

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:  
FISIOLOGIA

Marjoe Buratto da Silveira

**ANÁLISE DA INTER-RELAÇÃO ENTRE A MICROBIOTA ORAL E O  
DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE BOCA**

Porto Alegre

2021

Marjoe Buratto da Silveira

**ANÁLISE DA INTER-RELAÇÃO ENTRE A MICROBIOTA ORAL E O  
DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE BOCA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre(a) em Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Lazzaron Lamers

Porto Alegre

2021

Marjoe Buratto da Silveira

**ANÁLISE DA INTER-RELAÇÃO ENTRE A MICROBIOTA ORAL E O  
DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE BOCA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia,  
do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul,  
como requisito parcial para a obtenção do título de mestre(a) em Fisiologia

Aprovado em: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Nome do professor – instituição

---

Nome do professor – instituição

---

Prof. Dr. Marcelo Lazzaron Lamers – UFRGS (orientador)

Dedico este trabalho a todas as pessoas que, de alguma forma, confiaram na minha capacidade (apesar de eu mesma nunca ter acreditado nela), ajudando-me a vencer este imensurável desafio em um dos piores momentos de minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Antes dos agradecimentos, uma história.

Na minha infância, era, indubitavelmente, uma das melhores alunas de minha escola, fato que perdurou por todo o meu ensino fundamental e médio. Sonhava em ser médica. Neurologista. Mas, ao mesmo tempo, meu coração estava dividido: eu tinha outro amor, o ballet clássico. Com 15 anos, numa tarde que nunca vou me esquecer, refleti o que uma “vida de médica” repercutiria na minha arte. A conclusão foi rápida: não haveria mais arte. Então, percebi que toleraria bem não realizar meu sonho de “vestir o jaleco branco”. Mas, jamais conseguiria viver sem dançar. Neste dia, selei meu destino.

Com 16 anos, abandonei o colégio, contra todos os conselhos de meus professores. Inclusive meus professores de ballet, que diziam que jamais conseguiria ser bailarina profissional. Doze anos se passaram no exterior, morei em três países, visitei, fiz aulas, cursos, em mais de 10 países. Dancei sempre como uma das bailarinas principais nas três companhias de ballet clássico estatais em que fui empregada. Tornei-me, concomitantemente à minha carreira performática, professora de ballet. Eventualmente, num período de férias, terminei o segundo grau. Mas, não era isso o que me importava. O artista é movido por emoção. Meu corpo era meu instrumento de trabalho. De comunicação. De estudo. De investimento.

Com 28 anos voltei ao Brasil e segui como profissional e professora de ballet (conforme as condições precárias que os artistas precisam conviver nesta cidade). Eventualmente (mas, sem muito entusiasmo), acabei entrando na graduação em Licenciatura em Dança da UFRGS.

Porém, as coisas mudaram drasticamente. Com 30 anos tive uma lesão séria na coluna e fui obrigada a me aposentar na melhor fase física e artística que já estive. Tive que recomeçar uma vida sem a dança. Com 30 anos. Muitos questionamentos inundaram minha mente: quem eu era? Quem era a Marjoe, não a bailarina? O que eu era capaz de fazer, além de dançar? O que seria de minha vida? Haveria vida a partir de agora?

Uma colega de ballet da cidade, de muitos anos, me propôs um desafio: unir meus conhecimentos em dança com a ciência. Não pensei duas vezes. Meu sonho de infância (o jaleco branco) estaria mais próximo. Fui apresentada para um professor conhecido dela que aceitou o desafio de orientar uma pessoa que não sabia absolutamente nada. Com 33 anos, fiz o impensável: recomecei do zero. Absolutamente do zero.

Juntamente a esta fase desafiadora, entrei num processo depressivo severo que durou longos três anos. Suspeito que só consegui viver o “luto” da morte da bailarina quase três anos depois, quando minha vida passava por um turbilhão de coisas novas, e começava a me sentir

deslocada. A expressão “estranho no ninho” ilustrava com muita acuidade aquele momento de minha vida. E, talvez, infelizmente, de forma pessoal, ainda me represente no presente.

Após graduar-me em dança, passei meio ano como “aprendiz” no LAMOC (Laboratório de Migração Celular), coordenado por meu orientador. Neste tempo, meio ano após minha formatura, estava prestando seleção para o mestrado em Fisiologia. Dois anos se passaram desde minha entrada no programa. Os anos mais difíceis destes 36 anos. Os anos em que mais duvidei de minha capacidade. Os anos em que mais me senti “humilhada pela minha ignorância”. Os anos em que minha saúde mental acompanhou meu sentimento de fracasso. Mas, sinto-me orgulhosa por não ter desistido, pois foram incontáveis vezes que, por pouco, não terminei com tudo.

Os agradecimentos são poucos, mas eu sempre fui adepta à qualidade e não à quantidade. Primeiramente, à minha amiga Adriana Jou, que “plantou a semente” e me deu coragem para seguir este “sonho maluco” depois dos 33 anos. Ao meu orientador, o professor Marcelo, por ter tido a coragem de me aceitar como orientanda, por toda a compreensão e paciência que dispendeu durante estes anos, e, principalmente, por nunca haver duvidado de minhas capacidades (muitas vezes quando eu já havia perdido as esperanças), estado sempre presente e com palavras de incentivo, ensinando-me não só a ser pesquisadora, mas também a ser forte e nunca deixar que críticas derrubassem minha vontade de seguir. Agradeço profundamente ao meu colega de laboratório, o doutorando Leonardo Diel, que tantas vezes escutou meus áudios gigantescos e chorosos, permeados de desespero e confusão, e pacientemente conduziu-me e recordou-me que eu estava no lugar certo. Que inúmeras vezes me ajudou com conhecimento, sendo mais um de meus tutores nesta jornada, e que, apesar das dificuldades, sempre frisou que a pesquisa também era um de meus talentos, além da dança. Agradeço também à Lisiane Bernardi, por todas as vezes que também escutou minhas lamúrias e não me deixou retroceder.

Agradeço muito pelo meu tempo no PPG de Fisiologia. Apesar de que, mesmo futuramente sendo titulada “mestre”, não acredite que vá confiar ou acreditar na minha competência. Agradeço à minha “segunda mãe”, a professora Renata Rosat, professora vinculada ao PPG de Fisiologia e organizadora da Semana do Cérebro, por ter me incentivado a seguir meu sonho, pelas inúmeras horas, finais de semana, em que passamos juntas em cima dos livros, tanto para conseguir ingressar no programa quanto para enfrentar as disciplinas de Fisiologia. Por ser ela quem teve a difícil tarefa de ser a primeira pessoa que me colocou em contato com a Fisiologia, sem mencionar todo o apoio pessoal, emocional (muitas vezes mútuo) que fez com que ambas seguissem. Agradeço aos meus colegas da Fisiologia, principalmente

meu grande amigo Gabriel, por nunca permitir sentir-me inferior, por sempre me lembrar de minhas qualidades, por sempre estar presente nos momentos felizes e difíceis, pelas horas de ensino, ajuda, risadas e “divagações sobre a vida”. Por me ajudar a “navegar” neste universo ainda tão estranho chamado “Academia”. Agradeço ao meu querido colega de PPG e laboratório Sérgio, por todo o carinho recebido e pelos momentos felizes e memoráveis que tivemos durante as aulas.

Agradeço à minha mãe e à minha avó, pela ajuda financeira. Não poderia estar aqui hoje se não fosse pela benevolência de praticamente “manter financeiramente” uma mulher de quase 40 anos, sozinha, que ainda não conquistou nada tangível na vida. E não posso esquecer dos meus terapeutas, a Dra. Lisana e o Dr. Manuel, por me mostrarem a “luz no fim do túnel”. Ainda não consigo enxergá-la plenamente, mas sei que ela deve estar lá.

Agradeço à minha grande, eterna e melhor amiga, Renata Sperrhake. Há mais de 25 anos estamos juntas nesta jornada chamada vida, por ter tido tempo, junto com suas obrigações de docente da UFRGS, para revisar com carinho a escrita desta dissertação.

O futuro? Espero terminar esta etapa e, além de adquirir um título de mestre, adquirir mais amor-próprio, segurança e confiança nas minhas capacidades. Talvez, para conseguir dar continuidade a esta caminhada, que é muito difícil, e não desapontar a Marjoe de 15 anos, que abriu mão “do jaleco” para “as sapatilhas de ponta”, agora seja a hora de dar para ela “o jaleco”, definitivamente.

E, por último, mas não menos importante, agradeço ao CNPq por fomentar meu trabalho, permitindo-me dedicação integral à minha pesquisa.

**Se cada dia cai**

*Se cada dia cai, dentro de cada noite,  
há um poço  
onde a claridade está presa.  
há que sentar-se na beira  
do poço da sombra  
e pescar luz caída  
com paciência.*

Pablo Neruda



## RESUMO

A sexta neoplasia maligna mais comum em todo o mundo é o câncer oral, que se desenvolve em um ambiente com uma microbiota intrínseca, diversa e complexa. Nesse ínterim, o objetivo principal deste trabalho foi desenvolver uma revisão sistemática para investigar a possível relação entre a microbiota oral e a carcinogênese oral. As buscas foram realizadas em três plataformas eletrônicas de dados (*Pubmed*, *SCOPUS* e *Web of Science*) em setembro de 2020, seguidas de critérios de inclusão/exclusão, resultando na seleção de 28 estudos. Devido à diversidade metodológica destes estudos, não foi possível chegar a um consenso sobre qual bactéria seria ideal como biomarcador do câncer oral, apesar de extensas pesquisas na literatura envolvendo os patógenos *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*. A estratégia de análise da presente pesquisa foi agrupar os resultados microbiológicos relacionados ao tumor nos seis filos de bactérias mais comuns da cavidade oral, comparando, então, as diferenças da constituição nativa de uma cavidade oral saudável; novamente, devido à diversidade metodológica entre os estudos, não foi possível realizar uma meta-análise. Apesar da necessidade de mais estudos padronizados correlacionando os resultados da microbiota com os hábitos pessoais, foi encontrada uma diferença significativa na microbiota de pacientes com câncer bucal. Dessa forma, definir bactérias orais como fator de risco independente para câncer bucal ainda não é confiável, principalmente devido à divergência dos resultados dos estudos. Nos próximos anos, mais estudos com abordagens metodológicas semelhantes serão necessários para identificar os mecanismos que diferenciam o papel das bactérias bucais de outros fatores de risco.

**Palavras-chave:** Carcinoma de células escamosas oral. CEC. OSCC. Câncer oral. Microbioma. Microbiota. Bactérias.

## ABSTRACT

The sixth most common malignancy worldwide is oral cancer and it develops in an environment with an intrinsic, diverse and complex microbiota. The main objective of this work was to develop a systematic review to investigate the possible relationship between the oral microbiota and oral carcinogenesis. The searches were performed on three electronic data platforms (Pubmed, SCOPUS and Web of Science) in September 2020, followed by inclusion / exclusion criteria, resulting in the selection of 28 studies. Due to their methodological diversity, it was not possible to reach a consensus on which bacteria would be the best candidate for oral cancer biomarker, despite extensive research in the literature involving the pathogens *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. Our analysis strategy was to group the microbiological results related to the tumor into the six most common strains of bacteria in the oral cavity, then comparing the differences in the native constitution of a healthy oral cavity. Again, due to the methodological diversity between the studies, it was not possible to perform a meta-analysis. Despite the need for more standardized studies correlating the results of the microbiota with personal habits, a significant difference was found in the microbiota of patients with oral cancer. In our opinion, defining oral bacteria as an independent risk factor for oral cancer is still not reliable, mainly due to the divergence of the results of the studies. In the coming years, more studies with similar methodological approaches will be needed to identify the mechanisms that differentiate the role of oral bacteria from other risk factors.

**Keywords:** Oral squamous cell carcinoma. OSCC. Oral cancer. Microbioma. Microbiota. Bacteria.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Hallmarks do câncer (I).....	15
<b>Figura 2</b> – Transição EMT/MET (I).....	16
<b>Figura 3</b> – Microambiente tumoral (I).....	17
<b>Figura 4</b> – Possíveis mecanismos relacionados ao processo de carcinogênese promovido por bactérias (I).....	23
<b>Figura 5</b> – Bactéria gram-positiva (I).....	24
<b>Figura 6</b> – Bactéria gram-negativa (I).....	25
<b>Figura 7</b> – Vias moleculares relacionadas ao processo de carcinogênese pelo patógeno <i>P. gingivalis</i> (I).....	26
<b>Figura 8</b> – Vias moleculares relacionadas ao processo de carcinogênese pelo patógeno <i>F.nucleatum</i> (I).....	28
<b>Figura 9</b> – Listagem do resultado microbiológico pertinente a todos os 28 artigos analisados .....	32

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
1.1 CÂNCER.....	13
1.2 MICROBIOTA E MICROBIOMA .....	17
1.3 INTERAÇÃO MICROBIOTA-HOSPEDEIRO E PROCESSOS PATOLÓGICOS .....	19
1.4 MICROBIOTA E CÂNCER .....	19
1.5 MICROBIOTA/MICROBIOMA ORAL .....	21
1.6 MICROBIOTA ORAL E CARCINOGENESE .....	22
1.7 MICROBIOTA ORAL E CÂNCER ORAL .....	23
<b>2 HIPÓTESE</b> .....	29
<b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....	30
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	30
4.1 OBJETIVO GERAL.....	31
4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	31
<b>5 RESULTADOS</b> .....	32
5.1 ARTIGO .....	33
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	65
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	67

## 1 INTRODUÇÃO

A ciência vem, consistentemente, buscando desvendar a origem de determinadas patologias, encontrando alternativas mais eficazes no combate e, até mesmo, na prevenção destas. Com o aumento da população mundial, principalmente em relação a indivíduos idosos, a saúde enfrenta dilemas cada vez mais emergentes na busca de tratamentos que sejam eficazes para melhorar a qualidade de vida da população idosa. Outra preocupação é evitar que futuras gerações adoeçam precocemente, conseqüentemente aumentando sua longevidade de uma maneira mais saudável e, de certa forma, economicamente mais acessível para regiões em que os serviços de saúde ainda são privilégios para poucas pessoas.

Neste processo, novas teorias vêm surgindo no campo científico e, posteriormente, quando validadas, são aplicadas no âmbito médico. Nisso, inclui-se o estudo da microbiota/microbioma humano, que vem ganhando notoriedade nos últimos anos e sendo cada vez mais aprimorado com novas técnicas de análise, devido a resultados cada vez mais promissores, ao ponto de os pesquisadores especularem que a modulação da microbiota/microbioma possa estar diretamente vinculada a estados fisiológicos e patológicos.

Atualmente, ainda falta conhecimento e tecnologia para elucidar e comprovar, de forma totalmente segura, como ocorre esta possível relação, e como devem ser estabelecidos tratamentos que visem sanar ou prevenir os estados patológicos através desta informação. Talvez, num futuro, a patologia em questão não será o foco do estudo, mas sim fatores prévios que possam estar relacionados à perda da homeostase fisiológica nesta relação entre o hospedeiro e a microbiota. Fatores estes que, por si só, podem ser os principais causadores de patologias, como também, posteriormente ao diagnóstico, podem estar envolvidos com o restabelecimento da saúde do indivíduo.

### 1.1 CÂNCER

O câncer é considerado uma patologia de difícil tratamento, sendo frequentemente associada a prognósticos ruins (JEMAL, 2010), tornando-se, assim, “uma das maiores causas de mortalidade mundial, principalmente em países em desenvolvimento” (KANAVOS, 2006). Todo ano, estima-se que por volta de 11 milhões de pessoas sejam diagnosticadas, e possivelmente este número possa ter chegado a uma média de 16 milhões no ano de 2020

(MBEUNKUI, 2009). Referente ao Brasil, a estimativa para cada ano do triênio 2020-2022 informa que ocorrerão 450 mil novos casos (INCA, 2020)<sup>1</sup>.

Anualmente, o câncer oral vem apresentando uma média de 363.000 novos casos e quase 200.000 mortes (JEMAL, 2010), sendo o 6º tipo de câncer mais comum (SUGERMAN; JOSEPH; SAVAGE, 1995). O Carcinoma Espinocelular Oral ou, em inglês, *Oral Squamous Cell Carcinoma* (CEC/OSCC), corresponde a 90% dos cânceres orais (BARNES, 2005) e a baixa sobrevida (cinco anos) está principalmente relacionada a um diagnóstico tardio (ALBUQUERQUE, 2016). Vários fatores químicos (fumo e álcool, por exemplo) (KUMAR, 2016), físicos (luz UV) e biológicos (vírus do papiloma humano/HPV) (CHEN, 2009) estão associados a uma maior probabilidade de incidência de CEC/OSCC (JEMAL, 2010; SUGERMAN; JOSEPH; SAVAGE, 1995; BARNES, 2005; ALBUQUERQUE, 2016; KUMAR, 2016; CHEN, 2009).

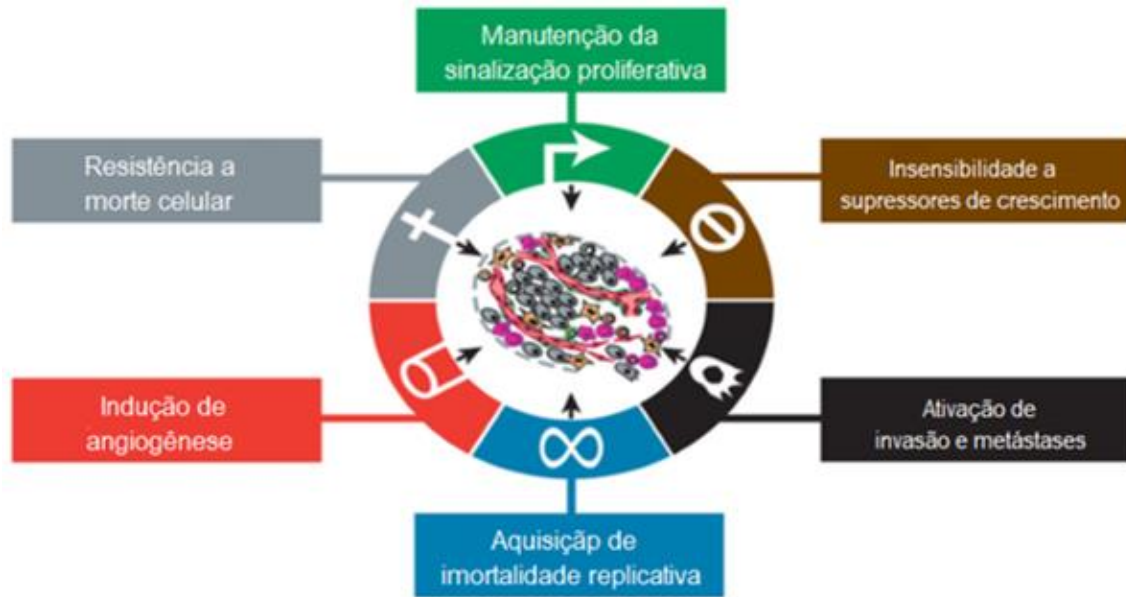
O câncer caracteriza-se por uma série de mutações acumuladas na estrutura do DNA celular, resultando em alterações no comportamento normal das células (OEFFINGER, 2013) que, de acordo com o estudo de Hanahan e Weinberg (2011), adquirem características essenciais (do inglês, *Cancer Hallmarks*) para a progressão do tumoral. Estes *Hallmarks* (Figura 1) podem ser consideradas como: 1- capacidade da manutenção da sinalização celular proliferativa; 2- supressão de fatores de crescimento; 3- resistência a apoptose (morte celular); 4- indução da angiogênese; 5- aquisição de imortalidade replicativa e; 6- migração anormal com a capacidade de metástase (HANAHAN; WEINBERG 2011). Tais modificações celulares são influenciadas por diversos fatores, dentre eles alterações externas ao indivíduo (exposição à radiação e produtos químicos, hábitos pessoais e presença de vírus) e alterações de cunho fisiológico (sistema imunológico debilitado, predisposição genética e alterações hormonais).

---

<sup>1</sup> Disponível em:

<https://www.inca.gov.br/estimativa/introducao#:~:text=Para%20o%20Brasil%2C%20a%20estimativa,c%C3%A2ncer%20de%20pele%20n%C3%A3o%20melanoma>. Acesso em: 14 jun. 2021.

Figura 1 – Hallmarks do câncer (I).

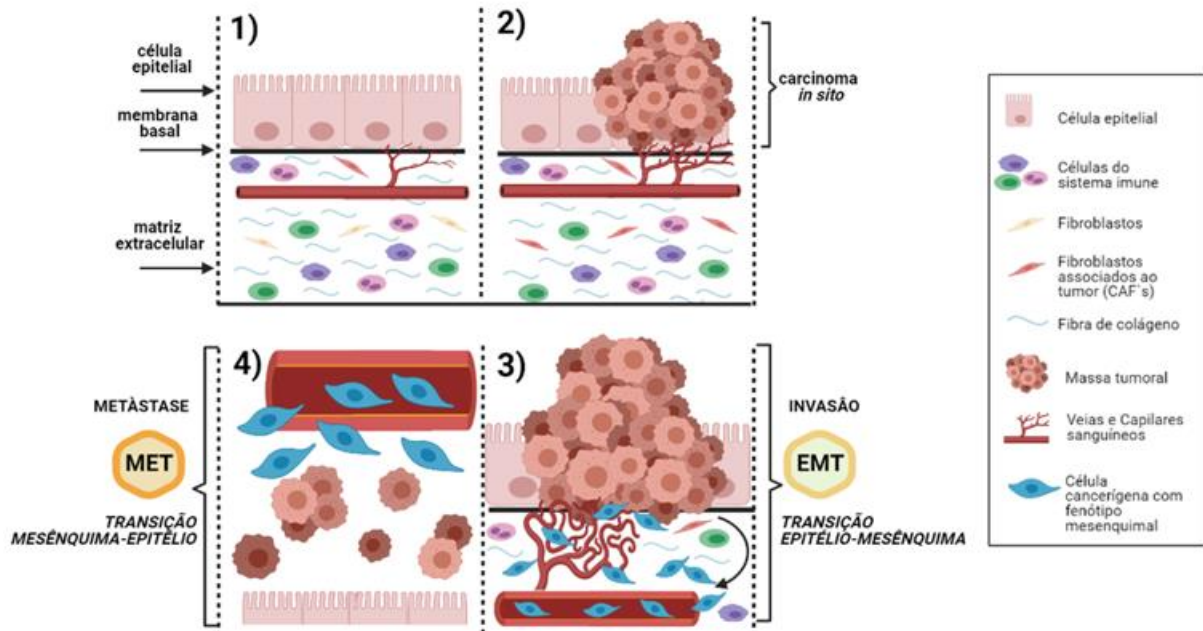


Fonte: elaborada pela autora (2021).

