactérias podem tornar-se patogénicas oportunisticamente⁽¹²⁾.

Os resultados da análise de Chunrong Chang et al., destacaram que *F. nucleatum* e *P. gingivalis* apresentaram uma alta expressão relativa nos tecidos cancerígenos e uma baixa expressão relativa nos tecidos saudáveis. Foi observado que o nível relativo de *F. nucleatum*

e *P. gingivalis* nos tecidos tumorais estava significativamente correlacionado com aquele presente na placa subgengival.

Foram identificadas semelhanças na composição bacteriana entre as amostras dos três grupos. Essas bactérias foram frequentemente encontradas na placa de doentes com periodontite; assim, é provável que as bactérias associadas ao cancro e ao tecido paracanceroso derivem principalmente das bolsas periodontais do doente. A periodontite pode persistir no corpo humano por longos períodos, com a liberação contínua de marcadores bacterianos e inflamatórios em concentrações baixas na saliva e no sangue. No entanto, nos tecidos tumorais e paracancerosos, foi observada uma proporção mais elevada de bactérias não identificadas. Portanto, a composição bacteriana dentro e à volta do tumor parece ser mais complexa⁽¹⁹⁾.

FUSOBACTERIUM NUCLEATUM

Fusobacterium nucleatum são bactérias em forma de bastonete fino com extremidade pontiguadas, com morfologia a forma de agulha⁽²⁰⁾.

Susan Yost et al., examinaram o papel da *Fusobacterium nucleatum* no ambiente tumoral da cavidade oral. Eles observaram que essa bactéria é mais ativa nos locais tumorais em comparação com os locais não tumorais. Além disso, notaram uma alta presença de fatores de virulência produzidos pelo *F. nucleatum* nos locais tumorais, sugerindo um envolvimento significativo da bactéria na progressão do cancro oral⁽¹⁸⁾. De acordo com o que foi relatado por Anna I Mäkinen et al., os doentes com CEE da boca apresentavam uma composição inicial da microbiota oral com uma alta abundância de *Fusobacterium nucleatum*⁽¹⁵⁾.

Raghwendra Pratap Singh et al., conduziram uma investigação para identificar as variações gerais nas comunidades bacterianas presentes no microbioma tumoral em diferentes estádios de progressão da doença, com o objetivo de identificar biomarcadores específicos relacionados com o estágio do cancro oral.

Os resultados revelam que, apesar de o cancro nos estádios iniciais e avançados apresentar uma diversidade bacteriana global semelhante, há um aumento significativo na presença de *F. nucleatum* nos estádios iniciais da patologia⁽⁷⁾.

No estudo conduzido por Yangyang Wang et al., foi observada uma diferença no perfil do microbioma dentro dos tecidos tumorais em comparação com os tecidos saudáveis circundantes, com um aumento na abundância de *Fusobacteria*. Além disso, foram identificadas características específicas no microbioma dentro do tumor que diferem significativamente entre os tumores nos estádios I/II e aqueles nos estádios III/IV, bem como entre os tumores de grau 1, grau 2 e grau 3. Esses resultados sugerem que a composição do microbioma intratumoral pode estar relacionada com a progressão dos tumores das vias aerodigestivas superiores⁽¹⁷⁾.

Brian L. Schmidt et al., observaram um aumento na presença de *Fusobacterium nucleatum* em todos os pacientes, no entanto, essa mudança na abundância não foi estatisticamente significativa. Além disso, foi destacado o papel crucial inicial do *Fusobacterium nucleatum* em formar conexões com outros gêneros bacterianos, atuando como uma ponte entre as bactérias que colonizam precocemente e aquelas que o fazem em uma fase mais avançada no biofilme oral⁽¹⁴⁾.

Shih-Chi Su et al., identificaram características distintivas e funções específicas do microbiota oral relacionadas ao CO. Foi observado que os locais tumorais apresentam níveis mais elevados de *F. nucleatum* em comparação com os tecidos normais no lado oposto. Além disso, foi observado um aumento na diversidade microbiana (diversidade α) na superfície das lesões de CECO⁽²¹⁾.

