

CZU: 616.31-006-078:579.61

<https://doi.org/10.52692/1857-0011.2021.2-70.09>

ROLUL MICROBIOMULUI ORAL ÎN DIAGNOSTICUL ȘI PROGNOSTICUL TUMORILOR CAVITĂȚII ORALE (REVISTA LITERATURII)

¹Aurelia SPINEI, dr. hab. șt. med., prof. univ., ²Anca CHIRIAC, prof. univ., dr. med.,
¹Iurie SPINEI, dr. șt. med., conf. univ., ¹Gheorghe ȚÎBÎRNĂ, acad., dr. hab. șt. med., prof. univ.

¹USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

²Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”, Iași, România

e-mail: aurelia.spinei@usmf.md

Rezumat.

În pofida progresului în tratamentul proceselor tumorale, cancerul oral este frecvent depistat deja în stadiile avansate. Progresele recente în tehnologiile metagenomice pot fi utile în identificarea microbiomului legat de tumorile cavității orale, inclusiv cancerul oral, genomul acestora, proprietățile de virulență și interacțiunea lor cu imunitatea gazdei. Modificarea comunităților microbiene comensale orale are o aplicabilitate potențială ca instrument de diagnostic și prognostic a tumorilor cavității orale. Pentru a dezvolta abordări terapeutice extrem de precise și eficiente, poate fi necesară identificarea microbiomilor orali specifici. În prezentul reviu, relatăm rolul microbiomului în progresarea tumorilor cavității orale și rolul acestuia ca biomarker precoce și de prognostic pentru tumorile cavității orale.

Cuvinte-cheie: microbiomul oral, biofilm, cancer oral, inflamație, biomarker.

Summary. Role of oral microbiome in diagnosis and prognosis of oral tumors (literature review).

Despite advancement in tumors treatment, oral cancer has a poor prognosis and is often detected at late stage. Recent advancement in metagenomic technologies may be useful in identifying oral tumors-related microbiome, their genomes, virulence properties, and their interaction with host immunity. Alteration in the oral commensal microbial communities have potential application as a diagnostic tool to predict oral tumors. To develop highly precise and effective therapeutic approaches, identification of specific oral microbiomes may be required. In this review, we narrate the role of microbiome in the progression of oral tumors and its role as an early diagnostic and prognostic biomarker for oral tumors.

Key-words: oral microbiome, biofilm, oral cancer, inflammation, biomarker.

Резюме. Роль микробиома полости рта в диагностике и прогнозировании опухолей полости рта (литературный обзор).

Несмотря на прогресс в лечении опухолевых процессов, рак полости рта часто выявляется уже на запущенных стадиях. Последние достижения в метагеномных технологиях могут быть применены для идентификации микробиома, связанного с опухолями полости рта, включая рак ротовой полости, их геном, свойства вирулентности и их взаимодействие с иммунитетом хозяина. Модификация комменсальных микробных сообществ полости рта потенциально применима в качестве инструмента для диагностики и прогноза опухолей полости рта. Для разработки высокоточных и эффективных терапевтических подходов может потребоваться идентификация конкретных микробиомов полости рта. В данном обзоре мы сообщаем о роли микробиома в прогрессировании рака полости рта и его роли в качестве раннего и прогностического биомаркера опухолей полости рта.

Ключевые слова: микробиом полости рта, биопленка, рак полости рта, воспаление, биомаркер.

Introducere. Tumorile cavității orale (TCO) reprezintă o entitate extrem de eterogenă care cuprinde o serie de tumori care au punct de plecare cavitatea orală, hipofaringele, orofaringele, nazofaringele sau laringele, cu diferențe notabile din aspect de epidemiologie, etiologie sau abordare terapeutică [1]. Igiena orală deficitară acționează sinergic sporind riscul de cancer oral. Infecția bacteriană este una dintre cauzele majore ale inflamației cronice care facilitează proliferarea celulară crescută, mutageneza, activarea proteinelor oncogene și angiogeneza care duc la dezvoltarea TCO. Numeroase specii bacteriene sunt implicate în cancerul oral [2]. În pofida progresului în tratamentul cancerului, TCO sunt frecvent diagnosti-

cate în stadii tardive și există un risc ridicat de dezvoltare a tumorilor secundare [3]. Pentru a depăși aceste impedimente, cercetătorii interprind eforturi pentru identificarea biomarkerilor de diagnostic precoce și prognostic a TCO. Un interes semnificativ a prezentat studiul rolului microbiomului în carcinogeneza orală [4-11]. Investigațiile microbiomului uman, folosind tehnologia de secvențiere de nouă generație bazată pe utilizarea 16S rARN au caracterizat aspectele structurale și funcționale ale comunităților bacteriene cultivabile și neculturable din diferite regiuni ale corpului uman în timpul condițiilor de sănătate și patologie. Gena 16S rARN care are o lungime de 1500 pb și este utilizată pentru identificarea comunităților bacteriene.

Gena bacteriană 16S rARN conține 9 regiuni hipervariabile (V1-V9). O singură regiune hipervariabilă devine incapabilă să distingă între toate bacteriile. Dintre cele 9 regiuni hipervariabile, regiunea V3 la V4 oferă puterea maximă de discriminare pentru analiza grupurilor bacteriene. Această regiune generează un produs cu o lungime de 500 bp, este utilizată în studiul metagenomic [4]. În baza de date a microbiomului umane (14.5; www.homd.org) sunt incluse 700 de tulpini bacteriene care convețuiesc în cavitatea orală. Modificările microbiomului oral conduc la inflamații care determină apariția TCO prin metabolismul direct al agenților cancerigeni [12].

