

Joana Belinha André Carvalho

**O álcool:  
O seu papel como ativador enzimático e indutor carcinogénico oral**

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2015



Joana Belinha André Carvalho

**O álcool:  
O seu papel como ativador enzimático e indutor carcinogénico oral**

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2015

Joana Belinha André Carvalho

**O álcool:**  
**O seu papel como ativador enzimático e indutor carcinogénico oral**

“Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos  
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária”

---

## RESUMO

Atualmente, entre a juventude é cada vez mais frequente e social o consumo de bebidas alcoólicas, podendo este estar ou não associado ao consumo de substâncias ilícitas. Existe uma propensão a que o primeiro contacto com bebidas alcoólicas ocorra em idades mais precoces e associado a um conceito de “*binge drinking*”, que na Língua Portuguesa se denomina como “*farra*” ou “*bebedeiras*”, o que se traduz na ingestão de uma grande quantidade de álcool, uma só vez ao dia.

Portugal ocupa um dos primeiros lugares no que concerne ao consumo de bebidas alcoólicas, globalmente, preenchendo o 11º no *ranking* Europeu e apresentando um consumo *per capita* de 11.0 litros, um número superior à média europeia que se situa nos 10.6 litros *per capita*.

O álcool ou etanol, um dos constituintes das bebidas alcoólicas é considerado um importante fator etiológico na carcinogénese oral (incluindo a faringe), em todo o mundo. O consumo abusivo de álcool é responsável por 16% das mortes por cancro oral globalmente, sendo que as percentagens em países desenvolvidos rondam os 30% respetivamente. Este, como fator de risco independente no desenvolvimento de cancros do trato aerodigestivo superior, induz as mais diversas alterações, não estando ainda totalmente esclarecidos os mecanismos através dos quais o etanol induz a carcinogénese.

No que diz respeito à mucosa, a sujeição crónica a este agente induz a hiperproliferação celular da basal, como mecanismo de adaptação à injúria nas camadas epiteliais mais superiores, o que leva a alterações na sua morfologia bem como na sua maturação e consequentemente ao aumento da permeabilidade celular. O consumo etílico induz ainda a atrofia das glândulas salivares, nomeadamente da parótida e da submandibular, o que inevitavelmente diminui o fluxo salivar e a capacidade de autolimpeza da cavidade oral, aumentando a concentração de substâncias pró-carcinogénicas e carcinogénicas.

No entanto, é o primeiro metabólito da sua catalisação, o acetaldeído que se destaca na carcinogénese oral, este composto é altamente mutagénico e induz alterações muito variadas, como: mutações pontuais, danos cromossómicos extensos, modificações nas cromátides irmãs, micronúcleos, migração electroforética de ADN mais lenta e também a formação de adutos de ADN, que codificam erradamente o que resulta na mutação genética e na perda de mecanismos de controlo do crescimento normal.

Este trabalho tem como principal objetivo uma compreensão biomédica e baseada na evidência científica do papel do álcool na carcinogénese oral e no desenvolvimento de lesão celular e conseqüente injúria tecidual; os objetivos secundários desta investigação traduzem-se na avaliação da realidade epidemiológica do nosso país no que concerne ao consumo de álcool e à incidência de cancro oral.

A fim de responder aos objetivos propostos realizou-se uma revisão bibliográfica, datada entre 1985 e 2015, através dos motores de busca Pubmed, Research Gates,

Scielo, Science Direct, bem como de obras literárias, teses e páginas de internet, como OMS-WHO, INE, IPO-Porto, SEER, INCA, IARC, utilizando como palavras-chave: álcool, indução enzimática, *stress* oxidativo, mecanismo de ação, carcinogénese oral, epidemiologia.

Assim, tendo como base 158 referências bibliográficas, foi possível concluir-se que os hábitos etílicos têm uma elevada importância no desenvolvimento de carcinomas da cavidade oral particularmente se forem articulados com o tabagismo. O consumo de álcool deve ser considerado um fator nocivo para a saúde pública e individual, sendo necessária uma maior alerta junto à comunidade sobre os riscos de uma possível exposição prolongada e exacerbada a este composto.

A Medicina Dentária tem um papel determinante nesta temática, pela proximidade com o paciente, pela posição privilegiada no acesso à cavidade oral - por meio de exame intra e extra-oral e pelos conhecimentos teóricos e práticos que adquire na sua formação. O Médico Dentista partilha responsabilidades, com todos os agentes de saúde no que concerne à prevenção, ao diagnóstico precoce, tratamento e reabilitação dos doentes com cancro oral.

## ABSTRACT

Nowadays, among the youth is increasingly common and social the consumption of alcoholic drinks, which may or may not be associated with the consumption of illicit substances. There is a tendency that the first contact with alcohol occurs at an earlier age and associated with a concept of "binge drinking", which in Portuguese is called as "binge" or "drinking", which translates into drinking a large amount of alcohol, once a day.

Portugal is one of the first places in relation to alcohol consumption, overall, completing the 11<sup>th</sup> in the European ranking and presenting a *per capita* consumption of 11.0 liters, a number higher than the European average which stands at 10.6 liters per capita.

The alcohol or ethanol, one of the constituents of the liquor is considered to be an important etiologic factor in oral carcinogenesis (including pharynx), worldwide. Heavy alcohol consumption is responsible for 16% of deaths from oral cancer globally, and the rates in developed countries are around 30% respectively. This, as an independent risk factor in the development of the upper aerodigestive tract cancers, induces several changes, not yet being fully understood the mechanisms by which ethanol induces carcinogenesis.

Regarding the mucosa, chronic subjection to this agent induces hyperproliferation of the basal cell as an adaptation mechanism to injury in the uppermost epithelial layer, which leads to changes in their morphology as well as its maturation and consequently to increased Cell permeability. The alcohol consumption still induces atrophy of salivary glands, including the parotid and submandibular, which inevitably decreases the salivary flow and self-cleaning ability of the oral cavity, increasing the concentration of pro-carcinogenic and mutagenic substances.

However, it is the first metabolite of a catalyst, acetaldehyde that excels in the oral carcinogenesis, this compound is highly mutagenic and induces varied alterations such as: point mutations, extensive chromosomal damage, chromatids sisters modifications, micronucleus, slower electrophoretic migration of DNA and also the formation of DNA adducts which incorrectly resulting in encoding the gene mutation and loss of control

mechanisms of normal growth. This work aims a biomedical understanding and based on scientific evidence of alcohol's role in oral carcinogenesis and the development of cell damage and subsequent tissue injury; the secondary goals of this research are reflected in the evaluation of the epidemiological reality of our country with regard to alcohol consumption and the incidence of oral cancer.

In order to meet the proposed objectives, we carried out a literature review, dated between 1985 and 2015, through Pubmed search engines, Research Gates, Scielo, Science Direct, as well as literary works, theses and websites, as OMS- WHO, INE, IPO-Porto, SEER, INCA, IARC.

Thus, based on 158 bibliographic references, it was possible to conclude that the drinking habits have a high importance in the development of oral cavity carcinomas particularly if they are articulated with smoking. Alcohol consumption should be considered a harmful factor for public and individual health, and should require further warning to the community about the risks of a possible prolonged and heightened exposure to this compound.

The Dental Medicine plays a key role in this issue, by the proximity to the patient, the privileged position of access to oral cavity - through intra and extra-oral examination and for the theoretical and practical knowledge they acquire in their training. The Dentist shares responsibility with all health workers in regard to prevention, early diagnosis, treatment and rehabilitation of patients with oral cancer.

## **AGRADECIMENTOS**

A todos os professores que acompanharam o meu percurso acadêmico e que me ensinaram o que sei hoje, obrigada pela vossa devoção ao ensino, uma parte essencial da vida de um estudante.

A toda a gente que de uma forma boa ou menos boa contribuiu para a minha formação pessoal e que me ensinou a seguir em frente, porque sem vocês era impossível ser o que sou hoje.

À minha orientadora, professora Augusta Silveira, um grande obrigado por honrar o significado de orientação, sem si seria impossível a realização deste trabalho. Estou-lhe grata pela compreensão, competência, eficiência e disponibilidade que depositou em todo o tempo que trabalhamos juntas.

À Catarina, Rita, Sofia e Patrícia, porque ainda que não sejam as amigas mais perfeitas do mundo, são as minhas amigas. Agradeço-vos pelo apoio, honestidade, veracidade e amizade que me ofereceram desde o início da nossa jornada enquanto amigas.

À Tupperware & Company, vocês são os amigos mais loucos e improváveis que eu poderia ter, no entanto são os melhores companheiros de faculdade de sempre. Foi muito bom ter partilhado parte desta minha caminhada convosco, ter rido, chorado e até me ter envergonhado na vossa presença, por isso mesmo obrigada.

À Bárbara, que apesar das divergências mostrou ser uma grande amiga, capaz de ultrapassar as maiores barreiras para me poder acompanhar. Partilhamos mil aventuras juntas, clínica e pessoalmente e disso eu não me esqueço, obrigada por teres sido uma binómia corajosa e uma colega de quarto cautelosa, durante estes 2 anos que tivemos juntas.

Aos Belinhas, por terem uma índole tão boa e por me terem transmitido o kit básico de valores que todos os seres humanos deviam ter. Em especial, à minha madrinha, que

acima de tudo é uma mãe e que me oferece o amor e proteção necessário para que me sinta uma princesa.

À Mariana, ao Luís, ao Zé e ao Diogo, por tudo o que passamos juntos e tudo o que me fizeram aprender e desaprender, tenho os melhores primos do mundo e a vós o devo.

Ao Pedro, o irmão, irmã, e tudo o que eu precisar no momento, um sincero obrigada por possibilitares que eu viva sem preocupações e por me aconselhares nas melhores e piores circunstâncias da minha vida, és sem dúvida uma dádiva.

Por fim, mas no começo de tudo, queria agradecer aos meus pais por toda a fé depositada em mim e na minha loucura. Obrigada por me apoiarem em todas as minhas decisões independentemente de concordarem com elas e de o fazerem de forma tão espontânea e verdadeira, a minha felicidade sem vocês não seria possível.

# ÍNDICE:

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>XII</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>DESENVOLVIMENTO</b>	<b>4</b>
<b>I. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>4</b>
<b>II. CANCRO ORAL</b>	<b>5</b>
II.1 DEFINIÇÕES E CONCEITOS	5
II.2 EPIDEMIOLOGIA	7
II.3 FATORES DE RISCO	12
II.4 CARCINOGENESE	16
<b>III. ÁLCOOL</b>	<b>20</b>
III.1 PERSPETIVA HISTÓRICA DO CONSUMO DE ÁLCOOL	20
III.3 O ÁLCOOL	25
III.4 METABOLISMO DO ÁLCOOL	26
III.5 <i>STRESS</i> OXIDATIVO	32
<b>IV. PAPEL DO ÁLCOOL NA CARCINOGENESE</b>	<b>35</b>
IV.1 SINERGISMO ÁLCOOL/TABACO NA CARCINOGENESE ORAL	41
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>46</b>
<b>CONCLUSÃO</b>	<b>53</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>56</b>

## **Lista de Abreviaturas**

**ADH** – Álcooldesidrogenase

**ADN** – Ácido desoxirribonucleico

**ALDH** – Aldeidodesidrogenase

**AL** – Alto risco

**AMR** – Região das Américas

**ANGTP1-2** – Angiopietinas 1 e 2

**Arg** – Arginina

**CCE** – Carcinoma das células escamosas

**CD44** – Glicoproteína CD44

**CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH** – Fórmula química do álcool

**COCE** – Carcinoma oral das células escamosas

**CPA6** – Gene CPA6

**CO<sub>2</sub>** – Dióxido de carbono

**COX-2** – Ciclogenase- 2

**CYP1A1** – Citocromo, família A, subfamília 1

**CYP450E1** – Citocromo P450 2E1

**Cys** – Cisteína

**DAP-Kinase** – Proteína DAP-Kinase

**DAPK1** – Gene DAPK1

**DGS** – Direção Geral da Saúde

**EGF** – Fator de crescimento epidérmico

**EGF** – Recetor do fator de crescimento epidérmico

**EMT** – Epitélio mesenquimal de transição

**EU** – União Europeia

**EUR** – Região Europeia

**ERCC6** – Gene ERCC6

**FGV** – Fator de crescimento fibroblástico

**FMO2** – Gene FMO2

**GDP** – Difosfato de guanosina

**GSH** – Glutathiona reduzida

**GSHrd** – Glutathiona reductase

**GSHpx** – Glutathiona peroxidase

**GSSG** – Glutathiona oxidada

**GSTM1** – Glutathiona S-transferase

**GTP** – Trifosfato de guanosina

**IARC** – Agência Internacional de Pesquisa do Cancro

**ICD-O** – Classificação Internacional de Doenças oncológicas

**IL** – Interleucina

**INE** – Instituto Nacional de Estatística

**IPO-Porto** – Instituto Português de Oncologia do Porto

**His** – Histidina

**HPRT1** – Hipoxantina fosforibosiltransferase

**HPV** – Vírus do Papiloma Humano

**H<sub>2</sub>O** – Água

**Kb** – Kilo pares de base

**Kg** – Quilograma

**LOH** – Perda de heterigozidade

**MDA** – Malondialdeído

**MOES** – Sistema de enzimas microsossomais oxidativas

**NAD** – Dinucleótido de nicotinamida e adenina

**NADPH** – Dinucleótido de nicotinamida e adenina fosfato

**NO** – Óxido Nítrico

**N<sub>2</sub>-Et-dG** – N2-etiledenodeoxiguanosina

**Nrf2** – Gene Nrf2

**OCDE** – Organização para a cooperação e desenvolvimento económico

**OH·** – Radical Hidroxilo

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**ONOO·** – Peroxinitrito

**OR** – Odds-Ration

**O<sub>2</sub>** – Oxigénio

**O<sub>2</sub>·-** – Ião superóxido

**p** – Pequeno

**PDGF** – Fator de crescimento derivado de plaquetas

**q** – Grande

**Ras** – Família Ras

**RASSF1A** – Gene RASSF1A

**RL** – Radicais livres

**ROO-** – Peroxilo

**ROS** – Espécies oxigénio reativas

**RNS** – Espécies nitrogénio reativas

**RR** – Risco relativo

**SCN** – Outros mecanismos para desenvolvimento de cancro

**SIAT1** – Proteína membrana SIAT1

**SEAR** – Sudoeste Asiático

**SOD** – Superóxido Dismutase

**SNP's** – Polimorfismos num único nucleótido

**TNC** – Gene TNC

**TNF** – Fator de crescimento tumoral

**TNS's** – Nitrosaminas específicas do tabaco

**Tp53** – Gene supressor tumoral 53

**UADT** – Trato aerodigestivo superior

**UADTC** – Cancro do trato aerodigestivo superior

**UV** – Ultra violeta

**VEGF** – Fator de crescimento do endotélio vascular

**VEGF** – Recetor do fator de crescimento do endotélio vascular

**VIH** – Vírus da Imunodeficiência Humana

**WPR** – Região do Pacífico Ocidental

**4-HNE** – 4-hidroxi-nonenal

**%** – Percentagem

## INTRODUÇÃO

O Álcool é uma substância lícita que tem evoluído lado a lado com a Humanidade. Esta droga sociocultural é associada a inúmeros comportamentos humanos que se enraizaram na construção do ser, como hoje o conhecemos, tais como: os festejos profissionais ou desportivos, e certos rituais como, as celebrações culturais e religiosas (Gordon et al., 2012).

O consumo de álcool é variável segundo a cultura de cada país, representando prevalências diferentes consoante diversos fatores como: a idade, o género, a religião e as habilitações literárias (Lee & Hashibe, 2014).

A tendência de evolução do consumo etílico tem-se mostrado convergente, principalmente entre jovens adultos, o que se tem revelado um problema para a sociedade (Marinelli et al., 2014).

Hoje em dia, entre a juventude é cada vez mais frequente e considerado normal o consumo de bebidas alcoólicas, podendo este estar ou não associado ao consumo de substâncias ilícitas. Existe uma propensão a que o primeiro contacto com bebidas alcoólicas ocorra em idades mais precoces e associado a um conceito de “*binge drinking*”, que na Língua Portuguesa se denomina como “farra” ou “bebedeiras”, o que se traduz na ingestão de uma grande quantidade de álcool, uma só vez ao dia (Scocciati et al., 2015).

Portugal ocupa um dos primeiros lugares no que concerne ao consumo de bebidas alcoólicas, globalmente, preenchendo o 11º no *ranking* Europeu e apresentando um consumo *per capita* de 11.0 litros, um número superior à média europeia que se situa nos 10.6 litros *per capita* (Scocciati et al., 2015).

O hábito de beber álcool em Portugal tem diminuído desde 2004, no entanto ainda representa um problema para a saúde pública dos Portugueses, devido ao desconhecimento da sociedade dos efeitos colaterais desta substância na sua saúde (Marques et al., 2013).

Em Portugal, segundo o Instituto Nacional de Estatística (INE), cerca de 25 593 pessoas morreram de cancro no ano 2011 (INE, 2013). Segundo o Instituto Português de

Oncologia do Porto (IPO-Porto), em 2013 os novos casos de cancro oral representavam cerca de 5.3% do número total de tumores, sendo os homens responsáveis pela maioria do número total de casos (IPO-Porto, 2013).

As bebidas alcoólicas podem ser de diferentes naturezas, distinguindo-se três grupos principais: a cerveja, o vinho/licores e bebidas brancas, que têm como denominador comum, na sua composição, a água e o etano. O seu processo de fabrico pode basearse em dois sistemas distintos: a fermentação e a destilação (Ahmed, 2013).

O álcool ou etanol, um dos constituintes das bebidas alcoólicas é considerado um importante fator etiológico na carcinogénese oral (incluindo a faringe), em todo o mundo (Yokoyama et al., 2010). O consumo abusivo de álcool é responsável por 16% das mortes por cancro oral globalmente, sendo que as percentagens em países desenvolvidos rondam os 30% respetivamente (Jemal et al., 2011).

O álcool é absorvido ao longo da sua passagem pela mucosa gastrointestinal, sendo depois metabolizado maioritariamente no fígado (Cederbaum, 2012). A metabolização intra e extra-hepática pode ser oxidativa ou não oxidativa, sendo que a via metabólica principal, a oxidativa, utiliza:

1. Mecanismo principal: a álcooldehidrogenase (ADH) citosólica;
2. Mecanismos Secundários: o sistema de enzimas microsossomais oxidativas (MOES) ou citocromo P450 2E1, e a enzima catálase.

Para a formação do primeiro metabólito do catabolismo do etanol, o Acetaldeído, que depois de formado é hidrolisado pela aldeidodesidrogenase (ALDH) (Neuman et al., 2014).

Desde a sua ingestão, o etanol está a agredir a mucosa oral, através da sua capacidade para alterar a arquitetura celular, e aumentar a permeabilidade celular, atuando como solvente das substâncias carcinogénicas, como o tabaco (Ram et al., 2011). Assim o álcool potencia a ação dos carcinogénicos presentes no fumo do tabaco, permitindo entre outras alterações as mutações do ácido desoxirribonucleico (ADN), e participando também nas modificações do grau de metilação em diversos genes, responsáveis pelo controlo celular, inativando-os (Khlifi et al., 2013; Carvalho et al., 2008).

As ações do etanol são bastante variadas, no entanto, destacam-se, neste trabalho:

- A indução da carcinogénese;
- O *stress* oxidativo;
- A interação com os retinóides.