Segundo Alejandro Herreros-Pomares et al., foi observada uma diferença significativa na composição do microbioma oral entre pacientes com CECO e aqueles com lesões pré-cancerígenas verrucopapilares associadas ao carcinoma escamoso oral (PCV-CECO), em comparação com os controles saudáveis. Nos pacientes com CECO e PCV-CECO, os *Fusobacteriota* constituem uma porcentagem maior (respectivamente 34% e 30%) das sequências detectadas em comparação com doadores saudáveis (24%) e pacientes com hiperplasia linfóide (HL) (25%) e PCV (19%). Essa discrepância pode indicar uma associação entre a presença de bactérias específicas e o desenvolvimento dessas condições patológicas.

Além disso, observou-se que a diversidade geral do microbioma oral é menor em doentes com CECO e PCV-CECO em comparação com os controles saudáveis, mas não em doentes com HL e PCV. Essa redução na diversidade microbiana foi previamente observada em outras formas de cancro de cabeça e pescoço. No entanto, não está

claro se essas alterações são a causa ou a consequência da doença. Além disso, *Fusobacterium nucleatum* é particularmente abundante nos microbiomas associados ao CECO e pode servir como um possível indicador do microbioma associado ao CECO. Por fim, a perda de diversidade foi observada em tumores orais, mas não em lesões pré-cancerígenas, sugerindo que essa redução pode ser uma consequência da doença⁽⁶⁾. Na investigação liderada por Cindy Neuzill et al., foi identificado um grupo específico de doentes com CECO, predominantemente idosos e não consumidores de álcool, que apresentavam uma alta prevalência de *Fusobacterium nucleatum*. Esse grupo demonstrou ter menor propensão à invasão ganglionar, menor probabilidade de recorrência à distância e melhores resultados em termos de sobrevivência geral, sobrevivência livre de recorrências e sobrevivência livre de metástases. A correlação positiva entre *Fusobacterium nucleatum* e sobrevivência foi notável, uma vez que esse microrganismo geralmente está associado a prognósticos desfavoráveis em tumores.

Chunrong Chang et al., destacam que os inoculados de *F. nucleatum* podem impulsionar o aumento na quantidade de bactérias invasivas de *P. Gingivalis*⁽⁴⁾.

PORPHYROMONAS GINGIVALIS

Porphyromonas gingivalis são bacilo⁽²⁰⁾ anaeróbicos Gram negativo que têm sido alvo de vários estudos devido à sua possível correlação com um aumento do risco do CECO⁽⁹⁾. Segundo Qingli Chen et al., a presença de *Porphyromonas gingivalis* nos tecidos tumorais pode estar associada a uma melhoria na sobrevivência global em doentes com CECO. Além disso, foi observada uma maior presença dessa bactéria na saliva de doentes com CECO em comparação com indivíduos não afetados. Além disso, aqueles com uma maior abundância de *P. gingivalis* na saliva pareciam apresentar um estágio mais avançado da doença, mas ao mesmo tempo exibiam um melhor prognóstico, com um período de remissão mais prolongado e uma taxa de recorrência mais baixa. No entanto, não foram encontradas diferenças significativas entre os dois grupos em termos de idade, sexo, presença de outras doenças sistêmicas, tabagismo, consumo de álcool ou localização do tumor⁽⁹⁾.

Em um estudo realizado por L. Wen et al., foi observada uma abundância

relativa de *Porphyromonas gingivalis* no carcinoma da gengival 33% maior do que nos tecidos normais, sugerindo uma associação entre *Porphyromonas gingivalis* e CECO. Como resultado, a presença de *Porphyromonas gingivalis* foi associada à mortalidade dos doentes. Neste estudo, Wen et al., demonstraram que os ratos com *Porphyromonas gingivalis* apresentaram um aumento significativo no número e no diâmetro das lesões gengivais em comparação com o grupo controle. Também foi observada uma perda de peso significativa nos ratos tratados com *Porphyromonas gingivalis*. Ao contrário do estudo mencionado anteriormente, neste estudo a *Porphyromonas gingivalis* foi associada a uma sobrevivência global mais curta⁽²²⁾. Chunrong Chang et al., examinaram a relação entre bactérias associadas à periodontite e CECO. O principal microrganismo identificado foi a *Porphyromonas gingivalis*, presente em 60,7% dos casos de CECO, 32,8% dos tecidos paracancerosos e 13,3% dos tecidos normais. As concentrações de *P. gingivalis* foram mais elevadas no CCE. Nas amostras de tecido tumoral, as bactérias demonstraram invasão do epitélio, envolvendo tanto a superfície quanto a profundidade, com uma minoria alcançando também a região muscular profunda⁽¹⁹⁾.