În acest reviu al literaturii de specialitate, relatăm rolul microbiomului în progresia proceselor tumorale a cavității orale și rolul său ca biomarker precoce și de prognostic pentru cancerul oral. De asemenea, este prezentată o sinteză a rezultatelor studiilor particularităților microbiomului oral la persoanele sănătoase și cu boli orale care determină progresia TCO.

Localizarea și ecologia habitatului microbial. „Microbiomul uman” reprezintă toate microorganismele și genomul lor din corpul uman. Microbiomul oral este definit ca genomul microorganismelor din cavitatea orală [5]. Microbiomul oral este considerat un biomarker ideal în comparație cu alți biomarkeri de la gazdă pentru tumorile cavității orale. În cavitatea orală și nazofaringiene convețuiesc peste 700 de specii bacteriene și se menține un mediu ideal pentru dezvoltarea microbiomului. Bacteriile aerobe creează o nișă localizată pentru anaerobi care se dezvoltă împreună pentru a menține homeostazia. Temperatura de 37°C în cavitatea orală și pH-ul de la 6,5 la 7,5 din salivă oferă un habitat stabil pentru aceste specii bacteriene. Saliva oferă nutrienți microbiomului și îl menține hidratat. Bacteriile aerobe și anaerobe formează împreună biofilme orale care previn schimbările din mediul lor [6]. Populația microbiomului oral variază în funcție de salivă și diferite habitate ale cavității orale (mucoasa bucală, placa supragingivală și subgingivală, pungile parodontale, suprafața dinților și limba). Dintre aceste habitate, limba are cea mai mare diversitate de microbiote, iar microorganismele prezente facilitează colonizarea bacteriilor în alte regiuni ale cavității orale prin salivă. Modificările condițiilor de mediu cresc potențialul bacteriilor patogene de a provoca diferite boli [5, 6].

Majoritatea bacteriilor din salivă sunt atașate de celulele epiteliale umane exfoliate [7]. Diverși receptori și molecule de aderență (adezine) ale speciilor bacteriene asigură colonizarea pe suprafețele orale prin mecanismul „blocare și cheie”. Bacteriile se leagă cu receptori complementari pe suprafețele mucoasei gazdei [8].

Veillonella atypica, *Porphyromonas gingivalis*, *Selenomonas subspecies*, *Actinobacillus actinomy-*

cetemcomitans, *Prevotella intermedia* și *Capnocytophaga* sunt depistate la suprafața limbei, în timp ce *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza* și *Haemophilus parainfluenza*. *Streptococcus faecalis*, *Eikenella corrodens*, *Enterobacteriaceae*, *Actinomyces*, *Lactobacilli*, *Veillonella* și *Treponema* sunt observate exclusiv în cavitatea orală, dar nu și în orofaringe [6].

Creșterea numărului de bacterii anaerobe, cum ar fi subspeciile *Bacteroidaceae* și *Spirochetes*, a fost raportată în zona subgingivală cu aport mai mic de oxigen. Formarea biofilmului pe suprafețele dinților are loc prin matrice care este alcătuită din substanțe polimerice extracelulare. Supraexpunerea la carbohidrați fermentabili modifică echilibrul dintre comensali și agenți patogeni [7, 8]. Zaharoza este combinația de zaharuri hexozice, cum ar fi glucoza și fructoza, care sunt utilizate pentru a sintetiza glucanii și fructanii. Substanțele polimerice extracelulare sunt alcătuite din exopolizaharide, cum ar fi glucanii, acidul lipoteicoic, proteinele asemănătoare amiloidului, glicoproteinele, ADN-ul extracelular și proteinele gazdă. Fermentarea glucozei și fructozei produce acid lactic care afectează configurația și constituirea biofilmelor dentare [9, 11]. Substanțele polimerice extracelulare oferă locuri pentru aderența la celulele bacteriene. Dieta bogată în carbohidrați induce formarea exopolizaharidelor, producerea de metaboliți acizi și favorizează acumularea de microorganisme acidogene și acidurice în cariile dentare [4-6].

Streptococcus mutans, *Lactobacilli*, subspeciile *Bifidobacterium*, *Scardovia* și *Actinomyces* sunt asociate cu caria dentară. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Filifactor alocis* și *Peptoanaerobacter stomatis* sunt asociate bolilor parodontale. Dintre acestea, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* și *Treponema denticola* sunt considerați agenți patogeni predominanți în parodontita cronică. *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus oralis* și *Streptococcus mitis* sunt comensali importanți ale cavității orale. *Streptococcus gordonii* în asociere cu *Porphyromonas gingivalis* provoacă pierderea osoasă. Comunitățile cariogene, cum ar fi *Corynebacterium*, *Granulicatella*, *Propionibacterium* și anumite tulpinile de *Leptotrichia* au un potențial zahararolitic ridicat și produc acizi. Unele bacterii acidogene, cum ar fi subspeciile *Prevotella* și *Atopobium*, s-au depistat în componența biofilmelor cariogene [7, 9-11].