(Sanfelice et al., 2003; Linhart et al., 2014; Zhong & Yin, 2015).

O poder carcinogénico e mutagénico do álcool parece ser explicado em grande parte pelo primeiro metabólito resultante da sua hidrólise, o acetaldeído (Edenberg, 2007).

A acumulação deste metabólito, no organismo, é promovida não só pela ingestão de álcool em grandes quantidades, como também pelos polimorfismos genéticos individuais, que determinam também a sensibilidade pessoal ao consumo etílico (Zelner & Koren, 2013).

De entre os determinantes do seu poder carcinogénico, destacam-se a sua citotoxicidade e a sua genotoxicidade, sendo o acetaldeído capaz de se ligar ao ADN, alterando mecanismos celulares e promovendo desde mutações pontuais até danos cromossómicos extensos (Seitz & Stikel, 2007).

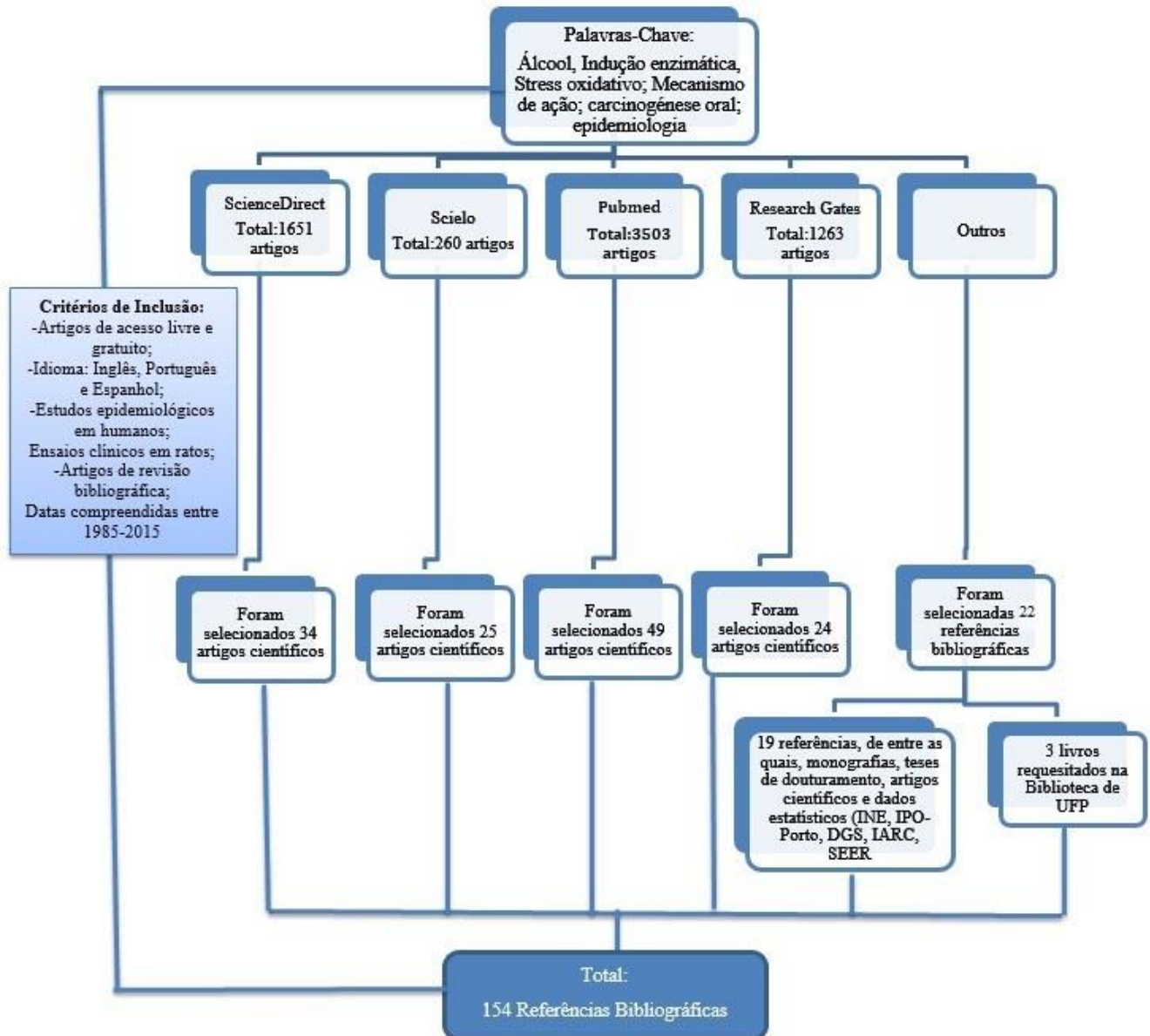
Com o aumento do consumo de álcool, entre a população mais jovem, torna-se essencial perceber como é que este composto assumiu um papel fulcral, no quotidiano da sociedade, e de que forma é que o etanol prejudica a saúde.

Sendo o etanol uma molécula tóxica ao organismo, o que inclui a cavidade oral, é fundamental que os médicos dentistas percebam de que forma é que este composto atua sobre as mucosas, a fim de identificarem as populações alvo, às quais devem estar primordialmente atentos, para que possam, não só intervir, como também prevenir a ocorrência de cancro oral e assim diminuir um dos carcinomas mais prevalentes e mortíferos em Portugal.

Este trabalho tem como principal objetivo uma compreensão biomédica e baseada na evidência científica do papel do álcool na carcinogénese oral e no desenvolvimento de lesão celular e conseqüente injúria tecidual; os objetivos secundários desta investigação traduzem-se na avaliação da realidade epidemiológica do nosso país no que concerne ao consumo de álcool e à incidência de cancro oral.

## DESENVOLVIMENTO

### I. Materiais e Métodos



## **II. Cancro Oral**

### **II.1 Definições e conceitos**

Um tumor é uma massa anormal de tecido, cujo crescimento é quase autónomo e excede os tecidos normais. Em contraste com proliferações não neoplásicas, o crescimento de tumores persiste mesmo após a interrupção de estímulos que deram origem à mudança. Os tumores são classificados em duas categorias abrangentes: benignos e malignos; o tipo de neoplasma é baseado nas características do seu parênquima (Mitchell, 2006).

Na literatura, não existe um consenso nos termos utilizados para a designação de cancro oral. A variabilidade de denominações existentes é devida ao desacordo quanto à área anatómica abrangida por este tipo de neoplasias malignas, existindo investigadores que consideram a área delimitada pelo vermelhão labial e pela transição entre o palato duro e mole, outros que os classificam como cancros orofaríngeos, e ainda alguns que incluem nesta classificação as glândulas salivares major (Tapia & Goldberg, 2011).

Subsistem também dúvidas no que concerne ao tipo de tecido envolvido, existindo autores que defendem a designação apenas nos eventos ocorridos no epitélio oral, e outros que incluem os cancros desenvolvidos nos tecidos adjacentes.

Na terminologia descrita na Classificação Internacional de Doenças oncológicas (ICD-

O), a topografia da região bucal é descrita sob o título “LÁBIO, CAVIDADE ORAL E

FARINGE” e inclui: lábio, dorso lingual, outras partes da língua, pavimento da boca, palato, outras partes inespecíficas da boca, glândula parótida, outras e inespecíficas glândulas salivares major, tonsila, orofaringe, nasofaringe, seio piriforme, hipofaringe e outros locais mal definidos no lábio, cavidade oral e faringe. Existindo em cada subclasse, subdivisões da mesma (ICD, 2015).

Quanto ao tipo de neoplasias malignas, a OMS define-as tendo em conta as características histológicas do precursor da lesão. A sua classificação encontra-se catalogada na “WHO CLASSIFICATION OF TUMOURS OF THE ORAL CAVITY AND OROPHARYNX”, em seis subclasses distintas: os tumores malignos epiteliais, os tumores das glândulas salivares, os tumores dos tecidos moles, os tumores hematolinfoides, o melanoma e os tumores secundários (Barnes et al., 2005).

O tumor maligno mais prevalente e agressivo na cavidade oral é o carcinoma espinocelular, também denominado de carcinoma de células escamosas (CCE) ou epidermoide, representando cerca de 90% de todos os tumores da cavidade oral e orofaringe (Civetta & Civetta, 2011). O carcinoma das células escamosas ocorre preferencialmente na cavidade oral e orofaringe, e surge principalmente em pacientes com uma idade superior aos 40 anos, sendo raro em adultos jovens (Udeabor et al., 2012).

O CCE define-se como um grupo de neoplasias, anatomicamente heterogéneas, oriundas da superfície da mucosa da cavidade oral, orofaringe, hipofaringe, laringe, seios e outros locais, dentro do trato aerodigestivo superior (Majchrzak et al., 2014). Segundo Pannone et al. (2011), os locais onde este carcinoma ocorre são: a mucosa oral, devido ao hábito de mascar tabaco, o lábio, principalmente no lábio inferior, em pacientes mais velhos com queilite actínica crónica; rebordo alveolar, incluindo a gengiva superior e inferior; trígono retromolar; palato duro; pavimento da boca; e os dois terços do ventre lingual.

O carcinoma oral de células escamosas é um tumor agressivo, com uma diminuta resposta à quimioterapia, e resistência básica à maioria das terapias (drogas) anti-cancro “*standard*”. O prognóstico da doença é um tema controverso entre autores, sendo que embora alguns defendam que não existem diferenças no prognóstico entre jovens adultos e idosos, outros reportam um pior prognóstico nos doentes mais velhos (Grimm et al., 2014).

## II.2 Epidemiologia

Os registos oncológicos representam instrumentos essenciais na abordagem do cancro oral já que, implícitos a estes dados, se encontra informação sobre estádios de diagnóstico, capacidade dos serviços de saúde, tecnologia disponível e programas de saúde a desenvolver (Puig, 2003).

Em 2012, o cancro atingiu cerca de 1 406 790 de indivíduos em todo mundo, sendo os cancros da mama e da próstata os mais incidentes e o tumor do pulmão o com maior taxa de mortalidade (WHO, 2012).

A incidência de cancro oral, nesse mesmo ano, foi de 300373 casos e o número de mortos foi 145353. Segundo a OMS, o cancro oral é o 11º mais comum nos homens, acometendo 5.5 por cada 100 000 indivíduos e vitimando 2.7 em cada 100 000 doentes. Nas mulheres a incidência e a mortalidade por cancro oral são comparativamente mais baixas, representando 2.5 e 1.2 por cada 100 000 indivíduos respetivamente (GLOBOCAN, 2012).

A taxa de cancro oral é variável globalmente, sendo mais prevalente na Melanésia, Norte de África, Ásia Central e do Sul e na Europa Central e Oriental e menos prevalente na América Central e Ásia Oriental, em ambos os sexos (Jemal et al., 2011).

Os países do Sul da região Asiática incluindo a Índia, Paquistão, Afeganistão, Bangladesh, Sri Lanka, Butão, Nepal, Irão e Maldivas são particularmente afetados pelo cancro oral, ocupando este tipo de cancro a primeira e segunda posição no *ranking* da prevalência de todos os tipos de cancro, nestes países (Khan et al., 2014).

Conforme os dados obtidos pela IARC, em 2012 registaram-se 103464 novos casos de cancro do lábio e cavidade oral, nesta região, o que representou um total de 6.4 doentes a cada 100 000 indivíduos. Os valores de incidência são díspares consoante o sexo dos indivíduos, sendo o cancro oral e do lábio mais prevalente em homens, ocupando a 4ª posição no ranking de todas as neoplasias comparativamente à 6ª posição ocupada pelas

mulheres. A mortalidade devida ao cancro oral é relativamente alta, sendo que 20487 indivíduos morrem com esta patologia. (GLOBOCAN, 2012).

A severidade do cancro oral na Ásia do Sul, parece estar relacionada com “*Smokless*”, que se traduz em hábitos tabágicos que não incluem o cigarro, dos quais é exemplo o mascar tabaco. Estima-se que 90% do “*Smokless*”, seja praticado pela população desta região, o que associada à alta prevalência de cancro oral, estimula a necessidade da investigação epidemiológica, a fim da avaliação cuidada da relação entre estes dois acontecimentos (Khan et al., 2014).

Em África, o cancro é um problema de saúde cada vez mais importante, e segundo o Dr. Luis Sambo, Director Regional da OMS em África, o número de casos de cancro na região poderá aumentar para o dobro, estimando-se que varie entre 700 000 e 1 600 000 novos casos em 2030. A taxa de mortalidade como consequência de doença cancerígena ronda os 80% e é devida à falta de deteção precoce, à escassez de recursos de diagnóstico e de tratamento (Lopez et. al, 2012).

Segundo a IARC, surgem 13,484 novos casos por ano de cancro do lábio e cavidade oral, o que indica que 2.1% dos indivíduos da população africana são atingidos, ocupando este tipo de neoplasia a 13ª posição no *ranking* das mais recorrentes no continente Africano. A taxa de mortalidade devida ao cancro do lábio e cavidade oral, situa-se em 8530 pessoas, o que representa 1.9% da população com este tipo de cancro. Inevitavelmente a taxa de sobrevivência a 5 anos é diminuta e representa apenas 2.3% dos pacientes com esta patologia (GLOBOCAN, 2012).

Nos Estados Unidos da América (E.U.A) foram estimadas 45,780 novos casos de cancro da cavidade oral e faringe, em 2015, representando cerca de 1.1% da incidência de todos os tipos de cancro. Quanto à mortalidade, foram reportadas cerca de 8650 mortes, as quais representaram 1.5 para o número total de mortes por neoplasias (NCI-SEER, 2012).

Houve uma incidência de 11.2 novos casos em cada 100 000 habitantes, para o conjunto dos tumores da cavidade oral e faringe, sendo a raça caucasiana a mais lesada, com um aumento de 0.3 novos casos em relação à população em geral. Na cavidade oral, o local onde existiu maior ocorrência tumoral foi a língua (3.4 por 100 000), seguindo-se da gengiva e outros locais orais (1.5 por 100 000) (CDC, 2011; Weatherspoons et al., 2015).

A incidência de cancro oral tem vindo a diminuir, contrariamente ao cancro faríngeo, possivelmente devido à diminuição do consumo tabágico (Weatherspoons et al., 2015; Chaturvedi et al., 2013; Anantharaman, et al., 2014). A taxa de sobrevivência a 5 anos, entre 2005 e 2011, nos E.U.A foi de 63.2% (NCI-SEER, 2012).

No Brasil foram estimados, segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), no ano 2014, 11.280 novos casos de cancro da cavidade oral em homens e 4.010 em mulheres, o que corresponde a um risco de 11.54 novos casos em cada 100 mil homens e 3.92 em cada 100 mil mulheres (INCA, 2014).

Segundo o estudo de Ferreira, et al., levado a cabo no período compreendido entre 1997-2008, a incidência e a mortalidade por cancro oral no Brasil, exibem disparidades entre os centros urbanos e as periferias, o que poderá significar que estas diferenças são devidas ao nível socioeconómico dos indivíduos, que é mais baixo nos arredores das cidades. Esta diferença pode dever-se à falta de acesso aos cuidados médicos pelos cidadãos com baixo rendimento (Ferreira et. al, 2013).

Na Europa depois das doenças cardiovasculares, a principal causa de morte é o cancro, representando cerca de 20% das mortes nesta região. A sua incidência é de 379 casos por cada 100 000 indivíduos, o que traduz um aumento de 32% relativamente à década de 80, e que pode ser explicado pelo aumento da esperança média de vida neste continente (WHO, 2012).

Quanto ao cancro da cavidade oral e do lábio, é mais comum nos homens do que nas mulheres, apresentando uma incidência de cerca de 7.5 em 100 000 nos primeiros e 2.5

em 100 000 no sexo feminino, sendo o mesmo é válido no que alude à mortalidade (WHO, 2012).

Entre os diversos países pertencentes à União Europeia (EU), existem disparidades nas taxas de incidência de cancro oral, tendo os países da Europa Central (Hungria e Eslováquia) taxas 10 vezes superiores em homens e 4 vezes superiores em mulheres, quando comparados aos países com taxas mais baixas como a Finlândia, Suécia e Grécia (Garavello et al, 2010).

No que diz respeito à taxa de mortalidade foi observado um decréscimo geral da mesma desde 1990 até 2009, situando-se esta taxa nas 113.1 mortes por cada 100 000 habitantes (WHO, 2012).

Países como França, Espanha, Alemanha e Itália, conseguiram diminuir a mortalidade por cancro oral e faríngeo, no entanto, aumentos persistentes do número de mortes, foram observados em vários países da Europa Central e Oriental, incluindo, em particular, a Hungria, mas também a Bielorrússia, Lituânia e Roménia (Garavello et al, 2010).

Entre os países desenvolvidos, França apresenta das taxas de incidência mais altas, 7.6/100.000 para os homens e 1.5/100.000 para as mulheres (Radoï et al., 2013). No entanto estes valores têm vindo a diminuir, já que nos registos obtidos entre 1989 e 2002, os valores de cancro oral em indivíduos Franceses situavam-se nos 15.6 nos homens e 3.8 nas mulheres, uma das taxa mais elevadas na Europa (Chaturvedi et al, 2013).

De acordo com os dados apresentados por Mistry et al., o Reino Unido apresentou no período de 1984 a 2007, um aumento gradual da incidência de cancro oral, sendo 7.0 indivíduos em 100.000 diagnosticados aquando da primeira data e 10.9 em 100.000 indivíduos no ano de 2007 (Mistry et al., 2011). No entanto segundo dados da IARC, esta tendência inverteu-se, uma vez que em 2012, o número total de novos casos de

cancro oral e do lábio foi de 4986, o que se traduz numa incidência de 4.6 indivíduos acometidos por cada 100.000 (GLOBOCAN, 2012).

Em Espanha, a incidência de cancro oral e faríngeo tem vindo a diminuir desde meados da década de 90, durante a qual atingiu o seu valor máximo, cerca de 9.8 casos a cada 100.000 indivíduos, no sexo masculino, e desde a mesma década tem aumentado nas mulheres, situando-se nas 1.5 mulheres afetadas a cada 100.000 no ano 2005. Estas tendências poderão ser explicadas pela maior liberdade e consequente facilidade no acesso, por parte das mulheres ao consumo de álcool e tabaco. (Seoane-Mato et al., 2014). Em 2012, para ambos os sexos foram registados 4098 novos casos de cancro oral e do lábio, sendo que 7.4 em cada 100.000 homens e 1.4 em cada 100.000 mulheres foram diagnosticados com esta patologia (GLOBOCAN, 2012)

Segundo Silveira et al. (2012), Portugal apresenta uma das maiores taxas de mortalidade por cancro oral e do lábio da União Europeia.

Em Portugal, segundo a Direção Geral de Saúde (DGS), a incidência tumoral é de 426.5 novos casos em 100 000 habitantes (DGS, 2014).

Esta tendência de aumento é também visível na taxa de mortalidade promovida por neoplasias, que segundo o Instituto Nacional de Estatística (INE), tem vindo a ser ampliada desde 1990, sediando-se nas 25 593 no ano 2011, superando em 7000 mortes esse ano (INE, 2013).

A região mais afetada por esta patologia é Norte (8067 casos), seguido de Lisboa (7070 casos) e o centro (6086 casos), contrariamente às regiões autónomas da Madeira e dos Açores, nas quais o impacto do cancro não é tão grande (DGS, 2014).