Pelo contrário no estudo conduzido por Anna I Mäkinen et al., não foi observada uma diferença significativa na presença de *P. gingivalis* entre os doentes com CECO e os controles saudáveis. A análise da presença de *P. gingivalis* e dos parâmetros clinicopatológicos do CECO não mostrou diferenças significativas relacionadas com o sexo e idade dos doentes⁽¹⁵⁾.

IMUNIDADE TUMORAL

Segundo Raghwendra Pratap Singh et al., a presença de uma variedade de micróbios no ambiente neoplásico pode influenciar a resposta imunológica ao carcinoma. Este fenómeno foi evidenciado pela observação de vários tipos de linfócitos infiltrando o tumor, demonstrando interações específicas com determinadas populações microbianas. Tal fato, sugere que a combinação de micróbios nos tumores pode modular a composição e a atividade dos linfócitos. Além disso, observou-se que os microrganismos predominantes dentro do tumor não estão associados, e por vezes até mesmo contrariam, a presença de linfócitos ativados. Isso sugere que o microambiente neoplásico favoreça a proliferação de microrganismos capazes de suprimir a resposta imunológica, em vez de apoiá-la. Importa

destacar que os microrganismos intratumorais estão correlacionados positivamente com os linfócitos naïve, mas em grande parte negativamente com os linfócitos T de memória efetores com atividade antitumoral.

Foi identificado um perfil microbiano distinto nas várias fases do CO e demonstrou-se que o microbioma tumoral influencia a imunidade intratumoral, promovendo microrganismos capazes de suprimir a resposta imunológica⁽⁷⁾.

A análise realizada nas amostras clínicas por Shiyu Liu et al., revelou uma maior prevalência de bactérias do género *Porphyromonas*, como *P. gingivalis*, dentro do tecido tumoral. Isso indicia que tais microrganismos podem infiltrar-se no tumor, favorecendo assim o seu crescimento. Além disso, é conhecido que o cancro tende a evadir a resposta imune, e a presença dessas bactérias pode contribuir para esse mecanismo, permitindo que o tumor escape da destruição pelo sistema imunológico. Resumindo, a presença de bactérias como *P. gingivalis* no tumor pode favorecer a sua proliferação e reduzir a sua eliminação pelo sistema imunológico⁽¹⁰⁾.

Conforme ao estudo realizado por Raghwendra Pratap Singh et al., foi observada uma associação positiva entre *F. nucleatum* e *P. gingivalis* e a expressão genética de citocinas, indicando um possível efeito na resposta imunitária intratumoral⁽⁷⁾.

Efetivamente, as citocinas IL-6 e IL-8 foram identificadas como as principais citocinas envolvidas na infecção por *P. gingivalis*. De fato, por meio do aumento da secreção dessas citocinas, a *P. gingivalis* promove a progressão do tumor atraindo células mielóides e supressores derivados de mielóides, a partir de queratinócitos orais displásicos infectados⁽²²⁾.

Assim, a produção excessiva dessas citocinas pró-tumorais pode representar o potencial mecanismo molecular pelo qual a *P. gingivalis* favorece o desenvolvimento do CECO. O papel específico dessas citocinas na patogénese do CECO por *P. gingivalis* requer estudos adicionais para confirmação⁽¹⁰⁾.

Segundo Xinxuan Zhou et al., a *P. gingivalis* favorece a evasão imunológica do CO protegendo-o do ataque dos macrófagos. A *P. gingivalis* pode exercer um efeito inibitório sobre a capacidade dos macrófagos de fagocitar as células Cal-27. Uma experiência empregando *F. nucleatum* não demonstrou o mesmo efeito inibitório na fagocitose pelos macrófagos, indicando um papel específico de *P. gingivalis* nesse processo. De acordo com os resultados obtidos neste estudo, *P. gingivalis* promove o

crescimento do tumor *in vivo*, enquanto os anticorpos anti-CD47 são capazes de inibir esse crescimento⁽¹²⁾.