Bacteriile comensale convețuiesc în echilibru cu răspunsul imun al gazdei. *Streptococcus* este genul predominant al biomului oral sănătos. Speciile bacteriene comensale și patogene ocolesc răspunsul imun al gazdei prin formarea biofilmului. Streptococii produc adezine orale, cum ar fi PaG, SspA, antigen I / II, proteine care leagă amilaza și proteine de tip 1 asoci-

ate cu fimbriae. *Streptococcus gordonii* și *Porphyromonas gingivalis* utilizează AI-2 din biofilmul oral [13]. *Streptococcus gordonii* reduce formarea plăcii dentare prin producerea de peroxid de hidrogen. Peroxidul de hidrogen al *Streptococcus gordonii* inhibă creșterea *Actinomyces naeslundii*. *Fusobacterium nucleatum* se poate asocia cu *Streptococcus cristatus*. *Streptococci*, *Actinomyces* și *Lactobacillus* inhibă creșterea speciilor bacteriene făcând microambientul acid prin schimbarea pH-ului. Subspeciile *Porphyromonas*, subspeciile *Campylobacter*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* și *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* din biofilm sunt responsabile de inflamația țesuturilor parodontiului [8, 10].

Porphyromonas gingivalis îmbunătățește activitatea tirozin kinazei Ptk1 și a căii de semnalizare dependente de fosforilarea tirozinei prin adevine fimbriale FimA și Mfa1 ca răspuns la metabolitul streptococic 4-amino benzoat (pABA). Interacțiunea dintre proteina adhesină Mfa1 și proteinele de suprafață streptococice precum SspA sau SspB activează tirozin fosfataza Ltp1 care defosforilează Ptk1 și reduce producția de adezină. pABA produsă de *Streptococcus gordonii* inactivează tirozin fosfataza Ltp1 a *Porphyromonas gingivalis*, reducând astfel nivelul de defosforilare al tirozin kinazei Ptk1. Factorul de transcripție CdhR este inactivat de Ptk1, iar Ptk1 la rândul său, crește expresia genei FimA care codifică adevinele fimbriale [11, 13-15].

Factori care afectează populația microbiotică orală. Temperatura, pH-ul, condițiile atmosferice, salinitatea, potențialul redox și apa din salivă afectează formarea biofilmelor în cavitatea orală. Saliva este utilizată în calitate de mediu de transport (al nutrienților, peptidelor și glucidelor parțial dizolvate) în formarea biofilmelor orale [8, 16, 17].

Factorii precum vârsta gazdei, condițiile de mediu, cum ar fi pH-ul, nivelurile de oxigen și nutriția în habitatele cavitatea orală, stilul de viață al gazdei, cum ar fi obiceiurile alimentare, consumul de tutun și alcool și igiena orală modulează compoziția microbiotei orale. Formarea biofilmului în placa dentară este asociată cu inițierea cariei dentare și bolilor parodontale. Acumularea de biofilme este restricționată de epiteliul oral. Glicoproteinele salivare reglează atașarea bacteriilor pe suprafețele orale, fie îmbunătățind, fie împiedicând aderența acestora [13-18].

Componentele salivare, imunoglobulina A, lactoferrina, lactoperoxidaza, lizozima, statherina și histatinele sunt sursa nutrițională pentru microbiomul oral. Lactoperoxidaza este responsabilă pentru producerea de hipotiocianit din peroxid de hidrogen. Hipotiocianitul a prezentat efecte antimicrobiene prin suprimarea glicolizei bacteriene. O altă componentă salivară cu potențial antimicrobian este nitritul, transformat din nitrații alimentari de către bacteriile orale. Nitritul produs de microbiomul

oral este redus în continuare la oxid nitric care previne creșterea bacteriilor cariogene [14, 18, 19].

Efectele benefice ale bacteriilor orale rezidente.

Bacteriile comensale pot spori eficacitatea imunoterapiei proceselor tumorale. *Bifidobacterium* prin administrare orală a controlat creșterea tumorii cu aceeași eficiență comparativ cu proteina programată de moarte celulară 1 ligand 1 (PD-L1) în terapia cu anticorpi specifici. Abordarea complexă atât a administrării orale a *Bifidobacterium*, cât și a anticorpului specific PD-L1 a prevenit numai creșterea tumorii. Administrarea orală a *Bifidobacterium* accelerează răspunsul imun antitumoral și modifică eficacitatea inhibitorilor punctului de control ca agent imunoterapeutic prin schimbarea compoziției microorganismelor intestinale [19-23]. Bacteriocinele *Streptococcus dentisani* inhibă creșterea speciilor bacteriene cariogene. Peptidele antimicrobiene cum ar fi bacteriocinele produse de *Streptococcus mutans* și *Streptococcus salivarius* în cavitatea orală distrug alte bacterii [15, 19, 24-29].

Particularitățile microbiomului oral în saliva pacienților cu tumori ale cavității orale. Numărul mare de *Prevotella melaninogenica*, *Streptococcus mitis*, *Capnocytophaga gingivalis* și *Fusobacterium periodonticum* sunt raportate în saliva pacienților cu TCO [18, 23, 30-32]. Totodată, numărul de *Aggregatibacter*, *Lautropia*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Leptotrichia*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Gemellaceae* sau *Aggregatibacter* a fost semnificativ mai mare la subiecții sănătoși în comparație cu pacienții cu TCO [22, 25, 33].