Conforme a informação fornecida pelo Instituto Português de Oncologia do Porto (IPOPorto), em 2013 surgiram 372 novos casos de cancro oral representando 5.3% do número total de tumores. O sexo masculino foi o grande responsável por estes valores

de incidência, uma vez que homens reproduziram 300 do número total de casos, cerca de 7.9% (IPO-Porto, 2013).

De acordo com a mesma entidade, os locais privilegiados de cancerização são a língua (1.05%), a boca (0.92%) e o lábio (IPO-Porto., 2013).

Prevê-se que até 2013 se assista a um incremento gradual dos seus números (DGS, 2014).

### **II.3 Fatores de risco**

Um fator de risco pode ser definido, como um fator que esteja diretamente relacionado com o desenvolvimento de uma patologia. A sua identificação e a determinação da relação causal são realizadas mediante estudos epidemiológicos e podem ser preponderantes na atuação face à patologia (Puig, 2003).

A idade e o sexo, ainda que não tenham uma ação direta no desenvolvimento do cancro, encontram-se descritos na literatura, como cofatores de risco, na prevalência e agressividade do cancro. Embora não haja uma conceção unanime, o número de anos de vida parece estar diretamente relacionado com a acumulação de fatores de risco pelo paciente, exercendo assim um efeito positivo na sua ocorrência. Também a capacidade de reparação celular é influenciada pela idade, diminuindo com o decorrer da vida (Zygianni et al., 2011; Pannone et al., 2011).

Inúmeros fatores ambientais estão associados ao desenvolvimento da malignidade, tornando-se útil dividi-los em três grandes grupos: **químicos, físicos e biológicos**.

Anexo ao grupo dos fatores de risco químicos estão o tabaco e o álcool, que são os elementos mais importantes no desenvolvimento de cancro oral nos países ocidentais.

Apesar de beber e fumar serem fatores de risco independentes, têm uma ação sinérgica e aumentam o seu potencial de risco juntos (Tanaka et al, 2011).

O maior carcinogénico físico é a radiação. Existem vários tipos de radiação, entre elas a radiação ionizante da qual fazem parte os aparelhos de raio-X e a não ionizante, à qual pertence a luz ultravioleta (UV) do sol. A que maior relação tem com o cancro oral é exposição à radiação ultravioleta, associando-se com o cancro do vermelhão do lábio (Bower & Waxman, 2006).

O trauma também é apontado como um fator de risco, existindo diversos casos reportados de cancro oral, em locais da mucosa traumatizada cronicamente, devido a dentes fraturados, zonas cortantes e próteses desajustadas (Johnson, 2001). Embora o uso de prótese seja apontado como um fator de risco, não existe uma relação direta entre a sua utilização e o desenvolvimento de cancro, tal como foi comprovado pelo estudo de Albuquerque et al., realizado em 2011, assim sendo, o que parece aumentar o risco de desenvolvimento tumoral é a ulceração repetitiva promovida pelo desajuste.

Os fatores nutricionais são também uma referência na ocorrência tumoral, sendo o ferro mencionado como tendo uma elevada importância na atividade antioxidante das vitaminas A, C e E (Johnson, 2001). No entanto, segundo Rame et al. (2011), é requerida mais evidência clínica e experimental para o estabelecimento da relação causal entre a dieta o desenvolvimento de cancro.

Majchrzak et al., associam também a ocorrência de cancro de células escamosas da cabeça e do pescoço, em mulheres de meia-idade, com deficiência férrica e síndrome de Plummer-Vinson ou Patterson-Brown-Kelly (Majchrzak et al, 2014).

Em contrapartida é preconizada a associação inversa entre o consumo de frutas e vegetais e a incidência de neoplasias malignas orais, tal como sugerem os estudos de Edefonti et al. e Bradshaw et al, realizados em 2012. Ao que tudo indica, a vitamina E, os  $\beta$ -carotenos e a vitamina C protegem as células dos danos oxidativos, diminuindo assim a possibilidade de ocorrência de cancro, no entanto, de acordo com Bodhade &

Dave (2013), ainda que estes elementos tenham um carácter anticarcinogénico, a sua concentração na dieta poderá ser insuficiente, em pacientes com lesões malignas e cancerosas, tornando-se necessário o estudo contínuo destes elementos para se concluir qual a concentração mais adequada.

De entre as causas biológicas do cancro, encontram-se as infeções víricas oncogénicas, uma das áreas de emergência na investigação carcinogénica. Ainda que diversos vírus promovam afetação tumoral como: o vírus da hepatite-B, o vírus da imunodeficiência humana (VIH), os vírus herpes simplex 4 e 8, o vírus da hepatite-C, Epstein-Barr, entre outros, o vírus do papiloma humano (HPV) assume uma particular relevância, sendo apontado como um dos fatores de risco mais importantes no desenvolvimento de carcinoma oral das células escamosas (COCE), especialmente em pacientes que não têm hábitos tabágicos nem alcoólicos (Bower & Waxman, 2006; Tanaka et al, 2011).

Os cancros associados à infeção por HPV acometem na maioria das vezes homens com menos de 40 anos, que não bebem e não fumam, mas aos quais se associam comportamentos de risco como o sexo, no entanto, esta não é a única via de transmissão viral, podendo esta em 20% dos casos dar-se de forma vertical, através da passagem da barreira encefálica e conseqüente contaminação fetal (Pannone et al., 2011).

O HPV é positivo em cerca de 20% de todas as ocorrências de COCE. O tipo viral mais frequentemente encontrado foi o HPV-16, cerca de 90 a 95% das vezes, pertencentes ao grupo de alto risco (AL), segundo a classificação baseada risco de desenvolvimento de cancros cervicais invasivos (Ram et al., 2011).

Hoje em dia, é manifesto que até 10% de todos os cancros têm uma forte componente hereditária. Os fatores de suscetibilidade podem agrupar-se em diferentes categorias, que incluem polimorfismos genéticos, características hereditárias associadas à raça e ao sexo, síndromes cancerosas, assim como alterações na reparação do ADN (Puig, 2003).

O impacto da hereditariedade no cancro oral é sugerido pela ocorrência de aglomerações de cancros em famílias; existindo famílias que exibem um alto número

de casos de COCE, incluindo em idades mais jovens, tal como foi observado em certos grupos étnicos como o grupo Askenazi em Israel, onde a incidência da patologia é duas vezes superior à de outros grupos judeus (Jefferies et al., 1999).

Os polimorfismos são sequências de ADN responsáveis pela variabilidade interindividual, atuam como marcadores genéticos e são associados positivamente à suscetibilidade de ficar doente, quando em estudos epidemiológicos, se observam elevados nos casos e não nos controlos. Os polimorfismos num único nucleótido ou SNP's, são a forma mais comum de variação na sequência de ADN (Serefoglou et al, 2008).

Segundo a meta-análise realizada por Tripathy & Roy (*cit in* Ram et al., 2011), o genótipo nulo de GSTM1 aumenta em 20-50% o risco desenvolvimento de COCE, sendo este polimorfismo considerado o mais consistente marcador de suscetibilidade.

Em 2014, Chou et al., estudaram o papel da variabilidade fenotípica do grupo de glicoproteínas CD44, responsáveis por vários processos biológicos, e comprovou que o aumento da sua expressão associado ao hábito de mascar tabaco, aumentava o risco de COCE, o que vai de encontro à literatura, na qual vários estudos sugerem e demonstram que o aumento desta glicoproteína se correlaciona com o aumento da metastização, recorrência, resistência ao tratamento e diminuição da sobrevivência, ainda que o fenómeno não seja inteiramente compreendido.

As citocinas também aparentam exercer um papel na suscetibilidade à incidência de cancros da cabeça e do pescoço. Os diferentes polimorfismos do ADN, especialmente na, IL-6, IL-8, IL-10, IL-4, e TNF-a e VEGF detetam uma forte associação à carcinogénese oral. O mecanismo segundo o qual as citocinas contribuem para a ocorrência de cancro poderá basear-se num aumento dos níveis séricos ou da saliva de citocinas pró-inflamatórias (TNF-a, IL-6) ou de citocinas anti-inflamatórias (IL-10) após um estímulo inflamatório (Serefoglou et al., 2008).

De acordo com o estudo realizado, em 2013, por Tsai et al., o polimorfismo na IL-18 (IL-18-137G/C gene), poderá ser um fator que amplifica a suscetibilidade ao cancro oral, ou então um fator de risco na sua progressão, porém, é evidente a interação do gene com o microambiente favorecido pelos fatores de risco, tendo estes dois fatores uma ação sinérgica no desenvolvimento tumoral.

Existe um abundante número de polimorfismos, descritos na literatura, que de alguma forma alteram a suscetibilidade ao desenvolvimento da doença, dos quais são exemplo: genes Tp53, FMO2, CPA6, TNC e SIAT1, COX-2, ERCC6, CYP1A1, entre muitos outros, os quais são continuamente estudados, sendo esta uma área emergente no estudo do cancro oral (Zygianni et al, 2011).

#### **II.4 Carcinogénese**

Todo o processo carcinogénico envolve uma injúria tecidual inicial, que depois, pode ou não, levar à formação de uma neoplasia maligna (Rivera & Venegas, 2014).

O prejuízo celular ocorre devido à exposição a inúmeros fatores, entre eles, fatores físicos, químicos e biológicos, porém a progressão da carcinogénese depende também da hereditariedade e predisposição genética do indivíduo para o desenvolvimento de cancro (Civetta & Civetta, 2011).

O início deste processo deve-se às alterações induzidas no ADN das células da mucosa oral, pelos agentes carcinogénicos já mencionados, causando danos irreversíveis. Após a iniciação, as células que ainda não possuem um cariz maligno, são incitadas a dividirem-se sucessivamente (promoção), o que conseqüentemente promove a acumulação de mutações genéticas, que culmina na perda do controlo fisiológico da proliferação celular e de múltiplas atividades biológicas. Após a aquisição de malignidade, as células passam a ser capazes de invadirem e colonizarem (metastizarem), os tecidos dos quais não fazem parte (Santos & Teixeira, 2011).

O tecido que sofre as injúrias altera gradualmente as suas características histológicas durante o processo de carcinogénese. Inicialmente, sofre mudanças epiteliais reativas como a hiperqueratose, a hiperplasia ou a acantose, depois forma lesões préneoplásicas, entre as quais, a eritroplasia e leucoplasia, caracterizadas pela presença de displasia tecidual (alteração que passa por três estágios distintos: ligeira, moderada e severa), até que por fim leva à formação de um carcinoma *in situ*, ou até mesmo à metastização (Tanaka et al., 2011)

Ao longo da carcinogénese, é observada a acumulação de alterações genéticas e moleculares, que potenciam mudanças na expressão proteica, e que incluem perdas de material nos cromossomas 3p,5q, 4q, 8p, 11q, 13q, 18q e 21q e ganhos cromossómicos nos 1p, 3q, 11q, 13, 19 e 22, dependendo o cromossoma afetado do grau de diferenciação do tumor (Williams, 2000).

Algumas das alterações mais frequentes na oncogénese oral incluem a sobreexpressão de oncogenes, a mutação dos genes supressores tumorais, a perda de heterigozidade (LOH) e também as alterações epigenéticas (Ram et al., 2011).

Para que uma célula possa ser considerada cancerosa deve então apresentar seis características: a autossuficiência em estímulos de crescimento, a insensibilidade aos estímulos inibidores, a evasão da apoptose, a imortalização, a neo-angiogénese e a invasão e metastização (Bower & Waxman, 2006).

A autonomia das células cancerígenas, no que concerne ao crescimento, resulta do facto de elas não necessitarem de fatores extracelulares para o funcionamento do mecanismo de transdução do sinal para a o crescimento contínuo. No caso do cancro oral, é observado um importante papel dos fatores de crescimento externo, que incluem fatores como: o fator de crescimento epidérmico (EGF), o fator de crescimento fibroblástico (FGV), o fator de crescimento tumoral alfa (TGF-alfa) e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). Estes mantêm estável a indução da divisão celular através de vários mecanismos e encontram-se sobreexpressos, na maioria dos COCE (Polz-Gruszka et al., 2014).

Um estudo realizado por Martín-Ezquerria et al. (2010), corrobora a sobreexpressão de EGFR, apresentando 55% de ganhos deste recetor no total de amostras de COCE e de 82% em metástases em nodos linfáticos.

Uma investigação praticada por Vairaktaris et al., em 2008, e utilizando hamsters como objeto de estudo, concluiu que os valores de EGFR se encontram presentes nas lesões pré-malignas e que aumentam progressivamente ao longo da cancerização.

Existem outros tipos mecanismos que asseguram a independência do crescimento celular, tais como a mutação dos proto-oncogenes da família Ras (K-Ras, N-Ras, HRas), que codificam a proteína p21. As Ras quando mutadas, passam a não necessitar de uma estimulação externa para a transmissão de sinais energéticos, hidrolisando continuamente o GTP em GDP, e estimulando incessantemente os mecanismos mitogénicos (Williams, 2000).

A sobreexpressão das Ras é diminuta nos países ocidentais, representando apenas 5% da população com COCE, contrariamente a países com a Índia, no qual se encontra aumentada em mais de 50% dos casos. Tal facto aparenta estar associado ao hábito de mascar tabaco, muito comum nesses países e que parece ser um fator chave no aumento da expressão destes genes (Maemoto et al, 2012).

Esta teoria vai de encontro aos resultados do estudo de Tan et al. (2014), que não encontraram mutações a nível das Ras, nem do EGFR, numa população maioritariamente não fumadora.

Um dos genes que assume maior importância na insensibilidade à inibição e na evasão da apoptose é o gene p53. Um dos genes que mais vezes sofre mutações, e que se apresenta alterado em cerca de 50% dos cancros, incluindo 25 a 69% dos COCE. Este gene supressor tumoral, localizado no braço pequeno do cromossoma 17 (17p), assume um papel fulcral na regulação da vida celular, já que promove a reparação do ADN danificado, regula o processo apoptótico e inibe a angiogénese (Chandra et al., 2013).

A categorização das suas possíveis inativações génicas tem sido alvo de vários estudos, visto que este gene se comporta de forma diferente consoante a mutação. Para além da deleção, a que ocorre com maior ocorrência é a mutação com “ganho de atividade”, na qual existe uma dualidade na manutenção das funções, sendo a supressão tumoral inativada e a indução do crescimento celular mantida (Spiotto et al., 2013).

A relação do gene p53 com o processo de oncogénese e os seus mecanismos de ação são complexos, porém é notável, e tem vindo a ser demonstrada em alguns estudos a sua estrita relação com a sobrevivência dos pacientes (Chandra et al., 2013)

Num estudo de Poeta et al., levado a cabo em 2007, independentemente do tipo histológico do cancro, do seu estágio e da sua localização, as mutações no gene p53, diminuíram a taxa de sobrevivência dos pacientes, existindo cerca de 45% de pacientes sem o gene p53 mutado sobreviventes no follow-up de 6 anos, um aumento de 15% comparativamente aos que continham a mutação carcinogénica.

As células neoplásicas com o seu crescimento e proliferação, requerem uma maior quantidade de nutrientes e oxigénio, que só é possível com o aumento do aporte sanguíneo. É através desta demanda que surge a necessidade de criação de novos vasos sanguíneos através dos pré-existentes, a angiogénese (Bower & Waxman, 2006).

A angiogénese é o primeiro passo na cascata de metastização e deve-se à sobreprodução de fatores de crescimento do endotélio vascular (VEGF), que atuam através dos recetores da membrana plasmática (VEGFR) e que amplificam o crescimento e proliferação endotelial, bem como a permeabilidade vascular, permitindo assim a migração celular (Civetta & Civetta, 2011).

A expressão dos fatores de crescimento endotelial vascular é ativada pelo crescimento tumoral, associando-se assim ao processo angiogénico, tal como foi confirmado pelo estudo de Kim et al. (2015), que encontrou uma sobreexpressão de VEGF em carcinomas espinocelulares invasivos, mas não nos tecidos do carcinoma intraepitelial.

Para além dos VEGF, também é evidenciado, na literatura, o importante papel das angiopoietinas 1 e 2 (ANGPT1-2) na angiogénese, estas citocinas ainda que tenham efeitos inibitórios da permeabilidade vascular e da inflamação, apresentam um ação contraditória aquando da presença de VEGF. Especialmente a ANGTP-2, que manifesta uma ação sinérgica com este fator de crescimento e que diminui a sobrevivência e o prognóstico dos pacientes (Martín-Ezquerria et al., 2010)

Este fato é comprovado pelo estudo de Jung et al., preconizado em 2015, que encontrou sobreexpressa esta angiopoetina e o VEGF em tumores pouco diferenciados e com metástases nos nódulos linfáticos, atribuindo os seus resultados a uma relação de complementaridade entre ambos os fatores na indução da vascularização tumoral.

É também reconhecido, o papel das células do tipo de mesenquimatoso (EMT) na progressão tumoral. Estas células alteram o seu fenótipo, quando estão presentes à alteração do teor de oxigénio, hipóxia, reprimindo a expressão de E-caderina e consequentemente a adesão celular, tornando-se vantajosas no processo de invasão e metastização. Adotando o fenótipo mesenquimental, as células cancerígenas tornam-se aptas a atravessarem barreiras endoteliais, entrando nas correntes sanguínea e linfática e colonizando assim os tecidos distantes (Jiang et al., 2011).

Zhou et al. (2015), credita também o papel da expressão da E-caderina na transformação fenotípica das células tumorais, no seu estudo, todavia aponta algumas limitações do mesmo, como a amostra populacional reduzida.

### **III. Álcool**

#### **III.1 Perspetiva histórica do consumo de álcool**

O álcool é uma substância psicoativa e licita, que acompanha a Humanidade desde os seus primórdios e que sempre teve um lugar de destaque em todas as culturas. A relação

das sociedades com o álcool tem, ao longo dos tempos, evoluindo consoante as mudanças sociais, económicas e culturais dessa mesma sociedade (Ronzani, 2008).

De acordo com Gordon et al. (2012), em diversas culturas, o álcool é utilizado como uma droga cultural, com o objetivo de facilitar as interações sociais e é visto como tendo bastantes benefícios.

Ao que tudo indica, o vinho parece ter sido feito pela primeira vez há 7400 anos atrás, a norte das montanhas do Cáucaso, tendo-se depois espalhado em direção ao Sul, Mesopotâmia e Egípto. A sua aparição parece ter-se dado ao acaso, quando algumas uvas foram provavelmente esquecidas dentro de um recipiente, durante um determinado tempo, e fermentadas pelas leveduras aí presentes (Cabral, 2007).

Segundo esta teoria, a primeira “prova de vinho” dá-se ao acaso, no entanto existem autores que diferem desta opinião e afirmam que a descoberta do álcool foi precedida pela descoberta do hidromel (bebida alcoólica feita à base de mel) e que a criação de vinho a partir de uvas foi feita deliberadamente (Hanson, 2013). Após a sua descoberta, o consumo de álcool foi evoluindo e passando por diversas civilizações. Desde a sua criação, nas montanhas do Cáucaso, espalhou-se para norte, sul, este e oeste, estabelecendo-se em civilizações tão distintas como: Babilónia, Egípcia, Fenícia, Grega e Romana. Estas aproveitavam o comércio vinícola não só para terem acesso a este bem de consumo, mas também para a produção local de vinho (Charters, 2006).