Em tumores malignos de origem epitelial, células em processo inicial de tumorigênese passam por modificações morfológicas, como as alterações das proteínas queratina e E-caderina, um dos principais marcadores de células epiteliais. A E-caderina atua como uma molécula de ancoragem no citoesqueleto celular, formando “uniões” chamadas *junções aderentes*, que possibilitam o processo de adesão entre as células. Modificações nesta dinâmica levam a alterações no fenótipo celular, que se torna mais agressivo, adquirindo características migratórias de células mesenquimais. Esse processo é regulado por diversos fatores de transcrição que, além de atuar na transição de fenótipo, atua como fator de crescimento, tais como o fator de crescimento da epiderme (em inglês, EGF – *Epidermal Growth Factor*).

Tais moléculas parecem controlar diretamente a migração celular, sendo responsáveis pela sinalização de dispersão ou desagregação de células de um tecido. Essas alterações no tecido epitelial, a perda da polaridade celular e a inibição da capacidade de adesão estão associadas com um processo denominado transição epitélio – mesênquima (em inglês EMT – *Epithelial-mesenchymal transition*), possibilitando a progressão tumoral e a formação de metástases. O processo inverso é denominado Transição mesênquima-epitélio, (em inglês, MET – *Mesenchymal-Epithelial- transition*) e ocorre quando as células cancerígenas, depois da migração, necessitam instalar-se novamente no tecido epitelial (Figura 2).

Figura 2 – Transição EMT/MET (I).



\* 1) Tecido epitelial normal. 2) formação do tumor primário. 3) Processo de transição epitélio mesênquima e início invasão tumoral. Notam-se alterações no fenótipo celular, que passa a ter características mesenquimais, devido a modificações dos marcadores de E-caderina, gerando perda de adesão celular, fazendo com que as células percam a capacidade de manter-se unidas e iniciando o processo de metástase. 4) Formação de metástases, derivadas do processo de transição mesênquima-epitélio, onde as células cancerígenas voltam a ter um fenótipo de célula epiteliais. EMT – *Epithelial-mesenchymal transition*; MET – *Mesenchymal-Epithelial – transition*.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

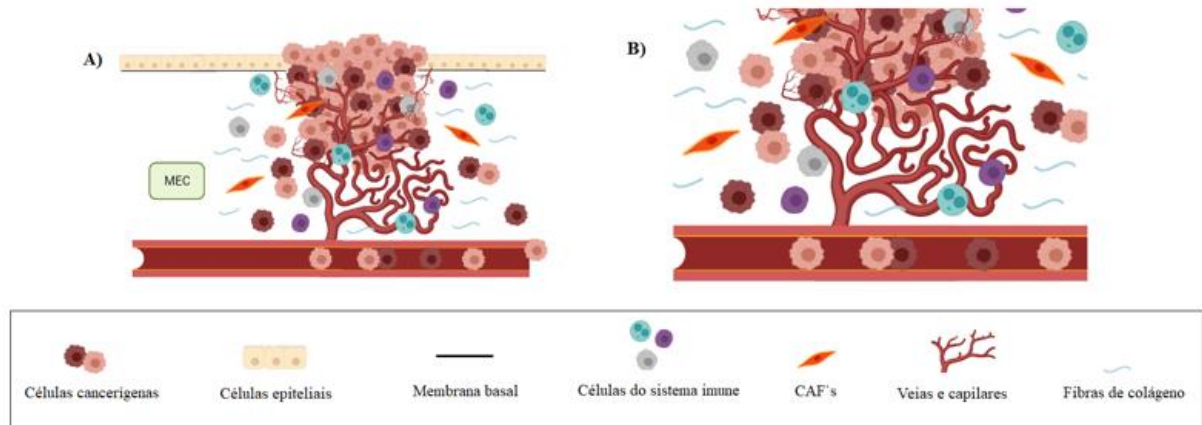
A massa tumoral é composta por células tumorais, por uma variedade de células não mutadas (fibroblastos, neutrófilos, macrófagos e vasos sanguíneos) e pela matriz extracelular (MEC), com fundamental importância para o processo tumorigênico (MBEUNKUI, 2009). Ao conjunto de elementos que interagem com as células tumorais dá-se o nome de microambiente tumoral (Figura 3). Este microambiente relaciona-se tanto com a fisiologia, estrutura e função do tumor, já que esse agregado celular fornece fatores de crescimento, quanto a quimiocinas e citocinas necessárias para o processo de carcinogêneses (MBEUNKUI, 2009).

O conceito de microambiente tumoral trouxe novas oportunidades para entender o comportamento das células tumorais e fatores que influenciam na agressividade do tumor. Estudos associam esse ambiente com processos inflamatórios crônicos (KALLURI; ZEISBERG, 2006). A inflamação é um componente crítico vinculado à progressão tumoral, de acordo com Coussens (2002), já que tumores podem surgir em sítios que apresentam infecção, irritação crônica e inflamação (COUSSENS, 2002). Em uma revisão sistemática conduzida por Alves, Diel e Lamers (2018), foi apontado que células imunes (macrófagos) presentes no microambiente tumoral têm uma associação importante com a progressão do tumor e o baixo prognóstico. Ainda em conformidade com os autores, dependendo do estímulo, os macrófagos



podem adquirir tanto o perfil M1, que possui características pro-inflamatórias, quanto macrófagos do tipo M2, vinculados à progressão tumoral (ALVES; DIEI; LAMERS 2018), Não obstante, é de grande importância também entender a contribuição de microrganismos presentes no microambiente que possivelmente também contribuam na modulação do fenótipo celular e de outros elementos do próprio microambiente tumoral.

**Figura 3 – Microambiente tumoral (I).**



\* Microambiente tumoral: A) Tumor primário. B) Detalhe do microambiente tumoral no tumor primário. O microambiente tumoral é composto por diferentes células, como células do sistema imune, fibroblastos associados ao tumor, além de vasos sanguíneos. CAFs – Fibroblastos associados ao tumor (do inglês, *Cancer-associated fibroblasts*).

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Esta relação de processos inflamatórios e a progressão tumoral já é bastante aceita e relatada na literatura. Autores como Whitmore e Lamont (2014) apontam que processos inflamatórios crônicos estão associados ao surgimento do câncer, principalmente devido à modulação do microambiente tumoral. Entretanto, os autores também sugerem que microrganismos possam estar vinculados à promoção de processos inflamatórios em células epiteliais, citando como exemplos os patógenos orais *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) e *Fusobacterium nucleatum* (*F.nucleatum*), causando alterações no processo de apoptose, divisão celular, proliferação e migração celular, além de ações sistêmicas no organismo através de infecções fora da cavidade oral (WHITMORE; LAMONT, 2014).

## 1.2 MICROBIOTA E MICROBIOMA

O corpo humano hospeda uma variedade de comunidades microbianas em diferentes tecidos e biofluidos, caracterizando a *microbiota humana*, que supera células somáticas e germinais humanas por um fator de dez ou mais (SENDER; FUCHS; MILO, 2016). Dentre

esses microrganismos, pode-se listar, como os mais predominantes, bactérias, fungos e vírus (MORGAN; SEGATA; HUTTENHOWER, 2013). O genoma coletivo de todos esses microrganismos é denominado *microbioma humano*, consistindo em aproximadamente 5.000.000 ou mais genes (CIANCI *et al.*, 2018) que desempenham papéis fundamentais na fisiologia humana (metabolismo, funções neurológicas, processos inflamatórios e modulação do sistema imune, por exemplo) e, também, em processos patológicos (SENDER; FUCHS; MILO, 2016).

Estudos sobre a microbiota iniciaram-se no século XVII com o pesquisador holandês e comerciante Antonie van Leewenhoek, considerado “o pai da microbiologia”. Antonie van Leewenhoek comparou sua própria microbiota oral e fecal, encontrando diferenças significativas nas comunidades microbianas entre estes dois ambientes, identificando, inclusive, diferenças nas comunidades bacterianas entre amostras de indivíduos saudáveis e doentes.

Analisando o microbioma e sua situação de homeostasia, existe uma relação intrínseca e equilibrada entre microrganismos comensais, hábitos do hospedeiro e patógenos (CIANCI *et al.*, 2018). De acordo com David *et al.* (2014), embora exista uma diferença importante e já conhecida entre os seres humanos em relação à constituição de sua microbiota, pode-se dizer que existe uma “microbiota nativa” (*core microbiota*, em inglês) em cada indivíduo, permanecendo, na maioria das vezes, em condições fisiológicas estáveis no decorrer da vida (DAVID *et al.*, 2014).

Um dos microbiomas mais estudados é o intestinal. Segundo Rampelli *et al.* (2016), a construção da relação microbiota/hospedeiro inicia-se logo no nascimento, uma vez que, neste momento, o ser humano é estéril. O autor ainda reitera que a microbiota materna (vaginal e fecal) tem grande influência na constituição e modulação da comunidade bacteriana do recém-nascido, além de diversos outros fatores, como o ambiente em que este se encontra, a amamentação e até mesmo a forma com que o parto foi realizado (cesárea ou natural) (RAMPELLI *et al.*, 2016). A microbiota segue diversificando-se no decorrer da vida do indivíduo, pelo próprio processo de envelhecimento e, também, através de fatores exógenos, como hábitos pessoais (tabaco, álcool e dieta) (BÖRNIGEN *et al.*, 2017).

Evidências sobre a microbiota oral mostram que sua natureza e modulação também estão diretamente correlacionadas com hábitos pessoais adotados pelo indivíduo. Também é de conhecimento científico que a infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV, do inglês *Human papillomavirus*) apresenta grande influência na caracterização da comunidade microbiana oral (BÖRNIGEN *et al.*, 2017).

A pesquisa realizada por Shreiner, Kao e Young (2015) aponta que uma microbiota diversificada, sendo necessária para manter o equilíbrio delicado e saudável da comunicação microbiota/hospedeiro. Os autores ainda afirmam que a riqueza em espécies microbianas em um único ambiente (diversidade alfa) e sua distinção entre diferentes ambientes (diversidade beta) são ambos parâmetros que se correlacionam com a saúde do hospedeiro (SHREINER; KAO; YOUNG, 2015). É compreensível, deste modo, que mudanças nessa dinâmica interfiram na manutenção da saúde do indivíduo (XU; WANG; ZHANG, 2015), podendo acarretar futuras situações patológicas (RAMPELLI *et al.*, 2016), como o câncer (BÖRNIGEN *et al.*, 2017).

Apesar destas informações presentes na literatura, o trabalho de Dewhirst *et al.* (2010) menciona que esse ainda é um tema desafiador para a ciência, assim como a discriminação entre uma “microbiota saudável” e uma “microbiota doente”, principalmente porque estudos revelam diferenças significativas até mesmo na comunidade microbiana entre indivíduos considerados “saudáveis” (DEWHIRST *et al.*, 2010).

### 1.3 INTERAÇÃO MICROBIOTA-HOSPEDEIRO E PROCESSOS PATOLÓGICOS

Nas últimas décadas, vários estudos científicos têm sido desenvolvidos para entender os mecanismos fundamentais entre o microbioma humano e os processos patológicos (GEVA-ZATORSK, 2017). Através de metodologias emergentes (por exemplo, RNA ribossômico 16S, metagenômica e metatranscriptômica), técnicas acuradas de análise molecular (SCHWABE, 2013) e o desenvolvimento de novas ferramentas de bioinformática (URSELL, 2013), está sendo possível investigar as diversas comunidades bacterianas (PACE, 1997) existentes no ser humano, tanto em estados fisiológicos quanto patológicos.

Dados provenientes destas novas pesquisas sugerem que alterações no microbioma ocasionadas pela perda de equilíbrio na relação hospedeiro/microbiota (SCHROEDER, 2016) podem estar associadas com patologias locais e sistêmicas (problemas metabólicos, alergias, obesidade, diabetes e problemas cardiovasculares) (PACE, 1997).

### 1.4 MICROBIOTA E CÂNCER

Ainda não há explicações científicas exatas sobre as razões para o desenvolvimento do câncer em apenas uma parcela de indivíduos que são expostos a carcinógenos ou portadores de predisposição genética, levando à conclusão de que outros fatores devem ser relevantes no desenvolvimento desta patologia (PLOTTEL, 2014). De acordo com a pesquisa de Plottel

(2014), é possível que uma relação disbiótica entre microbiota e hospedeiro possa, de alguma maneira, exercer algum tipo de influência na etiologia do câncer. Contudo, essa hipótese ainda é incerta, já que até o momento não foi possível elucidar os mecanismos moleculares que podem estar envolvidos nessa possível relação.

O câncer gástrico é provavelmente o exemplo mais significativo dessa relação disbiótica. A infecção causada pela bactéria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), patógeno já reconhecido oficialmente como uma bactéria carcinogênica pela *Agência Internacional de Pesquisa do Câncer* (IARC, em inglês *International agency for research on cancer*), que é considerada “oportunista”, pode promover em indivíduos imunocomprometidos respostas inflamatórias, muitas vezes crônicas (KHATOON, 2016).

A exposição do hospedeiro a processos inflamatórios desencadeados por patógenos e a produtos metabólicos de bactérias específicas (WANG *et al.*, 2017) pode causar danos na estrutura do DNA, interrompendo os processos normais de sinalização celular (LAX, 2005). O reconhecimento destes padrões microbianos pelos receptores Toll Like (TLRs, em inglês *Toll like receptors*) representa um dos estímulos pró-inflamatórios mais relevantes (PISANI; ESTADELLA; RIBEIRO, 2017). TLRs são receptores transmembrana do tipo I pertencentes ao sistema imunológico inato, conhecidos como receptores de reconhecimento de padrões moleculares relacionados a agentes infecciosos (PRRs, em inglês *Pattern Recognition Receptors*), a patógenos (PAMPs, em inglês *Pathogen-Associated Molecular Pattern*) e a oponentes celulares oriundos de tecidos danificados (LI *et al.*, 2020).

Os receptores TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 e TLR6 estão localizados na superfície celular e detectam lipoproteínas (LPS, em inglês, *Lipopolysaccharides*) bacterianas (PISANI; ESTADELLA; RIBEIRO, 2017). O LPS é uma endotoxina que compõe a membrana externa de bactérias gram-negativas, tendo um alto poder inflamatório. Os pesquisadores Pisani, Estadella e Ribeiro (2017) mencionam que, em concentrações séricas de LPS baixas, o quadro se apresenta dentro dos padrões fisiológicos, já que esta endotoxina é necessária para a modulação do sistema imunológico. Porém, ainda segundo os autores, concentrações aumentadas de LPS circulante levam a estados inflamatórios e até mesmo a doenças de cunho metabólico. Os receptores TLRs também possuem a capacidade de ativar importantes vias celulares vinculadas com proliferação celular, invasividade e angiogênese em uma variedade de cânceres. Mikulandra, Pavelic e Glavan (2017) encontraram uma ligação com o receptor TLR4 e o câncer de cólon, fígado, pâncreas e pele.

## 1.5 MICROBIOTA/MICROBIOMA ORAL

Takeshita *et al.* (2016) definem que o microbioma oral pode ser caracterizado como um conjunto genômico de microrganismos que se encontram na cavidade oral humana e, por conseguinte, em todas suas extensões (dentes, sulco gengival, gengiva, língua, bochecha, lábio, palato duro e palato mole) (TAKESHITA *et al.*, 2016), sendo constituído por vírus, fungos, protozoários e bactérias (DEWHIRST *et al.*, 2010). Um estudo conduzido por Chicharro *et al.* (1998) menciona que o microbioma oral é considerado um dos mais complexos do organismo.

A cavidade oral é a maior “porta de entrada” do corpo humano, onde ocorre o início da digestão e da porção condutora de ar do sistema respiratório (DEWHIRST *et al.*, 2010). Desta forma, os microrganismos que colonizam a área bucal têm grande possibilidade de se espalharem para superfícies epiteliais adjacentes, sendo responsáveis pelo surgimento de doenças infecciosas (KIRKWOOD *et al.*, 2009).

Apesar da existência de “uma microbiota nativa oral”, que se mantém estável no decorrer da vida do hospedeiro, esta apresenta grande variabilidade interpessoal. Da mesma forma que a microbiota intestinal, diversos fatores podem gerar alterações na ecologia das comunidades bacterianas e na relação com seu hospedeiro. Evidências relacionadas à microbiota oral mostram uma forte correlação com o gênero do indivíduo (BRAY *et al.*, 2018), hábitos pessoais, como o consumo de tabaco e álcool (LIN *et al.*, 2011), alimentação (MEURMAN, 2010), higiene oral (GUPTA *et al.*, 2017) e a presença de doenças bucais (KUMAR *et al.*, 2016).

Todavia, apesar dos estudos focados na microbiota oral serem menos abundantes na literatura, a ciência vem descobrindo uma possível importância desta na saúde. O estudo realizado pelos pesquisadores Zhang *et al.* (2018) demonstra que o desequilíbrio da flora microbiana oral contribui para doenças locais (doenças da cavidade oral). Gao *et al.* (2018) corroboram tal constatação em suas pesquisas ao afirmar que doenças podem estar relacionadas com a disbiose microbiana, dentre elas a Síndrome do Intestino Irritável (IBD, em inglês *Inflammatory Bowel Disease*), cirrose hepática, diabetes, problemas cardiovasculares, obesidade, doenças do fígado e artrite reumatoide (GAO *et al.*, 2018). A disbiose microbiana também pode estar relacionada com a etiologia e/ou a progressão do câncer (LI *et al.*, 2020).

## 1.6 MICROBIOTA ORAL E CARCINOGENESE

Como já foi mencionado, há uma menor quantidade de estudos abordando o microbioma oral quando comparado a outros tipos de microbioma (intestinal, por exemplo). Estudos que focam na comunidade bacteriana oral e câncer apresentaram resultados contraditórios, em relação a possíveis alterações microbianas e em vias moleculares que determinadas bactérias, podendo atuar na instalação e promoção do câncer.

As distintas redes microbianas existentes na cavidade oral normalmente coexistem com o hospedeiro em um estado imunoinflamatório equilibrado (WHITMORE; LAMONT, 2014). Certas espécies, como os patógenos orais *P. gingivalis* e *F. nucleatum*, podem perturbar esse equilíbrio, resultando em uma interação disbiótica entre a microbiota e seu hospedeiro. Este tipo de interação pode refletir em uma resposta imunológica que, dependendo de sua intensidade, pode ocasionar um processo inflamatório crônico, como o que ocorre na doença periodontal (HAJISHENGALLIS; LAMONT, 2012).

Com efeito, pesquisadores encontraram algum tipo de vínculo que possivelmente relaciona a microbiota oral com certos tipos de tumores, afetando sua agressividade e/ou incidência. Dentre eles, destaca-se o câncer de cólon (FLEMER *et al.*, 2018), câncer de pâncreas (FAN *et al.*, 2018), câncer de pulmão (YANG *et al.*, 2018), câncer de cabeça e pescoço (HAYES *et al.*, 2018), câncer de esôfago (PETERS *et al.*, 2017) e leucemia (WANG *et al.*, 2014).

Patógenos que se relacionam com doenças periodontais têm sido o foco na análise entre a relação da microbiota com o processo de carcinogênese. Tais bactérias, juntamente com seus metabólitos, podem entrar na circulação sistêmica através do sangue, agindo em todo o corpo (KARPIŃSKI, 2019). Duas bactérias periodontopatogênicas que se encaixam nesta hipótese são os microrganismos *F. nucleatum* e *P. gingivalis*, que podem migrar para outras partes do corpo através da circulação sanguínea, acarretando a diminuição da imunidade do indivíduo, provocando inflamações e, provavelmente, promovendo, de forma indireta, a formação de tumores (GALLIMIDI *et al.*, 2015). Além disso, como já foi descrito anteriormente, sobre a influência dos processos inflamatórios crônicos na carcinogênese, principalmente devido à modulação do microambiente tumoral, estes mesmos patógenos, *F. nucleatum* e *P. gingivalis*, promovem processos inflamatórios em células epiteliais, que podem influenciar diretamente no microambiente tumoral (LI *et al.*, 2020), podendo estar relacionados com as alterações em diversos mecanismos celulares, tais como apoptose, divisão, proliferação e migração celular.

## 1.7 MICROBIOTA ORAL E CÂNCER ORAL

Existem diversas teorias que explicam a possível interferência da microbiota oral no processo do câncer oral. Karpiński (2019) elencou três possíveis teorias que podem explicar essa relação (Figura 4): 1) A resposta inflamatória provocada por certos tipos de bactérias (mediadores inflamatórios crônicos), que, segundo o autor, acabam facilitando os *Hallmarks* do câncer, como a proliferação celular, mutagênese, ativação de oncogenes e angiogênese; 2) A influência direta da bactéria na carcinogênese por meio da secreção de proteínas efetoras, que afetam a proliferação, rearranjos do citoesqueleto, ativação do fator nuclear capa beta (NF-KB, do inglês *Nuclear Factor Kappa beta*) e inibição da apoptose; e 3) Produtos metabólicos produzidos por bactérias (acetaldeído) (KARPIŃSKI, 2019).