Creșterea numărului *Lactobacillus vaginalis*, *Lactobacillus gasseri*: *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius* și *Lactobacillus rhamnosus*, abundența *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus salivarius*: *Streptococcus vestibularis*, *Prevotella oris* și *Rothia mucilaginosa*, precum și micșorarea numărului de *Prevotella melaninogenica* și *Prevotella pallens* s-au depistat în probele de salivă colectate de la pacienții cu stadii avansate de cancer oral. Creșterea numărului Lactobacililor în salivă anihilează legarea altor bacterii de celulele epiteliale orale ale gazdei, iar acidul lactic produs de lactobacili inhibă creșterea multor altor bacterii și previne deacetilarea histonelor care determină transcrierea genelor. Astfel, acidul lactic îmbunătățește autofagia celulelor epiteliale [26, 34].

Existența bacteriilor viabile în profunzimea tumorilor a oferit un argument în plus pentru ipoteza că bacteriile supraviețuiesc în microclimatul tumoral [30, 32, 35-41]. Taxonii bacterieni *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Actinomyces* și *Clostridium* aparținând anaerobilor și *Haemophilus*, *Enterobacteriaceae* și subspeciile de *Streptococcus* au fost depistate în abundență în situsurile de cancer [34, 41-45]. Perera M, Al-Hebshi NN, Perera I, et al., 2018, au elucidat creșterea numărului *Capnocyto-*

phaga, *Pseudomonas* și *Atopobium* la nivel de gen și *Campylobacter concisus*, *Prevotella salivae*, *Prevotella loeschii* și *Fusobacterium* oral taxon 204 la nivel de specie la pacienții cu TCO, iar a *Streptococcus mitis*, *Streptococcus* oral taxon 070, *Lautropia mirabilis* și *Rothia dentocariosa* – la subiecții cu polip fibroepitelial. Factorii de virulență, cum ar fi LPS, flageli și exotoxina U în *Pseudomonas aeruginosa* au jucat un rol semnificativ în inflamația în carcinogeneză [46].

Rolul microbiomului oral în inflamație. Inflamația datorată infecțiilor, factorilor de mediu și terapiei induce angiogeneza, progresia tumorii și metastaza. Infecția bacteriană induce inițierea și progresia proceselor oncogene. Celulele gazdă au receptori de recunoaștere a modelelor (PRR, engl. pattern recognition receptors), cum ar fi familia receptorilor de tip taxă (TLR), care recunosc tiparele moleculare asociate cu agenții patogeni sau DAMP care activează răspunsul imun înăscut. Endotoxinele bacteriene (LPS), subprodusele metabolice ale infecției bacteriene și activitatea enzimatică crescută din cauza infecției bacteriene pot induce mutații somatice în genomii gazdei și modifică calea de semnalizare [47].

Activarea factorului de transcripție a factorului nuclear kB (NF-kB) este o caracteristică esențială a dezvoltării tumorilor asociate bacteriilor. În timpul infecției, bacteriile gram-negative eliberează endotoxine precum LPS din membrana lor exterioră. LPS bacteriene leagă PRR-uri foarte sensibile, cum ar fi TLR-urile, în special TLR4, care la rândul său activează producția de citokine inflamatorii asociate prin calea de semnalizare NF-KB. Acest eveniment de semnalizare este unul dintre factorii majori în inflamația indusă de bacterii, precum și contribuția la carcinogeneză. Lipopolizaharida de la un potențial agent patogen precum *Porphyromonas gingivalis* și *Fusobacterium nucleatum* este responsabilă pentru activarea sistemului imunitar la nivel celular în bolile parodontale. Endotoxina bacteriană îmbunătățește producția factorului de necroză tumorală α (TNF- α) din macrofage. Citokinele inflamatorii, cum ar fi interleukina (IL) -1 β , IL-6 și TNF- α , sunt responsabile pentru deteriorarea țesutului parodontal. Interleukina-1 β poate fi implicată în resorbția osoasă și pierderea atașamentului, care sunt proprietăți caracteristice ale parodontitei. TNF- α este responsabil pentru generarea de radicali liberi în timpul sepsisului [42, 46, 47].

Produsele bacteriene cum ar fi endotoxinele (LPS), enzimele (de exemplu, proteaze, collagenaze, fibrinolizină și fosfolipază) și subprodusele metabolice (de exemplu, H₂S, amoniac și acizi grași) pot induce modificări genetice permanente în celulele epiteliale ale gazdei care conduc proliferarea și / sau supraviețuirea celulelor epiteliale. Microorganismele induc inflamații prin activarea neutrofilelor, macrofagelor, monocitelor, limfocitelor, fibroblastelor și celulelor epiteliale care conduc secreția de citokine și me-

taloproteazele matricei. Bacteriile generează specii reactive de oxigen (de exemplu, peroxid de hidrogen și radicali de oxigen), specii reactive de azot (oxizi nitric), lipide reactive și metaboliti (de exemplu, malondialdehidă, 4-hidroxi-2-nonenal) în celulele epiteliale care determină deteriorarea ADN-ului în celulele epiteliale ce contribuie la fenotipul bolii. Flagelii bacterieni au fost considerați ca structuri inflamatorii cheie în reglarea inflamației asociate TCO [47-49].