Com o fim do Império Romano e as invasões bárbaras, chega ao que é hoje a Europa, uma destruição económica e territorial, instalando a pobreza e estagnando o conhecimento sobre viticultura. Nesta época, como observou Unwin (*cit. in* Charters, 2006), a preservação da cultura vinícola, foi levada a cabo pela Igreja, que ainda que de forma exagerada, abriu bibliotecas e estudou esta arte até estar apta economicamente para iniciar a sua auto-produção de vinho, um bem essencial em certos rituais religiosos.

O consumo de vinho volta a ter uma quebra durante a expansão Islâmica (século VIII-XV), na Europa, já que segundo a religião de Mohammed é proibido beber álcool (Hanson, 2013).

Apesar desta quebra, com a evolução temporal da Idade Média, verifica-se a modificação de alguns hábitos e começam a criar-se pequenas redes de comércio de álcool, tendo o Reno como via principal de distribuição. Ainda que não seja unânime na literatura, pensa-se que os árabes instalaram uma nova forma de fabricação de álcool, a destilação, a qual utilizavam para concentrar líquidos, e assim fabricar bebidas com elevado teor alcoólico, as quais eram usadas, na saúde, como remédios (Cabral, 2007).

No século XVII, durante o renascimento, surge a necessidade de questionar o conhecimento tradicional, e através da sua desconstrução formular teorias e desenvolver o conhecimento científico. Esta época marcou-se, sobretudo, pelas mudanças no consumo: no volume e tipo de álcool consumido. O desejo de consumo já existia há algum tempo, no entanto vários fatores mudaram por completo a dinâmica do mesmo, sendo um deles o comércio exterior e os novos Impérios que ergueram a Burguesia, uma nova classe social, à qual é permitida gastar além do necessário (Hanson, 2013).

O período de 1810 a 1875 foi segundo Johnson (*cit. in* Charters, 2006), a era do ouro na viticultura. Com o auge da revolução industrial no Norte da Europa, se por um lado as novas descobertas tecnológicas facilitavam a produção e a distribuição do álcool, por outro a classe média emergente e em ascensão detinha um acesso facilitado a luxos, que incluíam o consumo de vinho.

No entanto, após este período de ouro, a produção e o consumo de álcool diminuíram, devido a reformas estruturais das regiões agrícolas e urbanas e também da Grande Guerra, que teve um elevado impacto nos principais motores económicos da cultura vitícola, como Inglaterra, França e Alemanha. Se até aos primeiros anos do século XIX, verificávamos uma diminuição no consumo etílico, esta altera-se, e a partir da Segunda Guerra Mundial, passam a assistir ao aumento da taxa de consumo alcoólico que

perdurou até à década de 1970, na qual houve um abrandamento dessa tendência em muitos países, e até mesmo sinais de queda em algumas dessas nações (Skog, 1986).

A chave para que possamos entender a evolução no consumo de álcool e as diferenças em distintas civilizações é percebermos o seu papel sociocultural. O consumo de bebidas “espirituais” funciona como um motor nas mais diversas sociedades, e associa-se a várias funções sociais como: celebrações, negócios, desportivas, cerimónias religiosas e culturais. As normas e regras para o consumo de álcool são estabelecidas em função do tipo sociedade e dependem dos fatores socioculturais existentes nessa sociedade, sendo os comportamentos em torno do álcool regidos pelo que se considera correto nessa sociedade (Gordon et al., 2012).

Hoje em dia, estima-se que mais de 2/3 das pessoas em países ocidentais ingerem bebidas alcoólicas para além de situações ocasionais (Gigliotti et al., 2008).

Segundo os dados mais recentes da OMS, globalmente, os indivíduos com mais de 15 anos de idade bebem, em média, 6.2 litros de álcool puro por ano, o que se traduz em 13.5 gramas de álcool puro por ano. Estes resultados exibem uma enorme variabilidade dependendo da zona do globo a que nos referimos, assim o volume de álcool consumido no mundo e por continente é: alto nos países desenvolvidos, em particular, na região Europeia (EUR) e na região das Américas (AMR); atinge níveis intermédios na região do Pacífico Ocidental (WPR) e na região Africana; e verifica-se menor no Sudeste Asiático (SEAR) e em particular, no Mediterrâneo Oriental (WHO, 2014).

Na Europa, o consumo de álcool é responsável por cerca de 6.5% do número total de mortes, e os níveis consumidos *per capita* têm diminuído, na última década, rondando os 10.6 litros por pessoa maior de 15 anos em 2007, existindo, no entanto, diferenças significativas depende do estado membro (WHO, 2014).

De acordo com dados publicados pela OCDE (*cit. in.* Scoccianti, 2015), o país com níveis mais altos de consumo é a Lituânia, que ingeriu cerca de 12.5 litros *per capita* no ano 2012, e o país que apresentou níveis mais baixos, no mesmo ano, foi a Turquia,

no qual o consumo de álcool, se ficou apenas nos 1.8 litros per capita. Segundo a mesma fonte, Portugal ocupa a 11ª posição entre os estados membros, com um consumo que ronda os 11.0 litros per *capita*.

O consumo de álcool também é afetado dentro de uma civilização, por outros fatores como: a idade, casamento, profissão, educação e género, por exemplo, é natural vermos um consumo mais exagerado nos homens do que nas mulheres, no entanto, esta tendência tem vindo a diminuir com a crescente igualdade de géneros em algumas sociedades (Gordon et al., 2012; Lee & Hashibe, 2014).

No que diz respeito à idade, Scoccianti et al. (2015) afirma que os maiores consumidores de álcool são os homens de meia-idade, no entanto tem-se verificado um aumento no número de participantes destas práticas, entre os jovens adultos ou adolescentes, um motivo de preocupação nas sociedades.

Estima-se que o contacto com bebidas alcoólicas ocorre cada vez mais cedo, sendo que mais de 60% dos jovens com idades compreendidas entre os 12 e os 16 anos afirma consumir com regularidade bebidas alcoólicas (Marques et al., 2013).

As diferenças sentidas, outrora, no consumo de bebidas entre as culturas “alcoólicas”, das quais são exemplo França e Itália, e onde se cultivava o gosto e a cultura do vinho desde muito cedo e as culturas “não alcoólicas” como a Suécia e Reino Unido, que mantêm um controlo restrito do consumo alcoólico e às quais se associam intoxicações aquando destas práticas são cada vez menos perceptíveis (Gordon et al., 2012).

A homogeneização da cultura etílica é emergente e cada vez mais se associa ao consumo de cerveja e “bebidas brancas” num conceito de “farra” ou de “apanhar uma bebedeira” (Marinelli et al., 2014).

O conceito de “farra” diz respeito ao consumo ocasional de 60g de álcool puro na mesma ocasião, pelo menos um dia por mês e tem aumentado nos últimos 20

anos. Este tipo de comportamento foi reportado em 36% das raparigas e 40% dos rapazes em 2010 (Scoccianti et al., 2015).

Os níveis de consumo de álcool não são só altos na Europa, um estudo de Villacé et al. (2013) verificou um alto nível de prevalência, entre jovens estudantes com idades compreendidas entre os 18 e os 24 anos, no consumo excessivo episódico e o consumo regular de risco.

Em Portugal, os resultados vão de encontro aos encontrados na Europa, de acordo com um estudo realizado em Leiria existe uma elevada prevalência de consumidores de álcool na adolescência, com o início mais frequente entre os 13 e os 15 anos. Estas práticas estão associadas a saídas noturnas e ao consumo de outras drogas (Marques et al., 2013).

As bebidas que mais se consomem em Portugal são a cerveja e o vinho, embora o consumo deste último tenha sofrido quebras nos últimos anos, em 2008 representava cerca de 40% do total de volume de bebidas alcoólicas. O consumo de bebidas brancas é residual, sendo responsável apenas por 10% do consumo total (INE, 2010).

### **III.3 O Álcool**

Os alcoois constituem um grupo de compostos orgânicos derivados de hidrocarbonetos que contêm um ou mais grupos hidroxilo (-OH) ligado a um carbono saturado (Gigliotti et al., 2008).

A existência de diversos tipos de alcoois, tanto naturais como sintéticos, é devida às diferenças estruturais entre os diversos tipos de álcool que podem ser: insaturados, acíclicos, aromáticos e possuem mais de um grupo hidroxilo (Vieira et al., 2009).

O álcool, etanol ou também denominado de álcool etílico é constituído por dois carbonos e um grupo hidroxilo, e tem como fórmula química:  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ .

As bebidas alcoólicas são um grupo heterogéneo de bebidas, variável quanto ao número, concentração e natureza dos seus constituintes. No que diz respeito à cerveja, fazem parte da lista de componentes: o dióxido de carbono, sais minerais (principalmente de potássio e fosfatos de sódio), os aminoácidos, ácidos orgânicos e inorgânicos, os polifenóis e os hidratos de carbono. Alcoois, hidratos de carbono (principalmente açúcar e pectina), ácidos orgânicos, minerais (principalmente ferro, potássio, cálcio e fosfatos), polifenóis, vitaminas e dióxido de carbono são os componentes principais do vinho; enquanto que a composição das “bebidas espirituais” e licores é bastante variável, com componentes comuns como alcoois, ácidos (principalmente gordos e ácido acético), ésteres, aldeídos, terpenos, óleos etéreos e bases voláteis (Ahmed, 2013).

### **III.4 Metabolismo do álcool**

O álcool, após a sua ingestão, é absorvido no estômago (cerca de 20% do álcool ingerido) e em partes superiores do intestino delgado, duodeno e jejuno (cerca de 80% do álcool ingerido). A absorção etílica, no organismo, dá-se por difusão passiva, uma vez que esta molécula hidrossolúvel atravessa as membranas biológicas, consoante o seu gradiente de concentração (Cederbaum, 2012).

Dado que a absorção intestinal é mais rápida do que a gástrica, é de extrema importância a taxa de esvaziamento gástrico, visto ser um fator determinante na taxa de absorção. Assim, fatores que influenciem a taxa de esvaziamento gástrico, como o tipo e quantidade de alimentos no estômago, e também, a concentração de álcool, a taxa de álcool, o fluxo sanguíneo no local de absorção e a integridade das mucosas, influenciam também a absorção de álcool (Mitchell Jr et al., 2014).

Sendo o etanol, uma molécula neutra e hidrossolúvel, rapidamente se distribui e equilibra pelo volume total de água corporal, ou seja, 50-60% do peso corporal total em homens e cerca de 45-55% em mulheres, representando o volume de distribuição do etanol cerca de 0.45-0.6 l/Kg. A distribuição etílica ocorre por todo o corpo e depende essencialmente do fluxo sanguíneo, o que traduz diferenças a nível da idade, género e capacidade física, entre os indivíduos (Zelner & Koren, 2013).

Existem duas vias metabólicas na conversão do etanol:

1. Via principal: também denominada via oxidativa, que representa cerca de 85% da metabolização;
2. Via não oxidativa: envolve a conjugação enzimática do álcool com substratos endógenos, tais como os ácidos gordos, os fosfolípidos, sulfatos e ácido glucurónico. É responsável pela excreção de 2 a 10% do álcool ingerido, através da urina, respiração, suor e também da saliva (Zelner & Koren, 2013).

A via oxidativa traduz-se maioritariamente na conversão do etanol em acetaldeído, reação catalisada pela álcooldehidrogenase citosólica (ADH), sendo depois o acetaldeído subsequente catalisado pela aldeidodesidrogenase (ALDH), formando acetato, nesta reação uma molécula de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD<sup>+</sup>) é reduzida. O acetato remanescente da reação entra, depois, no ciclo de Krebs, para a obtenção de energia, formando água (H<sub>2</sub>O) ou dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Edenberg, 2007).

Um dos inconvenientes desta via metabólica, é a velocidade à qual ocorre, ou seja, é a saturação à qual é sujeita, quando existe um elevado teor alcoólico, normalmente em “bebedores excessivos”, levando à repleção enzimática e à necessidade de recorrência a outras vias metabólicas, como a: via da catálase e a via do sistema de enzimas microssomais oxidativas (MOES) (Mitchell Jr et al., 2014).

A via do citocromo P450 2E1, ou MOES, é induzida nas mitocôndrias dos hepatócitos e também nos tecidos extra-hepáticos, como a mucosa gastrointestinal e o pâncreas, quando existe um consumo excessivo de álcool (Neuman et al., 2014) e contribui para a formação de 30% do acetaldeído (Hwang et al., 2012).

É demonstrado, na literatura, que a ativação desta via ocorre com um consumo diário de 40g de etanol, a partir da primeira semana de consumo, reforçando-se com o tempo, porém, existe uma inter-variabilidade na indução. É notável, que a indução da MOES, possa também ser dependente da dieta, existindo estudos em animais, os quais resultaram numa diminuição da ativação do citocromo, com a administração de triglicéridos de cadeia média em comparação com os de cadeia longa (Linhart et al., 2014).

A via do citocromo P450 2E1 é correlacionada com a formação de espécies oxigénio reativas (ROS), como o radical hidroxilo (OH<sup>-</sup>) e o peróxido de hidrogénio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). A sua ativação relaciona-se com a injúria hepática, e a sua inibição associa-se a uma melhoria das lesões no fígado (Pöschl & Steiz, 2004).

A via da catálase é uma via metabólica minoritária na hidrólise alcoólica e é considerada importante na modulação da sensibilidade etílica no cérebro (Heita et al., 2015).

Um dos fatores, que pode levar à existência de variações significativas nas taxas de metabolismo alcoólico nos humanos, é a existência de várias isoformas de ADH e ALDH (que apresentam diferentes perfis cinéticos), resultantes de diversos polimorfismos. A expressão variável das distintas isoformas e polimorfismos pode ser responsável por desigualdades na capacidade do tecido em metabolizar álcool, ou seja, pelas disparidades no metabolismo etílico, observadas entre indivíduos e entre grupos raciais e étnicos, bem como, pela variação da toxicidade promovida pela bebida entre os diferentes grupos raciais (Zelner & Koren, 2013).

Álcool desidrogenases ou ADH's são um grupo de enzimas multifuncionais responsáveis: pela oxidação endógena do álcool produzido pelos microrganismos nos

intestinos, pela oxidação do etanol e de outros álcoois consumidos na dieta, e também pela oxidação de substratos envolvidos no metabolismo de ácidos biliares e dos esteróides (Dollé & Gao, 2015).

A ADH é uma proteína citosólica codificada por 7 genes com aproximadamente 370 Kb, localizados no cromossoma 4 (4q21-23). As isoenzimas são divididas em diversas classes consoante a sua especificidade para o substrato, a sensibilidade para os inibidores, a localização, a migração electroforética e as propriedades imunológicas (Marichalar-Mendia et al., 2010).

Existem 5 classes diferentes de ADH e 7 isoenzimas:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  (ADH1A, ADH1B e ADH1C respetivamente), que correspondem à classe I e que quando ativas são formadas por 2 subunidades, ou dímeros, podendo existir homo ou heterodímeros, como  $\alpha/\alpha$ ,  $\beta/\beta$ ,  $\gamma/\gamma$ ,  $\alpha/\gamma$ ,  $\alpha/\beta$ ,  $\beta/\gamma$ , responsáveis pela maioria da capacidade de metabolização do etanol no fígado (Cederbaum, 2012);  $\pi$  ou ADH4 pertencente à classe 2, homodimérica codificada pelo gene ADH2;  $\chi$  ou ADH3 referentes à classe 3, que apresentam baixa afinidade para o álcool mas estão envolvidas na desintoxicação do formaldeído; ADH7, codificada pelo gene ADH4, respeitante à classe 4 e que apresenta o retinol como substrato; e  $\sigma$  à classe 5, sendo que esta enzima ainda permanece pouco caracterizada e o seu envolvimento no mecanismo do etanol é desconhecido (Edenberg, 2007; Marichalar-Mendia et al., 2010).

As enzimas da classe I de ADH (ADH1A, ADH1B e ADH1C) possuem estruturas proteicas similares, diferindo apenas em pequenas modificações nas sequências de nucleótidos que as compõem, o que se traduz em níveis de atividade distintos, bem como na preferência pelo substrato. Contudo, existem outras alterações genómicas capazes de produzir o mesmo efeito, das quais são exemplo as mudanças em apenas um único par de base de ADN ou SNP's, um fenómeno comum nos genes ADH1B e ADH1C (Edenberg, 2007).

O gene ADH1B apresenta 2 SNP's nas regiões codificantes que alteram a transição de dois aminoácidos da proteína, nos codões 47 e 369, e que podem formar três tipos de subunidades enzimáticas: a ADH1B\*1, composta pela 47Arg e 369Arg, o alelo

ADH1B\*2 composto por 47His e 369Arg, e ainda o alelo ADH1B\*3 formado por 47Arg e 369 Cys (Carrard et al., 2008).

No que diz respeito ao gene que codifica a enzima ADH1C, este também apresenta variações genéticas que podem produzir dois tipos de isoenzimas, ADH1C\*1 e ADH1C\*2. Estas variantes resultam de duas substituições de aminoácidos na proteína: de Arginina para uma Glutamina no codão 271 e de uma Isoleucina para uma Valina no codão 349. As diversas mudanças nos aminoácidos das isoenzimas ADH1B e ADH1C ocorrem no domínio da ligação de NAD, exceto se ocorrerem na posição 349, o que pode afetar a dissociação de NADH, um passo limitante na catálise alcoólica (Marichalar-Mendia et al., 2010).

As variantes alélicas ADH1B\*2 e ADH1B\*3 apresentam uma elevada atividade enzimática quando comparadas ao alelo selvagem ADH1B\*1, apresentando uma taxa de conversão de etanol a acetaldeído superior. O genótipo homozigótico ADH1B\*2/2 apresenta uma velocidade máxima de conversão 40 vezes superior a ADH1B\*1/1, e a enzima codificada pelo alelo ADH1B\*3, é 90 vezes mais rápida na catabolização alcoólica quando comparada com o mesmo alelo (Marichalar-Mendia et al., 2010; Peters et al., 2006).

O alelo ADH1C\*1 está presente em cerca de 50% da população, e é 2.5 vezes mais rápido na conversão do etanol em acetaldeído em comparação ao alelo ADH1C\*2. Em indivíduos homozigóticos selvagens (ADH1C\*1/1) o catabolismo ocorre de forma mais rápida, seguido dos indivíduos heterozigóticos (ADH1C\*1/2) nos quais ocorre de forma moderada e dos indivíduos com o genótipo ADH1C\*2/2, os quais apresentam uma taxa de metabolização mais lenta (Visapää et al., 2004).

As aldeidodesidrogenases formam um grupo de enzimas NAD-dependentes, que catalisam a oxidação do acetaldeído, constituindo a segunda etapa do metabolismo alcoólico. Dentro da família de ALDH existem 19 genes funcionais e 3 pseudogenes que codificam as diferentes isoenzimas e que se distribuem ao longo de diversos cromossomas; embora se observem diferenças estruturais entre as diversas isoenzimas,

as suas regiões funcionais são conservadas ao longo das diferentes classes (Heita et al., 2015).

De entre todas as classes de ALDH, as que participam na conversão de acetaldeído em ácido acético são: as classes I (ALDH1) e II (ALDH2), ficando a cargo das restantes a eliminação dos aldeídos xenobióticos, bem como o metabolismo dos aldeídos gerados durante a peroxidação lipídica das membranas celulares.

A ALDH1 é codificada por um gene localizado no cromossoma 9 (9q21-23), e as suas variantes genéticas poderão explicar a sensibilidade individual ao álcool no entanto os mecanismos básicos responsáveis por essas diferenças, ainda não estão bem estabelecidos cientificamente (Marichalar-Mendia et al., 2010).

