

ESTUDOS SOBRE A RELAÇÃO ENTRE PERIODONTITE E O CÂNCER BUCAL

STUDIES ON THE RELATIONSHIP BETWEEN PERIODONTITIS AND ORAL CANCER

Thauany Gomes Fernandes¹

Marina Módulo²

RESUMO: O câncer bucal representa um problema de saúde pública mundial classificado como o sexto tipo de câncer mais comum. Apresenta índices de mortalidade em cinco anos preocupantes nas últimas décadas. Estima-se que aproximadamente 15% dos cânceres bucais tenham causa desconhecida. Estudos publicados recentemente têm sugerido que a doença periodontal pode representar um risco aumentado para o desenvolvimento de câncer bucal. Entretanto, o impacto da doença periodontal sobre a patogênese do câncer bucal in vivo é quase inexistente na literatura. Esta tese avaliou, através de dois artigos, a relação entre a doença periodontal e o câncer bucal. O primeiro artigo da presente tese trata de uma revisão de estudos epidemiológicos sobre a associação da doença periodontal e câncer bucal, assim como estudos atuais a respeito de mecanismos biológicos. Os estudos epidemiológicos na sua maioria apontam a periodontite como um fator de risco independente para o câncer bucal após ajustes estatísticos para diferentes fatores confundidores, como o fumo. Os estudos biológicos tem na sua grande maioria a *Porphyromonas gingivalis* como agente etiológico para a doença periodontal e estaria envolvida em várias etapas de carcinogênese bucal como a proliferação, migração e invasão celular, assim como a metástase e resistência a agente quimioterapêuticos em estudos in vitro e in vivo a periodontite.

1953

Palavras – Chave: Periodontite. Câncer bucal.

ABSTRACT: Oral cancer represents a worldwide public health problem classified as the sixth most common type of cancer. It presents worrying five-year mortality rates in recent decades. It is estimated that approximately 15% of oral cancers have an unknown cause. Recently published studies have suggested that periodontal disease may pose an increased risk for the development of oral cancer. However, the impact of periodontal disease on the pathogenesis of oral cancer in vivo is almost non-existent in the literature. This thesis evaluated, through two articles, the relationship between periodontal disease and oral cancer. The first article of this thesis deals with a review of epidemiological studies on the association of periodontal disease and oral cancer, as well as current studies regarding biological mechanisms. Most epidemiological studies point to periodontitis as an independent risk factor for oral cancer after statistical adjustments for different confounding factors, such as smoking. Biological studies have mostly.

Keywords: Periodontitis. Oral cancer.

1. INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é caracterizada por um processo inflamatório crônico, produzido por uma complexa interação entre o estímulo patogênico (uma

¹ Universidade Brasil. Curso De Graduação Em Odontologia - Campus Fernandópolis. E-mail: thaahgomes14@gmail.com

² Orientadora. Universidade Brasil.

comunidade bacteriana) e a resposta do hospedeiro, e afeta os tecidos que circundam e sustentam os dentes (1-3).

Esta patologia inclui a gengivite e a periodontite, além de ser altamente prevalente na população (4).

Embora a inflamação ocorra de maneira local na cavidade oral, os patógenos periodontais e seus componentes, assim como os produtos das células inflamatórias, podem se disseminar para o âmbito sistêmico e contribuir para o surgimento e progressão de diversas doenças, por exemplo, doença cardiovascular e diabetes (1).

Estudos recentes têm apontado para uma associação desta inflamação persistente e dos periodontopatógenos com lesões pré-malignas e o câncer, tanto no câncer oral quanto em outros cânceres específicos (1,3,5). O câncer é caracterizado pelo crescimento e proliferação de células anormais e indiferenciadas (6).

Os principais periodontopatógenos relatados que estão envolvidos no processo da indução e progressão da carcinogênese são a *Porphyromonas gingivalis* (Pg) e a *Fusobacterium nucleatum* (Fn). Ambas são bactérias anaeróbias e Gram negativas, frequentemente encontradas no biofilme oral, caracterizadas pelos seus fatores de virulência como lipopolissacarídeo (LPS), fímbria e parede celular. Estes patógenos oportunistas estão principalmente compreendidos nas formas mais agressivas da doença periodontal. Estudos recentes indicam estímulo tumorigênico e células pré-tumorais como influência da sua infecção (7-10).