Rolul *Porphyromonas gingivalis* și *Fusobacterium nucleatum* în progresarea tumorilor cavității orale. *Porphyromonas gingivalis* induce supraexpresia receptorilor B7-H1 și B7-DC în celulele epiteliale orale care sunt responsabile pentru dezvoltarea inflamației cronice prin creșterea producției de IL-1, IL-6, IL-8 și TNF- α . *Porphyromonas gingivalis* și *Fusobacterium nucleatum* sunt responsabile de invazia celulară în cancer oral. *Porphyromonas gingivalis* induce supraexpresia metaloproteinazei pro-matrice-9 (pro-MMP-9), este responsabil pentru tranziția epitelială la tranziția mezenchimală și îmbunătățește producția de MMP-1 și MMP-10. *Fusobacterium nucleatum* induce supraproducția de MMP-13 (colagenaza 3), a protein kinazei p38 cu activate mitogenă, Etk/BMX, kinaza S6 p70 și kinaza RhoA care determină invazia și migrația celulară. *Porphyromonas gingivalis* induce proliferarea celulară prin activarea și fosforilarea kinazelor dependente de ciclină și reduce nivelul de expresie al TP53 prin posesia fimbriilor (FimA adhesin) [42, 50]. *Porphyromonas gingivalis* induce proliferarea celulelor epiteliale bucale prin reglarea în sus a β -cateninei și degradarea proteolitică dependentă de gingipaină. *Fusobacterium nucleatum* induce proliferarea celulei epiteliale orale prin activarea a 12 kinaze. Aderența fusobacteriană FadA de *Fusobacterium nucleatum* se leagă de E-cadherină și la rândul său activează β -catenina. *Porphyromonas gingivalis* inhibă apoptoza mitocondrială intrinsecă indusă chimic în celulele epiteliale gingivale prin activarea transductorului JAK1/ signal și activator al transcripției 3 (STAT3) și semnalizării PI3K/Akt. *Porphyromonas gingivalis* induce supraexpresia miR-203, care reduce supresorul citokinei de semnalizare 3 care inhibă apoptoza prin activarea STAT3. Nucleozid difosfat kinaza din *Porphyromonas gingivalis* inhibă apoptoza dependentă de Adenozintrifosfatului prin receptorul purinergic P2X7 în celulele epiteliale gingivale [50, 51].

Infecțarea cu *Porphyromonas gingivalis* activează mai multe căi antiapoptotice, cum ar fi semnalizarea Jak1/Akt/Stat3. Lipopolisaharidele *Porphyromonas gingivalis* conțin 2-ceto-3-deoxioctonat fosforilat care inhibă apoptoza mitocondrială intrinsecă a celulelor epiteliale. *Porphyromonas gingivalis* îmbunătățește Bcl2 (antiapoptotic); Raportul Bax (pro-apoptotic) și inhibă eliberarea citocromului c din mitocondrii [52].

Porphyromonas gingivalis colonizează în interiorul celulelor epiteliale gingivale și previne apoptoza prin inducerea ligării Adenozintrifosfatului cu receptorii purinergici ai receptorilor P2X7. Nucleozid difosfat kinaza *Porphyromonas gingivalis* inhibă apoptoza și favorizează supraviețuirea celulelor epiteliale ale gazdei [51, 53]. *Porphyromonas gingivalis* reduce activarea Adenozintrifosfatului a receptorilor P2X7 pe celulele dendritice care perturbază activarea inflammasomului NLRP3/ASC/caspază-1, previne secreția de IL-1 β și IFN- γ din celulele T CD8 + [48, 50].

Porphyromonas gingivalis accelerează progresia prin faza-S a ciclului celular prin prevenirea activității genei supresoare tumorale p53 [42, 46]. Expresia indusă de receptorii B7-H1 și B7-DC pe celulele HN-SCC și celulelor epiteliale gingivale primare de către *Porphyromonas gingivalis* a fost raportată de mai mulți autori. Expresia receptorului B7-H1 inhibă celulele T-efectoare prin inducerea celulelor T-reglatoare. Expresia receptorului B7-H1 induce evaziunea imună în cancerle orale [48]. Căile ERK1/2-Ets1, p38 HSP27 și PAR2/NF- κ B sunt activate de infecția cu *Porphyromonas gingivalis* pentru a induce expresia pro-MMP-9. Gingipainele (cistein proteinaze) din componența *Porphyromonas gingivalis* transformă pro-MMP-9 în MMP-9 care contribuie la invazia migrației celulare și metastaza în HNSCC [49].

Flagelul bacterian și lipopolisaharidele sunt structuri inflamatorii puternice. Lipopolizaharida induce reacții inflamatorii care favorizează cancerul. Lipopolizaharida din componența *Fusobacterium nucleatum* conține 2-ceto-3-deoxioctonat și heptoză care pot inhiba calea apoptotică intrinsecă a celulelor epiteliale orale. Infectarea celulelor epiteliale umane de către *Fusobacterium nucleatum* crește producția de MMP-13 (colagenaza 3) prin activarea proteinei kinazei p38 activată de mitogen. La rândul său, aceasta provoacă migrația celulară prin stimularea Etk/BMX, S6 kinaza p70 și RhoA kinaza. *Fusobacterium nucleatum* activează p38 care la rândul său activează HSP-27 și induce secreția de MMP-9 și MMP-13 (colagenaza 3) care determină invazia tumorii și metastazele [9, 50]. Lipopolizaharida *Fusobacterium nucleatum* este implicată în inflamații și leziuni dăunătoare mediate de citokine ale celulelor epiteliale gingivale prin activarea translocăției genei NF- κ B în nucleul care conduce la producerea de citokine inflamatorii precum IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL -8 și MMP-uri [44]. *Fusobacterium nucleatum* din celulele epiteliale gingivale activează inflammasomul NLRP3 care include HMGB1 (proteina box-1 grup cu morbiditate înaltă), proteină asemănătoare speckului asociată cu apoptoza și caspază-1 [37]. Molecula de adeziune FadA a *Fusobacterium nucleatum* se leagă de E-cadherină și activează semnalizarea β -cateninei care reglează proliferarea celulară și răspunsurile inflamatorii în oncogeneză [94, 104, 105].