O gene ALDH2 localiza-se no cromossoma 12 (12q24.2) e codifica a enzima ALDH2 a qual apresenta um grande afinidade para o acetaldeído tendo um papel importante no seu metabolismo em humanos (Yokoyama & Omori, 2003). Este gene pode apresentar um polimorfismo que se traduz num alelo ALDH2\*2 mutante, o qual codifica uma subunidade catalítica inativa, incapaz de metabolizar o acetaldeído. Assim a oxidação deste composto exibe uma inter-variabilidade consoante o genótipo apresentado pelos alcoólatras, sendo que indivíduos com ALDH2\*1/2\*2, apenas apresentam 6.25% de ALDH2\*1 normal, uma vez que o alelo ALDH2\*2 é dominante e indivíduos que apresentem um genótipo homocigótico ALDH2\*2, são incapazes de metabolizarem o acetaldeído rapidamente levando à sua acumulação sanguínea e à apresentação de sinais característicos denominados como Síndrome de Rubor alcoólico (Yokoyama & Omori, 2003).

Esta síndrome é comum nas populações asiáticas, as quais apresentam uma elevada incidência do polimorfismo na enzima aldeído desidrogenase, e raro nas populações africana e caucasiana (Edenberg, 2007). Os seus portadores são “intolerantes” aos níveis de consumo de álcool que poderiam ser considerados normais, e apresentam níveis elevados de acetaldeído no sangue, mesmo aquando de um consumo moderado de álcool, apresentando como sinal comum o “*flushing*” facial, as náuseas e a sonolência (Dollé & Gao, 2015).

### III.5 *Stress* Oxidativo

O equilíbrio oxidante-antioxidante do organismo pode ser afetado por fatores tão distintos como o trauma, o *stress*, o exercício, os fatores nutricionais, doenças degenerativas, distúrbios no sistema imunitário e desequilíbrios hormonais.

Estas variações podem inclusive acelerar a formação de radicais livres (RL), que são elementos altamente instáveis que apresentam um eletrão desemparelhado na sua órbita mais externa, o que faz com que sejam elementos bastante reativos que procuram o seu equilíbrio molecular e que para o atingirem captam um eletrão de uma molécula, ou ligam-se a essa mesma molécula (Kalyanaraman, 2013).

Fazem grupo de RL mais conhecidos, o ião superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxilo (OH-), peróxido (ROO-), peroxinitrito (ONOO-), óxido nítrico (NO), bem como as espécies oxigénio reativas (ROS) que são suas precursoras como, o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) e oxigénio ( $O_2$ ). É de destacar que excetuando o oxigénio, todas as espécies supracitadas fazem parte do grupo das ROS ou das espécies nitrogénio reativas (RNS) (San-Miguel & Martin-Gil, 2009).

As ROS têm a capacidade de promover danos reversíveis ou irreversíveis em todo o tipo de biomoléculas, contudo os lípidos são o grupo mais afetado por estes elementos (San-Miguel & Martin-Gil, 2009). A peroxidação lipídica é promovida pela reatividade dos RL, que incitam um efeito prejudicial sobre a célula, danificando-a (Prabhu et al., 2010).

O *stress* oxidativo ocorre quando as concentrações intracelulares de espécies oxigénio reativas (ROS), que são precursoras dos radicais livres (RL), estão acima dos valores fisiológicos, isto é quando existe um desequilíbrio na sua formação e na sua remoção pelo organismo (Albano, 2006).

Devido ao potencial tóxico das ROS/RNS, os organismos aeróbios têm vindo a desenvolver vários mecanismos de defesa, que permitem a manutenção da homeostasia

*redox* dos tecidos, atuando na eliminação dos mesmos, ou na sua biotransformação em elementos mais estáveis (Valko et al., 2006). Os mecanismos de desintoxicação podem dividir-se em endógenos e exógenos, dos quais fazem parte os elementos obtidos pela dieta, os quais têm um papel fundamental e complementar na linha de defesa contra as ROS (Kalyanaraman, 2013)

As funções dos antioxidantes endógenos é mediada por dois mecanismos de captação de radicais livres: os enzimáticos, constituintes da primeira linha de defesa perante a agressão os RL, e com a capacidade de metabolizar as ROS/RNS e os não enzimáticos, os quais exercem a sua função atuando como agentes quelantes com a capacidade de “sequestrar” os metais envolvidos na formação de RL (Valko et al., 2006).

A *Superóxido Dismutase* (SOD), insere-se num grupo de metaloenzimas com alta eficiência catalítica, atuando sobre o ião superóxido ( $O_2^-$ ). Este grupo de enzimas induz a dismutação do superóxido ( $O_2^-$ ), em peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) e oxigénio. Uma vez que esta reação favorece a formação de peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), a atividade desta enzima não pode ser vista como um antioxidante totalmente eficaz. No entanto este composto é mais estável que o superóxido e pode facilmente difundir-se para outros compartimentos celulares, sendo posteriormente catalisado pela catálase e pela peroxidase (Batinic-Haberle et al., 2015).

Assim, torna-se evidente a função da catálase sendo da sua responsabilidade a redução eficiente do  $H_2O_2$  a  $H_2O$  e  $O_2$ , encontrando-se, esta enzima, em todos os órgãos, estando preferencialmente localizada nos peroxissomas (San-Miguel & Martin-Gil, 2009). A sua atividade é dependente de NADPH e esta enzima apresenta uma elevada constante catalítica comparativamente a outras enzimas, sendo que uma molécula de catálase pode dismutar aproximadamente 6.000.000 moléculas de peróxido de hidrogénio (Valko et al., 2006).

A *Glutathione peroxidase* (GSHpx) é responsável pela redução de inúmeros peróxidos, incluindo o peróxido de hidrogénio, através da oxidação de GSH (forma reduzida) para GSSG (forma oxidada) (San-Miguel & Martin-Gil, 2009). O funcionamento desta enzima só é possível graças à *Glutathione reductase* (GSHrd), que regenera a forma ativa

de GSH (forma reduzida), mantendo assim o equilíbrio do sistema de proteção celular. A ativação desta enzima não só determina o equilíbrio *redox* numa determinada célula, mas também regula o destino da célula e a capacidade desta para responder às deficiências causadas pelos efeitos do ROS/RNS, uma vez que é crucial para a regeneração da forma ativa (reduzida) da GSH (Caputo et al., 2012)

Dentro do sistema antioxidante, contemplam-se ainda os mecanismos não enzimáticos, dos quais fazem parte os quelantes de metais e os captadores de RL (San-Miguel & Martin-Gil, 2009). Os captadores de radicais livres são um grupo de moléculas com a capacidade de inibirem a cadeia de iniciação e de quebrarem a de propagação. É neste grupo de compostos, que se enquadra a Glutathione, um tripeptido natural de glutamato, cisteína e glicina, que constitui o tiol (-SH) celular não proteico mais abundante, encontrando-se presente nas células em elevadas concentrações, principalmente na sua forma reduzida (GSH). A sua ação antioxidante pode dar-se em reações enzimáticas ou não enzimáticas, protegendo da oxidação, os grupos (-SH) essenciais das proteínas, reagindo como agente quelante de RL como, ião superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxilo ( $OH^-$ ), peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) e peróxidos lipídicos. Esta molécula pode regenerar outros antioxidantes, sendo o seu metabolismo um dos mecanismos fundamentais de defesa antioxidante, e a principal fonte de proteção contra baixos níveis de stress oxidativo (Ferreira & Abreu, 2007; San-Miguel & Martin-Gil, 2009).

De entre os antioxidantes exógenos, é contemplada a ação da vitamina E, um agente de natureza hidrofóbica, considerado o maior antioxidante lipossolúvel do nosso organismo (Fuchs-Tarlovsky, 2013). A variante mais ativa desta molécula é o  $\alpha$ -tocopherol, considerado o principal sequestrador de radicais lipofílicos *in vivo* (Valko et al., 2006). O seu poder antioxidante deve-se ao poder redutor no grupo OH do seu anel cromanol, o que lhe confere a capacidade de reação com radicais peróxido e com moléculas mais simples de oxigénio (Fuchs-Tarlovsky, 2013).

A vitamina E previne ainda o prejuízo oxidativo membranar, impossibilitando as reações em cadeia, consideradas as principais causas da peroxidação lipídica (SanMiguel & Martin-Gil, 2009).

A vitamina C é um agente antioxidante hidrossolúvel, pertencente ao grupo de antioxidantes primários, que se encontra em concentrações muito elevadas nos tecidos e no plasma e que apresenta uma grande capacidade de eliminar radicais livres. Apresenta-se como uma molécula multifuncional, a qual pode entre outras coisas, atuar sinergicamente com outros agentes antioxidantes, a fim de os regenerar (San-Miguel & Martin-Gil, 2009). No meio intracelular, encontra-se maioritariamente sob a forma oxidada e reduzida, exibindo funções como agente pró-oxidante ou oxidante, reguladas por três fatores: o potencial *redox* do ambiente celular, a presença ou ausência de metais de transição, e também a concentração local de ácido ascórbico (Valko et al., 2006).

Além de reduzir potenciais fontes de RL como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, também reduz iões de metal como o ferro e o cobre, evitando assim a ocorrência de processos durante os quais os radicais livres são gerados (Putchala, 2013).

#### **IV. Papel do álcool na carcinogénese**

Durante muito tempo, o álcool foi considerado como um co carcinogénico e promotor tumoral e não como um carcinogéneo, no entanto, vários estudos animais demonstraram que a administração etílica, por si só, sem associação de nenhum carcinogénico químico, resultava em tumores localizados em diversos sítios, e entre os quais se localizavam os tumores do trato aerodigestivo superior (Linhart et al., 2014).

Na literatura, o consumo de etanol é então reconhecido como um fator de risco independente no desenvolvimento de cancro, nomeadamente cancro oral, Fioretti et al., examinaram 42 casos de cancro orofaríngeo em pacientes que nunca fumaram e o maior fator de risco neste tipo de pacientes foi o consumo de álcool, com um OR três vezes superiores em bebedores do que em pessoas que não ingerem bebidas alcoólicas (*cit. in* Saman, 2012).

Existe uma variabilidade individual na absorção, distribuição e metabolização do álcool proveniente dos fatores genéticos e ambientais, que cumulativamente pode contribuir para diferenças nas consequências clínicas, efeitos pejorativos e riscos de desenvolvimento cancerígeno associados ao consumo etílico crónico.

O álcool age diretamente sobre a mucosa oral, irritando-a através dos seus componentes químicos, como substâncias aromáticas, alcalóides, hidrocarbonetos policíclicos entre outras. A nível local, pode alterar a permeabilidade da membrana e atuar como solvente para determinados carcinogénicos, principalmente o tabaco, ou também, aumentar a sua absorção celular (Pöschl & Seitz, 2004; Gigliotti et al., 2008).

A mucosa oral, segundo alguns estudos é influenciada pelo consumo de álcool, na sua morfologia e no seu processo de renovação celular epitelial. Na sua grande maioria, as investigações acordam quanto a uma possível diminuição da espessura da mucosa oral, essa espessura seria proveniente da descamação celular, no entanto outros autores apontam-na como sendo resultado da diminuição do volume celular (Valentine et al., 1985; Martinez et al., 2000).

Maier et al., em 1994, indicaram um aumento celular decorrente do consumo crónico de álcool, enquanto que, Mascres et al. (1981) e Martinez et al. (2000), relacionaram-no com a morte ou autólise celular, ainda que os resultados destes trabalhos pareçam contraditórios, poderão resultar de um mecanismo de adaptação, no qual haja proliferação celular das camadas basais do epitélio como compensação da morte celular das camadas mais externas, a fim de se manter a hemóstase (Carrard et al., 2004).

O processo de maturação epitelial parece também ser afetado pelo consumo crónico de álcool, tal como sugeriu a investigação Martinez et al., levada a cabo em 2000, através da observação das vesículas lipídicas celulares, a qual mostrou modificações no metabolismo lipídico, o que pode induzir alterações na arquitetura da barreira celular, e consequentemente na permeabilidade, aumentando assim a inalação ou ingestão de carcinogénicos.

As diferenças na maturação do epitélio parecem dever-se, também, à alteração no metabolismo da vitamina A promovida pelo álcool, em diferentes aspetos como a sua absorção, degradação e distribuição, resultando numa diminuição dos seus níveis sanguíneos. O álcool compete diretamente pelos recetores epiteliais, diminuindo assim a absorção celular da vitamina A, resultando numa inapropriada conversão em ácido retinóico, um composto necessário para a diferenciação celular, o que explica a alteração da maturação epitelial dos indivíduos sujeitos à ingestão de álcool (Maier et al., 1994; Martinez et al. 2000; Sanfelice et al., 2003).

O consumo de álcool atua ainda sobre as glândulas salivares, incitando a atrofia e metamorfose lipomática do parênquima das glândulas parótida e submandibular, o que conseqüentemente provoca alterações salivares, como a diminuição do fluxo salivar e modificações na sua consistência, tornando-se mais viscosa. A diminuição do fluxo resulta numa limpeza deficitária da superfície da mucosa oral, e conseqüentemente na concentração de procarcinógenos ou carcinógenos (Faustino & Stipp, 2003).

Durante o metabolismo etílico vários compostos são produzidos, de entre os quais se destacam, os RL, originados principalmente quando o citocromo P450 2E1 é utilizado como rota de degradação. Com o consumo exacerbado de álcool o organismo torna-se incapaz de neutralizar e eliminar estes compostos altamente instáveis, através dos sistemas antioxidantes, dando-lhes a possibilidade de reagirem com proteínas, lípidos ou até mesmo com o ADN, formando complexos e danificando-os (Neuman et al., 2014). Uma vez que estas ligações são estáveis, diferentes funções celulares podem ser alteradas, nomeadamente o transporte intracelular e a síntese proteica (Cederbaum, 2015).

Para além dos RL, o hábito de beber álcool induz também a formação de espécies nitrogénio reativas (RNS), como o óxido nítrico (NO), as quais juntamente com as ROS são responsáveis pela peroxidação dos ácidos gordos polinsaturados na membrana lipídica, levando à formação de 4-hidroxi-nonenal (4-HNE) e o malondialdeído (MDA), que reagem diretamente ou indiretamente com o ADN e promovem a formação de adutos exocíclicos eteno-ADN pró-mutagénicos, (Zhong & Yin, 2015)

Os níveis destes produtos indicam a extensão da peroxidação lipídica e servem como marcadores celulares dos danos causados pelos radicais livres (Gokul et al., 2010)

O *stress* oxidativo é assim um dos exemplos da injúria celular promovida pelo álcool, este desequilíbrio resulta da capacidade do etanol em alterar a capacidade antioxidante do organismo, reduzindo a atividade dos mecanismos enzimáticos bem com a dos nãoenzimáticos. O que se comprova, entre outros, segundo o estudo de (Polavarapu et al., 1998), que utilizou a administração intragástrica de álcool em ratos e camundongos encontrando uma diminuição da atividade de uma das principais enzimas antioxidantes (SOD-superóxido-dismutase), nas células hepáticas.

Também em estudos realizados, utilizando humanos e em ratos como amostra, se verificou o decréscimo dos níveis plasmáticos de vitamina E e de  $\alpha$ -tocoferol, aquando da ingestão crónica de álcool, e que existia uma relação inversa da concentração de estes elementos comparativamente aos marcadores da peroxidação lipídica (Albano, 2006).

O etanol não é o único carcinogénico encontrado nas bebidas alcoólicas, podendo também serem encontrados outros agentes com efeitos mutagénicos na mucosa oral, como: componentes aromáticos, alcalóides, N-nitrosamina, hidrocarbonetos policíclicos, micotoxinas, uretano, tanino, entre outros (Marichalar-Mendia et al., 2010; Madani et al., 2014).

O acetaldeído, primeiro composto da hidrólise alcoólica, parece ser por si só um fator crítico para explicar os efeitos cancerígenos do álcool, principalmente nos cancros do trato aerodigestivo superior (UADTC), tendo sido considerado, em 2009, um agente carcinogénico do grupo 1, pela Agência Internacional de Investigação do Cancro (IARC) (Gigliotti et al., 2008; Yokoyama et al., 2010).

O acetaldeído interfere com a síntese e a reparação do ADN e estudos *in vitro* demonstram que o acetaldeído promove anomalias citogénicas em células eucarióticas (Seitz & Stikel, 2007).

De entre prejuízos promovidos pelo acetaldeído encontram-se a ligação a proteínas, resultando em alterações funcionais e estruturais. Estas incluem as enzimas envolvidas: na reparação do ADN (O6-metil-guanina-metil-transferase), na metilação da citosina de ADN, e também, na glutatona, uma importante enzima do sistema oxidante (Reidy et al., 2011).

Os efeitos do aldeído sobre as células podem causar lesões no ADN, muito variadas, desde mutações pontuais ao dano cromossómico extenso (Setshedi & Wands, 2010). Este composto promove a formação de adutos (complexos) com diferentes moléculas, entre as quais, proteínas, o que compromete o metabolismo celular e também com o ADN. Para além destas alterações, este composto modifica também as cromátides-irmãs, os micronúcleos e a migração electroforética do ADN mais lenta (Yokoyama et al., 2010).

Um exemplo é a mutação pontual induzida pelo acetaldeído no gene hipoxantina fosforibosiltransferase (HPRT1), que prejudica os mecanismos de excisão de nucleótidos e particularmente os processos de reparação/ excisão, que mantêm a estabilidade e integridade do ADN genómico (Setshedi & Wand, 2010).

Estudos recentes apontam para a afetação direta dos níveis de metilação do ADN, por parte deste composto, e indiretamente, através da interferência nos sistemas de reparo (Hwang et al., 2012). A alteração da metilação no ADN caracteriza a ocorrência de bastantes doenças, entre elas o cancro, quando comparadas com as células normais, as células cancerígenas exibem alterações profundas na metilação, assim como nas modificações histónicas (Zakhari, 2013).

O acetaldeído inibe a O6 metil-guaniltransferase, uma enzima importante na reparação de adutos causados pelos agentes alquilantes. (Seitz & Stickel, 2010)

Os adutos eteno-ADN exibem fortes propriedades mutagénicas, produzindo vários tipos de substituições de pares de base e outras formas de dano genético em todos os organismos testados até agora (Linhart et al., 2014).

O acetaldeído reage com resíduos aminoácidos das proteínas, mas também com o ADN formando adutos, estáveis ou instáveis, que têm um papel crítico na carcinogénese, uma vez que promovem a codificação genética errada, resultando na mutação genética e na perda de mecanismos de controlo do crescimento normal (Seitz & Sittkel, 2007).

O aduto mais importante formado pelo acetaldeído é o N2-etiledenodeoxiguanosina (N2-Et-dG) formado pela reação com do acetaldeído com deoxiguanosina. A formação de N2-Et-dG foi demonstrada, em amostras de ADN obtidas a partir de glóbulos brancos de humanos alcoólicos e de fígado de ratos alimentados com álcool e água, no entanto, a evidência sobre este fato é relativamente diminuta, assim como, a significância biológica da lesão, que continua incompreendida. Contudo esta lesão pode ser detetada em amostras de urina humana, sugerindo a sua utilidade como bio marcador do dano de ADN promovido pelo acetaldeído (Seitz & Stickel, 2010).