**Figura 4 – Possíveis mecanismos relacionados ao processo de carcinogênese promovido por bactérias (I).**



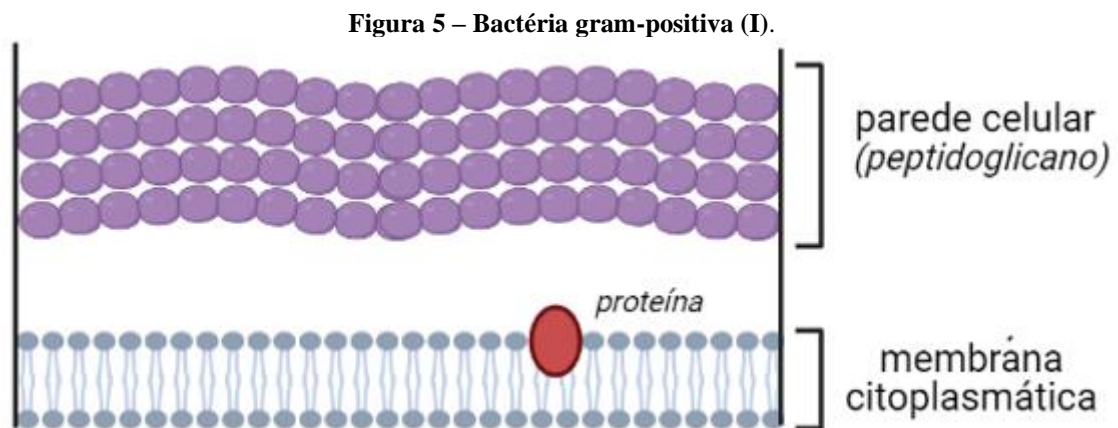
\* A infecção bacteriana pode levar a processos inflamatórios crônicos, vinculados com a progressão do câncer, além da atividade antiapoptótica que certas bactérias possuem e a produção de metabólitos com potencial carcinogênico por estes microrganismos.

Fonte: adaptada de Karpiński (2019).

Por volta de mil espécies bacterianas foram encontradas no microbioma oral humano (DEWHIRST *et al.*, 2010). De acordo com análises já realizadas, verificou-se que 96% das bactérias orais totais (BIK *et al.*, 2010) são constituídas pela dominância dos filos *Firmicutes* (36,7%), *Bacteroidetes* (17,1%), *Proteobacteria* (17,1%), *Actinobacteria* (11,6%), *Spirochaetes* (7,9%) e *Fusobacteria* (5,2%).

Quando são analisados os filos que constituem a comunidade nativa bacteriana oral, nota-se que muitas das bactérias nativas da flora oral (gênero/espécie) pertencentes a estes filos possuem características que, em uma situação disbiótica, podem acarretar doenças locais e sistêmica, incluindo câncer. Neste trabalho, encontram-se alterações nas espécies e gêneros mencionados nos parágrafos abaixo, respectivamente divididos nos filos ao qual pertencem.

*Firmicutes* é um filo de bactérias gram-positivas. As bactérias gram-positivas não possuem membrana externa, por isso são mais suscetíveis aos antibióticos (Figura 5). O gênero de bactéria mais abundante neste filo que é encontrado na cavidade oral, segundo as informações provenientes do estudo de Sasaki *et al.* (2005), é o *Streptococcus*. Em consonância com Wescombe *et al.* (2009), esse gênero tem a característica de ser antagônico aos patógenos orais, matando ou inibindo espécies bacterianas por meio da produção de *bacteriocinas*, porém, em certas situações, como em hospedeiros imunocomprometidos, podem proliferar de forma incomum, causando danos aos tecidos e respostas imunológicas prejudiciais (WESCOMBE *et al.*, 2009).



\* Bactérias gram-positivas possuem uma grande camada de peptoglicanos como constituintes de sua parede celular.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

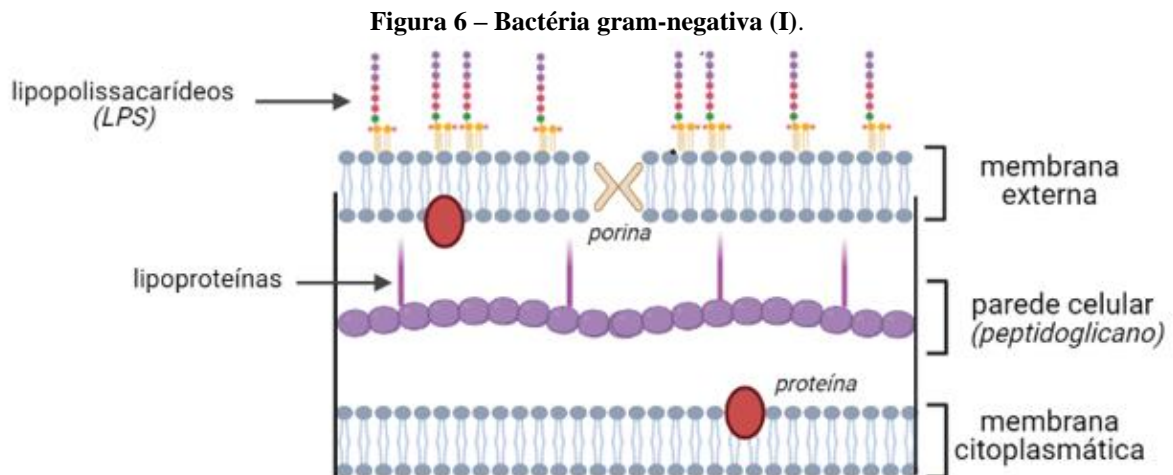
Um grupo de espécies pertencentes a este gênero, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus* e *Streptococcus intermedius*, são tidos como patógenos associados a múltiplas infecções (GRAY, 2005). Não obstante, Karpiński (2019) traz a informação de que as espécies *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus intermedius* e *Streptococcus mitis* possuem a enzima álcool desidrogenase (ADH, do inglês *alcohol dehydrogenase*), que metaboliza o álcool em *acetaldeído*, considerado carcinogênico (KARPIŃSKI, 2019).

De acordo com a informação encontrada no estudo de Mizumoto *et al.* (2017), a espécie *Peptostreptococcus stomatis*, pertencente ao gênero *Peptostreptococcus*, e a espécie *Parvimonas Micra*, pertencente ao gênero *Parvimonas* podem causar infecções no hospedeiro (destruição periodontal). O gênero *Gemella* (espécies *Gemella haemolysans* e *Gemella morbillorum*), em hospedeiros imunocomprometidos, pode ser um patógeno oportunista, causando infecções graves ou/e generalizadas (DWORKIN *et al.*, 2006). Ainda, a espécie *Filifactor alocis*, do gênero *Filifactor*, pode desempenhar um papel significativo na doença



periodontal (ARUNI; ROY; FLETCHER, 2011). Em relação à espécie *Granulicatella adiacens*, do gênero *Granulicatella*, houve uma associação desta com infecções invasivas (SCHMIDT, 2019).

O filo *Bacteroidetes* é formado por bactérias gram-negativas, que possuem uma cápsula protetora que evita que glóbulos brancos atuem contra infecções (Figura 6). Sob essa cápsula, essas bactérias possuem uma membrana externa que as protege de certos antibióticos, além de liberar LPS, que têm grande influência nos processos inflamatórios. Whitmore e Lamont (2014) mencionam que, em estudos recentes, um aumento em abundância na mucosa oral de espécies comensais do gênero *Prevotella*, (espécies *Prevotella intermedia*, *Prevotella tanneriae*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella salivae* e *Prevotella loeschii*) possa promover periodontites e doenças sistêmicas (WHITMORE; LAMONT, 2014).



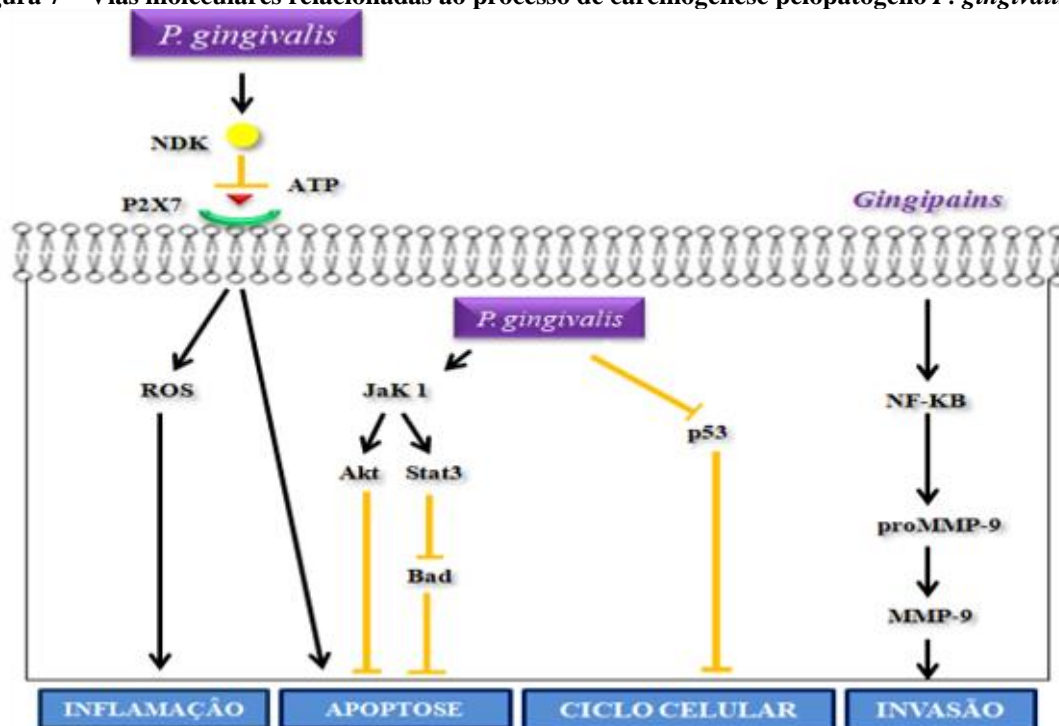
\* As bactérias gram-negativas possuem uma pequena camada de peptoglicanos como constituintes de sua parede celular, porém possuem uma membrana externa e lipopolissacarídeos.  
Fonte: elaborada pela autora (2021).

Os pesquisadores Inaba *et al.* (2014) demonstraram que a espécie *P. Gingivalis*, do gênero *Porphyromonas*, e do filo *Bacteroidetes*, possuem grande poder inflamatório, tendo, talvez, papel significativo no processo da carcinogênese oral (INABA *et al.*, 2014). *P. gingivalis* pode causar a fosforilação significativa da proteína pró-apoptótica *Bad* (proteína da família Bcl – *Bcl-2*, do inglês *Associated Death Promoter*) na membrana mitocondrial, promovendo sua inativação através da quinase associada Janus (JAK, do inglês *Janus associated kinase*), das vias Akt-Stat3 (Akt, do inglês *Protein Kinase B*) e Stat3 (do inglês, *Signal transducer and activator of transcription*) (KARPIŃSKI, 2019). Também essa bactéria secreta uma enzima antiapoptótica chamada nucleosídeo difosfato quinase (NDK, do inglês *Nucleoside diphosphate kinase*), que cliva adenosina tri-fosfato (ATP), impedindo a ativação

do receptor iônico pró-apoptótico P2X7 (sem tradução), desempenhando, de acordo com Whitmore e Lamont (2014), papel crítico na promoção do crescimento celular, acelerando o ciclo celular pela manipulação da quinase dependente de ciclina (CDK, do inglês *cyclin-dependent kinase*) e reduzindo o nível de proteínas supressoras de tumor, como a p53 (sem tradução).

Este patógeno também pode modular, nas mitocôndrias, espécies reativas de oxigênio (ROS) (do inglês, *Reactive Oxygen Species*) (KARPIŃSKI, 2019), que têm relação com processos inflamatórios e com o câncer. Inclusive, *P. gingivalis*, de acordo com o mesmo autor, produz uma proteinase de cisteína denominada *gingipains*, que pode clivar a pró-enzima metaloproteinase 9 (MMP-9, do inglês *Matrix Metalloproteinase 9*), promovendo sua maturação pela influência do fator de transcrição NF- $\kappa$ B (KARPIŃSKI, 2019), gerando uma degradação da matriz extracelular e promovendo o processo de migração e invasão celular (INABA *et al.*, 2014) (Figura 7).

Figura 7 – Vias moleculares relacionadas ao processo de carcinogênese pelo patógeno *P. gingivalis* (I).



\* Possíveis mecanismos utilizados pelo patógeno *Porphyromonas Gingivalis*. NDK- Nucleoside diphosphate kinase; ATP- Adenosina trifosfato, P2X7 = receptor iônico/sem tradução; ROS =Reactive oxygen species; JaK 1= JAK, do transcription; BAD= proteína pró-apoptótica; p53= proteína supressora do tumor; Gingipains= proteinase de cisteína; NF-KB = nuclear factor kappa beta; proMMP-9 = pro matrix metalloproteinase 9, MMP 9= matrix metalloproteinase.

Fonte: adaptada de Karpiński (2019).

O gênero *Capnocytophaga* (espécies *Capnocytophaga gingivalis* e *Capnocytophaga leadbetteri* ssp) possuem um papel na doença periodontal (HELLER *et al.*, 2012), assim

tornando-se patógenos oportunistas, vinculados com infecções em pacientes com câncer (JOLIVET-GOUGEON *et al.*, 2005).

O filo de bactérias gram-negativas *Proteobacteria* apresenta microrganismos que podem ser considerados patógenos. No gênero *Campylobacter*, em relação à espécie *Campylobacter concisus*, Liu *et al.* (2018) relatam que não existem evidências científicas suficientes para comprovar a associação entre a espécie *C. concisus* com qualquer doença oral ou inflamação. Entretanto, o trabalho desses autores ressalta a possível teoria de que o flagelo da espécie *C. concisus* pode ser um fator de virulência, estimulando as produções de interleucina 8 (IL-8, do inglês *Interleucin 8*), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ , do inglês *Tumoral Necrosis Factor Alpha*) em macrófagos da linhagem de monócitos humanos THP-1 (sem tradução) (LIU *et al.*, 2018). No gênero *Nesseria*, existem bactérias que possuem a enzima ADH, que converte álcool em *aceltadeído*, uma substância altamente cancerígena. O estudo de Muto *et al.* (2000) sugere que o aumento de taxa do gênero *Nesseria* e sua produção de ADH podem ter um possível papel na carcinogênese.

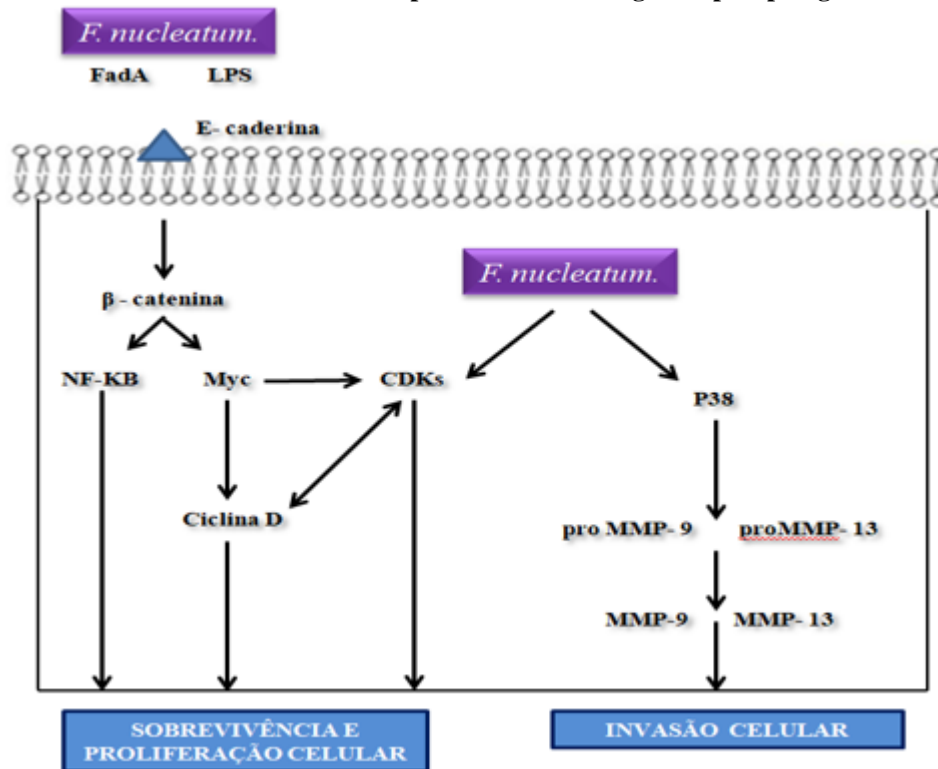
Em se tratando do filo gram-positivo *Actinobactéria*, a espécie de bactéria anaeróbia facultativa *Rothia mucilaginosa*, pertencente ao gênero *Rothia*, também é encontrada na flora normal da cavidade oral, embora possa ser considerada um patógeno oportunista, principalmente em indivíduos imunocomprometidos (STACKEBRANDT, 2006). O gênero *Atopobium*, formado por bactérias obrigatórias ou facultativa anaeróbias, possuem diferentes espécies que têm sido associadas a diversas doenças sistêmicas (COOLS *et al.*, 2011).

O filo *Spirochaetes* não será abordado neste trabalho, já que nenhum gênero ou espécie foi encontrado alterado, tanto em pacientes acometidos por câncer oral quanto em controles saudáveis.

Estudos referentes ao filo *Fusobacteria*, formado por bactérias anaeróbias e gram-negativas, relatam vínculos já bem estabelecidos com estados patológicos. Bactérias gram-negativas, como já mencionado neste trabalho, possuem uma cápsula protetora, que resulta em dificuldade para o sistema imune combater infecções. Sob esta cápsula, tais bactérias contam com uma membrana externa que as protege de certos antibióticos e liberam endotoxinas (LPS), que apresentam grande influência nos processos inflamatórios. Os LPS presentes na espécie patogênica *F. nucleatum*, pertencente ao gênero *Fusobacterium*, podem levar à inflamação por estimulação e produção de mediadores inflamatórios (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005). Tal processo, segundo Whitmore e Lamont (2014), se dá pela ativação de citocinas inflamatórias TNF- $\alpha$ , Interleucina 1b (IL1b, do inglês *Interleucin 1*) e Interleucina 6 (IL-6, do inglês *Interleucin 6*), modulando várias vias antiapoptóticas por meio da indução da sinalização de

NF- $\kappa$ B e pela ativação dos receptores TRLs pelo LPS (WHITMORE; LAMONT, 2014). O LPS também pode ativar e intensificar a expressão da sinalização da proteína  $\beta$ -catenina, através da ligação de adesinas A de *F. nucleatum* (FadA, do inglês *Fusobacterium Nucleatum Adhesin A*) e de proteína ciclina D1. (WHITMORE; LAMONT, 2014). Os autores ainda mencionam o aumento da expressão dos oncogenes C-myc (sem tradução) e o controle do ciclo celular, podendo modificar a proliferação e o processo migratório pela ativação das ciclinas dependentes de quinases (CDKs, do inglês *Cyclin Dependent Kinases*), e pela ativação de CDKs, que, conseqüentemente interferem na proteína p38 (sem tradução), ativada por estresse, levando à secreção de MMP-9 e MMP-13, desempenhando um papel importante nos processos de invasão tumoral e metástase (WHITMORE; LAMONT, 2014) devido à degradação da matriz extracelular.

Figura 8 – Vias moleculares relacionadas ao processo de carcinogênese pelo patógeno *F.nucleatum* (I).



\* Possíveis mecanismos utilizados pelo patógeno *Fusobacterium nucleatum*. FadA = *Fusobacterium nucleatum adhesin A*; LPS- Lipopolysaccharide; NF-KB = nuclear factor kappa beta; myc = (oncogene-sem tradução); Ciclina D = Ciclina envolvida no ciclo celular; CDKs = Cyclin dependent kinases; P38 = proteína ativada por estresse (sem tradução); proMMP- 9 = pro matrix metalloproteinase 9; proMM- 13= pro matrix metalloproteinase 13; MMP 9= matrix metalloproteinase 9; MMP 13= matrix metalloproteinase 13.

Fonte: adaptada de Karpiński (2019).

## **2 HIPÓTESE**

Alterações na microbiota bucal podem contribuir para o processo de evolução do câncer bucal.

### 3 JUSTIFICATIVA

Apesar de todos os avanços tecnológicos na caracterização da microbiota e dos diferentes tipos de pesquisas com diferentes abordagens, os estudos relacionados à microbiota oral e sua possível influência no câncer oral ainda são escassos e divergem em seus resultados. Contudo, a maioria desses estudos mostrou diferenças significativas na composição microbiana entre o mesmo paciente com CEC/OSCC ou em comparação com controles saudáveis, muitas vezes por meio de amostras de tecido canceroso e sadio ou por saliva (PERERA, 2016). Entretanto, os pesquisadores ainda não chegaram a um consenso referente à identificação de bactérias específicas, padrões de disbiose microbiana oral ou possíveis mecanismos que podem implicar no processo de carcinogênese.

Assim, analisou-se neste trabalho o material encontrado na literatura respectiva ao tema em questão, observando desde sua construção metodológica, aspectos demográficos, perfis tumorais e resultados microbianos, tentando traçar uma linha de raciocínio que ilumine os diversos, e muitas vezes controversos, resultados encontrados, elucidando dúvidas sobre possíveis relações entre fatores externos, padrões microbianos potencialmente associados à etiologia do câncer e vias celulares específicas, podendo associar-se ao desenvolvimento do tumor. O intuito deste trabalho é compreender, de forma mais linear e concisa, sobre a existência ou não da relação entre o microbioma/microbiota oral e o câncer oral que, se comprovada, num futuro, pode se tornar uma opção não invasiva de análise da cavidade oral através da abundância de certos microrganismos que podem tornar-se candidatos a biomarcadores para o câncer oral.