Antigenii *Porphyromonas gingivalis* au fost de asemenea depistați în carcinomul gingival cu celule scuamoase. Expresia receptorului B7-H1 în celulele carcinomului limbii este indusă de infecția cu *Porphyromonas gingivalis* care induce producția de pro-MMP-9 prin căile ERK1/2-Ets1, p38/HSP27 și PAR2/NF κ B. *Porphyromonas gingivalis* induce expresia pro-MMP-9 în mucoasa orală, celulele dendritice și monocitele, activează PAR2 care crește NF- κ B, ceea ce duce la supraexpresia pro-MMP-9. Proenzima pro-MMP-9 este activată de gingipainele (arginina-X [Arg-gingipain A și B (RgpA și RgpB)] – și lizina-X [Lys-gingipain (Kgp)] – proteine cisteinice specifice) ale invaziei *Porphyromonas gingivalis*. Matricea metaloproteinaza-9 degradează colagenul IV din membranele bazale și matricea extracelulară care inițiază progresia tumorii [52-54].

Porphyromonas gingivalis este considerat un factor de risc potențial pentru cancerul oral [51] care induce tranziția epitelial-mezenchimală prin reglarea descendentă a E-cadherinei și acumularea nucleocitoplasmatică a β -cateninei care determină agresivitatea și/sau potențialul metastatic în cancerul oral. *Porphyromonas gingivalis* crește nivelul PI3K/Akt care inactivează GSK3 β , ceea ce mărește expresia factorilor de transcripție Snail și Slug. Este cunoscut faptul, că Snail, Slug și β -catenin îmbunătățesc expresiile Zeb1, Vimentin și MMP-2, -7 și -9 [38].

Microorganismele induc răspunsul imunitar la inflamație în celulele gazdă care îmbunătățește rata mutației în celulele normale și declanșează transformarea malignă a celulelor normale ale gazdei [39]. *Porphyromonas gingivalis* este responsabil pentru deteriorarea țesuturilor parodontale locale și evită sistemul imunitar al gazdei. Expunerea pe termen lung a *Porphyromonas gingivalis* induce proliferarea celulară, migrația și invazia prin reglarea genelor legate de tumori precum FLI1, GAS6, PDCD1LG2, CD274 și lncRNACCAT1 [41]. Astfel, rămâne de investigat, dacă profilarea expresiei acestor gene ar putea fi folosită ca biomarkeri.

Porphyromonas gingivalis induce expresia moleculelor de suprafață celulară care activează complexul TLR2-TLR1, iar acesta induce secreția de enzime (gingipainele HRgpA și RgpB) care au efect asupra componentei complementului C5 pentru a genera concentrație mare de ligand C5a pentru receptorul C5a1 (C5aR1). *Porphyromonas gingivalis* induce calea de semnalizare a diafragmei C5aR1-TLR2 în neutrofile și macrofage care separă un element de protecție a gazdei – TLR2-MyD88 de TLR2-MyD88-like adaptor (toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein, TIRAP; MyD88 adapter-like, Mal) – Pi3K, care blochează fagocitoza și contribuie la propagarea inflamației. *Porphyromonas gingivalis* inhibă expresia chemokinelor care influențează celula IL-8 și T helper 1 (CXCL9, CXCL10 și CXCL11)

chiar și în prezența *Fusobacterium nucleatum*. *Porphyromonas gingivalis* inhibă inflamația dependentă de MyD88, dar induce citokinele inflamatorii dependente de PI3K atât la neutrofile, cât și la macrofage. Receptorii de tip toll de pe suprafețele celulelor epiteliale recunosc *Fusobacterium nucleatum* care induce căi de semnalizare proinflamatoare [19, 36]. *Porphyromonas gingivalis* modifică aceste căi prin reducerea expresiei CXCL10 prin inactivarea STAT1 și IRF1 în celulele epiteliale, neutrofile și monocite. *Porphyromonas gingivalis* secretă serin fosfatază SerB în celulele epiteliale care activează NF-κB prin defosforilare la serina 536 reziduu al subunității p65 a NF-κB. Subunitatea p65 activată a NF-κB inhibă activarea transcripțională a IL-8 [35, 51, 53].

Concluzii

Cercetările recente s-au axat pe rolul bacteriilor în carcinogeneza orală. S-a stabilit că o meta-

genomică de 16 ARN ribosomal (ARNr) cu NGS a contribuit în mod semnificativ la specificul microbiomului oral care determină apariția TCO, inclusiv cancerului oral.

Avansarea tehnologiilor omice, a bioinformaticii, va fi utilă pentru identificarea microbiomului oral și a genomului, proteomului și metabolomului acestora. Aceste date pot fi utile în identificarea microbiomului TCO, proprietățile lor de virulență și interacțiunea lor cu imunitatea gazdei.

Identificarea microbiotei orale și rolul său funcțional cu aplicarea tehnologiei de secvențiere de nouă generație bazată pe utilizarea 16S rARN ar putea fi implementată atât în diagnosticul precoce, cât și în tratamentul complex al pacienților cu TCO.

Această sinteză a literaturii a elucidat rolul activ al microbiomului oral în formarea biofilmului și rolul acestuia în progresia TCO, inclusiv, cancerului oral prin modificarea fiziologiei gazdei.