Um estudo de Balbo et al., realizado em 2012, evidenciou a relação entre o consumo de álcool e a cinética de formação de adutos acetaldeído-ADN na cavidade oral, apresentando um aumento na formação de adutos, com um pico de concentração entre as 4 e as 6 horas, em consumidores leves de álcool.

A importância biológica dos adutos eteno-ADN é ainda mais realçada quando eles são preferencialmente formados no codão 243 do TP53 (que codifica a p53), levando a uma mutação, que torna a célula mais resistente à apoptose e provendo-a de uma vantagem no crescimento (Linhart et al., 2014).

A maior ou menor exposição ao acetaldeído, no organismo, deve-se às diferenças no seu metabolismo provenientes: do aumento da atividade da enzima álcool desidrogenase (ADH) e do citocromo P4502E1, ou da diminuição da enzima aldeído desidrogenase (ALDH), o que resulta essencialmente da variabilidade étnica e individual, derivada dos distintos polimorfismos dos genes codificantes destas enzimas (Marichalar-Mendia et al., 2010).

A produção de acetaldeído, pelos microrganismos, tem sido amplamente demonstrada na literatura, não existindo ainda uma comprovação pelos mecanismos usados pelos mesmos na sua produção (Carrard et al., 2008; Pavlova et al., 2013). É sugerida a diminuição do fluxo salivar e a má-higiene oral associados ao consumo de tabaco e álcool como fatores precipitantes no aumento da densidade da microflora oral e o consequente incremento de acetaldeído na saliva, assim como demonstrou o estudo de Homann et al. (2000).

Segundo Balbo et al. (2012), bactérias como *Streptococcus salivarius* e *Neisseria* contribuem para a formação e acumulação deste composto na boca.

Na investigação conduzida por Kocaelli et al. (2014), o acetaldeído apresentou-se aumentado na saliva em pacientes com cancro oral e com uma pobre higiene oral, o que poderá traduzir a sua importância como carcinogénico, bem como evidenciar a sua produção pelos microrganismos da microflora oral.

#### **IV.1 Sinergismo álcool/tabaco na carcinogénese oral**

O tabagismo é reconhecido como o mais importante fator de risco no desenvolvimento de carcinoma orofaríngeo, sendo que grande parte da literatura existente referente a fatores de risco se foca especialmente no consumo de tabaco (Saman, 2012).

O tabaco, quer na sua fase gasosa, quer na sua fase particulada, contém cerca de 4700 substâncias tóxicas, de entre as quais, 60 possuem ação carcinogénica conhecida e contaminam a saliva. As maiores e mais estudadas são: o hidrocarboneto aromático benzo-pireno e as nitrosaminas específicas do tabaco (TNS's) (Johnson, 2001). Para além da toxicidade das substâncias carcinogénicas produzidas durante a combustão, as agressões deste composto à mucosa oral, são ainda potencializadas pelo estímulo térmico produzido, podendo uma ponta de cigarro aceso variar entre os 835 e os 884 graus centígrados (Sakaguti, 2013).

Hoje em dia, é reconhecido pela literatura que existe uma forte relação entre o consumo de álcool e tabaco. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que em adultos e adolescentes, as elevadas taxas de tabagismo se correlacionam diretamente com o uso de álcool, com as taxas de tabagismo em alcoólatras estimadas em pelo menos o dobro, em comparação com a população em geral, e também com um consumo de cigarros estimado, mais alto em fumadores alcoólicos do que em fumadores não alcoólicos (Hurley et al., 2012).

Estudos laboratoriais utilizando ratos como objeto de pesquisa, concluíram que a administração de nicotina de forma crónica aumenta a ingestão de álcool, facilita a autoadministração de álcool, assim como, o restabelecimento do comportamento de procura do etanol, aquando da sua extinção no organismo (McKee & Weinberg, 2013).

Uma vez que o fumo e o etilismo são habitualmente fatores coexistentes, torna-se difícil a avaliação individual dos seus efeitos, no entanto, tal fato tem vindo a incentivar o desenho de diversos estudos experimentais, nos quais é possível o controlo da exposição a cada fator isoladamente ou em associação (Gigliotti et al., 2008).

Quando exercidos, ao mesmo tempo, os efeitos do consumo de álcool, de tabaco e uma dieta pobre, provavelmente explicam cerca de 90% de todos os casos de cancro da cabeça e pescoço (Johnson, 2001).

Rodriguez et al. (*cit in* Saman, 2012), num dos seus estudos, observaram que a ocorrência de cancro orofaríngeo era devida 77% das vezes ao tabaco, 52% ao baixo consumo de vegetais, e 52% ao consumo de álcool, sendo a combinação destes três fatores responsável por cerca de 85% de todos os casos deste tipo de cancro.

O efeito carcinogénico aditivo do álcool e do tabaco é sugerido pela facilitação por parte do etanol, através do aumento da permeabilidade celular, da entrada de substâncias cancerígenas nas células epiteliais expostas, alterando o seu metabolismo (Ram et al., 2011).

Na literatura existem três modelos que explicam a ação conjunta do álcool e do tabaco na carcinogénese oral: o modelo aditivo, no qual os efeitos promovidos por cada fator são somados de forma independente; o modelo exponencial, em que os efeitos são multiplicados; e o modelo sinérgico ou intermediário, que considera que o efeito causado pelo álcool e o tabaco conjuntamente é superior à simples soma dos seus efeitos independentes (Gigliotti et al., 2008).

No entanto, atualmente a interação entre o álcool e o tabaco, como fatores de risco do desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço, é globalmente aceite na comunidade científica como sinérgica, tal como foi demonstrado numa análise realizada pelo Consórcio Internacional de Epidemiologia do Cancro da cabeça e do pescoço, que após uma análise de 11.211 casos de cancros da cabeça e pescoço e de 16.152 controlos, demonstrou a sua interação numa escala multiplicativa, sugerindo que os seus efeitos eram quase 3 vezes superiores do que o produto dos efeitos individuais do álcool e do tabaco (Lee & Hashibe, 2014).

Este sinergismo é corroborado por outros estudos, nomeadamente, um estudo casocontrolo realizado na população masculina Italiana e Suíça, o qual apresentou um elevado risco do aumento de cancro oral (OR=228) e cancro faríngeo (OR=100) derivado do alto consumo de álcool (77 ou mais bebidas por semana) e de tabaco (25 ou mais cigarros por dia) combinados (Saman, 2012).

A ação conjunta do álcool e do tabaco, ainda que permaneça parcialmente inexplicada, é sugerida pela alteração da permeabilidade e solubilidade das mucosas promovida pelo álcool, que facilita a absorção e ação das nitrosaminas e hidrocarbonetos policíclicos carcinogénicos e genotóxicos do tabaco (Galbiatti et al., 2013).

Segundo Carrard et al. (2008), o álcool através de um mecanismo desconhecido impede a organização, pelas células epiteliais, da barreira responsável pela permeabilidade, que é constituída principalmente por lípidos e que evita a desidratação e a absorção de substâncias externas.

Ao que tudo indica, a injúria crónica da mucosa oral induz alterações na arquitetura epitelial, existindo na camada mais superior a presença de células anucleadas e em processo apoptótico e nas camadas mais profundas, a presença de células parabasais, nomeadamente em lesões com displasia (Burzlaff, 2007).

A sequência de eventos patológicos parece ter início com o processo inflamatório sobre as mucosas, gerado a partir do efeito térmico do cigarro e da ação irritativa dos componentes do tabaco, favorecida pelo efeito vasodilatador das bebidas alcoólicas, permitindo a exposição da mucosa às substâncias nocivas do cigarro, responsáveis por alterações genómicas e lesões pré-neoplásicas (Carrard et al., 2008; Sakaguti, 2013).

Alterações celulares, como a *cariorréxis* e a condensação anormal da cromatina, são significativamente superiores entre indivíduos fumadores e etilistas comparativamente aos que não têm estes hábitos, apontando para o sinergismo existente entre estes dois hábitos. Uma vez que estas alterações indicam toxicidade celular, citotoxicidade e genotoxicidade podemos associá-las ao processo carcinogénico (Freita et al., 2005)

A partir desta facilitação por parte do álcool, os carcinogénicos induzem alterações genéticas, das quais são exemplo as mutações no gene supressor Tp53, associado não só à proliferação celular, mas também à deleção celular. Este gene está sobreexpresso na grande parte dos cancros orais, tendo uma importante participação no desenvolvimento inicial dos carcinomas. (Noguti et al., 2013)

Segundo o estudo de Urashima et al., preconizado em 2013, as mutações do Tp53 são exclusivamente produzidas pelos carcinogénicos presentes no fumo dos cigarros, ficando a cargo do álcool outros mecanismos para o desenvolvimento de cancro (SCN), determinando uma diferença nos mecanismos pelos quais estes dois fatores de risco influenciam o desenvolvimento de carcinomas.

O tabaco tem também a capacidade de promover alterações na metilação, podendo induzir a hipometilação, assim como a hipermetilação, nomeadamente nos genes

supressores tumorais, reprimindo assim a sua expressão. Este é um evento epigenético inicial, reconhecido no desenvolvimento de cancro (Ovchinnikov et al., 2012).

Segundo o mesmo autor, a hipermetilação do ADN dos promotores DAPK1 e p16<sup>INK</sup> foi significativamente associada ao tabagismo, tendo uma relação positiva com a dose e o tempo de exposição ao fumo de tabaco, no entanto os mecanismos exatos pelos quais é induzida permanecem por esclarecer. O que foi corroborado por Hasegawa et al. (2002), que na sua investigação associou a idade na qual se iniciou o hábito tabaco à metilação do gene p16<sup>INK4a</sup>.

O estudo de Carvalho et al., realizado em 2008 associa, entre outros fatores, o consumo de álcool e tabaco à hipermetilação do ADN no desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço.

Em 2002, Hasegawa et al., na sua investigação associou ainda o etilismo e o tabaquismo à metilação de E-caderina, considerando fatores preponderantes neste fenómeno, o número de packs fumados e o tempo de exposição ao álcool, apresentando assim uma relação e proporcionalidade de metilação com o grau de exposição aos fatores de risco. Este investigador estudou também a metilação dos genes DAP-kinase e RASSF1A, não encontrando qualquer relação com estes dois comportamentos.

A investigação de Chang et al. (2004) sugere que a metilação do gene p15 pode ser induzida pelo consumo crónico de álcool e tabaco e desempenhar um papel nos estágios iniciais da carcinogénese do carcinoma das células escamosas da cabeça e do pescoço.

A ação sinérgica do tabaco e do álcool no desenvolvimento de cancros da cavidade oral parece, também, estar associada à ativação, pelo álcool, do CYP450 2E1 e a consequente ativação de vários carcinogénicos presentes no fumo do tabaco, como as nitrosaminas (Khilifi et al., 2013).

## DISCUSSÃO

A literatura reúne consenso quanto ao impacto do consumo de álcool no desenvolvimento de cancro orofaríngeo, no entanto, é ainda incerto o mecanismo através do qual este composto promove a carcinogénese, o que leva inúmeros investigadores a estudarem todos os aspetos que se correlacionam com o álcool, bem como outros hábitos nocivos que possam relacionar-se com este composto.

O álcool foi considerado pela IARC um fator risco independente no desenvolvimento do cancro oral, o que, apesar das dificuldades, uma vez que os indivíduos com este tipo de patologia têm, habitualmente, um ou mais fatores de risco associados, tem sido comprovado por diversos estudos. É exemplo, o estudo de Maserejo et al., realizado em 2006, que avaliou o risco de desenvolvimento de cancro orofaríngeo em homens que nunca fumaram e que ingeriam uma dose igual ou superior a 15 gramas por dia de álcool e obteve como resultado um RR de 2.16 para o desenvolvimento desta patologia, demonstrando assim o seu potencial independente como fator de risco (Yokoyama et al., 2010; Maserejian et al., 2006).

De acordo com o estudo levado a cabo por Silveira et al., em 2012, cerca de 47% dos pacientes com cancro da cabeça e pescoço bebe até 1 litro de vinho e aproximadamente 20% bebidas brancas e cerveja, o que poderá traduzir-se na relação positiva entre este fator de risco e a ocorrência de doença.

Segundo Radarkersojic et al., num estudo publicado em 2012, o consumo diário de aproximadamente 50 gramas de etanol aumenta o risco de desenvolvimento de cancro trato aerodigestivo superior (UADT), isto é, cavidade oral, faringe, laringe e esófago duas a três vezes mais do que as pessoas que não bebem.

Estes resultados são também comprovados pelo estudo de Olshan et al. (2001), que embora não tenha usado a mesma medida de quantificação, conseguiu relacionar positivamente a quantidade de bebida ingerida com o desenvolvimento de carcinomas das células escamosas da cabeça e pescoço (OR=1.4 para 1-19 bebidas por semana,

OR=2.7 para 20-59 bebidas por semana, OR=5.9 para +60 bebidas por semana). Este autor fez referência ainda ao risco de desenvolver esta patologia com o número de anos de abuso etílico, concluindo que é 2,3 vezes superior, quando a utilização é superior a 30 anos.

A investigação de Li et al., realizada em 2011, não encontrou evidências de que quanto maior a quantidade maior o risco de desenvolvimento de neoplasias orais em indivíduos que consomem uma quantidade superior a 20 bebidas por semana, contrariando assim os resultados obtidos nesses estudos.

Existem algumas opiniões contraditórias entre autores, quanto ao tipo de bebidas alcoólicas que mais se associam ao desenvolvimento de cancro oral, havendo quem defenda que não há diferenças significativas entre as diversas bebidas e outros que acreditam que as bebidas brancas ou espirituosas reportam maiores riscos comparativamente ao vinho e à cerveja. O que parece estar bem explicado segundo a meta-análise realizada por Bagnardi et al., em 2001, que deduz que as atribuições do risco a determinados tipos de bebidas alcoólicas variam consoante o padrão de consumo numa determinada área, nomeadamente a área de estudo.

Na literatura é reportado também o aumento do risco de cancro orofaríngeo consoante o padrão de consumo de álcool, segundo o estudo prospetivo realizado por, Maserejian et al., entre 1986 e 2002, existe uma diferença no risco de desenvolvimento de cancro orofaríngeo, consoante o tipo de consumo de álcool, ou seja, se este é durante as refeições o RR é de 1.47 e representando menos de 25% de hipóteses de desenvolver a patologia, contrariamente aos homens que têm o hábito de beber fora das refeições, nos quais o risco aumenta cerca de 75% (Maserejian et al., 2006).

Em 2003, Huang et al., estudaram a relação da concentração etílica das bebidas e o desenvolvimento de cancro oral e conclui que havia um maior risco de desenvolvimento da patologia quando o licor é consumido puro, sem associação de outras bebidas, independentemente da quantidade total de álcool consumido, o que poderia ser explicado pela sua maior concentração em locais com exposição direta ao álcool e o papel dessa concentração na carcinogénese.

Esta diferença pode ser atribuída à taxa de esvaziamento gástrico, que dependendo da quantidade de alimentos ingeridos e da concentração etílica ingerida poderá determinar o grau de absorção alcoólica e consequentemente o risco de desenvolvimento de carcinomas (Mitchell Jr. et al., 2014).

O mecanismo de ação do álcool sobre a mucosa oral permanece desconhecido, no entanto, a indução da proliferação celular, bem como a alta permeabilidade a agentes carcinogénicos do tabaco foram demonstradas na mucosa após a exposição etílica, o que suporta a hipótese de que este agente induz alterações na mucosa oral, que poderão relacionar-se com o cancro oral, uma vez que a proliferação celular é um dos estágios iniciais da carcinogénese.

Diversos estudos relacionaram positivamente o aumento da proliferação celular ao consumo crónico de álcool, no entanto o exato mecanismo implicado no aumento ainda não foi totalmente esclarecido (Valentine et al., 1985; Maier et al., 1994; Maito et al., 2003; Carrard et al., 2004; Goldstein et. al, 2010).

Dessa forma, Carrard et al., no ano de 2013, na tentativa de colmatar essa falta de informação, estudaram o mecanismo de ação, sugerindo que o dano da mucosa oral relacionado com o álcool é cumulativo e os seus mecanismos são complexos. A curto prazo o álcool induz mudanças no equilíbrio *redox* e o aumento da proliferação celular surge mais tarde, possivelmente devido a um desequilíbrio bioquímico. Os resultados obtidos sugeriram o envolvimento do peróxido de hidrogénio na proliferação celular, mas não relacionado com o aumento da proliferação relacionada com o álcool e também o envolvimento do Nrf2, de alguma forma, no mecanismo (Carrard et al., 2013).

Tendo em conta estes resultados há um consenso de que são necessárias mais investigações para a determinação dos mecanismos bioquímicos através dos quais o álcool consegue impor a sua ação sobre a mucosa.

Os hábitos etílicos têm uma forte associação ao consumo tabágico, sendo a ocorrência de grande parte dos cancros orofaríngeos atribuídos a estes dois fatores de risco e ao efeito carcinogénico sinérgico que apresentam (Johnson, 2001; Gigliotti et al., 2008; Saman, 2012; Hurley et al., 2012; McKee & Weinberger, 2013).

O estudo levado a cabo por Madani et al., em 2014, atribui a ocorrência de 30% dos casos de cancro oral na sua amostra, à utilização conjunta de álcool e tabaco, demonstrando um efeito multiplicativo na utilização simultânea dos dois compostos ao invés de um efeito aditivo (Madani et al., 2014).

Segundo a investigação de Morse (2007), as alterações promovidas pelo tabaco parecem ter uma maior relação com a displasia oral epitelial do que com o cancro oral, o que sugere que este composto está envolvido nos estágios mais iniciais do desenvolvimento da neoplasia oral, precedentes à malignização. Enquanto o consumo de álcool principalmente o consumo pesado, ainda que não exclusivamente, associa-se a estágios mais tardios da carcinogénese oral, nomeadamente a transformação maligna.

Estes resultados vão de encontro aos de Li et al. (2011), que associou positivamente o consumo de tabaco (cigarros e charutos) ao desenvolvimento de lesões potencialmente malignas orais, estabelecendo um risco de desenvolvimento 4 vezes superior em fumadores quando comparados a não fumadores; e apenas encontrou uma pequena relação entre os hábitos etílicos e o aparecimento destas condições.

Freita et al. (2005), através de testes de *micronucleis*, concluiu que em fumadores e consumidores de álcool, modificações celulares como a *cariorréxis* e a condensação anormal da cromatina são significativamente maiores do que indivíduos saudáveis, apontando para a sua associação ao processo carcinogénico, uma vez que estas alterações indicam toxicidade celular, citotoxicidade e genotoxicidade (Freita et al., 2005).

Uma investigação levada a cabo por Waseem et al., em 2012, demonstrou que a cessação do consumo etílico e tabágico diminui drasticamente a mortalidade a 3 e a 5

anos, bem como a recorrência tumoral, em pacientes com cancro oral. Segundo este autor, pelo menos  $\frac{3}{4}$  dos cancros orais poderiam ser prevenidos pela eliminação do hábito de fumar e pela redução do consumo de álcool.

O acetaldeído, primeiro composto da degradação etílica é considerado, pela comunidade científica, o grande responsável pela ação carcinogénica do etanol (Gigliotti, 2008; Seitz & Stickel, 2010). A suscetibilidade a este composto depende de uma forte componente genética, que determina o seu grau de metabolização e a sua consequente acumulação no organismo o que determina a variabilidade étnica e individual na tolerância ao álcool e consequentemente no risco de desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço.