## **4 OBJETIVOS**

A seguir, são listados os objetivos geral e específico da presente pesquisa.

### **4.1 OBJETIVO GERAL**

Analisar a relação entre a microbiota oral e OSCC, encontrando um padrão consistente de resultados microbiológicos, tanto relacionados às bactérias envolvidas no tumor quanto às possíveis vias que podem estar associadas ao câncer.

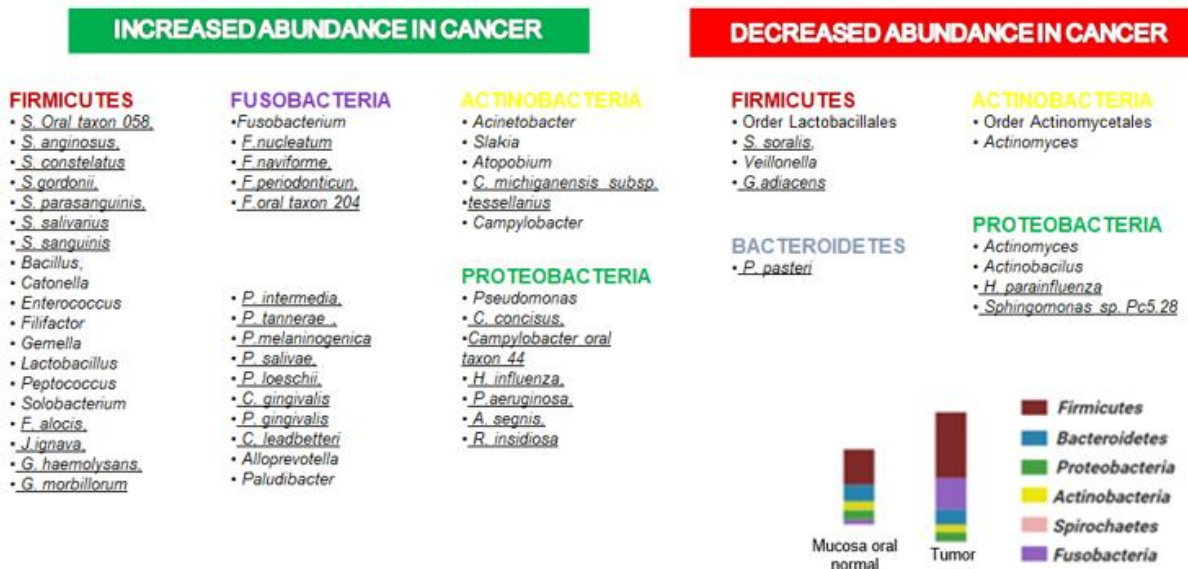
### **4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO**

Realizar revisão sistemática de literatura analisando os artigos que abordaram a inter-relação de microbiota bucal com o câncer de boca.

## 5 RESULTADOS

O produto desta dissertação consiste em uma revisão sistemática submetida para a revista *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, e, como principais resultados, encontrou-se, de fato, uma grande diversidade microbiológica entre os estudos eleitos para a revisão. Em vista disso, ao analisar estes os mesmos resultados bacterianos, dividiu-se em filos e, desta forma, pode-se visualizar claramente que a ordem nativa de filos constituintes da cavidade oral se alterou nos pacientes com câncer. Subentende-se, a partir desta análise, que realmente existe uma diferença entre estes dois ambientes, mas as bactérias exatas que estão relacionadas a este processo ainda não são conhecidas.

Figura 9 – Listagem do resultado microbiológico pertinente a todos os 28 artigos analisados, divididos por filos.



\* Sublinhadas estão as espécies de bactérias. No canto inferior direito, o resultado da análise das bactérias através de sua associação com os filos. Pode-se notar que houve modificação tanto em ordem quanto proporção destes filos nos pacientes com câncer oral.

Fonte: elaborada pela autora (2021).



## 5.1 ARTIGO

**The Interplay between oral microbiome and oral cancer: A systematic review**

*Marjoe Buratto da Silveira*<sup>1</sup>, *Leonardo Diel*<sup>2</sup>, *Leonardo Bittencourt*<sup>1, 2, 3</sup>, *Rodrigo Alex Arthur*<sup>4</sup>, *Adriana Jou*<sup>5</sup>, *Marcelo Lazzaron Lamers*<sup>2, 6 \*</sup>

<sup>1</sup> Institute of Basic Health Sciences, Department of Physiology, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>2</sup> Basic Research Center in Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>3</sup> State Department of Health of Rio Grande do Sul – State Vocational School of Health, Clinical Hospital of Porto Alegre (EPS-HCPA), Porto Alegre, Brazil

<sup>4</sup> Department of Preventive Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>5</sup> Department of Radiooncology-Radiobiology, German Cancer Research Center (DKFZ), Heidelberg, Germany

<sup>6</sup> Department of Morphological Sciences, Institute of Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

\*Corresponding author:

Marcelo Lazzaron Lamers, Department of Morphological Sciences, Institute of Basic Health Science, Federal University of Rio Grande do Sul, Rua Sarmiento Leite, 500, subsolo, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

E-mail: [marcelo.lamers@ufrgs.br](mailto:marcelo.lamers@ufrgs.br)

Conflict of interest statement

The authors declare no conflicts of interest.

Word count: 3498

## ABSTRACT

*Background:* Oral cancer, the sixth most common malignancy worldwide, develops upon an environment with a diverse and complex microbiota.

*Objective:* The main objective of this systematic review is to address the possible relationship of the oral microbiota and oral carcinogenesis.

*Data sources:* A search in Pubmed, SCOPUS and Web of Science in September 2020. *Study eligibility criteria:* We included cross-sectional and observational studies that evaluated the oral microbiota or the microbiome of affected mucosal tissue of individuals diagnosed with oral cancer and healthy individuals or unaffected mucosal tissues, without any restriction on date of publication.

*Participants:* Health individuals and individuals diagnosed with OSCC.

*Results:* The initial searches yielded 1.689 studies, of which 28 meet our inclusion criteria. The phylum *Firmicutes* was the most frequently altered in oral cancer (n=22, 81.48%), followed by *Fusobacteria* (n=18, 66.67%), *Bacteroidetes* (n=16, 59.26%), *Actinobacteria* (n= 14/51.85%), *Proteobacteria* (n= 12/44.44%) as well as the fungal genera *Candida* sp (n=2). Due to methodological diversity among studies, it was not possible to perform a meta-analysis. Besides the need for more standardized studies correlating microbiota results with personal habits, these findings indicate that oral microbiota, especially periodonto-pathogenic bacteria, could be called “OSCC-related bacteria” and may be an adjuvant risk factor for OSCC progression.

**Keywords:** Oral Squamous Cell Carcinoma, oral leukoplakia, oral cancer, microbiome, bacteria, fungi

## INTRODUCTION

Cancer is a one of the major public health issue worldwide [1]. Oral cancer is the sixth most common malignancy in humans [2], within 363.000 annual new cases worldwide and almost 200.000 deaths [3]. Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC) corresponds to 90% of oral cancers, with a low 5-years survival rate, mainly related to late diagnosis [4, 5], with slight improvements reported in the last decades [6, 7, 8]. Several chemical, physical and biological factors are associated with OSCC carcinogenesis [9, 10, 11, 12]. More recently, it was observed that oral microbiota might affect OSCC aggressiveness and/or re-incidence [13].

The oral microbiome is one of the most diverse and complex microbiological ecosystems in the body. Oral cavity has favorable conditions for microbial growth [14, 15], and saliva plays an important role influencing the homeostasis of this ecosystem [16, 17]. There are around 1.000 bacterial species present in the oral cavity of humans [18]. A native, least variable and common-shared healthy-associated microbiota is found among individuals, being this microbial community dominated by the phyla Firmicutes (36.7%), followed by Bacteroidetes and Proteobacteria (34.2%), Actinobacteria (11.6%), Spirochaetes (7.9%) and Fusobacteria (5.2%) [15] (Figure 1) and by some specific genera, as *Streptococcus* sp [19].

The oral cavity may be affected by some diseases, such dental caries and periodontal diseases, as a result of dysbiosis on this native and common-shared microbiota [20, 21]. In this respect, increasing evidences have also suggested a potential role of oral microbiome on the onset of oral cancer, especially on OSCC [10], but available data is still conflicting.

The aim of this systematic review is to analyze the potential relationship between the oral microbiome and oral carcinogenesis focusing on microbial patterns potentially associated to precancerous and cancerous lesions. We hypothesize that specific microbial patterns are enriched on precancerous and cancerous lesions inducing specific cellular pathways associated with tumor development. Moreover, we envisage that abundant microorganisms might be biomarkers candidates for oral cancer.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Protocol and registration**

This systematic review was performed following the Preferred Reporting Items for Systematic Review (PRISMA) statement and the Cochrane guidelines and it was registered at PROSPERO database (CRD42020169256).

### **Research question**

The research question was formulated using Patient (P), Comparator (C) and Outcome (O) framework [22]: Patients diagnosed with oral cancer (P), the oral microbiome or mucosal tissue-associated microbiome (O) were compared to healthy patients or to unaffected mucosal tissues (C).

Is there any relationship between the oral microbiota and the occurrence of oral cancer?

## Eligibility Criteria

This review included cross-sectional and observational studies that evaluated the oral microbiome or affected mucosal tissue of individuals diagnosed with oral cancer and healthy individuals. The following exclusion criteria were: 1) studies out of scope for this systematic review; 2) animal studies; 3) in vitro studies; 4) Systematic reviews or Narrative Reviews; 5) Book chapters.

## Sources of Information and Search

The searches were carried out in three databases (PUBMED, Web of Science and SCOPUS) in September 2020 according to the following descriptors “neoplasia” OR “neoplasm” OR “tumor” OR “cancer” AND “oral microbiome” OR “oral microbiota”. The results obtained were exported to the EndNote Basic/Online software (Thomson Reuters, Toronto, Canada), desktop version.

## Study Selection and data extraction

Studies were screened by title and abstract. Potentially eligible studies were then assessed for full-text reading. All references of the included articles were manually searched. Two independent researchers (MBS and LD) performed study selection and data extraction. A third researcher (LB) solved any disagreement, while table four showed the risk of individual study bias.

Data such as author, year of the publication, tumor type, country, age and gender of the participants, oral status, personal habits (smoking, drinking, betel quid chewing and diet), information about the cohort of each study (sample type used and the comparative groups, the methodology used to characterize the oral microbiome, tumor-related data (TNM and clinical stage) and the main microbial outcome were extracted from the eligible studies.

## Assessment of risk of bias

The risk of bias was assessed by one author (MBS) with the “The Joanna Briggs Institute Critical Appraisal tools” for use in JBI for “*Prevalence Studies*”. The risk of bias was ranked as **High** when the study reached up to 49% of "yes" score, **Moderate** when the study reached from 50% to 69% of "yes" score, and **Low** when the study reached over 70% of "yes" score.

## RESULTS

### Selection of studies

The search resulted in 1.689 studies. After removing the duplicates, 1.186 proceeded to the analysis of the titles. Of these, only 128 were considered potentially eligible. After abstract reading, 25 articles were selected for full-text reading. From the reference list of the included studies (3.197 references), three studies were identified and manually included, resulting in 28 studies [23-50] (Figure 1).

Year of publication ranged from 2005 to 2020. Twenty one studies had the main focus in OSCC (oral squamous cell carcinoma), one in GSCC (gingival squamous cell carcinoma), one in OLK (oral leukoplakia) one with both OSCC and OLK, one regarding OPMD (*oral* potentially malignant disorder), one with both OSCC/OPMD, one regarding to OMTD (*oral* mucosa and tongue *cancer*), and one about OCC (*oral cavity cancer*) and oropharyngeal cancers (OPC)

### Demographic and overall aspects of participants

The mean age of patients was  $60.26 \pm 9.8$  years ( $n=14$  studies). Only 10 studies showed the data of healthy controls ( $46.9 \pm 8.6$  years). One study showed the average age of the entire population included in the analysis ( $60.5 \pm 13.2$  years). Eight studies brought the age of the participants included as “mean age” (59.6 years). One study reported that the total population included in the study was under 50 years old, and another did not report the age of patients with tumor, but informed the age of health controls (under 40 years). Another study also reported information of the total population included, but in range (40-64 years). Regarding the potentially malignant lesions, two studies showed the average age of the patients in  $\text{mean} \pm \text{SD}$  ( $66.5 \pm 11.43$  years) and another two informed in median age (patients = 57.3 years/Health control = 45.15 years).

Twenty-four studies brought information about the gender of the participants, with 19 studies having male and female participants, and 5 studies having only male participants. Four studies did not mention the gender of the participants.

Nine studies informed the oral status of the participants (i.e. use of dentures, number of teeth, brushing, use of mouthwashes, regular visits from dentists and periodontal diseases). Nineteen studies did not present the actual or accurate information about the oral status of the participants.

Regarding personal habits, 23 studies showed information about the amount of participants that are current smokers/ex-smokers/nonsmokers, in both cancer group and health

controls. Five studies did not provide any information about smoking habits. Six studies presented information about betel quid chewing. Drinking habits were reported in 22 studies, 20 studies showing information about current drinkers/heavy drinkers/former drinkers and non-drinkers while in 2 studies individuals that did not have drinking habits were assessed. Six articles did not show accurate information about drinking habits. None of the 28 included articles showed information about diet habits (table 1).

### **Sample type, cohort data, methodology (microbiome profiling) and tumor results**

Thirteen studies used saliva samples for analysis. Nine studies used tissue samples. Four studies used mixed types of samples for their analysis. Fourteen studies reported two groups of participants (cancer and healthy-control individuals) and other 14 studies reported only one group of participants.

Twenty-three studies used targeted amplicon analysis (16S rRNA amplicon sequencing). From these, seven studies used the region V4, six used the region V3-V4, three studies used the region V4-V5, two studies used the region V1-V3, two used the region V1-V2, one used the region V6-V8 and two studies did not specify the 16S region used. Two studies used the target amplicon analysis (16S rRNA) combined with qPCR and fluorescence *in situ* hybridization. One used checkerboard DNA/DNA hybridization, one sequenced the DNA for the fungal internal transcribed spacer (region 2), and one used metatranscriptome analysis.

Seven studies brought information about the TNM stage, and 8 studies showed information about the clinical stage of the participants (table 2).

### **Main microbial outcome**

Of the twenty-eight studies included in this review (table 3, Supplementary material 1), most of included studies reported changes on abundance of the phylum Firmicutes among the tested conditions (n=22; 78.57%), followed by Fusobacteria (n=18; 64.29%), Bacteroidetes (n=17; 60.71%), Actinobacteria (n=14; 50.00%) and Proteobacteria (n=12; 42.86%) (Figure 2B). Only one study did not show detailed information about the bacterial outcome, since it only mentioned that most of the bacteria found in the tumor were saccharolytic and acid-tolerant. Therefore, this study was not considered in the following descriptive analysis.

Increased Firmicutes abundance was found in 22 studies either in tumors or in malignant lesions (OSCC, GSCC, OMTc, OSCC and OLK, OSCC and OMPD), most of them being related to OSCC, whereas a decreased abundance was also found in OLK. A decrease in abundance of order Lactobacillales in OSCC has also been reported. Nine studies reported

changes in *Streptococcus* sp abundance among the tested conditions, with 5 studies showing an increased abundance in OSCC, GSCC, OMTC and OSCC/OMPD, while 4 studies showed a decrease in abundance in OSCC, OSCC/OLK or a higher abundance in healthy controls. Moreover, within this genera, some species (*Streptococcus* sp. Oral taxon 058, *S. anginosus*, *S. constelatus* *S. gordonii*, *S. parasanguinis* *S. salivarius* and *S. sanguinis*) were more abundant in OSCC, while *S. oralis* was less abundant. One study reported increased abundance of *S. mitis* in OSCC while 3 studies showed a decrease in its abundance in cancer samples (OSCC and OMPD). The genera *Bacillus* sp, *Catonella* sp, *Enterococcus* sp, *Filifactor* sp, *Gemella* sp, *Lactobacillus* sp, *Peptococcus* sp and *Solobacterium* sp also showed increased abundance in OSCC, OSCC/OPMD or in OSCC/OLK. At species level, *F.alocis*, *J.ignava*, *G.haemolysans* and *G. morbillorum* were also increased in OSCC. On the other hand, *Veillonella* sp and *G. adiacens* ssp presented a decreased abundance in OSCC/OMPD. *Oribacterium* sp was either increased or decreased in OSCC.

Eighteen studies found an increase in Fusobacteria abundance in OSCC, OSCC/OMPD, OLK and GSCC. One study found a decreased abundance in OMTC. An increase in *Fusobacterium* sp abundance in OSCC, OLK and GSCC has been reported, being the species *F. nucleatum* subsp. *polymorphum*, *F. naviforme*, *F. periodonticum* and *Fusobacterium* sp oral taxon 204 increased in OSCC. *F. nucleatum* ssp was increased in OSCC and OMPD. Moreover, *Leptotrichia* sp abundance was increased in OSCC, but decreased in OLK.

Seventeen studies showed an increased abundance of Bacteroidetes in OSCC, GSCC, OSCC/OLK and OSCC/OMPD and one study showed a depletion of this phylum in OMTC. *Prevotella* sp was more abundant in OSCC and GSCC, but one study reported this genus being depleted in OSCC. At species level, *P. intermedia*, *P. tanneriae*, *P. melaninogenica*, *P. salivae* and *P. loeschii* were more abundant in OSCC. Both *Porphyromonas* sp and *Capnocytophaga* sp were either enriched or decreased in OSCC. At species level, two studies reported *P. gingivalis* ssp increased in OSCC and OSCC/OLK and one study reported decreased abundance in OSCC. *P. pasteri* ssp was found depleted in OSCC. The species *C. gingivalis* and *C. leadbetteri* were increased in OSCC. Furthermore, *Alloprevotella* sp and *Paludibacter* sp were also more abundant in OSCC.

Fourteen studies showed increased abundance of Actinobacteria in OSCC and, GSCC/OLK. The genera *Acinetobacter* sp, *Slakia* sp and *Atopobium* sp were increased in OSCC and in GSCC. *Clavibacter michiganensis* subsp. *tessellarius* was also increased in OSCC. The order Actinomycetales and the genus *Actinomyces* sp presented lower abundance in OSCC and GSCC and was decreased in one OSCC study. The abundance of *Rothia* sp, and

*Corynebacterium* sp were either increased or decreased in OSCC. Moreover, while *Corynebacterium* sp was increased in OSCC, it was decreased in GSCC. *R. mucilaginosus* ssp was increased in OSCC, but decreased in OLK.

Regarding the phylum Proteobacteria, 12 studies reported increased abundance on OSCC, GSCC, OLK, and OSCC/OMPD. *Campylobacter* sp and *Pseudomonas* sp presented increased abundance in OLK and OSCC, while *Actinobacillus* sp presented decreased abundance in OSCC. At species level, *C. concisus*, *Campylobacter. oral taxon 44*, *H. influenza*, *P. aeruginosa*, *A. segnis* and *R. insidiosa* were increased in OSCC or OLK. For the other genera, conflicting results were found. *Neisseria* sp was increased both in GSCC and OSCC/OPMD studies, but also decreased on OSCC. *Haemophilus* sp presented an increased abundance in GSCC, but a decreased abundance in OSCC. *H. parainfluenzassp* and *Sphingomonas* sp. *Pc5.28* were found decreased in OSCC patients.

Regarding fungal composition, increased abundance of *Candida* sp, *Hannaella* sp and *Gibberella* sp were found in OSCC and OLK. At species level, *C. albicans*, *C. etchellsii* and *H. luteola* were enriched.

It is important to highlight that some studies in this review have found important differences in bacterial communities when comparing patients with different TNM stages. Yang C-Y *et al* [39] found that the species *S. mitis*, *H. parainfluenzae*, and *P. pasteri* were inversely associated with OSCC progression. In addition, the authors found that 9 out of the 10 bacteria that were identified in stage 4 were also enriched in OSCC stage 1 to stage 3. Takahashi A *et al* [25] found a negative correlation of the genera *Rothia* and T-stage progression. Collectively, these results indicated that specific pathogenic bacteria can have a significantly different expression in patients according to TNM.

### **Risk of bias of studies**

Twenty-four studies had a low risk of bias, followed by 2 studies with a moderate risk and 2 studies with a high risk. Studies that did not analyze the data with sufficient coverage of the identified sample received the score “Not applicable” in item 5, following the recommendations of the “Joanna Briggs Institute Critical Appraisal Checklist for Diagnostic Test Accuracy Studies” (table 4).

## **DISCUSSION**

Tumor microenvironment (TME) has a critical role on cancer development and progression [51]. The understanding on how microbiota affects carcinogenesis and tumor cell



behavior emerges as an important factor for patient prognosis or treatment, as observed in the relationship of *Helicobacter pylori* and gastric cancer [52, 53]. In this systematic review, we observe several bacterial candidates that could potentially play a role on oral cancer development pathways as well as on its progression.

There are several pitfalls to the analysis of the role of microbiota on oral cancer. The “native oral microbiota” varies from individual to individual and it is influenced by gender [3], personal habits [54, 55, 56], oral hygiene [57, 58] and the presence of other oral diseases that generate a state of dysbiosis [11]. In addition, the origin of the samples affects the outcome, since saliva is directly in contact with the tumor, and contains bacteria from various intraoral surfaces [59, 60], while microbiota of the tumor and adjacent tissue allows better comparisons in the same individual or among patients. Furthermore, there is a controversy about the most efficient hypervariable region for phylogenetic analysis and taxonomic classification [61, 62] that can cause divergence in the outcomes. Herein, we observed several discrepancies regarding individual data, variability on sample source and technologies used. More importantly, few studies (n=7) correlated the microbiota data with demographic and/or more individualistic factors (e.g.: TNM and clinical stage), which highlights the need for integrative data analysis in order to address the connection of microbiota with carcinogenesis.