Os possíveis mecanismos bacterianos relacionados a DP enfatizam a própria colonização microbiana, disseminação pelo organismo de forma sistêmica e indução de respostas inflamatórias do hospedeiro, os quais são os principais fatores da associação positiva com o câncer. Dessa forma, recentemente, estudos envolvendo a epigenética têm sido explorados para preencher este hiato da compreensão dos mecanismos que regem a presente associação (6,10).

As neoplasias malignas de cavidade oral e orofaringe são as mais amplamente exploradas em relação às associações com a DP. Contudo, também foi observada a influência da doença periodontal em âmbito sistêmico, como nos cânceres do trato digestivo (câncer de esôfago, câncer gástrico, câncer pancreático e câncer colorretal), mama, pulmão, vesícula biliar, bexiga, hematológicos e melanoma (1,3,5,11).

O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão da literatura existente sobre a relação da doença periodontal com o câncer, tanto na cavidade oral quanto em âmbito sistêmico.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A Epigenética e a Expressão Gênica

Os primeiros passos no campo da epigenética foram dados por Waddington no início da segunda metade do século XIX ao tentar justificar a origem da variedade de fenótipos celulares presentes em um mesmo organismo e, assim, compartilhando do mesmo material genético.^{13,14}

O motivo da variabilidade estaria atrelado à quais desses genes estão expressos ou não em cada tipo de célula devido a uma série de alterações epigenéticas. Assim, o epigenoma pode ser definido como o conjunto de alterações químicas no DNA e proteínas associadas que levam à reorganização da cromatina sem alterar sua codificação, sendo a ativação e inibição dos genes uma consequência do processo.¹¹

Os eventos epigenéticos ocorrem naturalmente desde o período embrionário, porém também podem ser desencadeados por influências externas ao longo da vida.^{9,11} As principais modificações no epigenoma são a metilação e acetilação das histonas e a metilação do DNA ([Figura 1](#)).¹⁵

Estes processos podem favorecer o desenvolvimento e manutenção de cânceres, doenças autoimunes e inflamatórias, como a periodontite.¹¹

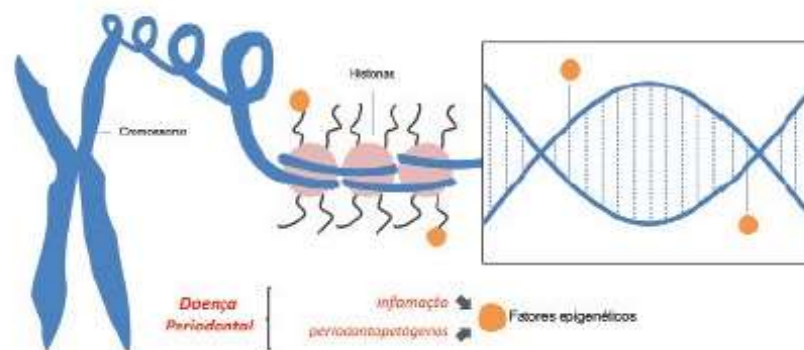


Figura 1. Potencial da doença periodontal de desencadear eventos epigenéticos no DNA e proteínas associadas

A carcinogênese inicia-se a partir de uma série de acúmulos de alterações no material genético celular que resulta no comprometimento de suas funções. Os eventos epigenéticos resultantes da exposição a agentes pró-oncogênicos permitem estas

alterações no painel genômico, determinando a expressão ou supressão de certos genes. Na maioria dos tumores é notada uma hipometilação global do DNA associada à hipermetilação de genes promotores específicos.^{17,16}

Estes genes inibidos geralmente estão relacionados à supressão tumoral, crescimento celular, reparo do DNA, ligação intracelular, inibição de metástase, entre outros.¹⁸