Shiyu Liu et al., afirmam que os macrófagos podem ser divididos em duas categorias predominantes: M1, que desencadeiam respostas imunológicas antitumorais, e M2, que facilitam o crescimento neoplásico. Utilizando a técnica de citometria de fluxo, foram identificados os macrófagos M1 (MHC II+ CD206-) e os macrófagos M2 (MHC II- CD206+). A relação entre os macrófagos M2 e M1 foi determinada e comparada entre o grupo submetido ao tratamento com *P. gingivalis* e o grupo controle. Os resultados revelam uma relação M2/M1 maior no grupo exposto a *P. gingivalis* em ambos os períodos de avaliação (dia 7 e dia 14), sugerindo que a *P. gingivalis* possa facilitar a polarização dos macrófagos M2 no OSCC. Particularmente, os macrófagos atuam como mediadores fundamentais no desenvolvimento do cancro, uma vez que a inibição da atividade dos macrófagos associados ao tumor, é essencial para o crescimento e disseminação de tumores sólidos.

Entre as duas categorias de macrófagos, M1 e M2, os macrófagos M1 destacam-se pela expressão elevada de MHC II, pela secreção de TNF- α e pelo envolvimento na produção de espécies reativas de oxigénio e óxido nítrico. Os dois compostos permitem o reconhecimento dos macrófagos M1 e eliminem eficazmente as células tumorais. Por outro lado, os macrófagos M2 exibem características que favorecem o tumor, promovendo a angiogénese, a remodelação dos tecidos e a supressão da imunidade adaptativa. Foi ainda avaliada, a relação M2/M1 em tumores infectados por *P. gingivalis*, destacando o efeito promotor de *P. gingivalis* na polarização dos macrófagos TAM para o fenótipo M2, o que pode representar mais um fator, para a promoção do crescimento tumoral após a infecção por *P. Gingivalis*⁽¹⁰⁾.

Contrariamente, na pesquisa de Yangyang Wang et al., observou que altos níveis de *F. nucleatum* estavam associados a uma menor presença de macrófagos TLR4 e M2. Os receptores TLR representam uma família de moléculas envolvidas no reconhecimento de microrganismos, induzindo assim a ativação das respostas imunes inatas, tanto inflamatórias quanto antimicrobianas. O TLR4 é um receptor expresso na superfície de macrófagos e células tumorais e participa nos efeitos pró-inflamatórios e

imunossupressores de *F. nucleatum*. De forma geral, esses resultados sugerem que no CECCO o *F. nucleatum* pode estar associado a um microambiente tumoral "tolerante", pouco sensível aos sinais pró- inflamatórios, apresentando níveis reduzidos de ativação de TLR4 e uma menor presença de macrófagos M2, com resultados clínicos positivos. As anormalidades na função dos TLR têm sido associadas ao envelhecimento, o que pode em parte explicar a maior frequência de doentes idosos no grupo com altos níveis de *F. Nucleatum*⁽¹⁷⁾.

No estudo realizado por Adi Binder Gallimidi et al., a análise morfométrica e imuno-histoquímica revelou um aumento significativo na gravidade dos tumores da língua após infecção crônica por *P. gingivalis*/*F. nucleatum*. Os tumores encontrados em ratos infectados, em comparação com os não infectados, tinham tamanho 2,5 vezes maior e eram significativamente mais invasivos. Além disso, foi observado um aumento na expressão da ciclina D1, um oncogene crucial na origem tumoral experimental e humana da cavidade oral, tanto no epitélio canceroso quanto no saudável da língua.

A infecção por *P. gingivalis*/*F. nucleatum* estimulou significativamente a ativação de STAT3 no epitélio da língua, confirmando o papel do STAT3 na formação de tumores orais. Essa ativação de STAT3 foi mediada pela citocina IL-6, com relevo para a infiltração de macrófagos que produzem IL-6.

A exposição das células epiteliais orais a *P. gingivalis*/*F. nucleatum* desencadeia a sinalização via TLR, resultando na produção de IL-6 que ativa STAT3, o qual, por sua vez, induz mediadores importantes que promovem o crescimento e a invasão das CCE da cavidade oral, como ciclina D1 e MMP9⁽³⁾.