Despite the above-mentioned limitations, this systematic review showed a group of microorganisms is enriched on cancer-associated samples, such as *Campylobacter* sp, *Capnocytophaga* sp, *Fusobacterium* sp, *Gemella* sp, *Porphyromonas* sp, *Prevotella* sp, *Pseudomonas* sp and *Streptococcus* sp. However, it is still unclear whether this microbial change is induced by the TME *per se*, or whether the enriched abundance of those microorganisms led to tumor development. Although we recognize the individual differences on microbiome composition, it seems that a group of microorganisms may be associated to TME. Moreover, some bacteria seems to be enriched on more advanced lesions. Therefore, the identification of such microorganisms might shed light on potential microbial biomarkers that could be used for oral cancer diagnosis and for lesion monitoring.

A possible mechanism by which microbiota could affect carcinogenesis is a direct effect on signaling pathways. Studies show that species *P. gingivalis* and *F. nucleatum* may be involved in pathways that promote oral cancer [63, 64, 65, 66, 67, 68]. In this systematic review, studies reported *P. gingivalis* increased in OSCC and OSCC/OLK, and also reported an increased abundance of *Fusobacterium* sp (i.e. *F. nucleatum* ssp) on oral cancer. The bacteria-related phenotypes in tumor cell include increased cell proliferation and expression of oncogenes, activation of pro inflammatory factors (NF-KB), MAP14 and MAP18 and NF-KB1

[63, 69], control of the cell cycle through cyclins [63, 70] or the negative regulation of kinases (Chk2 aurora A, CK1delta and CK1epsilon) interfering with p53 [63, 71], production of IL-6 that leads to the activation of STAT 3 and an increase in the cyclin factor D1 [63, 72] (Figure 3).

Bacteria may also be involved in apoptosis, since they are related to activation of receptors (B7-H1), leading to apoptosis of activated T cells [63, 73], in tumor cells and increased presence of Toll-like receptors (TLR) 2 induces the expression of miR-146a- 5p [63]. Besides that, TLR2 receptor, that are essential for the modulation of the immune system, detects bacterial LPS (lipopolysaccharide), present in the outer membrane of Gram-negative bacteria (such as *Campylobacter* sp, *Capnocytophaga* sp, *Fusobacterium* sp, *Porphyromonas* sp, *Prevotella* sp and *Pseudomonas* sp), which were enriched on oral cancer patients (Figure 2A). An increased circulation of LPS can cause chronic inflammation [74]. TLRs have been associated with cancer, by increasing cell proliferation, invasiveness, and angiogenesis [74]. In an *in vitro* study, interactions between OSCC cells, monocytes and LPS consistently stimulate the production of IL-6 and VEGF, and LPS can directly stimulate cancer supporting factors and chemoattractants [75]. TLR 2 induces the expression of miR-146a- 5p [63] which suppresses the apoptosis regulatory molecule CARD10 [63, 76]. In addition, the activation of Snail and Twist and decrease of E-cadherin was observed [63, 77] indicating a role during epithelium to mesenchyme transition [78]. Altogether, these evidences suggest a potential role of Gram-negative microorganisms on tumor cell behavior and, consequently, their impact on clinical outcomes (Figure 3).

TME is formed by a variety of non-mutated cells (i.e. fibroblasts, neutrophils, macrophages, lymphocytes) and extracellular matrix (ECM) that play an important role in the process of carcinogenesis [79, 80]. It is possible that microbiota will affect carcinogenesis indirectly, by modulating TME and the release of cytotoxic substances [81]. Bacteria-related changes on MMP-2, MMP-3 and MMP-9 results in ECM [63] and, consequently, contributes to tumor invasion and metastasis. *P. gingivalis* ssp and *F. nucleatum* ssp increase the production of IL-6 that induces the formation of VEGF, and activates the JAK/STAT pathway important for angiogenesis [63], which is essential for tumor growth. Oral bacteria further inhibit the phagocytosis of tumor cells by macrophage as well as lead to a pro-tumor macrophage polarization (M2) [63]. Overtime, these indirect effects of microbiota could result in carcinogenesis (Figure 3).

Effects from external factors might cause a positive loop favoring a pro-tumor microbiota (Figure 3). Alcohol *per se* is not considered a carcinogenic substance, but the

metabolism of alcohol into acetaldehyde derived from certain types of bacteria have a high carcinogenic power [82] (Figure 3). Tobacco-related changes on oral microbiota affect functional pathways such as carbohydrate, energy and xenobiotic metabolism [54, 83] and initiate the formation of reactive oxygen and carcinogenic substances on TME and tumor cells [84]. Periodontal diseases may also have an influence in precancerous lesions and oral neoplasms by breaking the mucosal barrier that enhanced the penetration of carcinogens such as tobacco and alcohol and the cellularity in blood vessels and connective tissue in chronic inflammation [84, 86].

Although our central focus in this review was the bacterial profile of the oral microbiota in relation to cancer, changes on the fungal oral environment also were observed. Perera *et al* noted that the genus *Candida* sp was overexpressed in OSCC [38]. Amer *et al.* also noted an increase in the *Candida* genus in OLK patients compared to healthy controls [59]. According to Sanjaya P.R *et al*, the nitrosation potential of the *Candida albicans* ssp results in production of carcinogenic nitrosamine, thus pre-disposing the oral epithelium to dysplastic changes leading to carcinoma [87]. In addition, the integrity of the oral mucosa and tobacco-smoking habits might enhance the virulence of the organism, suggesting that the species *C. albicans* in conjunction with tobacco usage enhances the process of carcinogenesis [87].

In conclusion, we observed that groups of microorganisms are enriched on patients diagnosed with oral cancer. However, we point out that defining oral bacteria as an independent risk factor for oral cancer development is still not accurate, mainly due to methodological divergence in the studies. For instance, more advanced studies assessing the role of oral microorganisms on tumor development are still needed. Nonetheless, certain oral microorganisms probably induced by other risk factors have the ability to affect oral cancer progression and they may be considered in the near future as potential complementary methods for early diagnosis, prognosis and more effective treatments.

### **Role of the funding sources**

Funding agencies were not involved in research development.

### **Funding**

This study was financed by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001 (scholarship recipient: Diel LF), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil (CNPq) – (424973/2018-9) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - Brasil (FAPERGS)

(FAPERGS/MS/CNPq/SESRS n.03/2017 – PPSUS - 17/2551-0001, 477-4. 17/2551-0001, 477-4). Funding agencies had no involvement in the experimental design.

### **Declaration of Competing Interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

### **REFERENCES**

1. The cancer atlas, T.C.A. The Burden of Cancer [Online]. Available from: <https://canceratlas.cancer.org/the-burden/the-burden-of-cancer>. [accessed 05 december 2021]
2. Sugerma P, Joseph B, Savage N. The role of oncogenes, tumour suppressor genes and growth factors in oral squamous cell carcinoma: a case of apoptosis versus proliferation. *Oral diseases*. 1995;1(3):172-88. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.1995.tb00181.x>
3. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2005;55(2):74-108. <https://doi.org/10.3322/canjclin.55.2.74>
4. Barnes L, Eveson JW, Sidransky D, Reichart P. Pathology and genetics of head and neck tumours: IARC; 2005.
5. Albuquerque RP, Richards A. Squamous-cell carcinoma of the tongue. *N Engl J Med*. 2016;374(25):e32. <https://doi.org/10.1056/NEJMicm1513456>
6. Zini A, Czerninski R, Sgan-Cohen HD. Oral cancer over four decades: epidemiology, trends, histology, and survival by anatomical sites. *Journal of oral pathology & medicine*. 2010;39(4):299-305. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2009.00845.x>
7. Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral oncology*. 2009;45(4-5):309-16. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2008.06.002>
8. Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2010;19(8):1893-907. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0437>
9. Gupta S, Gupta S. Role of human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma and oral potentially malignant disorders: A review of the literature. *Indian journal of dentistry*. 2015;6(2):91. <https://doi.org/10.4103/0975-962X.155877>
10. Perera M, Al-hebshi NN, Speicher DJ, Perera I, Johnson NW. Emerging role of bacteria in oral carcinogenesis: a review with special reference to perio-pathogenic bacteria. *Journal of oral microbiology*. 2016;8(1):32762. <https://doi.org/10.3402/jom.v8.32762>

11. Kumar M, Nanavati R, Modi TG, Dobariya C. Oral cancer: Etiology and risk factors: A review. *Journal of cancer research and therapeutics*. 2016;12(2):458. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.186696>
12. Johnson N. Tobacco use and oral cancer: a global perspective. *Journal of dental education*. 2001;65(4):328-39. <https://doi.org/10.1002/j.0022-0337.2001.65.4.tb03403.x>
13. Healy CM, Moran GP. The microbiome and oral cancer: more questions than answers. *Oral Oncology*. 2019;89:30-3. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2018.12.003>
14. Huttenhower C, Gevers D, Knight R, Abubucker S, Badger JH, Chinwalla AT, *et al*. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *nature*. 2012;486(7402):207. <https://doi.org/10.1038/nature11234>
15. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu W-H, *et al*. The human oral microbiome. *Journal of bacteriology*. 2010;192(19):5002-17. <https://doi.org/10.1128/JB.00542-10>
16. Edgar W. Saliva: its secretion, composition and functions. *British dental journal*. 1992;172(8):305-12 <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4807861>
17. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of prosthetic dentistry*. 2001;85(2):162-9. <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>
18. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological research*. 2013;69(1):137-43. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006>
19. Bik EM, Long CD, Armitage GC, Loomer P, Emerson J, Mongodin EF, *et al*. Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. *The ISME journal*. 2010;4(8):962-74. <http://doi.org/10.1038/ismej.2010.30>
20. Hong B-Y, Furtado Araujo MV, Strausbaugh LD, Terzi E, Ioannidou E, Diaz PI. Microbiome Profiles in Periodontitis in Relation to Host and Disease Characteristics. *PLoS ONE*. 2015;10:e0127077. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0127077>
21. Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol*. 2014;63(2):127-3
22. Morgan, R. L., Whaley, P., Thayer, K. A., & Schünemann, H. A. (2018). Identifying the PECO: A framework for formulating good questions to explore the association of environmental and other exposures with health outcomes. *Environment International*, 121, 1027–1031.
23. Zhang Z, Yang J, Feng Q, Chen B, Li M, Liang C, *et al*. Compositional and Functional Analysis of the Microbiome in Tissue and Saliva of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10(1439). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01439>

24. Hashimoto K, Shimizu D, Hirabayashi S, Ueda S, Miyabe S, Oh-iwa I, *et al.* Changes in oral microbial profiles associated with oral squamous cell carcinoma vs leukoplakia. *Journal of investigative and clinical dentistry*. 2019;10(4):e12445. <https://doi.org/10.1111/jicd.12445>
25. Takahashi Y, Park J, Hosomi K, Yamada T, Kobayashi A, Yamaguchi Y, *et al.* Analysis of oral microbiota in Japanese oral cancer patients using 16S rRNA sequencing. *Journal of Oral Biosciences*. 2019;61(2):120-8. <https://doi.org/10.1016/j.job.2019.03.003> 1349-0079
26. Decsi G, Soki J, Pap B, Dobra G, Harmati M, Kormondi S, *et al.* Chicken or the Egg: Microbial Alterations in Biopsy Samples of Patients with Oral Potentially Malignant Disorders. *Pathology & Oncology Research*. 2019;25(3):1023-33. <https://doi.org/10.1007/s12253-018-0457-x>
27. Perera M, Al-hebshi NN, Perera I, Ipe D, Ulett GC, Speicher DJ, *et al.* A dysbiotic mycobioime dominated by *Candida albicans* is identified within oral squamous-cell carcinomas. *Journal of Oral Microbiology*. 2017;9(1):1385369. <https://doi.org/10.1080/20002297.2017.1385369>
28. Börnigen D, Ren B, Pickard R, Li J, Ozer E, Hartmann EM, *et al.* Alterations in oral bacterial communities are associated with risk factors for oral and oropharyngeal cancer. *Scientific Reports*. 2017;7(1):17686. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17795-z>
29. Li Y, Tan X, Zhao X, Xu Z, Dai W, Duan W, *et al.* Composition and function of oral microbiota between gingival squamous cell carcinoma and periodontitis. *Oral Oncology*. 2020;107:104710 <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2020.104710> R
30. Pushalkar S, Ji X, Li Y, Estilo C, Yegnanarayana R, Singh B, *et al.* Comparison of oral microbiota in tumor and non-tumor tissues of patients with oral squamous cell carcinoma. *BMC Microbiology*. 2012;12(1):144. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-144>
31. Hooper SJ, Crean S-J, Fardy MJ, Lewis MAO, Spratt DA, Wade WG, *et al.* A molecular analysis of the bacteria present within oral squamous cell carcinoma. *Journal of Medical Microbiology*. 2007;56(12):1651-9. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46918-0>
32. Lee W-H, Chen H-M, Yang S-F, Liang C, Peng C-Y, Lin F-M, *et al.* Bacterial alterations in salivary microbiota and their association in oral cancer. *Scientific Reports*. 2017;7(1):16540 <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16418-x>
33. 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. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019;103(3):1393-404. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9475-6>
34. 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098741>

35. Yang S-F, Huang H-D, Fan W-L, Jong Y-J, Chen M-K, Huang C-N, *et al.* Compositional and functional variations of oral microbiota associated with the mutational changes in oral cancer. *Oral Oncology*. 2018;77:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2017.12>.
36. Mukherjee PK, Wang H, Retuerto M, Zhang H, Burkey B, Ghannoum MA, *et al.* Bacteriome and mycobiome associations in oral tongue cancer. *Oncotarget*. 2017;8(57):97273-89.. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21921>
37. Yost S, Stashenko P, Choi Y, Kukuruzinska M, Genco CA, Salama A, *et al.* Increased virulence of the oral microbiome in oral squamous
38. Cell carcinoma revealed by metatranscriptome analyses. *International Journal of Oral Science*. 2018;10(4):32. <https://doi.org/10.1038/s41368-018-0037-7>
39. Perera M, Al-Hebshi NN, Perera I, Ipe D, Ulett GC, Speicher DJ, *et al.* Inflammatory Bacteriome and Oral Squamous Cell Carcinoma. *Journal of dental research*. 2018;97(6):725-32. <https://doi.org/10.1177/0022034518767118>
40. Yang C-Y, Yeh Y-M, Yu H-Y, Chin C-Y, Hsu C-W, Liu H, *et al.* Oral Microbiota Community Dynamics Associated With Oral Squamous Cell Carcinoma Staging. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9(862). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.008627>.
41. 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. *International Journal of Cancer*. 2019;145(3):775-84. <https://doi.org/10.1002/ijc.32152>
42. Al-hebshi NN, Nasher AT, Maryoud MY, Homeida HE, Chen T, Idris AM, *et al.* Inflammatory bacteriome featuring *Fusobacterium nucleatum* and *Pseudomonas aeruginosa* identified in association with oral squamous cell carcinoma. *Scientific Reports*. 2017;7(1):1834. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02079-3>
43. Pushalkar S, Mane SP, Ji X, Li Y, Evans C, Crasta OR, *et al.* Microbial diversity in saliva of oral squamous cell carcinoma. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2011;61(3):269-77. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00773.x>.
44. Zhao H, Chu M, Huang Z, Yang X, Ran S, Hu B, *et al.* Variations in oral microbiota associated with oral cancer. *Scientific Reports*. 2017;7(1):11773. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11779-9>
45. Hooper SJ, Crean SJ, Lewis MAO, Spratt DA, Wade WG, Wilson MJ. Viable Bacteria Present within Oral Squamous Cell Carcinoma Tissue. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006;44(5):1719-25. <https://doi.org/doi:10.1128/JCM.44.5.1719-1725.2006>

46. Mager DL, Haffajee AD, Devlin PM, Norris CM, Posner MR, Goodson JM. The salivary microbiota as a diagnostic indicator of oral cancer: A descriptive, non-randomized study of cancer-free and oral squamous cell carcinoma subjects. *Journal of Translational Medicine*. 2005;3(1):27. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-3-27>
47. 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. *The Malaysian journal of pathology*. 2017;39(1):1-15.
48. Hsiao J-R, Chang C-C, Lee W-T, Huang C-C, Ou C-Y, Tsai S-T, *et al*. The interplay between oral microbiome, lifestyle factors and genetic polymorphisms in the risk of oral squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis*. 2018;39(6):778-87. <https://doi.org/doi:10.1093/carcin/bgy053>
49. Amer A, Galvin S, Healy CM, Moran GP. The Microbiome of Potentially Malignant Oral Leukoplakia Exhibits Enrichment for *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Campylobacter*, and *Rothia* Species. *Front Microbiol*. 2017;8:2391 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02391>
50. Zhang L, Liu Y, Zheng HJ, Zhang CP. The Oral Microbiota May Have Influence on Oral Cancer. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2020;9:476-  
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00476>
51. Lim Y, Fukuma N, Totsika M, Kenny L, Morrison M, Punyadeera C. The Performance of an Oral Microbiome Biomarker Panel in Predicting Oral Cavity and Oropharyngeal Cancers. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2018;8(267). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00267>
52. Mbeunkui F, Johann DJ. Cancer and the tumor microenvironment: a review of an essential relationship. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2009; 63(4):571-82.
53. Espinoza JL, Matsumoto A, Tanaka H, Matsumura I. Gastric microbiota: An emerging player in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancies. *Cancer letters*. 2018;414:147-52.
54. Kienesberger S, Cox LM, Livanos A, Zhang X-S, Chung J, Perez-Perez GI, *et al*. Gastric *Helicobacter pylori* infection affects local and distant microbial populations and host responses. *Cell reports*. 2016;14(6):1395-407.
55. Lin W-J, Jiang R-S, Wu S-H, Chen F-J, Liu S-A. Smoking, Alcohol, and Betel Quid and Oral Cancer: A Prospective Cohort Study. *Journal of Oncology*. 2011;2011:525976. <https://doi.org/10.1155/2011/525976>
56. Meurman JH. Infectious and dietary risk factors of oral cancer. *Oral Oncology*. 2010;46(6):411-3. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2010.03.003>



57. Signoretto C, Canepari P, Stauder M, Vezzulli L, Pruzzo C. Functional foods and strategies contrasting bacterial adhesion. *Current opinion in biotechnology*. 2012;23(2):160-7. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.006>
58. Gupta B, Bray F, Kumar N, Johnson NW. Associations between oral hygiene habits, diet, tobacco and alcohol and risk of oral cancer: A case–control study from India. *Cancer Epidemiology*. 2017;51:7-14. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2017.09.003>
59. Marques LA, Eluf-Neto J, Figueiredo RAO, Góis-Filho JFd, Kowalski LP, Carvalho MBd, *et al*. Oral health, hygiene practices and oral cancer. *Revista de Saúde Pública*. 2008;42:471-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102008000300012>.
60. Lee W-H, Chen H-M, Yang S-F, Liang C, Peng C-Y, Lin F-M, *et al*. Bacterial alterations in salivary microbiota and their association in oral cancer. *Scientific Reports*. 2017;7(1):16540. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16418-x>
61. Takeshita T, Kageyama S, Furuta M, Tsuboi H, Takeuchi K, Shibata Y, *et al*. Bacterial diversity in saliva and oral health-related conditions: the Hisayama Study. *Scientific Reports*. 2016;6(1):22164. <https://doi.org/10.1038/srep22164>
62. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutrition reviews*. 2012;70 Suppl 1(Suppl 1):S38-44. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x>.
63. Lazarevic V, Whiteson K, Huse S, Hernandez D, Farinelli L, Østerås M, *et al*. Metagenomic study of the oral microbiota by Illumina high-throughput sequencing. *Journal of Microbiological Methods*. 2009;79(3):266-71. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.09.012>
64. Li, Q.; Hu, Y.; Zhou, X.; Liu, S.; Han, Q.; Cheng, L. Role of Oral Bacteria in the Development of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Cancers* **2020**, *12*, 2797. <https://doi.org/10.3390/cancers12102797>
65. 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;6(26):22613-23. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4209>
66. Inaba H, Sugita H, Kuboniwa M, Iwai S, Hamada M, Noda T, *et al*. *Porphyromonas gingivalis* promotes invasion of oral squamous cell carcinoma through induction of proMMP9 and its activation. *Cellular Microbiology*. 2014;16(1):131-45. <https://doi.org/10.1111/cmi.12211>
67. Sun C-H, Li B-B, Wang B, Zhao J, Zhang X-Y, Li T-T, *et al*. The role of *Fusobacterium nucleatum* in colorectal cancer: from carcinogenesis to clinical management. *Chronic Diseases and Translational Medicine*. 2019;5(3):178-87. <https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2019.09.001>