Bibliografia

- Gupta B., Johnson N. *Systematic review and meta-analysis of association of smokeless tobacco and of betel quid without tobacco with incidence of oral cancer in South Asia and the Pacific*. PLoS One, 2014; 9(11):e113385.
- Lax A., Thomas W. *How bacteria could cause cancer: one step at a time*. Trends Microbiol., 2012; 10(6):293-299.
- Multhoff G., Molls M., Radons J. *Chronic inflammation in cancer development*. Front Immunol., 2011; 2:98.
- Perera M., Al-hebshi N., Speicher D., Perera I., Johnson N. *Emerging role of bacteria in oral carcinogenesis: a review with special reference to perio-pathogenic bacteria*. J Oral Microbiol., 2016; 8(1):32762.
- Dewhirst F., Chen T., Izard J., et al. *The human oral microbiome*. J Bacteriol., 2010; 192(19):5002-5017.
- Lim Y., Totsika M., Morrison M., Punyadeera C. *Oral microbiome: a new biomarker reservoir for oral and oropharyngeal cancers*. Theranostics., 2017; 7(17):4313-4321.
- Dawes C. *Estimates, from salivary analyses, of the turnover time of the oral mucosal epithelium in humans and the number of bacteria in an edentulous mouth*. Arch Oral Biol., 2003; 48(5): 329-336.
- Avila M., Ojcius D., Yilmaz O. *The oral microbiota: living with a permanent guest*. DNA Cell Biol., 2009; 28(8):405-411.
- Mager D., Haffajee A., Devlin P., et al. *The salivary microbiota as a diagnostic indicator of oral cancer: a descriptive, nonrandomized study of cancer-free and oral squamous cell carcinoma subjects*. J Transl Med., 2005; 3(1):27.
- Itzek A., Gillen C., Fulde M., et al. *Contribution of plasminogen activation towards the pathogenic potential of oral Streptococci*. PLoS One., 2010; 5(11):e13826.
- Lamont R., Koo H., Hajishengallis G. *The oral microbiota: dynamic communities and host interactions*. Nat Rev Microbiol., 2018; 16(12):745-759.
- Chen T., Yu W., Izard J., et al. *The human oral microbiome database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information*. Database (Oxford), 2010; 2010:baq013.
- Jakubovics N., Kolenbrander P. *The road to ruin: the formation of disease-associated oral biofilms*. Oral Dis., 2010; 16(8): 729-739.
- Aruni A., Dou Y., Mishra A., Fletcher H. *The biofilm community—Rebels with a cause*. Curr Oral Health Rep., 2015; 2(1): 48-56.
- Sintim H., Gu'rsoy U. *Biofilms as "Connectors" for oral and systems medicine: a new opportunity for biomarkers, molecular targets, and bacterial eradication*. OMICS., 2016; 20(1):3-11.
- Zhang K., Ou M., Wang W., Ling J. *Effects of quorum sensing on cell viability in Streptococcus mutans biofilm formation*. Biochem Biophys Res Commun., 2009; 379(4):933-938.
- Baker J., Bor B., Agnello M., Shi W., He X. *Ecology of the oral microbiome: beyond bacteria*. Trends Microbiol., 2017; 25(5): 362-374.
- Rosier B., Marsh P, Mira A. *Resilience of the oral microbiota in Health: mechanisms that prevent dysbiosis*. J Dent Res., 2018; 97(4):371-380.
- Zaura E., Keijser B., Huse S., Crielaard W. *Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities*. BMC Microbiol., 2009; 9:259.
- Verma M. *Mechanistic and Technical Challenges in Studying the Human Microbiome and Cancer Epidemiology*. Technol Cancer Res Treat., 2017; 16(2):150-158.
- Acharya A., Chan Y., Kheur S., et al. *Salivary microbiome of an urban Indian cohort and patterns linked to subclinical inflammation*. Oral Dis., 2017; 23(7):926-940. doi: 10.1111/odi.12676.
- Sarkar A., Stoneking M., Nandineni M. *Unraveling the human salivary microbiome diversity in Indian populations*. PLoS One., 2017; 12(9):e0184515.
- Sivan A., Corrales L., Hubert N., et al. *Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy*. Science., 2015; 350(6264):1084-1089.
- Gholizadeh P., Eslami H., Kafil H. *Carcinogenesis mechanisms of Fusobacterium nucleatum*. Biomed Pharmacother., 2017; 89: 918-925.