De acordo com os estudos de migração realizados por Jungnam Lee et al., os primeiros eventos moleculares observados incluem um aumento na fosforilação de GSK3 β , resultando em uma redução da E-caderina e uma alteração na localização da β -catenina dentro das células epiteliais orais humanas primárias, juntamente com um aumento na expressão de Vimentina e das MMP de matriz 2, 7 e 9. Essas MMPs são reguladas a nível transcricional pela própria β -catenina. Essas mudanças moleculares favorecem um fenótipo migratório e mesenquimal otimizado nas células epiteliais orais humanas primárias. Na maior parte dos casos, esses resultados sugerem que *P. gingivalis* pode desencadear eventos iniciais de transição

epitelial-mesenquimal nas células epiteliais, facilitando assim a progressão e a invasão tumoral. Além disso, é suposto que a *P. gingivalis* possa promover a expressão de várias MMPs (MMP-1, 2, 7, 9, 10, 13) na matriz extracelular das células epiteliais gengivais e do CECO, contribuindo assim para a invasão e metástase das células tumorais⁽⁸⁾.

As investigações realizadas por L. Wen et al., também destacaram níveis mais elevados de anticorpos IgG direcionados contra *P. gingivalis* em doentes com CECO em comparação com indivíduos não afetados, sugerindo uma associação entre a infecção por *P. gingivalis* e o desenvolvimento do tumor. Presume-se que as fímbrias de *P. gingivalis* sejam um dos principais determinantes de virulência, facilitando a adesão e invasão dos tecidos. Embora a distribuição dos genótipos de *P. gingivalis* no CECO não esteja completamente compreendida, foi observado que os genótipos I, Ib, II e IV são os mais frequentemente identificados⁽²²⁾.

6. Conclusão

O presente estudo analisa como uma disbiose bacteriana leva a uma inflamação constante da cavidade oral, que, em alguns indivíduos, pode transformar-se em uma neoplasia patológica. Das evidências acima mencionadas, fica claro que a associação entre o microbioma oral e o carcinoma oral desempenha um papel importante no desenvolvimento, na progressão e no prognóstico dessa forma de cancro. Com efeito, vários estudos demonstram uma correlação entre a presença de formas bacterianas específicas, como *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis*, e o início da patologia.

Em particular, destacaram-se o *Fusobacterium nucleatum* e a *Porphyromonas gingivalis* como os principais microrganismos envolvidos em múltiplos processos patológicos relacionados com o carcinoma oral, incluindo a modulação da resposta imunológica, a promoção do crescimento tumoral e o favorecimento da progressão da doença. Essas bactérias podem influenciar diretamente o microambiente neoplásico e a resposta imunológica intratumoral, promovendo um ambiente favorável à proliferação tumoral e à sua evasão do sistema imunológico. De fato a superexpressão de *F. nucleatum* e *P. gingivalis*, parecem iniciar todos os processos que resultam na formação das células neoplásicas.

No entanto, apenas recentemente a microbiota oral assumiu um significado relevante, e mais estudos detalhados são necessários para entender melhor o seu papel no desenvolvimento das patologias humanas. De qualquer forma, a pesquisa no campo do microbioma oral e do carcinoma oral oferece perspectivas interessantes para o desenvolvimento de novas abordagens diagnósticas e terapêuticas direcionadas, que podem melhorar significativamente o controle clínico da doença, com o objetivo de melhorar as perspectivas de sobrevivência e a qualidade de vida dos doentes afetados por essas patologias.

7. Referências Bibliográficas

1. Nie F, Wang L, Huang Y, Yang P, Gong P, Feng Q, et al. Characteristics of Microbial Distribution in Different Oral Niches of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:905653.
2. Lee WH, Chen HM, Yang SF, Liang C, Peng CY, Lin FM, et al. Bacterial alterations in salivary microbiota and their association in oral cancer. *Sci Rep.* 2017 Nov 28;7(1):16540.
3. Binder Gallimidi A, Fischman S, Revach B, Bulvik R, Maliutina A, Rubinstein AM, et al. Periodontal pathogens *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* promote tumor progression in an oral-specific chemical carcinogenesis model. *Oncotarget.* 2015 Sep 8;6(26):22613–23.
4. Neuzillet C, Marchais M, Vacher S, Hilmi M, Schnitzler A, Meseure D, et al. Prognostic value of intratumoral *Fusobacterium nucleatum* and association with immune-related gene expression in oral squamous cell carcinoma patients. *Sci Rep.* 2021 Apr 12;11(1):7870.
5. Ganly I, Yang L, Giese RA, Hao Y, Nossa CW, Morris LGT, et al. Periodontal pathogens are a risk factor of oral cavity squamous cell carcinoma, independent of tobacco and alcohol and human papillomavirus. *Int J Cancer.* 2019 Aug 1;145(3):775–84.
6. Herreros-Pomares A, Hervás D, Bagan-Debón L, Jantus-Lewintre E, Gimeno-Cardona C, Bagan J. On the Oral Microbiome of Oral Potentially Malignant and Malignant Disorders: Dysbiosis, Loss of Diversity, and Pathogens Enrichment. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 9;24(4).
7. Pratap Singh R, Kumari N, Gupta S, Jaiswal R, Mehrotra D, Singh S, et al. Intratumoral Microbiota Changes with Tumor Stage and Influences the Immune Signature of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Microbiol Spectr.* 2023 Aug 17;11(4):e0459622.
8. Lee J, Roberts JS, Atanasova KR, Chowdhury N, Han K, Yilmaz Ö. Human Primary Epithelial Cells Acquire an Epithelial-Mesenchymal-Transition Phenotype during Long-Term Infection by the Oral Opportunistic Pathogen, *Porphyromonas gingivalis*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7:493.