68. Bennett KW, Eley A. Fusobacteria: New taxonomy and related diseases. *Journal of Medical Microbiology*. 1993;39(4):246-54. <https://doi.org/10.1099/00222615-39-4-246>
69. 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;6(26):22613-23. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4209>
70. Groeger S, Jarzina F, Domann E, Meyle J. Porphyromonas gingivalis activates NFκB and MAPK pathways in human oral epithelial cells. *BMC Immunology*. 2017;18(1):1. <https://doi.org/10.1186/s12865-016-0185-5>
71. Kuboniwa M, Hasegawa Y, Mao S, Shizukuishi S, Amano A, Lamont RJ, *et al.* P. gingivalis accelerates gingival epithelial cell progression through the cell cycle. *Microbes and Infection*. 2008;10(2):122-8. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.10.011>
72. Vousden KH. Outcomes of p53 activation - spoilt for choice. *Journal of Cell Science*. 2006;119(24):5015-20. <https://doi.org/10.1242/jcs.03293>
73. Huang J-S, Yao C-J, Chuang S-E, Yeh C-T, Lee L-M, Chen R-M, *et al.* Honokiol inhibits sphere formation and xenograft growth of oral cancer side population cells accompanied with JAK/STAT signaling pathway suppression and apoptosis induction. *BMC Cancer*. 2016;16(1):245. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2265-6>
74. Groeger S, Domann E, Gonzales JR, Chakraborty T, Meyle J. B7-H1 and B7-DC receptors of oral squamous carcinoma cells are upregulated by Porphyromonas gingivalis. *Immunobiology*. 2011;216(12):1302-10. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2011.05.005>
75. Pisani LP, Estadella D, Ribeiro DA. The Role of Toll Like Receptors (TLRs) in Oral Carcinogenesis. *Anticancer research*. 2017;37(10):5389-94. <https://doi.org/10.21873/anticancer.11965>
76. Kurago ZB, Lam-ubol A, Stetsenko A, De La Mater C, Chen Y, Dawson DV. Lipopolysaccharide-Squamous Cell Carcinoma-Monocyte Interactions Induce Cancer-Supporting Factors Leading to Rapid STAT3 Activation. *Head and Neck Pathology*. 2008;2(1):1-12. <https://doi.org/10.1007/s12105-007-0038-x>
77. Hofmann K, Bucher P, Tschopp J. The CARD domain: a new apoptotic signalling motif. *Trends in biochemical sciences*. 1997;22(5):155-6. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(97\)01043-8](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(97)01043-8)
78. Wu Y, Zhou BP. Snail. *Cell Adhesion & Migration*. 2010;4(2):199-203. <https://doi.org/10.4161/cam.4.2.10943>

79. Abdulkareem AA, Shelton RM, Landini G, Cooper PR, Milward MR. Periodontal pathogens promote epithelial-mesenchymal transition in oral squamous carcinoma cells in vitro. *Cell Adhesion & Migration*. 2018;12(2):127-37. <https://doi.org/10.1080/19336918.2017.1322253>
80. Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumour-host interface. *Nature*. 2001;411(6835):375-9. <https://doi.org/10.1038/35077241>
81. Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2006;6(5):392-401. <https://doi.org/10.1038/nrc1877>
82. Zhang Y, Wang X, Li H, Ni C, Du Z, Yan F. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;99:883-93. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.146>
83. Moritani K, Takeshita T, Shibata Y, Ninomiya T, Kiyohara Y, Yamashita Y. Acetaldehyde production by major oral microbes. *Oral Dis*. 2015;21(6):748-54. <https://doi.org/10.1111/odi.12341>
84. Wu J, Peters BA, Dominianni C, Zhang Y, Pei Z, Yang L, *et al*. Cigarette smoking and the oral microbiome in a large study of American adults. *The ISME Journal*. 2016;10(10):2435-46. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.37>
85. Karpiński TM. Role of oral microbiota in cancer development. *Microorganisms*. 2019;7(1):20. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010020>
86. Tezal M, Sullivan MA, Hyland A, Marshall JR, Stoler D, Reid ME, *et al*. Chronic periodontitis and the incidence of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer epidemiology and prevention biomarkers*. 2009;18(9):2406-12. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-09-0334>
87. Tezal M, Sullivan MA, Reid ME, Marshall JR, Hyland A, Loree T, *et al*. Chronic periodontitis and the risk of tongue cancer. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2007;133(5):450-4. <https://doi.org/doi:10.1001/archotol.133.5.450>
88. Sanjaya P, Gokul S, Patil BG, Raju R. Candida in oral pre-cancer and oral cancer. *Medical hypotheses*. 2011;77(6):1125-8. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2011.09.018>.

AUTHOR/ YEAR	TUMOR	COUNTRY	AGE (years)	GENDER	ORAL STATUS	HABITS			
						SMOKE	DRINK	BETEL	DIET
<b>Al-hebshi, N et al</b> [41] (2017)	OSCC	Yemen	(mean±SD) T= 53.6±10.4 C= 52.3±8.9	M/F	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>Amer, A et al</b> [48] (2017)	OLK	Ireland	(mean age) OLK= 60.6 C= 50.3	M/F	yes	yes	yes	N/A	N/A
<b>Boernigen, D et al</b> [28] (2017)	OSCC	USA	(age mean) N= 58	M/F	yes	yes	Yes	N/A	N/A
<b>Chang, C et al</b> [33] (2018)	OSCC		(mean±SD) N= 57.4±10.4	N/A	N/A	yes	Yes	N/A	N/A
<b>Decsi, G et al</b> [26] (2018)	OPMD*	Hungary	(age mean) T= 66.8	M/F	yes	yes	yes	N/A	N/A
<b>Ganly, I et al</b> [40] (2019)	OSCC		(mean±SD) T= 59.8±10.9 C= 44.4±15.6	N/A	N/A	yes	yes	N/A	N/A
<b>Hashimoto, K et al</b> [24] (2019)	OSCC/OLK	Japan	(age mean) T= 50,6 C= 31 OLK= 58.3	M/F	N/A	Yes	No	N/A	N/A
<b>Hooper, S et al</b> [44] (2006)	OSCC	United Kingnton	(mean±SD) 66.9±12.7	M/F	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>Hooper, S et al</b> [31] (2007)	OSCC	United Kingnton	(mean±SD) N= 65.3±9.8	M/F	N/A	yes	yes	N/A	N/A
<b>Hsiao, J-R et al</b> [47] (2018)	OSCC	Taiwan	(mean±SD) DG/VG: T= 54.7±1.2/ 53.4±1.3 DG/VG: C= 56.0±0.9/ 54.1±1.2	M	yes	Yes	Yes	yes	N/A

<b>Lee, W-H <i>et al</i> [32] (2017)</b>	OSCC	Taiwan	(mean±SD) T= 53±10 C= 52±14	M/F	N/A	yes	N/A	yes	N/A
<b>Li Y <i>et al</i> [29] (2020)</b>	GSCC	China	(mean±SD) T= 61±9.49 C= 60.87±7.04	M/F	yes	yes	Yes	N/A	N/A
<b>Lim, Y <i>et al</i> [50] (2018)</b>	OCC, OPC	Australia	(age mean) T= 65 C= (Y: 26/ E: 61/ HR: 59)	M/F	yes	yes	Yes	N/A	N/A
<b>Mager, D <i>et al</i> [45] (2005)</b>	OSCC	USA	(mean±SD) T=57.6±2.34 C=42.06±1.04	M/F	N/A	yes	N/A	N/A	N/A
<b>Mok, S <i>et al</i> [46] (2017)</b>	OSCC/OPMD	China	(age mean) DG/VG: T= 60 OPMD= 54 C= 40	M/F	N/A	yes	Yes	N/A	N/A

Table 1: Demographic aspects of studies:

Table 2: (continued)

<b>Mukherjee, P <i>et al</i> [36] (2017)</b>	OMTC	USA	(mean±SD) N= 60.5±13.2	M/F	N/A	yes	Yes	N/A	N/A
<b>Perera, M <i>et al</i> [27] (2017)</b>	OSCC	Sri Lanka	(mean±SD) T= 61.00±9.5 C= 50.58±13.5	M	yes	yes	Yes	yes	N/A
<b>Perera, M <i>et al</i> [38] (2018)</b>	OSCC	Sri Lanka	(mean±SD) T= 61.00±9.5 C= 50.58±13.5	M	yes	yes	Yes	N/A	N/A
<b>Pushalkar, S <i>et al</i> [42] (2011)</b>	OSCC	USA	(mean age) N> 50years	M	N/A	yes	yes	N/A	N/A
<b>Pushalkar, S <i>et al</i> [30] (2012)</b>	OSCC	USA	(age mean) N=59	M/F	N/A	yes	Yes	N/A	N/A
<b>Schmidt, B <i>et al</i> [34] (2014)</b>	OSCC	USA	(mean age) DCCPC= 69.2 CCCPC= 59	M/F	N/A	yes	Yes	N/A	N/A

<b>Takahashi, Y <i>et al</i></b> <b>[25]</b> <b>(2019)</b>	OSCC	Japan	T= N/A C= > 40	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>Yang, C-Y <i>et al</i></b> [39] <b>(2018)</b>	OSCC	Taiwan	(mean±SD) C= 31.2±8.6 T= (stage 1): 53.7±9.4 (stage 2): 54.5±11.9 (stage 3): 52.3±9.0	M/F	N/A	yes	Yes	yes	N/A
<b>Yang, S-F <i>et al</i></b> [35] <b>(2017)</b>	OSCC	Taiwan	(mean age) N=53	M/F	N/A	yes	Yes	yes	N/A
<b>Yost, S <i>et al</i></b> [37] <b>(2018)</b>	OSCC	USA	(range of age) 40–64	M	N/A	N/A	no	N/A	N/A
<b>Zhang, L <i>et al</i></b> [49] <b>(2020)</b>	OSCC	China	(mean age) N= 61	M/F	N/A	yes	Yes	yes	N/A
<b>Zhao, H <i>et al</i></b> [43] <b>(2017)</b>	OSCC	Japan	(mean age) N= 62	M/F	yes	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>Zhang, Z <i>et al</i></b> [23] <b>(2019)</b>	OSCC	China	(mean age) N=58	N/A	N/A	yes	Yes	N/A	N/A

**TABLE 2:** (continued)

\* N= population size. T= tumor patients. C= control. M= masculine. F= feminine. N/A= not available. Mean±SD= *mean* and *standard deviation*. DG= discovery group. VG= validation group. Y= young. E= elderly. HR= high risk. DCCPC= discovery cohort cancer patient characteristics. CCCPC= conformation cohort cancer patient characteristics. OSCC= *oral squamous cell carcinoma*. OLK= oral leukoplakia. OPMD= *oral* potentially malignant disorder. OCC= *oral cavity* cancer. OPC= oropharyngeal cancer. GSCC= gingival squamous cell carcinoma. OMTC = oral mucosa and tongue *cancer*.

AUTHOR/ YEAR	COHORT DATA		METHODOLOGY	TUMOR DATA		
	sample type	comparative groups		type	TNM	clinical stage
<b>Al-hebshi, N et al [41] (2017)</b>	tissue/epiteliun swabs	N= 20	16S rRNA amplicon sequencing. (V1-V3 region)	OSCC	N/A	N/A
<b>Amer, A et al [48] (2017)</b>	tissue	N= 36	16S rRNA amplicon sequencing. (V1-V2 region)	OLK	N/A	N/A
<b>Boernigen, D et al [28] (2017)</b>	Saliva	T: n= 25 C: n= 27	16S rRNA sequencing (V4 region)	OSCC	N/A	N/A
<b>Chang, C et al [33] (2018)</b>	Tissue /Subgingival plaque	N= 61	16S rRNA sequencing, (V3-V4 region), qPCR and fluorescence in situ hybridization.	OSCC	N/A	yes
<b>Decsi, G et al [26] (2018)</b>	tissue	N= 7	metagenome sequencing	OPMD	N/A	N/A
<b>Ganly, I et al [40] (2019)</b>	Saliva	T: n =18 C: n= 12	16S rRNA amplicon sequencing. (V3/V4 region)	OSCC	N/A	N/A
<b>Hashimoto, K et al [24] (2019)</b>	Saliva	T: n= 6 C: n= 4	16S rRNA sequencing (V4 region)	OSCC/OLK	N/A	yes
<b>Hooper, S et al [44] (2006)</b>	Tissue	N= 20	16S rRNA amplicon sequencing	OSCC	N/A	N/A
<b>Hooper, S et al [31] (2007)</b>	Tissue	N= 10	fluorescent in situ hybridization with the universal oligonucleotide probe /16S rRNA sequencing	OSCC	N/A	N/A
<b>Hsiao, J-R et al [47] (2018)</b>	Saliva	T: n= 138 C: n= 151	16S rRNA sequencing (V4 region)	OSCC	N/A	N/A
<b>Lee, W-H et al [32] (2017)</b>	Saliva	T: n= 125 C: n = 127	16S rRNA sequencing (V4 region)	OSCC	yes	N/A
<b>Li Y et al [29] (2020)</b>	Saliva, subgingival plaque, tissue	T: n= 10 C: n= 15	16S rRNA amplicon sequencing. (V3/V4 region)	GSCC	yes	N/A
<b>Lim, Y et al [50] (2018)</b>	Saliva	T: n= 52 C: n=40	16S rRNA amplicon sequencing. (V6/V8 region)	OCC/OPC	N/A	yes

**Table 2:** Cohort, methodological approach and tumor data

TABLE 2 (Continued)

\* N= population size. n= sample size. T= tumor patients. C= control. 16S rRNA= 16S ribosomal RNA. N/A= not

<b>Mager, D et al</b> [45] (2005)	Saliva	T: n= 45 C: n= 229	checkerboard DNA - DNA hybridization	OSCC	N/A	N/A
<b>Mok, S et al</b> [46] (2017)	Saliva	T: n= 9 OMPD: n= 9 C: n= 9	16S rRNA sequencing (V4 region)	OSCC/OMPD	N/A	N/A
<b>Mukherjee, P et al</b> [36] (2017)	Tissue	T: n= 53 C: n= 40	16S rRNA sequencing (V4 region)	OMTC	N/A	yes
<b>Perera, M et al</b> [27] (2017)	Tissue	T: n= 25 C: n= 27	DNA sequenced for the fungal internal transcribed spacer 2 region using Illumina™ 2 x300bp chemistry.	OSCC	Yes	N/A
<b>Perera, M et al</b> [38] (2018)	Tissue	T: n= 25 C: n=27	16S rRNA amplicon sequencing. (V1-V3 region)	OSCC	N/A	N/A
<b>Pushalkar, S et al</b> [42] (2011)	Saliva	N= 3	16S rRNA amplicon sequencing (V4/V5 region)	OSCC	N/A	N/A
<b>Pushalkar, S et al</b> [30] (2012)	Tissue	N= 10	16S rRNA amplicon sequencing (V4/V5 region)	OSCC	N/A	yes
<b>Schmidt, B et al</b> [34] (2014)	Tissue	N=3	16S rRNA sequencing (V4 region)	OSCC	yes	N/A
<b>Takahashi, Y et al</b> [25] (2019)	Saliva	T: n= 60 C: n= 80	16S rRNA amplicon sequencing. (V3/V4 region)	OSCC	yes	N/A
<b>Yang, C-Y et al</b> [39] (2018)	Saliva	T: n=197 C: n= 51	16S rRNA amplicon sequencing. (V3/V4 region)	OSCC	yes	N/A
<b>Yang, S-F et al</b> [35] (2017)	Saliva	N= 39	16S rRNA sequencing (V4 region)	OSCC	yes	yes
<b>Yost, S et al</b> [37] (2018)	Saliva	N= 15	metatranscriptome analysis	OSCC	N/A	N/A
<b>Zhang, L et al</b> [49] (2020)	tissue	N= 50	16S rRNA amplicon sequencing (V3/V4 region)	OSCC	N/A	yes
<b>Zhao, H et al</b> [43] (2017)	tissue	N= 40	16S rRNA amplicon sequencing. (V4/V5 region)	OSCC	N/A	N/A
<b>Zhang, Z et al</b> [23] (2019)	Tissue and saliva	N= 30	16S rRNA amplicon sequencing. (V1 / v2 region)	OSCC	N/A	yes

available. TNM= classification of malignant tumours. OSCC= oral squamous cell carcinoma. OLK= oral leukoplakia. OPMD= oral potentially malignant disorder. GSCC= gingival squamous cell carcinoma. OCC=



oral cavity cancer. OPC= oropharyngeal cancer. OMTC= oral mucosa and tongue cancer. qPCR= quantitative polymerase chain reaction. DNA= deoxyribonucleic acid.

**Table 3:** Main microbial outcomes

AUTHOR/ YEAR	SAMPLE TYPE AND TUMOR	MAIN MICROBIAL OUTCOME
Al-hebshi, N <i>et al</i> [41] (2017)	tissue epiteliun swabs OSCC	<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>polymorphum</i> overrepresented in the tumors followed by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Campylobacter</i> spp. Oral taxon 44. <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Rothia mucilaginosa</i> and <i>Haemophilus parainfluenzae</i> significantly decreased
Amer, A <i>et al</i> [48] (2017)	tissue OLK	Increase abundance of Fusobacteria and reduced levels of Firmicutes. <i>Candida</i> spp colonization more abundant in leukoplakia patients than Five distinct bacterial clusters were discerned in OLK, exhibiting co-occurrence of <i>Fusobacterium</i> sp, <i>Leptotrichia</i> sp, and <i>Campylobacter</i> sp. Increased abundance of acetaldehydogenic microorganism <i>Rothia mucilaginosa</i> . Severe dysplasia- associated with elevated levels of <i>Leptotrichia</i> spp. and <i>Campylobacter concisus</i> ..
Boernigen, D <i>et al</i> [28] (2017)	Saliva OSCC	Oral microbiome in cancer cases and controls= changes in structure and in function. Genus <i>Dialister</i> spp - higher relative abundances in cancer. Actinomycetales and Lactobacillales were significantly under-represented in oral cancer
Chang, C <i>et al</i> [33] (2018)	Tissue Subgingival plaque OSCC	Periodontal pathogens were enriched in cancer and precancerous tissues= <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> and <i>Streptococcus sanguinis</i> (detected in 61 cancer tissues, precancerous tissues and subgingival plaque samples <i>P. gingivalis</i> and <i>F. nucleatum</i> existed at higher levels in cancer tissue than in healthy tissues
Decsi, G <i>et al</i> [26] (2018)	tissue OPMD	Healthy oral mucosa = phyla Firmicutes, Fusobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria and Bacteroidetes . OMPD= same phyla of health mucosa and the phyla Fibrobacteres and Spirochaetes were present . <i>Streptococcus mitis</i> decreased in the OPMD lesions compared to healthy tissue. <i>Fusobacterium nucleatum</i> , implicated in carcinogenesis, was elevated in OPMD
Ganly, I <i>et al</i> [40] (2019)	Saliva OSCC	OSCC- Increase <i>Fusobacterium</i> spp, <i>Prevotella</i> spp, <i>Alloprevotella</i> spp . Depletion: <i>Streptococcus</i> spp
Hashimoto, K <i>et al</i> [24] (2019)	Saliva OSCC OLK	Abundance of phyla Bacteroidetes and genus <i>Solobacterium</i> spp higher in the OSCC. In OLK. Genus <i>Streptococcus</i> spp were lower in OSCC group . Increase of abundance of <i>Porphyromonas gingivalis</i> in the OSCC and OLK , not detected in the healthy control group. <i>Streptococcus anginosus</i> detected in all 3 groups, but increasing tendency for higher abundance in the OSCC and OLK group than in health controls
Hooper, S <i>et al</i> [44] (2006)	Tissue OSCC	In tumor were found saccharolytic and acid-tolerant bacterial species.