2.2 A Epigenética na Doença Periodontal

Recentemente, a epigenética também tem sido explorada para preencher lacunas na compreensão dos mecanismos que regem a DP (Figura 1).⁹⁻¹² Como se sabe, a DP é resultado de uma complexa interação entre os estímulos dos periodontopatógenos e a resposta inflamatória do hospedeiro. Visto que a resposta inflamatória é um reflexo do painel gênico de um indivíduo, pois este codifica a expressão de mediadores inflamatórios, o modo como estes genes estão ou não ativados pode ser orientado por eventos epigenéticos. A própria inflamação da periodontite pode promover metilações no DNA que irão contribuir para a progressão da doença.¹⁰

Zhang et al.¹⁹ observaram hipermetilações em áreas controladoras da diferenciação celular, da apoptose, da oncogênese e da adesão celular no tecido gengival inflamado de pacientes com periodontite crônica quando comparado a tecidos saudáveis de indivíduos saudáveis. Além disto, também foram observadas alterações importantes na região responsável pela expressão de IFN- γ . Outros eventos epigenômicos também parecem conduzir a DP por meio da expressão de mediadores inflamatórios ao longo da progressão da doença, como a hipometilação em áreas promotoras dos genes responsáveis pela expressão da IL-8 e IL-6, e a hipermetilação em áreas promotoras do TNF- α , COX-2 e do gene TLR2, que apresenta uma correlação positiva com a profundidade de sondagem.²⁰⁻²⁴

A ação dos periodontopatógenos também pode desencadear alterações epigenéticas. Yin et al.²⁵ compararam os efeitos da infecção de células epiteliais gengivais com *P. gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, concluindo que as células epiteliais respondem a diferentes bactérias com eventos epigênicos em genes distintos.

Miao et al.²⁶ notaram que a *Treponema denticola* levou à hipometilação do gene promotor relacionado à MMP-2 em células do ligamento periodontal. Larsson et

al.²⁷ observaram a estimulação resultante do lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*, havendo aumento na acetilação das histonas H₃ e H₄ e na metilação das H₃ no promotor de IL-10 de células B.

Em seus dois estudos, Imai et al.^{28,29} notaram que o patógeno periodontal *Porphyromonas gingivalis* produz altas concentrações de ácido butírico, favorecendo a acetilação de histonas. Outra ação atribuída às *P. gingivalis* foi a redução da transcrição nos queratinócitos de DNMT1, DNMT3a e histona desmentia-se com domínio Jumonji (JMJD3). O decréscimo de JMJD3 poderia levar a alterações no nível da transcrição de genes ligados à inflamação.³⁰

Recentemente, a epigenética também tem sido explorada para preencher lacunas na compreensão dos mecanismos que regem a DP (Figura 1).⁹⁻¹² Como se sabe, a DP é resultado de uma complexa interação entre os estímulos dos periodonto patógenos e a resposta inflamatória do hospedeiro. Visto que a resposta inflamatória é um reflexo do painel gênico de um indivíduo, pois este codifica a expressão de mediadores inflamatórios, o modo como estes genes estão ou não ativados pode ser orientado por eventos epigenética

2.3 A inflamação e o Câncer Oral

A inflamação é um mecanismo de defesa não específico desencadeado por danos teciduais de qualquer natureza.²¹ Este painel formado pela constante renovação celular e presença de agentes pró e anti-inflamatórios e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio podem causar danos ao DNA e/ou alterações na expressão gênica. A instabilidade resultante pode favorecer tanto a transformação inicial de células neoplásicas quanto a progressão do tumor.²² Já é aceito que a inflamação crônica representa um fator de risco importante para o desenvolvimento e progressão de neoplasias, sendo esta relação notada em, aproximadamente, uma em cada quatro manifestações da doença.²³ Esta influência pode se manifestar em vários eventos, como na transformação celular e na progressão, sobrevivência, invasão, angiogênese e metástase do tumor.²⁴

O ambiente oral é propício ao estresse inflamatório, visto que mantém contato constante com agentes irritantes e carcinogênicos, como micro-organismos, o tabaco e o álcool.³⁵ Algumas condições inflamatórias orais já foram associadas com a patogênese do carcinoma espinocelular em cabeça e pescoço, como a fibrose submucosa, o líquen

plano, o lúpus eritematoso discoide e a doença periodontal crônica.^{3,2} No entanto, como a presença de lesões orais crônicas é muito superior à do câncer oral, fica claro que apenas em poucos casos apresentam possibilidade de induzir à carcinogênese.^{3,2} Ainda assim, qualquer risco em potencial merece atenção.