9. Chen Q, Shao Z, Liu K, Zhou X, Wang L, Jiang E, et al. Salivary Porphyromonas gingivalis predicts outcome in oral squamous cell carcinomas: a cohort study. BMC Oral Health. 2021 May 3;21(1):228.
10. Liu S, Zhou X, Peng X, Li M, Ren B, Cheng G, et al. Porphyromonas gingivalis Promotes Immuno-evasion of Oral Cancer by Protecting Cancer from Macrophage Attack. J Immunol. 2020 Jul 1;205(1):282–9.
11. Mok SF, Karuthan C, Cheah YK, Ngeow WC, Rosnah Z, Yap SF, et al. The oral microbiome community variations associated with normal, potentially malignant disorders and malignant lesions of the oral cavity. Malays J Pathol. 2017 Apr;39(1):1–15.
12. Zhou X, Hao Y, Peng X, Li B, Han Q, Ren B, et al. The Clinical Potential of Oral Microbiota as a Screening Tool for Oral Squamous Cell Carcinomas. Front Cell Infect Microbiol. 2021;11:728933.
13. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2024 May 4;74(3):229–63.
14. Schmidt BL, Kuczynski J, Bhattacharya A, Huey B, Corby PM, Queiroz ELS, et al. Changes in abundance of oral microbiota associated with oral cancer. PLoS One. 2014;9(6):e98741.
15. Mäkinen AI, Pappalardo VY, Buijs MJ, Brandt BW, Mäkitie AA, Meurman JH, et al. Salivary microbiome profiles of oral cancer patients analyzed before and after treatment. Microbiome. 2023 Aug 5;11(1):171.
16. He S, Chakraborty R, Ranganathan S. Metaproteomic Analysis of an Oral Squamous Cell Carcinoma Dataset Suggests Diagnostic Potential of the Mycobiome. Int J Mol Sci. 2023 Jan 5;24(2).
17. Wang Y, Wang Y, Wang J. A comprehensive analysis of intratumor microbiome in head and neck squamous cell carcinoma. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2022 Aug;279(8):4127–36.
18. Yost S, Stashenko P, Choi Y, Kukuruzinska M, Genco CA, Salama A, et al. Increased virulence of the oral microbiome in oral squamous cell carcinoma revealed by metatranscriptome analyses. Int J Oral Sci. 2018 Nov 12;10(4):32.

19. Chang C, Geng F, Shi X, Li Y, Zhang X, Zhao X, et al. The prevalence rate of periodontal pathogens and its association with oral squamous cell carcinoma. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2019 Feb;103(3):1393–404.
20. Geo. F. Brooks, Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse. *Microbiologia médica*. 26th ed. 2014. 296–297 p.
21. Su SC, Chang LC, Huang HD, Peng CY, Chuang CY, Chen YT, et al. Oral microbial dysbiosis and its performance in predicting oral cancer. *Carcinogenesis*. 2021 Feb 11;42(1):127–35.
22. Wen L, Mu W, Lu H, Wang X, Fang J, Jia Y, et al. Porphyromonas gingivalis Promotes Oral Squamous Cell Carcinoma Progression in an Immune Microenvironment. *J Dent Res*. 2020 Jun;99(6):666–75.