Hooper, S <i>et al</i> [31] (2007)	Tissue	OSCC	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Sphingomonas</i> spp., <i>Streptococcus mitis/oralis</i> ., <i>Clavibacter michiganensis</i> <i>Granulicatella tessellarius</i> , <i>Fusobacterium naviforme</i> and <i>Ralstonia insidiosa</i> = detected more in the tumorous than non-tumorous samples. Most taxa in tumour tissue represented saccharolytic and aciduric species.
Hsiao, J-R <i>et al</i> [47] (2018)	Saliva	OSCC	<i>Prevotella. tanneriae</i> , <i>Fusobacterium. nucleatum</i> and <i>Prevotella. intermedia</i> , were associated with an increased OSCC risk.
Lee, W-H <i>et al</i> [32] (2017)	Saliva	OSCC	<i>Bacillus</i> spp, <i>Enterococcus</i> spp, <i>Parvimonas</i> spp, <i>Peptostreptococcus</i> spp, and <i>Slackia</i> spp= revealed significant differences between epithelial precursor lesion and cancer patients

**Table 3 :** (continued)

Li Y <i>et al</i> [29] (2020)	Saliva, subgingival plaque	GSCC	<i>Fusobacterium</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , and <i>Prevotella</i> = more abundant in cancerous tissues. <i>Streptococcus</i> , <i>Neisseria</i> , and <i>Haemophilus</i> = enriched in saliva or soft mucosa. In saliva and subgingival plaque= <i>Atopobium</i> more prevalent in GSCC than periodontitis and controls. <i>Atopobium</i> spp more prevalent in GSCC than in patients presenting periodontitis and in controls
Lim, Y <i>et al</i> [50] (2018)	Saliva	OCC, OPC	<i>Rothia</i> spp, <i>Haemophilus</i> spp, <i>Corynebacterium</i> spp, <i>Paludibacter</i> spp, <i>Porphyromonas</i> spp, <i>Capnocytophaga</i> spp = lower abundance in OCC and OPC. <i>Oribacterium</i> spp is significantly higher. <i>Actinomyces</i> spp, <i>Parvimonas</i> spp, <i>Selenomonas</i> spp, and <i>Prevotella</i> spp= higher abundance in OCC than in OPC
Mager, D <i>et al</i> [45] (2005)	Saliva	OSCC	<i>Capnocytophaga gingivalis</i> , <i>Prevotella melaninogenica</i> and <i>Streptococcus mitis</i> elevated in the OSCC
Mok, S <i>et al</i> [46] (2017)	Saliva	OSCC, OMPD	Abundance of <i>Streptococcus</i> spp and <i>Veillonella</i> spp = higher in healthy control group. Abundance of <i>Neisseria</i> spp, <i>Gemella</i> spp and <i>Granulicatella</i> spp= higher in OSCC < OMPD. patient groups. Association to only normal oral conditions= Firmicutes, predominance of <i>Streptococcus</i> spp and <i>Veillonella</i> spp; Lachnospiraceae= detected only in healthy condition. Fusobacteria. Firmicutes and Bacteroidetes = more abundant in OMPD. Proteobacteria = more cancer related. Actinobacteria = associated with both diseases.
Mukherjee, P <i>et al</i> [36] (2017)	Tissue	OMTC	Firmicutes= most abundant bacterial phylum - increased in tumor healthy tissue Bacteroidetes and Fusobacteria = decreased in tumor compared to matched healthy tissue. <i>Streptococcus</i> spp= most abundant and increased in tumor group
Perera, M <i>et al</i> [27] (2017)	Tissue	OSCC	Genera <i>Candida</i> spp, <i>Hannaella</i> spp, and <i>Gibberella</i> spp= overrepresented in OSCC. <i>Candida albicans</i> , <i>Candida etchellsii</i> , and <i>Hannaella luteola</i> -like species = enriched in OSCC
Perera, M <i>et al</i> [38] (2018)	Tissue	OSCC	Genera <i>Capnocytophaga</i> spp, <i>Pseudomonas</i> spp, and <i>Atopobium</i> spp = overrepresented in OSCC. <i>Campylobacter concisus</i> , <i>Prevotella salivae</i> , <i>Prevotella loeschii</i> , and <i>Fusobacterium</i> oral taxon 204= enriched in OSCC. <i>Streptococcus mitis</i> ,

Pushalkar, S <i>et al</i> [42] (2011)	Saliva	OSCC	<i>Streptococcus</i> oral taxon 070, <i>Lautropia mirabilis</i> , and <i>Rothia dentocariosa</i> = more abundant in FEP. Most prevalent genera in the OSCC = <i>Streptococcus</i> spp, <i>Gemella</i> spp, <i>Rothia</i> spp, <i>Peptostreptococcus</i> spp, <i>Lactobacillus</i> spp, <i>Porphyromonas</i> spp and <i>Lactobacillus</i> spp. Control group= predominantly observed: <i>Prevotella</i> spp, <i>Neisseria</i> spp, <i>Leptotrichia</i> spp, <i>Capnocytophaga</i> spp, <i>Actinobacillus</i> spp, <i>Oribacterium</i> spp,
Pushalkar, S <i>et al</i> [30] (2012)	Tissue	OSCC	<i>Streptococcus</i> sp. oral taxon 058, <i>Peptostreptococcus stomatis</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus gordonii</i> , <i>Gemella haemolysans</i> , <i>Gemella morbillorum</i> , <i>Johnsonella ignava</i> and <i>Streptococcus parasanguinis</i> = highly associated with tumor. <i>Granulicatella adiacens</i> = prevalent at non-tumor site. <i>Streptococcus intermedius</i> = present in 70% of both non-tumor and tumor sites. Cancer samples (discovery and a subsequent confirmation cohort) = Firmicutes (especially <i>Streptococcus</i> spp) and Actinobacteria (especially <i>Rothia</i> spp) decreased relative to contralateral normal samples from the same patient. Significant decreases (abundance of these phyla) observed for pre-cancers, but not when comparing samples from contralateral sites (tongue and floor of mouth) from healthy individuals. <i>Actinomyces</i> spp, spp, and <i>Streptococcus</i> spp, were significantly decreased in cancers while <i>Fusobacterium</i> spp was increased in cancer
Schmidt, B <i>et al</i> [34] (2014)	Tissue	OSCC	<i>Peptostreptococcus</i> spp, <i>Fusobacterium</i> spp, <i>Alloprevotella</i> spp, and <i>Capnocytophaga</i> spp= more abundant in cancer group than in control, whereas <i>Rothia</i> spp and <i>Haemophilus</i> spp were less abundant. Negative correlation observed between genus <i>Rothia</i> spp and T-stage progression using the TNM classification method Abundance of Fusobacteria increased significantly with the progression of oral cancer from the healthy controls to OSCC stage 1 through stage 4 . At the genus level, <i>Fusobacterium</i> spp increased, while <i>Streptococcus</i> spp, <i>Haemophilus</i> spp, <i>Porphyromonas</i> spp, and <i>Actinomyces</i> spp decreased with cancer progression. <i>Fusobacterium periodonticum</i> , <i>Parvimonas micra</i> , <i>Streptococcus constellatus</i> , <i>Haemophilus influenza</i> , and <i>Filifactor alocis</i> were associated with OSCC, and they progressively increased in abundance from stage 1 to stage 4. The abundances of <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Haemophilus parainfluenzae</i> , and <i>Porphyromonas pasteri</i> were inversely associated with OSCC progression.
Takahashi, Y <i>et al</i> [25] (2019)	Saliva	OSCC	<i>Peptostreptococcus</i> spp, <i>Fusobacterium</i> spp, <i>Alloprevotella</i> spp, and <i>Capnocytophaga</i> spp= more abundant in cancer group than in control, whereas <i>Rothia</i> spp and <i>Haemophilus</i> spp were less abundant. Negative correlation observed between genus <i>Rothia</i> spp and T-stage progression using the TNM classification method Abundance of Fusobacteria increased significantly with the progression of oral cancer from the healthy controls to OSCC stage 1 through stage 4 . At the genus level, <i>Fusobacterium</i> spp increased, while <i>Streptococcus</i> spp, <i>Haemophilus</i> spp, <i>Porphyromonas</i> spp, and <i>Actinomyces</i> spp decreased with cancer progression. <i>Fusobacterium periodonticum</i> , <i>Parvimonas micra</i> , <i>Streptococcus constellatus</i> , <i>Haemophilus influenza</i> , and <i>Filifactor alocis</i> were associated with OSCC, and they progressively increased in abundance from stage 1 to stage 4. The abundances of <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Haemophilus parainfluenzae</i> , and <i>Porphyromonas pasteri</i> were inversely associated with OSCC progression.
Yang, C-Y <i>et al</i> [39] (2018)	Saliva	OSCC	<i>MSC1</i> = Actinobacteria as a biomarker. <i>Synergistetes</i> observed between the <i>MSC2/ MSC3</i> . <i>MSC3</i> = <i>Capnocytophaga</i> spp higher abundance in OSCC.
Yang, S-F <i>et al</i> [35] (2017)	Saliva	OSCC	<i>Fusobacteria</i> = significantly higher at tumour sites and tumour-adjacent sites of cancer patients compared to the healthy controls
Yost, S <i>et al</i> [37] (2018)	Saliva	OSCC	Cancer tissue: enriched in six families ( <i>Prevotellaceae</i> , <i>Fusobacteriaceae</i> , <i>Flavobacteriaceae</i> , <i>Lachnospiraceae</i> , <i>Peptostreptococcaceae</i> , and <i>Campylobacteraceae</i> ) and 13 genera, including <i>Fusobacterium</i> spp, <i>Alloprevotella</i> spp and <i>Porphyromonas</i> spp. <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Aggregatibacter segnis</i> , <i>Capnocytophaga leadbetteri</i> , <i>Peptostreptococcus stomatis</i> , and another were significantly increased in OSCC??
Zhang, L <i>et al</i> [49] (2020)	tissue	OSCC	<i>Fusobacterium</i> spp, <i>Dialister</i> spp, <i>Peptostreptococcus</i> spp, <i>Filifactor</i> spp, <i>Peptococcus</i> spp, <i>Catonella</i> spp and <i>Parvimonas</i>
Zhao, H <i>et al</i> [43]	tissue	OSCC	

(2017)			spp= significantly enriched in OSCC. Several operational taxonomic units (OTUs) associated with <i>Fusobacterium</i> were highly involved in OSCC
Zhang, Z <i>et al</i> [23] (2019)	Tissue and saliva	OSCC	Proteobacteria = enriched in the T group. Firmicutes = predominant in groups S and W. Genus level, T group = <i>Acinetobacter</i> spp and <i>Fusobacterium</i> spp. S and W group= predominance of <i>Streptococcus</i> spp and <i>Prevotella</i> spp. Genera related to late stage tumors = <i>Acinetobacter</i> spp and <i>spp</i>

\*OSCC = oral squamous cell carcinoma. OLK= oral leukoplakia. OPMD= oral potentially malignant disorder. OCC= oral cavity cancer. OPC= oropharyngeal. GSCC= gingival squamous cell carcinoma. OMTC = oral mucosa and tongue cancer. MSC1, MSC2, MSC3= mutational signature cluster. T Group= tissue group. S= saliva group. W= mouthwash group.

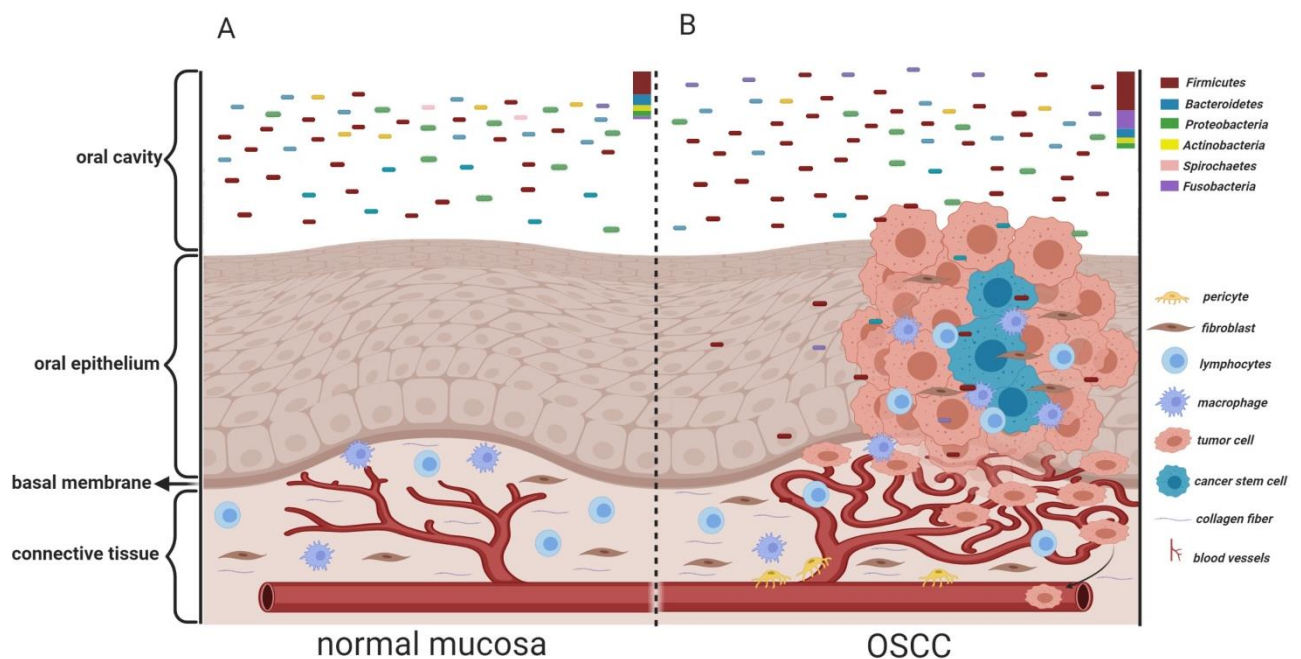
**Table 4** - Risk of Bias Assessed by the Joanna Briggs Institute Critical Appraisal Checklist for Prevalence Studies

Author, year	Q.1	Q.2	Q.3	Q.4	Q.5	Q.6	Q.7	Q.8	Q.9	% Yes/Risk
<i>Al-hebshi, N et al</i> 2017 [41]	--	√	√	√	NA	√	√	√	√	77,78% (Low)
<i>Amer, A et al</i> 2017 [48]	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Boernigen, D et al</i> 2017 [28]	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Chang, C et al</i> 2018 [33]	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Decsi, G et al</i> 2018 [26]	√	√	--	√	NA	√	√	√	√	77,78% (Low)
<i>Ganly, I et al</i> 2019 [40]	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	77,78% (Low)
<i>Hashimoto, K et al</i> 2019 [24]	√	√	--	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Hooper, S et al</i> 2006 [44]	--	√	--	--	NA	--	--	U	√	22,22% (High)
<i>Hooper, S et al</i> 2007 [31]	√	√	--	√	NA	√	√	U	√	66,67% (Moderate)
<i>Hsiao, J-R et al</i> 2018 [47]	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Lee, W-H et al</i> 2017 [32]	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Li Y et al</i> 2020 [29]	√	√	--	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Lim, Y</i> <b>Table 4: (continued)</b>				√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Mager, D et al</i> 2005 [45]	--	√	√	√	NA	--	--	U	√	44,44% (High)
<i>Mok, S et al</i> 2017 [46]	√	√	--	√	NA	√	√	√	√	77,78% (Low)
<i>Mukherjee, P et al</i> 2017 [36]	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Perera, M et al</i> 2017 [27]	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Perera, M et al</i> 2018 [38]	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)

<i>Pushalkar, S et al 2011 [42]</i>	√	√	--	√	NA	√	√	U	√	66,67% (Moderate)
<i>Pushalkar, S et al 2012 [30]</i>	√	√	--	√	NA	√	√	√	√	77,78% (Low)
<i>Schmidt, B et al 2014 [34]</i>	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Takahashi, Y et al 2019 [25]</i>	--	√	√	√	NA	√	√	√	√	77,78% (Low)
<i>Yang, C-Y et al 2018 [39]</i>	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Yang, S-F et al 2017 [35]</i>	√	√	--	√	NA	√	√	√	√	77,78% (Low)
<i>Yost, S et al 2018 [37]</i>	--	√	√	√	NA	√	√	√	√	77,78% (Low)
<i>Zhang, L et al 2020 [49]</i>	√	√	√	√	NA	√	√	√	√	88,89% (Low)
<i>Zhao, H e et al 2017 [43]</i>	--	√	√	√	NA	√	√	√	√	77,78% (Low)
<i>Zhang, Z et all., 2019 [23]</i>	√	√	√	--	NA	√	√	√	√	77,78% (Low)

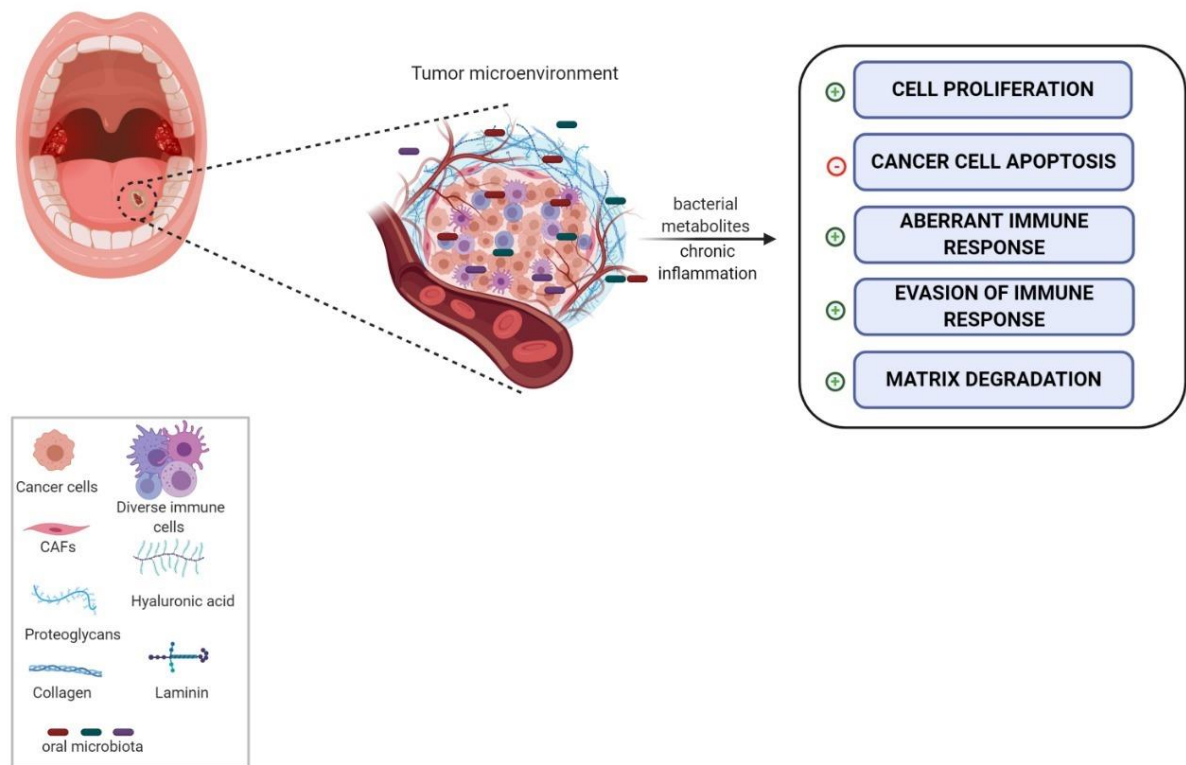
Q1: Was the sample frame appropriate to address the target population?; Q2: Were study participants recruited in an appropriate way?; Q3: Was the sample size adequate?; Q4: Were the study subjects and setting described in detail?; Q5: Was data analysis conducted with sufficient coverage of the identified sample?; Q6: Were valid methods used for the identification of the condition?; Q7: Was the condition measured in a standard, reliable way for all participants?; Q8: Was there appropriate statistical analysis?; Q9: Was the response rate adequate, and if not, was the low response rate managed appropriately? √ = Yes; -- = No; U = Unclear; NA = Not applicable.

#### Graphical abstract

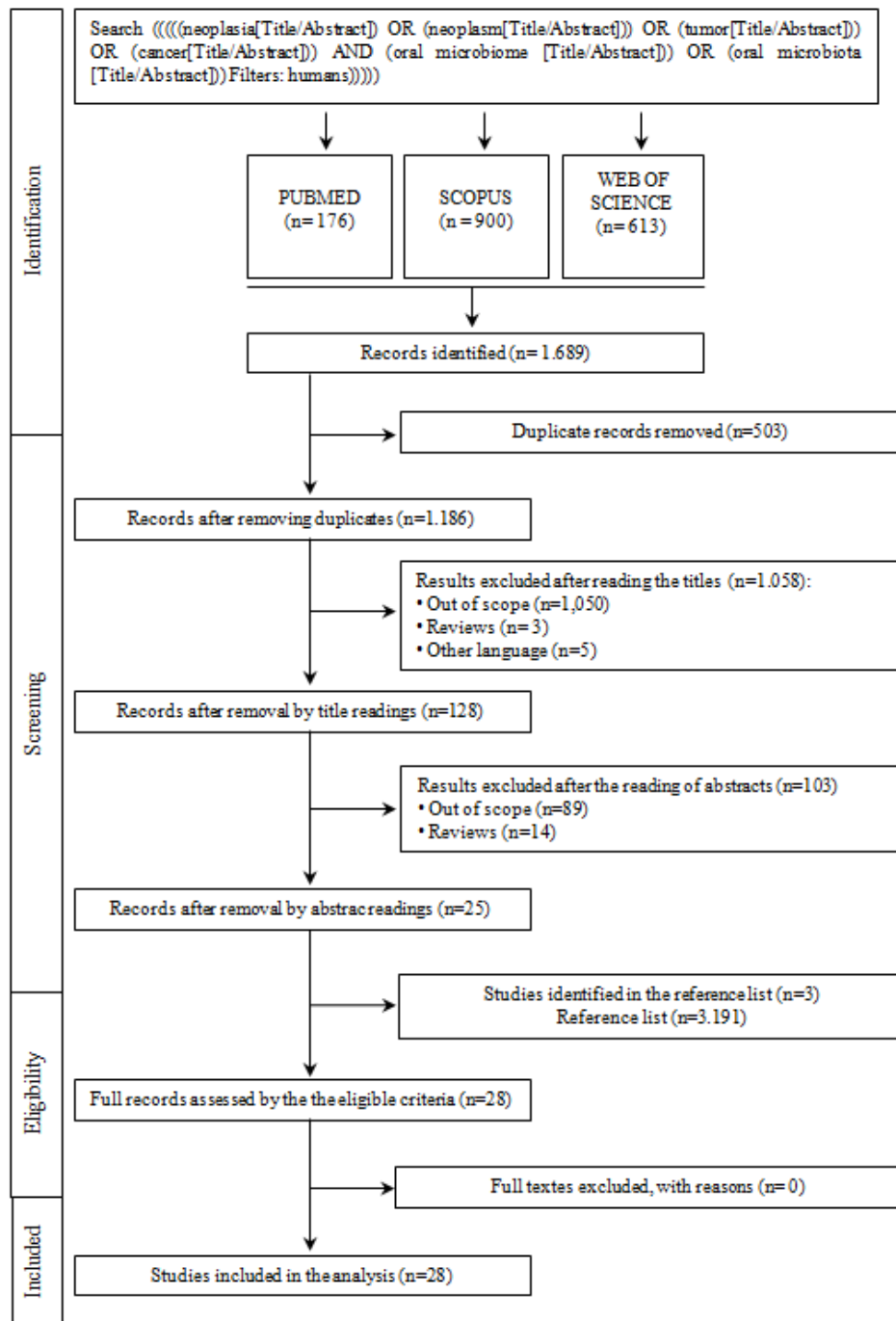


**FIGURE 1: Microbiological oral status in health and tumor**

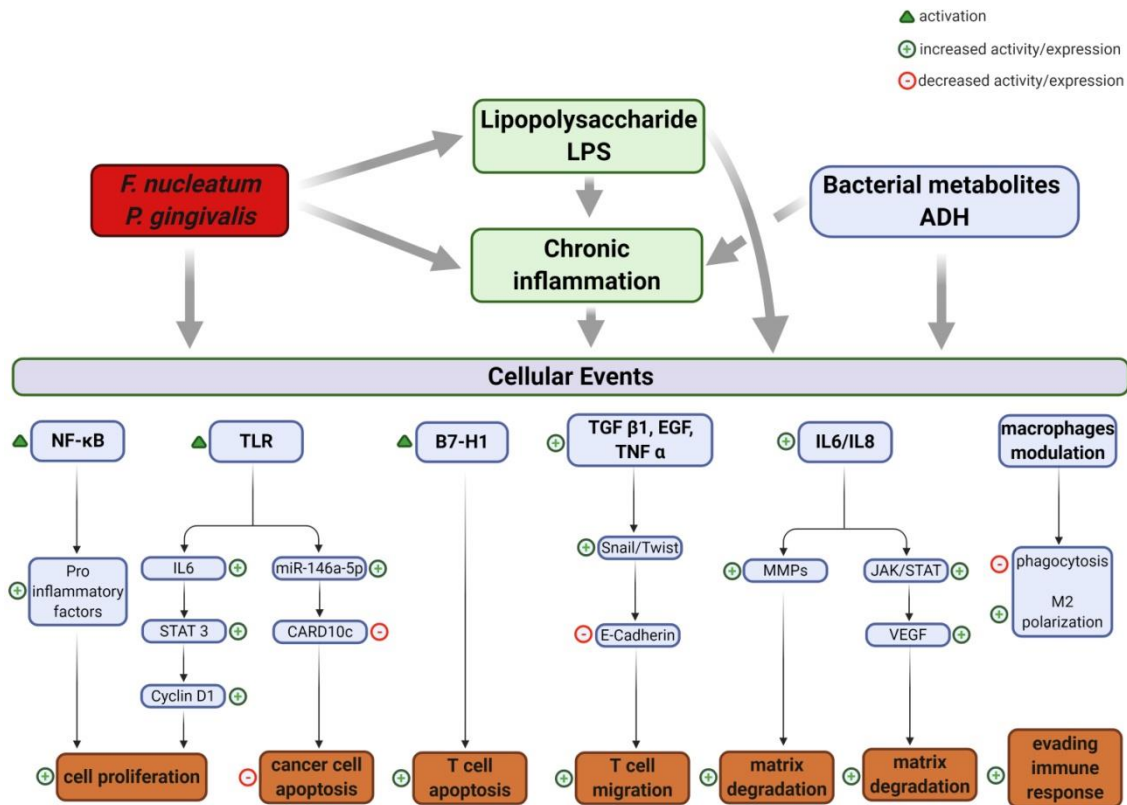
**A:** Representation of the native, least variable and common-shared healthy-associated microbiota (core microbiome) among individuals, being this microbial community dominated by the phyla Firmicutes (36.7%), followed by Bacteroidetes and Proteobacteria (34.2%), Actinobacteria (11.6%), Spirochaetes (7.9%) and Fusobacteria (5.2%). **B:** After analyzed the 28 studies included in this review and their microbial results, we concluded that there was a significant change in the microbial community of cancer patients, when comparing to the native healthy-associated microbiota.