Num estudo caso-controlo multicêntrico levado a cabo na Europa Central, o alelo ADH1B histidina foi associado a um decréscimo do risco de cancro do trato aerodigestivo superior, com um ótimo potencial protetivo nos “bebedores” médios e pesados [OR=0.36 p<0.005] (Hashibe et al., 2006). Os resultados obtidos pela análise desta autora não vão de encontro aos de Asakage et al. (2007), que ainda que associe este alelo a um risco no desenvolvimento do cancro oral/orofaríngeo mais ténue (OR=4.75) comparativamente ao ADH1B\*1/1 (OR=26.40), apresenta uma correlação positiva no desenvolvimento da doença, no entanto, estas diferenças poderão dever-se ao tipos de estudos, bem como à amostragem dos mesmos.

Em diversos estudos, o alelo ADH1C\*1 exhibe uma metabolização rápida do álcool a acetaldeído, o que sugere uma correlação positiva com o desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço. Na investigação levada a cabo por (Visapää et al., 2004), pacientes com UADTC e consumidores crónicos de álcool excessivo exibem uma frequência elevada do alelo ADH1C\*1 comparativamente com os bebedores pesados sem cancro, sendo que este aumento pode dever-se ao aumento ADH1C\*1 homozigótico. Destes resultados, os mais significantes verificaram-se em pacientes com cancro oral e da faringe representando cerca de 38 e 37% dos alelos homozigóticos ADH1C\*1. Neste estudo apenas 6 % dos pacientes com cancro oral e 7% dos pacientes com cancro da laringe se apresentaram homozigóticos para o alelo ADH1C\*2.

Peters et al. (2006) apontou também um aumento significativo do risco, em bebedores moderados na Europa, com o genótipo ADH1C\*1/1 quando comparados com os que carregavam o alelo ADH1C\*2.

O estudo de Asakage et al. (2007), contraria os resultados dessas investigações, na medida em que, o alelo ADH1C\*1/1 (OR=5.64), apresenta-se como tendo menor potencial de risco no desenvolvimento de cancros orofaríngeos em “bebedores” moderados a pesados, quando comparado com os genótipos ADH1C\*1/2+2/2 (OR=17.93). Estes resultados vão de encontro aos obtidos por Hashibe et al. (2006), que ainda que não manifestem tanta expressividade na relação de risco, associam os mesmos alelos ao desenvolvimento da patologia. Segundo a autora o alelo ADH1C1 valina correlaciona-se com o risco moderado de UADT (OR=1.38 p<0.005), com uma magnitude similar em consumidores etílicos ligeiros, moderados ou severos. Tendo sido encontrado um efeito similar no alelo ADH1C glutamina no codão 272.

A enzima ALDH2\*2 é característica das populações Asiáticas e raramente se manifesta nas populações Caucásicas ou Negroides. Esta exibe um potencial de metabolização do acetaldeído diminuto, o que tem repercussões na tolerância e sensibilidade etílica, apresentando, os seus portadores, picos de acetaldeído na saliva e no sangue, bem como um risco aumentado no desenvolvimento de cancros do trato aerodigestivo superior. Os resultados do estudo de, Yokoyama et al. (2003), comprovam isso mesmo, afirmando que entre a população Japonesa existe uma forte associação entre a enzima inativa heterozigótica ALDH2 e os cancros orofaringolaríngeos (OR=18.5), cancro da cavidade oral/orofaringe (OR=20.8) e cancro hipolaríngeo (OR=28.9).

Também Hashibe et al. (2006), concluíram que os indivíduos hétero ou homozigóticos para qualquer uma das variantes alélicas de ALDH2 mostraram um aumento no risco de desenvolvimento de cancro do trato aerodigestivo superior. O OR para cada variante homozigótica, em “bebedores” severos foi 4.38 para ALDH2 78 e 5.74 para ALDH2 +368 e -261 respetivamente.

Nos autores consultados verifica-se uma tendência unânime que aponta o papel determinante do consumo de álcool na carcinogénese oral.

O álcool: o seu papel como ativador enzimático e indutor carcinogénico oral

## CONCLUSÃO

Existe de fato uma relação positiva entre o consumo de álcool e o desenvolvimento de cancro oral, o que no nosso país se torna preocupante, uma vez que os hábitos etílicos são iniciados cada vez mais precocemente, o que predispõe os jovens a um maior tempo de exposição e tendo em conta o tipo de consumo, a uma maior concentração etílica em contacto com as mucosas da cavidade oral.

O consumo de álcool está na maioria das vezes associado ao tabagismo, o que sujeita os seus consumidores, ao efeito sinérgico entre estes dois fatores de risco, associados ao desenvolvimento de COCE, sendo responsáveis por cerca de 80%, dos casos.

É de salientar a atuação das bebidas alcoólicas como solventes dos compostos do fumo de tabaco e também como modificadoras da permeabilidade celular, o que aumenta a exposição da mucosa oral aos efeitos dos carcinogénicos presentes no tabaco, como as nitrosaminas, e conseqüentemente a potenciação dos mesmos.

O álcool atua também como um ativador dos pró-carcinogénicos constituintes do tabaco, através do CYP450 2E1, o que aumenta o risco de mutações genéticas, nomeadamente no Tp53, que tem um importante papel na regulação do crescimento e proliferação celular.

Uma característica comum a estes dois fatores de risco é a possibilidade de poderem alterar a metilação de alguns genes-chave na carcinogénese, inativando-os.

O álcool, como fator de risco independente no desenvolvimento de cancros do trato aerodigestivo superior, induz as mais diversas alterações, no entanto, ainda não estão totalmente esclarecidos os mecanismos através dos quais este fator induz a carcinogénese.

No que diz respeito à mucosa, a sujeição crónica a este agente induz a hiperproliferação celular da basal, como mecanismo de adaptação à injúria nas camadas epiteliais mais

superiores, o que leva a alterações na sua morfologia bem como na sua maturação e consequentemente ao aumento da permeabilidade celular. Este mecanismo é também influenciado pelas alterações de absorção promovidas pelo etanol, nomeadamente de vitamina A, com a qual compete pelos recetores, diminuindo a sua atividade e assim a sua influência na maturação.

O consumo etílico induz ainda a atrofia das glândulas salivares, nomeadamente da parótida e da submandibular, o que inevitavelmente diminui o fluxo salivar e a capacidade de autolimpeza da cavidade oral, aumentando a concentração de substâncias pró-carcinogénicas e carcinogénicas.

Durante a metabolização do etanol são ainda produzidas ROS e RNS, principalmente se o CYP450 for utilizado, que a par do diminuído funcionamento dos sistemas antioxidantes do organismo, induzem um estado de *stress* oxidativo, e que têm a capacidade de se ligar a ácidos gordos e a lípidos induzindo a peroxidação lipídica e potenciando a formação de adutos de ADN, o que induz posteriormente à sua degradação.

No entanto, é o primeiro metabólito da sua catalisação, o acetaldeído que se destaca na carcinogénese oral, este composto é altamente mutagénico e induz alterações muito variadas, como: mutações pontuais, danos cromossómicos extensos, modificações nas cromátides irmãs, micronúcleos, migração electroforética de ADN mais lenta e também a formação de adutos de ADN, que codificam erradamente o que resulta na mutação genética e na perda de mecanismos de controlo do crescimento normal.

É importante salientar-se que a suscetibilidade ao desenvolvimento de cancro oral depende de fatores genéticos, tanto em indivíduos adictos ao etilismo como em indivíduos “saudáveis”. Os diversos polimorfismos caracterizam cada indivíduo e etnicamente têm um papel fulcral na capacidade de metabolização e de acumulação dos agentes carcinogénicos no organismo na resposta à agressão celular.

Em suma, os hábitos etílicos têm uma elevada importância no desenvolvimento de carcinomas da cavidade oral, particularmente, se forem articulados com o tabagismo.

O consumo de álcool deve ser considerado um fator nocivo para a saúde pública e individual, sendo necessária uma maior alerta junto à comunidade sobre os riscos de uma possível exposição prolongada e exacerbada a este composto.

A Medicina Dentária tem um papel determinante nesta temática, pela proximidade com o paciente, pela posição privilegiada no acesso à cavidade oral- por meio de exame intra e extra-oral e pelos conhecimentos teóricos e práticos que adquire na sua formação. O Médico Dentista partilha responsabilidades, com todos os agentes de saúde no que concerne à prevenção, ao diagnóstico precoce, tratamento e reabilitação dos doentes com cancro oral.

## **BIBLIOGRAFIA**

Ahmed, H. G. (2013). Aetiology of oral cancer in the Sudan. *Journal of Oral & Maxillofacial Research*, 4(2), pp. 1-10.

Albano, E. (2006). Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65, pp. 278-290.

Albuquerque, R., López-López, J., Marí-Roig, A. (2011) Relationship Between Squamous Cell Carcinoma of the Anterior Two Thirds of the Tongue and Removable Denture Use - A Pioneer Study in a Portuguese Population. *Brazilian Dental Journal*, 22(5), pp. 410-414.

Anantharaman, D., Chabrie A., Gaborieau, V. *et al.* (2014). Oral cavity and oropharyngeal cancer incidence trends and disparities in the United States: 2000–2010. *PLOS ONE*, 9(2), pp. e88240.

Antunes, J. L. F., Toporcov, T.N., Biazevic, M. G. H., *et al.* (2013). EMT A new vision of hypoxia promoting cancer progression. *PLOS ONE*, 8(7), pp. e68132.

Asakage, T., Yokoyama, A., Haneda, T., *et al.* (2007) Genetic polymorphisms of alcohol and aldehyde dehydrogenases, and drinking, smoking and diet in Japanese men with oral and pharyngeal squamous cell carcinoma, *Carcinogenesis*, 28(4), pp. 865-874.

Bagnardi, V., Blangiardo, M., La Vecchia, C., *et al.* (2001) A meta-analysis of alcohol drinking and cancer risk, *British Journal of Cancer*, 85(11), pp. 1700-1705.

Balbo, S., Meng, L., Bliss, R. L., *et al.* (2012) Kinetics of DNA adduct formation in the oral cavity after drinking alcohol. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 21(4), pp. 601-608.

Batinic-Haberle, I., Tovmasyan, A., Spasojevic, I., *et al.* (2015). An educational overview of the chemistry, biochemistry and their therapeutic aspects of Mn porphyrins – From superoxide dismutation to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-driven pathways. *Redox Biology*, 5, pp. 43-65.

Bodhade, A. S. & Dive, A. M. (2013). Chemoprevention of premalignant and malignant lesions of oral cavity: Recent trends. *European Journal of Dentistry*, 7(2), pp. 246-250.

Bower, M., Waxman, J. (2006). *Compêndido de Oncologia*. Lisboa: Instituto PIAGET.

Bradshaw, P. T., Siega-Riz, A. M., Campbell, M. (2012) Associations Between Dietary Patterns and Head and Neck Cancer- The Carolina Head and Neck Cancer Epidemiology Study. *American Journal of Epidemiology*, 175(12), pp.1225-1233.

Buczuko, P., Zalewska, A., Szarmach, I. (2015) SALIVA AND OXIDATIVE STRESS IN ORAL CAVITY AND IN SOME SYSTEMIC DISORDERS. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 66(1), pp.3-9.

Burzlaff, J. B., Bohrer, P. L., Paiva, R. L., *et al.* (2007). Exposure to alcohol or tobacco affects the pattern of maturation in oral mucosal cells: a cytohistological study. *Cytopathology*, 18(6), pp. 367-375.

Cabral, L. R. (2007). Consumo de Bebidas alcoólicas em rituais/praxes académicas [Em linha]. Disponível em <<http://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/7207/2/Doutoramento%20Lidia%20do%20Rosrio%20Cabal%20Agosto2007.pdf>> [Consultado em 04.06.2015]

Caputo, F., Vegliante, R., Ghibelli, L., *et al.* (2012) Redox modulation of the DNA damage response. *Biochemical Pharmacology*, 84(10), pp.1292-1306.

Carrard, V. C., Filho, M. S., Rados, P.V., *et al.* (2004). Quantification of silver-staining nucleolar organizer region in epithelial cells of tongue mice after exposure to, or intake of alcohol. *Alcohol*, 34(2-3), pp. 233-238.

Carrard, V. C., Pires, A. S., Paiva, R. L., *et al.* (2008). Alcohol and Oral Cancer: Comments on Related Mechanisms. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 54(1), pp. 49-56.

Carrard, V. C., Pires, A. S., Mendez, M., *et al.* (2013). Exploring the mechanisms of alcohol-related damage in oral mucosa – is oxidative stress associated with the increase in cell proliferation in rat tongue epithelium?. *Pharmaceutical Biology*, 51(2), pp. 160169.

Carvalho, A. L., Jeronimo, C., Kim, M. M., *et al.* (2008). Evaluation of Promoter Hypermethylation Detection in Body Fluids as a Screening/Diagnosis Tool for Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 14(1), pp. 97-107.

Centers of Disease Control and Prevention. [Em linha]. Disponível em <<http://nccd.cdc.gov/USCS/cancersbyraceandethnicity.aspx>>. [Consultado em 25.06.2015].

Cederbaum, A. I. (2012). Alcohol Metabolism. *Clinics in Liver Disease*, 16(4), pp. 667685.

Cederbaum, A. I. (2015). Molecular mechanisms of the microsomal mixed function oxidases and biological and pathological implications. *Redox Biology*, 4, pp. 60-73.

Chandra, A., Sebastian, B. T., Agnihotri, A., *et al.* (2013). Oral Squamous Cell Carcinoma Pathogenesis and Role of p53 Protein. *Universal Research Journal of Dentistry*, 3, pp. 128-130.

Chang, H. W., Ling, G. S., Wei, W. I. (2004). Smoking and Drinking Can Induce p15 Methylation in the Upper Aerodigestive Tract of Healthy Individuals and Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancer*, 101(1), pp. 125-132.

Charters, S. (2006). *Wine and Society: The Social and Cultural Context of a Drink*.

Oxford: Elsevier Butterworth-Heinemann.

Chaturvedi, A. K., Anderson, W. F., Lortet-Tieulent, J., *et al.* (2013). Worldwide Trends in Incidence Rates for Oral Cavity and Oropharyngeal Cancers. *Journal of Clinical Oncology* 31(36), pp. 4550-4559.

Chou, Y., Hsieh, M., Hsin, C., *et al.* (2014) CD44 Gene Polymorphisms and Environmental Factors on Oral Cancer Susceptibility in Taiwan, *PLoS ONE*, 9(4), pp. e93692.

Civetta, M. & Civetta, J. (2011) Carcinogénesis. *Salud Pública de México*, 53(5), pp. 405414.

Dollé, L. & Gao, B. (2015). Pharmacological chaperone therapies: Can aldehyde dehydrogenase activator make us healthier?. *Journal of Hepatology*, 62(6), pp. 12281230.

Edefonti, V., Hashibe, M., Ambroggi, F., *et al.* (2012) Nutrient-based dietary patterns and the risk of head and neck cancer: a pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology consortium, *Annals of Oncology*, 23(7), pp. 1869-1880.

Edenberg, H. J. (2007). The Genetics of Alcohol Metabolism- Role of Alcohol Dehydrogenase and Aldehyde Dehydrogenase Variants. *Alcohol Research & Health*, 30(1), pp. 5-13.

Faustino, S. E. S. & Stipp, A. C., M. (2003). EFEITOS DO ALCOOLISMO CRÔNICO E DA DESINTOXICAÇÃO ALCÓOLICA SOBRE A GLÂNDULA SUBMANDIBULAR DE RATOS. ESTUDO MORFOMÉTRICO. *Journal of Applied Oral Science*, 11(1), pp. 21-26.

Ferreira, M. A. F., Gomes, M. N., Michels, F. A. S., *et al.* (2012). Desigualdade social no adoecimento e morte por câncer de boca e orofaríngeo no Município de São Paulo, Brasil: 1997 a 2008. *Cadernos de Saúde Pública*, 28(9), pp. 1663-1673.

Ferreira, I. C. F. R. & Abreu, R. M. V. (2007). Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. [Em linha]. Disponível em <[https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/27111/1/Publica%C3%A7%C3%A3o\\_Nacional\\_Sress%20oxidativo.pdf](https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/27111/1/Publica%C3%A7%C3%A3o_Nacional_Sress%20oxidativo.pdf)>. [Consultado em 01.08.2015].

Freita, V. S., Lopes, M. A., Meirele, J. R. C., *et al.* (2005) Efeitos genotóxicos de fatores considerados de risco para o câncer bucal, *Revista Baiana de Saúde Pública*, 29(2), pp. 189-199.

Fuchs-Tarlovsky, V. (2013) Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutrition*. 29(1), pp.15-21.

Galbiatti, A. L., Padovani-Junior, J. A., Maníglia, J. V., *et al.* (2013). Head and neck cancer: causes, prevention and treatment. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 79(2), pp. 239-247.

Garavello, W., Bertuccio, P., Levi, F. *et al.* (2010) The oral cancer epidemic in central and eastern Europe, *The International Journal of Cancer*, 127, pp. 160-171.

Gigliotti, M. P., Tolentino, E. S., Tomita, N. E., *et al.* (2011) Principais mecanismos de atuação do álcool no desenvolvimento do câncer oral. *Odontologia. Clínico-Científica*, 7(2), pp. 107-112.

Global status report on alcohol and health 2014. [Em linha]. Disponível em <[http://www.who.int/substance\\_abuse/publications/global\\_alcohol\\_report/msb\\_gsr\\_2014\\_1.pdf?ua=1](http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msb_gsr_2014_1.pdf?ua=1)>. [Consultado em 30.06.2015].

GLOBOCAN 2012 (IARC). [Em linha]. Disponível em

<[http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_population.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx)>. [Consultado em 25.06.2015].

Gokul, S., Patil, V. S., Jaikhani, R., *et al.* (2010) Oxidant–antioxidant status in blood and tumor tissue of oral squamous cell carcinoma patients. *Oral Diseases*, 16(1), pp. 29-33.

Goldstein, B. Y., Chang, S., Hashibe, M., *et al.* (2010) Alcohol Consumption and Cancer of the Oral Cavity and Pharynx from 1988 to 2009: An Update. *Oral Diseases*, 16(9), pp. 431-465.

Gordon, R., Heim, D., MacAskill, S., *et al.* (2012) Rethinking drinking cultures: A review of drinking cultures. *Public Health*, 26, pp.3-11.

Grimm, M., Cetindis, M., Lehmann, M., *et al.* (2014) Association of cancer metabolism-related proteins with oral carcinogenesis- indications for chemoprevention and metabolic sensitizing of oral squamous cell carcinoma?. *Journal of Translational Medicine*, 12(228), pp. 1-21.

Hanson, D. J., (2013). Historical evolution of alcohol consumption society. [Em linha]. Disponível em <<http://www.oxfordscholarship.com/view/10.1093/acprof:oso/9780199655786.001.001/acprof-9780199655786-chapter-01>>. [Consultado em 27.06.2015].

Hasegawa, M., Nelson, H. H., Peters, E., *et al.* (2002) Patterns of gene promoter methylation in squamous cell cancer of the head and neck. *Oncogene*, 21(27), pp. 4231-4236.

Hashibe, M., Boffetta, P., Zaridze, D., *et al.* (2006) Evidence for an Important Role of Alcohol- and Aldehyde- Metabolizing Genes in Cancers of the Upper Aerodigestive Tract. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 15(4), pp. 696-703.