25. Laprise C., Shahul H., Madathil S., et al. *Periodontal diseases and risk of oral cancer in Southern India: results from the HeNCe life study*. Int J Cancer., 2016; 139(7):1512-1519.
26. Yao Q., Zhou D., Peng H., et al. *Association of periodontal disease with oral cancer: a meta-analysis*. Tumor Biol., 2014; 35(7):7073-7077.
27. Shi B., Chang M., Martin J., et al. *Dynamic changes in the subgingival microbiome and their potential for diagnosis and prognosis of periodontitis*. MBio., 2015; 6(1):e01926-14. doi: 10.1128/mBio.01926-14.
28. Hajishengallis G. *Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response*. Trends Immunol., 2014; 35(1):3-11.
29. Gao L., Xu T., Huang G., et al. *Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body*. Protein Cell., 2018; 9(5):488-500. doi: 10.1007/s13238-018-0548-1.
30. Wang K., Lu W., Tu Q., et al. *Preliminary analysis of salivary microbiome and their potential roles in oral lichen planus*. Sci Rep., 2016; 6:22943.
31. Lee W., Chen H., Yang S., et al. *Bacterial alterations in salivary microbiota and their association in oral cancer*. Sci Rep., 2017; 7(1):1-11.
32. Furquim C., Soares G., Ribeiro L., et al. *The salivary microbiome and oral cancer risk: a pilot study in Fanconi anemia*. J Dent Res., 2017; 96(3):292-299.
33. Guerrero-Preston R., Godoy-Vitorino F., Jedlicka A., et al. *16 S rRNA amplicon sequencing identifies microbiota associated with oral cancer, human papilloma virus infection and surgical treatment*. Oncotarget., 2016; 7(32):51320-51334.
34. Guerrero-Preston R., White J.R., Godoy-Vitorino F., et al. *High-resolution microbiome profiling uncovers Fusobacterium nucleatum, Lactobacillus gasseri/johnsonii, and Lactobacillus vaginalis associated to oral and oropharyngeal cancer in saliva from HPV positive and HPV negative patients treated with surgery and chemotherapy*. Oncotarget., 2017; 8(67):110931-110948. doi: 10.18632/oncotarget.20677.
35. Karpinski T. *Role of Oral microbiota in cancer development*. Microorganisms., 2019; 7(1):pii E20.
36. Bořnigen D., Ren B., Pickard R., et al. *Alterations in oral bacterial communities are associated with risk factors for oral and oropharyngeal cancer*. Sci Rep., 2017; 7(1):17686. doi:10.1038/s41598-017-17795-z
37. Al-Hebshi N., Nasher A., Maryoud M., et al. *Inflammatory bacteriome featuring Fusobacterium nucleatum and Pseudomonas aeruginosa identified in association with oral squamous cell carcinoma*. Sci Rep., 2017; 7(1):1834. doi: 10.1038/s41598-017-02079-3.
38. Lim Y., Fukuma N., Totsika M., et al. *The performance of an oral microbiome biomarker panel in predicting oral cavity and oropharyngeal cancers*. Front Cell Infect Microbiol., 2018; 8:267.
39. Hayes R., Ahn J., Fan X., et al. *Association of oral microbiome with risk for incident head and neck squamous cell cancer*. JAMA Oncol., 2018; 4(3):358-365. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.4777.
40. Al-Hebshi N., Alharbi F., Mahri M., Chen T. *Differences in the bacteriome of smokeless tobacco products with different oral carcinogenicity: compositional and predicted functional analysis*. Genes., 2017a; 8:106. doi: 10.3390/genes8040106.
41. Meurman JH. *Oral microbiota and cancer*. J Oral Microbiol., 2010; 2. doi: 10.3402/jom.v2i0.5195.
42. Kang M., Oh J., Kim H., et al. *Prevalence of oral microbes in the saliva of oncological patients*. J Bacteriol Virol., 2009; 39(4): 277-285.
43. Hiranmayi K., Sirisha K., Ramoji Rao M., Sudhakar P. *Novel pathogens in periodontal microbiology*. J Pharm Bioallied Sci., 2017; 9(3):155-163.
44. Ganly I., Yang L., Giese R., et al. *Periodontal pathogens are a risk factor of oral cavity squamous cell carcinoma, independent of tobacco and alcohol and human papillomavirus*. Int J Cancer., 2019; 145(3):775-784.
45. Banerjee S., Tian T., Wei Z., et al. *Microbial signatures associated with oropharyngeal and oral squamous cell carcinomas*. Sci Rep., 2017; 7(1):4036.
46. Perera M., Al-Hebshi N., Perera I., et al. *Inflammatory bacteriome and oral squamous cell carcinoma*. J Dent Res., 2018; 97(6): 725-732. doi: 10.1177/0022034518767118.
47. Gaonkar P., Patankar S., Tripathi N., Sridharan G. *Oral bacterial flora and oral cancer: The possible link?* J Oral Maxillofac Pathol., 2018; 22(2):234-238.
48. Hsiao J., Chang C., Lee W., et al. *The interplay between oral microbiome, lifestyle factors and genetic polymorphisms in the risk of oral squamous cell carcinoma*. Carcinogenesis., 2018; 39(6):778-787.
49. Vesty A., Gear K., Biswas K., et al. *Microbial and inflammatory-based salivary biomarkers of head and neck squamous cell carcinoma*. Clin Exp Dent Res., 2018; 4(6):255-262.
50. Singleton D., Adrion A., Aitken M. *Surfactant-induced bacterial community changes correlated with increased polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in contaminated soil*. Appl Microbiol Biotechnol., 2016; 100(23):10165-10177.
51. Vogelmann R., Amieva M. *The role of bacterial pathogens in cancer*. Curr Opin Microbiol., 2007; 10(1):76-81.
52. Gholizadeh P., Eslami H., Yousefi M., et al. *Role of oral microbiome on oral cancers, a review*. Biomed Pharmacother., 2016; 84:552-558. doi: 10.1016/j.biopha.2016.09.082.
53. Yang S., Huang H., Fan W., et al. *Compositional and functional variations of oral microbiota associated with the mutational changes in oral cancer*. Oral Oncol., 2018; 77:1-8. doi: 10.1016/j.oraloncology.2017.12.005.
54. Spinei A., Spinei I., Țibîrnă Gh. *Terapia fotodinamică antimicrobiană o strategie pentru prevenirea cariilor dentare la copii*. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale. Chișinău., 2019; 4(64): 182-190.