A DP em suas manifestações mais graves instaura uma significativa carga inflamatória no organismo. Apesar de sua natureza localizada, concentrações elevadas de marcadores inflamatórios podem ser encontradas no sangue de pacientes com periodontite, ampliando seu campo de influência.²⁶ Nos casos de todos os cânceres de cabeça e pescoço, a saliva também parece desempenhar um importante papel na interação e mobilidade anatômica dos carcinogênicos. Além de atuar como meio para a dispersão destes produtos, ainda favorece a origem de novos agentes agressores através da metabolização do tabaco, do álcool e de componentes alimentares por meio de enzimas salivares. Somando-se a isto, também é um veículo para as citocinas inflamatórias, bactérias e vírus originados das bolsas periodontais.^{17,28} Esta atuação transportadora pode ser intuída ao observar que mais de 75% dos cânceres de cabeça e pescoço ocorrem em áreas de drenagem salivar.^{3,9}

A produção persistente de citocinas, quimosinas, radicais livres, prostaglandina, fatores de crescimento, metaloproteinases, enzimas como a ciclooxigenase e outros sinalizadores criam um ambiente propício ao acúmulo de mutações das células epiteliais, também auxiliando na sobrevivência, proliferação, migração, angiogênese e inibição de apoptose das células malignas. Já foi observado que a IL-6 induzida pela inflamação crônica pode ocasionar a hipermetilação de genes supressores tumorais através da indução transcricional e estabilização da DNA metil transferase- 1, uma enzima relacionada ao status e mutilação do DNA.⁴¹ A interleucina 6 também apresenta o potencial de induzir à hipometilação global das sequências do LINE-1.³⁵ Além disto, os mediadores inflamatórios também são capazes de estimular os fatores de transcrição STAT-3, AP-1 e NF-κB, que por sua vez podem ativar oncogênese e a produção de mais produtos da inflamação, como citocinas e prostaglandinas.^{3,2}

Outra maneira de observar a ação da inflamação sobre o câncer é através da inibição dos mediadores inflamatórios, que pode coibir o desenvolvimento de cânceres experimentais.^{4,2} De forma semelhante, a supressão de genes inflamatórios altera a

susceptibilidade e gravidade da doença e o uso prolongado de anti-inflamatórios não esteroidais pode até mesmo reduzir o risco de alguns tumores.^{3,2}

2.4 Os Periodontopatógenos e o Câncer Oral

Em sua revisão sistemática, Hooper et al.^{4,3} concluíram que há uma soma considerável de evidências para sugerir uma ligação epidemiológica e etiológica entre infecções orais e o câncer oral. Uma delas é contribuição de tipos bacterianos, como os Streptococci, no aumento da concentração oral de acetaldeídos.⁴ Em um estudo comparativo, indivíduos com má higiene oral apresentaram níveis de acetaldeído maiores do que aqueles com bons hábitos de escovação em um modelo ajustado quanto ao gênero, idade e consumo de álcool e fumo.^{4,5} A DP e um ambiente de pouca higiene oral também predis põem a níveis elevados de nitrosamina por conta da presença de bactérias redutoras de nitrato. Isto pode culminar na ativação de vias mitogênicas e antiapoptóticas nos queratinócitos e eventualmente contribuir para acarcinogênese.⁸

Niwa et al.^{4,6} analisaram a metilação em células gástricas cancerosas infectadas por *Helicobacter pylori* em gerbos. Entre a 5^a e 10^a semana após a infecção, iniciou-se um aumento no nível de metilação, atingindo seu ápice por volta da 50^a semana. Curiosamente, após a erradicação do *H. Pylori*, os níveis de metilação decresceram entre 10 e 20 semanas, mas ainda estavam superiores aos de células cancerosas nunca infectadas. Somando-se a isto, observaram que a utilização de ciclosporina para induzir à imunossupressão nas células infectadas bloqueou a indução de metilações aberrantes no DNA. Estes resultados evidenciaram que as mudanças epigenéticas dependem da infecção associada à resposta inflamatória, não somente do fator bacteriano.^{4,6}