**FIGURE 2:** Study flow diagram for the literature search and selection of articles for this systematic review.



**FIGURE 3:** Possible pathways in which certain bacteria can act directly and indirectly on cellular events, leading to the process of carcinogenesis



It is possible that some bacteria can increase cell proliferation, decreasing apoptosis, increasing cell proliferation and migration, interfering in the immune system and through the production of carcinogenic metabolites. ADH, *alcohol* dehydrogenases; B7-H1 receptor, immunoglobulin-like immune suppressive molecule in cancers, delivering an inhibitory signal to its counter-receptor programmed death-1 (PD-1) on T cells; CARD10c, caspase recruitment domain-containing protein 10; E-Cadherin, epithelial cadherin; EGF, epidermal growth factor; IL6, interleukina 6; IL8, interleukina 8; NF-κB, factor nuclear kappa B; MMPs, matrix metalloproteinases; M2, tumor-associated macrophages.; miR-146a-5p, microRNA-146a-5p; JAK/STAT, janus kinase/signal transducers and activators of transcription; transducer and activator of transcription 3; TGFβ1, transforming growth factor beta 1; T cells, T-Lymphocytes; TNFα, tumor necrosis factor α; TLR receptors, Toll-like receptors; STAT 3, signal T; Snail/Twist, epithelial-mesenchymal transitions (EMT); VEGF, vascular endothelial growth factor.



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar das discrepâncias em relação aos resultados bacterianos encontrados nos estudos analisados nesta dissertação, pode-se concluir que a maioria dos trabalhos apresentou alterações na composição bacteriana em indivíduos afetados pelo câncer de boca (OSCC/CEC) em relação a controles saudáveis. Citocinas inflamatórias provenientes de inflamações bacterianas podem ter extrema importância no processo da carcinogênese, pois acabam impactando o microambiente tumoral e, assim, auxiliando na progressão do tumor.

Ao que parece, segundo o estudo de Li *et al.*, (2020), há grandes possibilidades de que as espécies gram-negativas *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum* possam estar envolvidas em várias vias promotoras do câncer oral. Apesar de haver divergências em relação a possíveis vias metabólicas em que estes patógenos possam promover a carcinogênese, todas as teorias acabam convergindo para um desfecho comum. Entretanto, é necessário levar em consideração algo que ainda é fator de discussão na comunidade acadêmica: o papel direto ou indireto das bactérias no surgimento do câncer.

Considerando o papel “direto” das bactérias, poder-se-ia concluir que, por si só, certos patógenos seriam a causa das alterações celulares que estão vinculadas ao câncer. Karpínski (2019) cita as bactérias já mencionadas, *P. gingivalis* e *F. nucleatum* como exemplos, apesar de os resultados que enfatizam esta afirmação só terem sido concluídos através de pesquisas *in vitro* ou com animais (LI *et al.*, 2020). Em relação à influência indireta de certas bactérias que poderiam estar vinculadas ao câncer, outros fatores de risco teriam relação com a carcinogênese, tornando difícil identificar um papel independente destas no câncer oral. Como exemplo, o consumo de tabaco e álcool e doenças periodontais, que podem ter uma importância fundamental no processo de carcinogênese, sendo estes fatores moduladores de um microbioma mais inflamatório. O trabalho de Wu *et al.* (2016) constatou a diminuição de alguns gêneros bacterianos, estes relacionados ao metabolismo de carboidratos, à energia e ao metabolismo xenobiótico, demonstrando que o uso do tabaco tem a capacidade de alterar a microbiota oral através de modificações de importantes vias biológicas, causando o aparecimento de patologias (WU *et al.*, 2016). Em relação ao álcool, como já mencionado neste trabalho, este, por si só, não é considerado cancerígeno, embora os seus metabólitos (acetaldeído) tenham um alto poder carcinogênico. Em um estudo realizado por Moritani *et al.* (2015), analisando a microbiota oral de indivíduos saudáveis que consomem álcool, foi encontrada uma quantidade considerável de bactérias que possuem a enzima ADH, que tem a capacidade de produzir acetaldeído.

De acordo com Genco *et al.* (1998), a Periodontite, uma patologia bucal causada por patógenos periodontais, caracterizada por infecções graves que danificam as gengivas, podendo destruir o osso maxilar, é uma das principais causas de inflamação crônica na cavidade oral. Os pesquisadores reiteram que estas mesmas bactérias periodonto patogênicas já tiveram algum tipo de relação encontrada com a carcinogênese em diversos estudos (espécies como *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus migros* e *Eikenella corrodens*) (GENCO *et al.*, 1998).

Porém, não somente estes fatores dificultam o completo entendimento do comportamento das bactérias orais no câncer bucal. Como já explicitado, a pouca quantidade de estudos sobre o tema e a grande variabilidade metodológica acabam se tornando “vieses” para elucidar esta associação. Resultados bacterianos contraditórios; a diversidade da população (grupos) utilizados nas pesquisas, incluindo o fato de haver ou não grupos controles; a diferença de amostras utilizadas nas análises (saliva, tecido, fezes), acarretando uma diferença inata da microbiota nativa, mesmo sem relacionar com patologias; a falta de dados individuais de cada indivíduo integrante da pesquisa, o que impossibilita a realização de meta-análises, que seriam de grande importância para conclusões mais acuradas; e aspectos geográficos, já que cada região apresenta traços culturais e socioeconômicos distintos, o que acaba por interferir em hábitos pessoais (higiene bucal e, concomitantemente, estado da cavidade oral, consumo de tabaco e álcool, dieta, atividade física, etc.). Sob um olhar mais técnico, poucos estudos trazem dados pertinentes ao estadiamento do câncer e o estágio clínico em que os pacientes se encontram. Tais informações são de extrema valia, pois já foi documentado na literatura que existem diferenças pontuais na microbiota do tumor quando relacionadas com estes dois fatores.

Seria interessante um ensaio em que estes fatores fossem mais “padronizados”, elucidando se a mudança no perfil bacteriano de pacientes com câncer é o gatilho para a carcinogênese ou se comportamentos adquiridos (fatores de risco) podem ser os responsáveis pela patologia, além de a modulação da microbiota ser apenas uma consequência desse processo. Ainda não está claro se a alteração microbiana é induzida pelo microambiente tumoral ou se a abundância enriquecida desses microrganismos leva ao desenvolvimento de tumor.

Dessa forma, pensa-se que exista uma inter-relação entre a microbiota oral e o processo de carcinogênese bucal. Porém, definir a bactéria oral como fator de risco independente não é acurado, principalmente devido à divergência metodológica nos estudos. No futuro, serão necessários mais estudos sobre os mecanismos que diferenciam o papel das bactérias orais de outros fatores de risco.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, Rui PP; RICHARDS, Andrea. Squamous-cell carcinoma of the tongue. **N Engl J Med**, v. 374, n. 25, p. e32, 2016.
- ALVES, Alessandro Menna; DIEL, Leonardo Francisco; LAMERS, Marcelo Lazzaron. Macrophages and prognosis of oral squamous cell carcinoma: A systematic review. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 47, n. 5, p. 460-467, 2018.
- ARUNI, A. Wilson; ROY, Francis; FLETCHER, H. M. Filifactor alocis has virulence attributes that can enhance its persistence under oxidative stress conditions and mediate invasion of epithelial cells by Porphyromonas gingivalis. **Infection and immunity**, v. 79, n. 10, p. 3872-3886, 2011.
- BARNES, Leon *et al.* (Ed.). **Pathology and genetics of head and neck tumours**. IARC, 2005.
- BIK, Elisabeth M. *et al.* Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. **The ISME journal**, v. 4, n. 8, p. 962-974, 2010.
- BÖRNIGEN, Daniela *et al.* Alterations in oral bacterial communities are associated with risk factors for oral and oropharyngeal cancer. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.
- BRAY, Freddie *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018.
- CHEN, Alice Che-Ha *et al.* Human papillomavirus DNA detected in peripheral blood samples from healthy Australian male blood donors. **Journal of medical virology**, v. 81, n. 10, p. 1792-1796, 2009.
- CIANCI, R. *et al.* The Microbiota and Immune System Crosstalk in Health and Disease. **Mediators of Inflammation**, v. 2018, p. 2912539-2912539, 2018.
- COOLS, Piet *et al.* **4 Atopobium**. 2011.
- CHICHARRO, José L. *et al.* Saliva composition and exercise. **Sports medicine**, v. 26, n. 1, p. 17-27, 1998.
- COUSSENS, Lisa M.; WERB, Zena. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 860-867, 2002.
- DAVID, Lawrence A. *et al.* Host lifestyle affects human microbiota on daily timescales. **Genome biology**, v. 15, n. 7, p. 1-15, 2014.
- DEWHIRST, Floyd E. *et al.* The human oral microbiome. **Journal of bacteriology**, v. 192, n. 19, p. 5002-5017, 2010.
- DWORKIN, Martin *et al.* **The prokaryotes**. 2006.

FAN, Xiaozhou *et al.* Human oral microbiome and prospective risk for pancreatic cancer: a population-based nested case-control study. **Gut**, v. 67, n. 1, p. 120-127, 2018.

FLEMER, Burkhardt *et al.* The oral microbiota in colorectal cancer is distinctive and predictive. **Gut**, v. 67, n. 8, p. 1454-1463, 2018.

GALLIMIDI, Adi Binder *et al.* Periodontal pathogens Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum promote tumor progression in an oral-specific chemical carcinogenesis model. **Oncotarget**, v. 6, n. 26, p. 22613, 2015.

GAO, Lu *et al.* Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. **Protein & cell**, v. 9, n. 5, p. 488-500, 2018.

GENCO, Robert *et al.* Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. **The Journal of the American Dental Association**, v. 129, p. 58-S-62-S, 1998.

GEVA-ZATORSKY, Naama *et al.* Mining the human gut microbiota for immunomodulatory organisms. **Cell**, v. 168, n. 5, p. 928-943. e11, 2017.

GONÇALVES, Mara Andreia Pereira. **Microbiota: implicações na imunidade e no metabolismo**. 2014. Tese de Doutorado. [sn].

GRAY, Toby. Streptococcus anginosus group: clinical significance of an important group of pathogens. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 27, n. 20, p. 155-159, 2005.

GUPTA, Bhawna *et al.* Associations between oral hygiene habits, diet, tobacco and alcohol and risk of oral cancer: A case-control study from India. **Cancer epidemiology**, v. 51, p. 7-14, 2017.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of cancer: the next generation. **cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011.

HAJISHENGALLIS, George; LAMONT, Richard J. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. **Molecular oral microbiology**, v. 27, n. 6, p. 409-419, 2012.

HAYES, Richard B. *et al.* Association of oral microbiome with risk for incident head and neck squamous cell cancer. **JAMA oncology**, v. 4, n. 3, p. 358-365, 2018.

HELLER, Débora *et al.* Subgingival microbial profiles of generalized aggressive and chronic periodontal diseases. **Archives of oral biology**, v. 57, n. 7, p. 973-980, 2012.

INABA, Hiroaki *et al.* Porphyromonas gingivalis promotes invasion of oral squamous cell carcinoma through induction of pro MMP 9 and its activation. **Cellular microbiology**, v. 16, n. 1, p. 131-145, 2014.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2020**. 12 mai. 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa/introducao#:~:text=Para%20o%20Brasil%2C%20a%20estimativa,c%3A2ncer%20de%20pele%20n%C3%A3o%20melanoma.%20Acesso%20em:%2014%20jun.%202021>. Acesso em: 14 jun. 2021.

- JEMAL, Ahmedin *et al.* Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 19, n. 8, p. 1893-1907, 2010.
- JOLIVET-GOUGEON, Anne *et al.* Prevalence of oropharyngeal beta-lactamase-producing *Capnocytophaga* spp. in pediatric oncology patients over a ten-year period. **BMC infectious diseases**, v. 5, n. 1, p. 1-6, 2005.
- KALLURI, Raghu; ZEISBERG, Michael. Fibroblasts in cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 6, n. 5, p. 392-401, 2006.
- KANAVOS, Panos. The rising burden of cancer in the developing world. **Annals of oncology**, v. 17, p. viii15-viii23, 2006.
- KARPIŃSKI, Tomasz M. Role of oral microbiota in cancer development. **Microorganisms**, v. 7, n. 1, p. 20, 2019.
- KHATOON, Jahanarah; RAI, Ravi Prakash; PRASAD, Kashi Nath. Role of *Helicobacter pylori* in gastric cancer: Updates. **World journal of gastrointestinal oncology**, v. 8, n. 2, p. 147, 2016.
- KIRKWOOD, Keith L.; ROSSA JR, Carlos. The potential of p38 MAPK inhibitors to modulate periodontal infections. **Current drug metabolism**, v. 10, n. 1, p. 55-67, 2009.
- KUMAR, Malay *et al.* Oral cancer: Etiology and risk factors: A review. **Journal of cancer research and therapeutics**, v. 12, n. 2, p. 458, 2016.
- LAX, Alistair J. Bacterial toxins and cancer—a case to answer?. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n. 4, p. 343-349, 2005.
- LI, Qinyang *et al.* Role of Oral Bacteria in the Development of Oral Squamous Cell Carcinoma. **Cancers**, v. 12, n. 10, p. 2797, 2020.
- LIN, Wen-Jiun *et al.* Smoking, alcohol, and betel quid and oral cancer: a prospective cohort study. **Journal of oncology**, v. 2011, 2011.
- LIU, Fang *et al.* The clinical importance of *Campylobacter concisus* and other human hosted *Campylobacter* species. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 8, p. 243, 2018.
- MBEUNKUI, Flaubert; JOHANN, Donald J. Cancer and the tumor microenvironment: a review of an essential relationship. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 63, n. 4, p. 571-582, 2009.
- MEURMAN, Jukka H. Infectious and dietary risk factors of oral cancer. **Oral oncology**, v. 46, n. 6, p. 411-413, 2010.
- MIKULANDRA, Martina; PAVELIC, Jasminka; GLAVAN, Tanja M. Recent findings on the application of Toll-like receptors agonists in cancer therapy. **Current medicinal chemistry**, v. 24, n. 19, p. 2011-2032, 2017.
- MIZUMOTO, Ayaka *et al.* Molecular mechanisms of acetaldehyde-mediated carcinogenesis in squamous epithelium. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 9, p. 1943, 2017.

MORGAN, Xochitl C.; SEGATA, Nicola; HUTTENHOWER, Curtis. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. **Trends in genetics**, v. 29, n. 1, p. 51-58, 2013.

MORITANI, K. *et al.* Acetaldehyde production by major oral microbes. **Oral diseases**, v. 21, n. 6, p. 748-754, 2015.

MUTO, Manabu *et al.* Acetaldehyde production by non-pathogenic Neisseria in human oral microflora: implications for carcinogenesis in upper aerodigestive tract. **International journal of cancer**, v. 88, n. 3, p. 342-350, 2000.

OEFFINGER, Kevin C. *et al.* Solid tumor second primary neoplasms: who is at risk, what can we do?. In: **Seminars in oncology**. WB Saunders, 2013. p. 676-689.

PACE, Norman R. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. **Science**, v. 276, n. 5313, p. 734-740, 1997. PACE, Norman R. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. **Science**, v. 276, n. 5313, p. 734-740, 1997.

PERERA, Manosha *et al.* Emerging role of bacteria in oral carcinogenesis: a review with special reference to perio-pathogenic bacteria. **Journal of oral microbiology**, v. 8, n. 1, p. 32762, 2016.

PETERS, Brandilyn A. *et al.* Oral microbiome composition reflects prospective risk for esophageal cancers. **Cancer research**, v. 77, n. 23, p. 6777-6787, 2017.

PISANI, Luciana Pellegrini; ESTADELLA, Debora; RIBEIRO, Daniel Araki. The role of toll like receptors (TLRs) in oral carcinogenesis. **Anticancer research**, v. 37, n. 10, p. 5389-5394, 2017.

PLOTTEL, Claudia S.; BLASER, Martin J. Microbiome and malignancy. **Cell host & microbe**, v. 10, n. 4, p. 324-335, 2011.

RAMPELLI, Simone *et al.* Microbiota and lifestyle interactions through the lifespan. **Trends in Food Science & Technology**, v. 57, p. 265-272, 2016.

SASAKI, M. *et al.* Streptococcus anginosus infection in oral cancer and its infection route. **Oral diseases**, v. 11, n. 3, p. 151-156, 2005.

SENDER, Ron; FUCHS, Shai; MILO, Ron. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. **Cell**, v. 164, n. 3, p. 337-340, 2016.

SCHMIDT, Thomas M. (Ed.). **Encyclopedia of Microbiology**. Academic Press, 2019.

SCHROEDER, Bjoern O.; BÄCKHED, Fredrik. Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease. **Nature medicine**, v. 22, n. 10, p. 1079, 2016.

SCHWABE, Robert F.; JOBIN, Christian. The microbiome and cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 13, n. 11, p. 800-812, 2013. SCHWABE, Robert F.; JOBIN, Christian. The microbiome and cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 13, n. 11, p. 800-812, 2013.

SHREINER, Andrew B.; KAO, John Y.; YOUNG, Vincent B. The gut microbiome in health and in disease. **Current opinion in gastroenterology**, v. 31, n. 1, p. 69, 2015.

SOCRANSKY, Sigmund S.; HAFFAJEE, Anne D. Periodontal microbial ecology. **Periodontology** 2000, v. 38, n. 1, p. 135-187, 2005.

STACKEBRANDT, E. R. K. O. *et al.* The genus *Stomatococcus*: *Rothia mucilaginosa*, basonym *Stomatococcus mucilaginosus*. **The Prokaryotes. Springer New York**, v. 3, p. 975-982, 2006.

SUGERMAN, P. B.; JOSEPH, B. K.; SAVAGE, N. W. The role of oncogenes, tumour suppressor genes and growth factors in oral squamous cell carcinoma: a case of apoptosis versus proliferation. **Oral diseases**, v. 1, n. 3, p. 172-188, 1995.

TAKESHITA, Toru *et al.* Bacterial diversity in saliva and oral health-related conditions: the Hisayama Study. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2016.

URSELL, Luke K. *et al.* Defining the human microbiome. **Nutrition reviews**, v. 70, n. suppl\_1, p. S38-S44, 2012.

WANG, Hannah *et al.* Microbiomic differences in tumor and paired-normal tissue in head and neck squamous cell carcinomas. **Genome medicine**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2017.

WANG, Yan *et al.* Oral microbiota distinguishes acute lymphoblastic leukemia pediatric hosts from healthy populations. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e102116, 2014.

WESCOMBE, Philip A. *et al.* Streptococcal bacteriocins and the case for *Streptococcus salivarius* as model oral probiotics. **Future microbiology**, v. 4, n. 7, p. 819-835, 2009.

WHITMORE, Sarah E.; LAMONT, Richard J. Oral bacteria and cancer. **PLoS Pathog**, v. 10, n. 3, p. e1003933, 2014.

WU, Jing *et al.* Cigarette smoking and the oral microbiome in a large study of American adults. **The ISME journal**, v. 10, n. 10, p. 2435-2446, 2016.

XU, Xiaofei; WANG, Zhujun; ZHANG, Xuewu. The human microbiota associated with overall health. **Critical reviews in biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 129-140, 2015.

YANG, Junjie *et al.* Dysbiosis of the salivary microbiome is associated with non-smoking female lung cancer and correlated with immunocytochemistry markers. **Frontiers in oncology**, v. 8, p. 520, 2018.

ZHANG, Yangheng *et al.* Human oral microbiota and its modulation for oral health. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 99, p. 883-893, 2018.