Células gástricas cancerosas também foram utilizadas por Huang et al.^{4,7}, onde notaram um aumento do nível de metilação no gene de E-caderina após estimulação da *Helicobacter pylori*. A ação bacteriana induziu a eventos epigenômico via estimulação da IL-1 β , que influencia a transcrição do gene NF- κ B, resultando na ativação de DNA metiltransferase pela produção de óxido nítrico. Este processo possivelmente indica um papel do óxido nítrico na alteração epigenômica que liga inflamação à carcinogênese.

Outra possível explicação para a associação entre periodontite e desenvolvimento do carcinoma espinocelular é a invasão do tumor por *Porphyromonas gingivalis*, levando à indução da expressão de proMMP e sua ativação. Em um estudo

de Inaba et al.⁸, a proMMP9 foi continuamente secretada por células de carcinoma espinocelular oral, enquanto que a infecção por *P. gingivalis* aumentou a expressão da pró-enzima, subseqüentemente processando a ativação de MMP9 no sobrenadante, favorecendo a invasão celular. Além disso, *P. gingivalis* foi observada com células altamente invasivas, mas não com tipos pouco invasivos. Os resultados obtidos demonstraram que *P. gingivalis* ativam as vias do ERK1/2-Ets1, p38/HSP27, e PAR2/NF-kB para induzir a expressão de proMMP9. Em seguida, a proMMP9 é ativada pelas gingipaínas bacterianas, levando à invasão celular pelas linhagens de carcinoma espinocelular oral.

A análise imuno-histoquímica conduzida por Katz et al.⁹ para investigar a presença de *Porphyromonas gingivalis* e *Streptococcus Gordonii* em biópsias de carcinoma de gengiva (n = 10) e gengival normal (n = 5) mostrou a presença das bactérias nas duas amostras, porém em níveis significativamente maiores (> 33%) nas amostras de carcinoma. A intensidade da marcação também foi aumentada significativamente em vezes nas amostras de carcinoma, sugerindo potencial associação das bactérias com carcinoma gengival.

Também foi demonstrado que a *P. gingivalis* pode induzir à expressão dos receptores B7-H1 e B7-DC em células de carcinoma e queratinócitos gengivais humanos, facilitando o escape de neoplasias malignas orais. O receptor B7-H1 das células do hospedeiro pode influenciar a cronicidade de desordens inflamatórias que frequentemente precedem o desenvolvimento do câncer em humanos.²⁹

Assim, vários achados biológicos evidenciam que há plausibilidade na relação entre a DP e neoplasias malignas, cabendo a realização de mais estudos para investigar a profundidade deste elo

CONCLUSÃO

Diversos estudos sugerem que o processo infeccioso-inflamatório da DP é capaz de engatilhar complexas reações envolvendo mediadores da inflamação e micro-organismos que podem afetar o painel de expressão gênica do indivíduo, influenciando o risco de desenvolvimento tumoral e a progressão subseqüente do câncer oral. No entanto, para total compreensão do processo, ainda são necessários mais estudos.

REFERÊNCIAS

1. Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol.* 2007;78(7 Suppl):1387-99. [[Links](#)]
2. Meyle J, Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000. 2015;69(1):7-17.
3. Tezal M, Sullivan MA, Hyland A, et al. Chronic periodontitis and the incidence of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18(9):2406-12.
4. Kim J, Amar S. Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship. *Odontology.* 2006;94(1):10-21.
5. American Cancer Society. *Cancer facts & Figures 2015.* Atlanta: American Cancer Society 2015.
6. Thompson LDR, Brennan P, Pinto LFR. Head and neck cancers. In: Stewart BW, Christopher PW, editors. *World Cancer Report 2014.* Lyon: IARC Press; 2014. p. 422-30.
7. Lacko M, Braakhuis BJ, Sturgis EM, et al. Genetic susceptibility to head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014;89(1):38-48.
8. Choi S, Myers JN. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy. *J Dent Res.* 2008;87(1):14-32.
9. Barros SP, Offenbacher S. Epigenetics: connecting environment and genotype to phenotype and disease. *J Dent Res.* 2009;88(5):400-8.
10. Gomez RS, Dutra WO, Moreira PR. Epigenetics and periodonal disease: future perspectives. *Inflamm Res.* 2009;58(10):625-9.
11. Larsson L, Castilho RM, Giannobile WV. Epigenetics and its role in periodontal diseases: a state-of-the-art review. *J Periodontol.* 2015;86(4):556-68.
12. Lindroth AM, Park YJ. Epigenetic biomarkers: a step forward for understanding periodontitis. *J Periodontal Implant Sci.* 2013;43(3):111-20.
13. Waddington CH. Canalization of development and genetic assimilation of acquired characters. *Nature.* 1959;183(4676):1654-5.
14. Waddington CH. Genetic assimilation. *Adv Genet.* 1961;10:257-93.
15. Wilson AG. Epigenetic regulation of gene expression in the inflammatory response and relevance to common diseases. *J Periodontol.* 2008;79(8 Suppl):1514-9.
16. Wood RD, Mitchell M, Lindahl T. Human DNA repair genes, 2005. *Mutat Res.* 2005;577(1-2):275-83.

17. Jeltsch A, Jurkowska RZ. New concepts in DNA methylation. *Trends Biochem Sci.* 2014;39(7):310-8.
18. Diez-Perez R, Campo-Trapero J, Cano-Sanchez J, et al. Methylation in oral cancer and pre-cancerous lesions (Review). *Oncol Rep.* 2011;25(5):1203-9.
19. Zhang S, Crivello A, Offenbacher S, et al. Interferon-gamma promoter hypomethylation and increased expression in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2010;37(11):953-61.
20. Oliveira NF, Damm GR, Andia DC, et al. DNA methylation status of the IL8 gene promoter in oral cells of smokers and non-smokers with chronic periodontitis. *Journal Clin Periodontol.* 2009;36(9):719-25.
21. Ishida K, Kobayashi T, Ito S, et al. Interleukin-6 gene promoter methylation in rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2012;83(7):917-25.
22. Zhang S, Barros SP, Moretti AJ, et al. Epigenetic regulation of TNFA expression in periodontal disease. *J Periodontol.* 2013;84(11):1606-16.
23. Loo WT, Jin L, Cheung MN, et al. Epigenetic change in E-cadherin and COX-2 to predict chronic periodontitis. *J Transl Med.* 2010;8:110.
24. De Faria Amormino SA, Arao TC, Saraiva AM, et al. Hypermethylation and low transcription of TLR2 gene in chronic periodontitis. *Hum Immunol.* 2013;74(9):1231-6.
25. Yin L, Chung WO. Epigenetic regulation of human beta-defensin 2 and CC chemokine ligand 20 expression in gingival epithelial cells in response to oral bacteria. *Mucosal Immunol.* 2011;4(4):409-19.
26. Maio D, Godovikova V, Qian X, et al. *Treponema denticola* upregulates MMP-2 activation in periodontal ligament cells: interplay between epigenetics and periodontal infection. *Arch Oral Biol.* 2014;59(10):1056-64.
27. Larsson L, Thorbert-MRO SS, Rymo L, et al. Influence of epigenetic modifications of the interleukin-10 promoter on IL10 gene expression. *Eur J Oral Sci.* 2012;120(1):14-20.
28. Imai K, Ochiai K, Okamoto T. Reactivation of latent HIV-1 infection by the periodontopathic bacterium *Porphyromonas gingivalis* involves histone modification. *J Immunol.* 2009;182(6):3688-95.
29. Imai K, Inoue H, Tamura M, et al. The periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* induces the Epstein-Barr virus lytic switch transactivator ZEBRA by histone modification. *Biochimie.* 2012;94(3):839-46.