Heita, C., Donga, H., Chena, H., *et al.* (2015). Transgenic Mouse Models for Alcohol Metabolism, Toxicity and Cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 815, pp. 375-387.

Homann, N., Tillonen, J., Meruman, J. H., *et al.* (2000) Increased salivary acetaldehyde levels in heavy drinkers and smokers: a microbiological approach to oral cavity cancer. *Carcinogenesis*, 21(4), pp.663-668.

Huang, W., Winn, D., Brown, L. M. *et al.* (2003) Alcohol Concentration and Risk of Oral Cancer in Puerto Rico, *American Journal of Epidemiology*, 157(10), pp. 881-887.

Hurley, L. L., Taylor, R. E., Tizabi, Y., *et al.* (2012). Positive and Negative Effects of Alcohol and Nicotine and Their Interactions: A Mechanistic Review. *Neurotoxicity Research*, 21(1), pp. 57-69.

Hwang, P. H., Lian, L., Zavras, A. I., *et al.* (2012) Alcohol intake and folate antagonism via CYP2E1 and ALDH1: Effects on oral carcinogenesis. *Medical Hypotheses*, 78(2), pp.197-202.

Instituto Nacional de Cancer José Alencar Gomes da Silva (INCA) [Em linha]. Disponível em <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/sintese-de-resultadoscomentarios.asp>>. [Consultado em 01.07.2015].

Instituto Nacional de Estatística (INE) [Em linha]. Disponível em <[https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_publicacoes&PUBLICACOESpub\\_boui=139722&PUBLICACOESmodo=2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=139722&PUBLICACOESmodo=2)>. [Consultado em 24.06.2015].

Instituto Nacional de Estatística (INE) [Em linha]. Disponível em <[https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_destaquas&DESTAQUESdest\\_boui=83386467&DESTAQUESmodo=2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaquas&DESTAQUESdest_boui=83386467&DESTAQUESmodo=2)>. [Consultado em 01.07.2015].

Instituto Português de Oncologia (IPO- Porto) [Em linha]. Disponível em <[http://issuu.com/ipoporto/docs/publ\\_ipo2013](http://issuu.com/ipoporto/docs/publ_ipo2013)>. [Consultado em 25.06.2015].

International Agency for Research on Cancer. [Em linha]. Disponível em <<http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb9/bb9-chap4.pdf>>. [Consultado em 05.06.2015].

International Agency for Research on Cancer (IARC). [Em linha]. Disponível em <<http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb5/BB5.pdf>>. [Consultado em 26.06.2015].

Jefferies, S., Eeles, R., Goldgar, D. (1999) The role of genetic factors in predisposition to squamous cell cancer of the head and neck. *British Journal of Cancer*, 79(5/6), pp. 865-867.

Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., et al. (2011). Global Cancer Statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61(2), pp. 69-90.

Jiang, J., Tang, Y., Liang, X., et al. (2011). EMT A new vision of hypoxia promoting cancer progression. *Cancer Biology and Therapy*, 11(8), pp. 714-723.

Johnson, N. (2001). Tobacco use and oral cancer: a global perspective. *Journal of Dental Education*, 65(4), pp. 328-339.

Jung, S., Sielker, S., Purcz, N., et al. (2015) Analysis of angiogenic markers in oral squamous cell carcinoma-gene and protein expression, *Head & Face Medicine*, 11(19), pp. 1-8.

Kalyanaraman, B. (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biology*, 1(1), pp. 244-257.

Khan, Z., Tönnies, J., Müller, S., *et al.* (2014). Smokeless Tobacco and Oral Cancer in South Asia: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Journal of Cancer Epidemiology*, pp. 1-11.

Khelifi, R., Messaoud, O., Rebai, A., *et al.* (2013). Polymorphisms in the Human Cytochrome P450 and Arylamine N-Acetyltransferase: Susceptibility to Head and Neck Cancers. *BioMed Research International*, pp. 1-10.

Kim, S., Park, S., Kim, K. *et al.* (2015) Expression of vascular endothelial growth factor in oral squamous cell carcinoma., *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 41(1), pp. 11-18.

Kocaelli, H., Apaydin A., Aydil B., *et al.* (2014). Evaluation of potential salivary acetaldehyde production from ethanol in oral cancer. *Hippokratia*, 18(3), pp. 269-274.

Lee, Y. A. & Hashibe, M. (2014) Tobacco, Alcohol, and Cancer in Low and High Income Countries, *Annals of Global Health*, 80(5), pp. 378-383.

Li, L., Psoter, W. J., Buxó, C. J., *et al.* (2011). Smoking and drinking in relation to oral potentially malignant disorders in Puerto Rico: a case-control study. *BMC Cancer*, 11(324), pp. 1-8.

Linhart, K., Bartsch, H., Seitz. H. K., *et al.* (2014). The role of reactive oxygen species (ROS) and cytochrome P-450 2E1 in the generation of carcinogenic etheno-DNA adducts. *Redox Biology*, pp. 54-62.

Lopes, L. V., Conceição, A. V., Oliveira, J. B., *et al.* (2012). Cancer in Angola, resources and strategy for its control. *Pan African Medical Journal*, 12(13), pp. 1-5.

Macfarlane, T. V., Macfarlane, G. J., Olive, R. J., *et al.* (2010) The aetiology of upper aerodigestive tract cancers among young adults in Europe: the ARCAGE study, *Cancer Causes Control*, 21, pp. 2213-2221.

Madani, A., Dikshit, M., Bhaduri, D., *et al.* (2014). Interaction of Alcohol Use and Specific Types of Smoking on the Development of Oral Cancer. *International Journal of High Risk Behaviors and Addiction*, 3(1), pp.1-4

Maemoto, S., Yumoto, M., Ibata, M. (2012) Mutational analysis of HRAS and KRAS genes in oral carcinoma. *Odontology*, 100(1), pp. 149-155.

Maier, H., Weidauer, H., Zoller, S., *et al.* (1994). Effect of chronic consumption on the morphology of the oral mucosa. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 18(2), pp. 387-397.

Maito, F. D. M, Rados, P. V., Filho, M. S., *et al.* (2003). Proliferating cell nuclear antigen expression on tongue of mice after intake of or topical exposure to alcohol. *Alcohol*, 31(1-2), pp. 25-30.

Majchrzak, E., Szybiak, B., Wegner, A., *et al.* (2014). Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma in young adults: a review of the literature. *Radiology and Oncology*, 48(1), pp. 1-10.

Marichalar-Mendia, X., Rodriguez-Tojo, M. J., Acha-Sagredo, A. *et al.* (2010) Oral cancer and polymorphism of ethanol metabolising genes, *Oral Oncology*, 46(1), pp. 9-13.

Marinelli, N., Fabbrizzi, S., Sottini, V. A., *et al.* (2014) Generation Y, wine and alcohol. A semantic differential approach to consumption analysis in Tuscany. *Appetite*, 75, pp.117-127.

Marques, M., Viveiro C., Passadouro, R., *et al.* (2013) Alcohol Consumption in the Schooled Youth: an Old Question Revisited. *Acta Médica Portuguesa*, 26(2), pp. 133-138.

Martinez, M., Martinez, F. E., Cunha, M. R., *et al.* (2000). Morphological effects on the hard palatine mucosa of calomys callosys submitted to experimental chronic alcoholism. *Journal of Submicroscopy Cytology and Pathology*, 34(1), pp. 77-83.

Martín-Ezquerria, G., Salgado, R., Toll, A., *et al.* (2010). Multiple genetic copy number alterations in oral squamous cell carcinoma: study of MYC, TP53, CCDN1, EGFR and ERBB2 status in primary and metastatic tumours. *British Journal of Dermatology*, 63(1), pp. 1028-1035.

Maserejian, N. N., Joshipura, K. J., Rosner, B. A., *et al.* (2006) Prospective Study of Alcohol Consumption and Risk of Oral Premalignant Lesions in Men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 15(4), pp.774-781.

McKee, S. A. & Weinberger, A. H. (2013) How Can We Use Our Knowledge of Alcohol-Tobacco Interactions to Reduce Alcohol Use?, *Annual Review of Clinical Psychology*, 9, pp. 649-674.

Mitchell Jr., M. C., Teigen, E. L., Ramchandani., V. A., *et al.* (2014). Absorption and Peak Blood Alcohol Concentration After Drinking Beer, Wine, or Spirits. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 38(4), pp. 1200-1204.

Mistry, M., Parkin D. M., Ahmad, A. S., *et al.* (2011). Cancer incidence in the United Kingdom: projections to the year 2030. *British Journal of Cancer*, 105, pp. 1795-1803.

Mitchell, R. N., Kumar, V., Abbas, A. K. (2006). *Robbins & Cotran- Fundamentos de Patologia*. Rio de Janeiro: Elsevier.

Morse, D. E., Katz, R. V., Pendrys, D. G., *et al.* (2007) Smoking and drinking in relation to oral cancer and oral epithelial dysplasia. *Cancer Causes Control.*, 18(9), pp. 919-929.

National Cancer Institute [Em linha]. Disponível em <<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/oralcav.html>>. [Consultado em 25.06.2015].

Neuman, M. G., Cohen, L., Zakhari, S. (2014) Alcoholic Liver Disease: A Synopsis of the Charles Lieber's Memorial Symposia 2009–2012. *Alcohol and Alcoholism*, 49(4), pp. 373-380.

Noguti, J., Alvarenga, T. A., Andersen, M. L., *et al.* (2013). The influence of sleep deprivation on expression of apoptosis regulatory proteins p53, bcl-2 and bax following rat tongue carcinogenesis induced by 4-nitroquinoline 1-oxide. *Dental Research Journal (Isfahan)*, 10(2), pp. 247-256.

Olshan, A. F., Weissler, M. C., Watson, M. A., *et al.* (2001). Risk of Head and Neck Cancer and the alcohol dehydrogenase 3 genotype. *Carcinogenesis*, 22(1), pp. 57-61.

Ovchinnikov, D. A., Cooper, M. A., Pandit, P., *et al.* (2012). Tumor-suppressor Gene Promoter Hypermethylation in Saliva of Head and Neck Cancer Patients. *Translation Oncology*, 5, pp. 321-326.

Pannone, G., Santoro, A., Papagerak, S., *et al.* (2011). The role of human papillomavirus in the pathogenesis of head & neck squamous cell carcinoma: an overview. *Infectious Agents and Cancer*, pp. 1-10.

Pavlova, S. I., Jin, L., Gasparovich, S. R., *et al.* (2013). Multiple alcohol dehydrogenases but no functional acetaldehyde dehydrogenase causing excessive acetaldehyde production from ethanol by oral streptococci. *Microbiology*, 159, pp. 1437–1446.

Peters, E. S., McClean, M. D., Marsit, C. J., *et al.* (2006). Glutathione S-Transferase Polymorphisms and the Synergy of Alcohol and Tobacco in Oral, Pharyngeal, and Laryngeal Carcinoma. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 15(11), pp. 2196-2202.

Poeta, M. L., Manola, J., Goldwasser M. A., *et al.* (2007). TP53 Mutations and Survival in Squamous-Cell Carcinoma of Head and Neck. *The New England Journal of Medicine*, 357(25), pp. 2552-2567.

Polavarapu, R., Spitz, D.R., Sim, J.E., *et al.* (1998). Increased lipid peroxidation and impaired antioxidant enzyme function is associated with pathological liver injury in experimental alcoholic liver disease in rats fed diets high corn oil and fish oil. *Hepatology*, 27(5), pp. 1317-1323.

Polz-Gruszka, D., Macieląg, P., Fołtyn, S., *et al.* (2014). Oral squamous cell carcinoma (OSCC)-molecular, viral and bacterial concepts. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 8, pp. 61-66.

Portugal – Doenças Oncológicas em números – 2014. [Em linha]. Disponível em <<http://www.dgs.pt/estatisticas-de-saude/estatisticas-de-saude/publicacoes/portugaldoencas-oncologicas-em-numeros-2014-pdf.aspx+&cd=1&hl=ptPT&ct=clnk&gl=pt>>. [Consultado em 24.06.2015].

Prabhu, K., Reddy, G.M., Rao, A., *et al.* (2010) Can antioxidants predispose to cancer recurrence?, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(6), pp.494-495.

Puig, M. S. (2003). Papel prognóstico de los factores clínicos y epidemiológicos en una cohorte de pacientes con cáncer de cavidad oral y orofaringe. [Em linha].

Disponível em [http://tdx.cat/bitstream/handle/10803/1224/TESIS\\_MSANDOVAL\\_PUIG.pdf?sequence=5](http://tdx.cat/bitstream/handle/10803/1224/TESIS_MSANDOVAL_PUIG.pdf?sequence=5) [Consultado em 03.06.2015]

Putchala, M. C., Ramani, P., Sherlin, H. J., *et al.* (2013) Ascorbic acid and its prooxidant activity as a therapy for tumours of oral cavity – A systematic review. *Archives of oral biology*, 58(6), pp.563-574.

Radarkersojcic, J., Zaravinos, A., Spandidos, D. A., *et al.* (2012). HPV, KRAS mutations, alcohol consumption and tobacco smoking effects on esophageal squamous cells carcinoma carcinogenesis. *The International Journal of Biological Markers*, 27(1), pp. 1-12.

Radoï, L., Paget-Bailly, S., Guida, F., *et al.* (2013). Family history of cancer, personal history of medical conditions and risk of oral cavity cancer in France: the ICARE study. *BMC Cancer*, 13(560), pp. 1-10.

Ram, H., Sarkar, J., Kumar, H., *et al.* (2011). Oral Cancer: Risk Factors and Molecular Pathogenesis. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 10(1), pp. 132-137.

Reidy, J., McHugh, E., Stassen, L.F.A., *et al.* (2011). A review of the relationship between alcohol and oral cancer. *Surgeon*, 9(5), pp. 279-283.

Rivera, C. & Venegas, B. (2014). Histological and molecular aspects of oral squamous cell carcinoma (Review). *Oncology Letters*, 8(1), pp. 7-11.

Ronzani, T. M. (2008) Padrão de Uso de Álcool entre Pacientes da Atenção Primária à Saúde: Estudo Comparativo. *Revista de Atenção Primária Saúde: APS*, 11(2), pp. 163-171.

Sakaguti, S. (2013). Tabagismo, consumo de álcool e câncer da cabeça e pescoço nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste do Brasil [Em linha]. Disponível em <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6132/tde-22052013-142314/pt-br.php>> [Consultado em 19.07.2015].

Salem, A. (2010) Dismissing links between HPV and aggressive tongue cancer in young patients. *Odontology*, 21(1), pp. 13-17.

Saman, D. M. (2012). A review of the epidemiology of oral and pharyngeal carcinoma: update. *Head & Neck Oncology*, 4(1), pp.1-7.

Sanfelice, J. C., Padilha, D. M. P., Sant'Ana, F. M., *et al.* (2003). Morphological changes in epithelium of the tongue of mice expouse to 40° GL alcohol solution. *Ver – fac Odontol de Portoalegre*, 44(1), pp.3-14.

San-Miguel, A. & Martin-Gil, F. J. (2009). Importancia de las especies reactivas al oxigeno (radicales libres) y los antioxidantes en clinica. *Gaceta Médica de Bilbao*, 106(3), pp.106-113.

Santos, L. & Teixeira, L. (2011). *Oncologia Oral*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda.

Scoccianti, C., Cecchini, M., Anderson, A. S., *et al.* (2015). European Code against Cancer 4th Edition: Alcohol drinking and cancer. *The International Journal of Cancer Epidemiology, Detection, and Prevention*, pp. 1-8.

Seitz, H. K. & Stickel, F. (2007) Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis, *Natures Reviews Cancer*, 8(1), pp. 599-612.

Seitz, H. K. & Stickel, F. (2010). Acetaldehyde as an underestimated risk factor for cancer development: role of genetics in ethanol metabolism. *Genes & Nutrition*, 5(2), pp. 121128.

Seoane-Mato, D., Aragonés, N., Ferreras, E., *et al.* (2014) Trends in oral cavity, pharyngeal, oesophageal and gastric cancer mortality rates in Spain, 1952–2006: an age-period-cohort analysis, *BMC Cancer*, 14(254), pp. 1-11.

Serefoglou, Z., Yapijakis, C., Nkenke, E., *et al.* (2008) Genetic association of cytokine DNA polymorphisms with head and neck cancer, *Oral Oncology*, 44(12), pp. 1093-1099.

Setshedi, M., Wands, J. R., Monte, S. M., *et al.* (2010) Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(3), pp. 178-185.

Silveira, A., Gonçalves, J., Sequeira, T., *et al.* (2012) Oncologia de Cabeça e Pescoço: enquadramento epidemiológico e clínico na avaliação da Qualidade de Vida Relacionada com a Saúde, *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 15(1), pp. 38-48.

Spiotto, M. T., Pytynia, M., Liu, G. F., *et al.* (2013) Animal Models to Study the Mutational Landscape for Oral Cavity and Oropharyngeal Cancers. *Journal of Oral & Maxillofacial Research*, 4(1), pp. 1-14.

Skog, O. (1986) The long waves of alcohol consumption: A social network perspective on cultural change, *Social Networks*, 8(1), pp. 1-32.

Tanaka, T., Tanaka, M., Tanaka, T., *et al.* (2011) Oral Carcinogenesis and Oral Cancer Chemoprevention: A Review, *Pathology Research International*, pp. 1-10.

Tan D., Wang, W., Leong, H. S., *et al.* (2014). Tongue carcinoma infrequently harbor common actionable genetic alterations. *BMC Cancer*, 14(679), pp. 1-9.

Tapia, J.L. & Goldberg, L. J. (2011). The Challenges of Defining Oral Cancer: Analysis. *Head and Neck Pathology*, 5(4), pp. 376-384.

The European health report 2012: charting the way to well-being. [Em linha]. Disponível em [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0004/197113/EHR2012-Eng.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0004/197113/EHR2012-Eng.pdf). [Consultado em 25.06.2015].

Trivedi, M. S. & Deth, R. (2015). Redox-based epigenetic status in drug addiction: a potential contributor to gene priming and mechanistic rationale for metabolic intervention. *Frontiers in Neuroscience*, 8, pp. 1-14.

Tsai, H., Hsin, C., Hsieh, Y. (2013). Impact of Interleukin-18 Polymorphisms -607A/C and -137G/C on Oral Cancer Occurrence and Clinical Progression. *PLOS ONE*, 8(12).

Udeabor, S. E., Rana, M., Wegene, G., *et al.* (2012) Squamous cell carcinoma of the oral cavity and the oropharynx in patients less than 40 years of age: a 20-year analysis, *Head & Neck Oncology*, 4(28), pp. 1-7.

Urashima, M., Hama, T., Suda, T., *et al.* (2013) Distinct Effects of Alcohol Consumption and Smoking on Genetic Alterations in Head and Neck Carcinoma. *PLOS ONE*, 8(11), pp. e80828.

Vairaktaris, E., Spyridonidou S., Papakosta, V., *et al.* (2008). Oral squamous cell carcinoma (OSCC)-molecular, viral and bacterial concepts. *Oral Oncology*, 44, pp. 314-324.

Valentine, J. A., Scott, J., West, C. R., *et al.* (1985). A histological analysis of the early effects of alcohol and tobacco usage on human lingual epithelium. *Journal of Oral Pathology*, 14(8), pp.654-665.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J.,*et al.* (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), pp.1-40.

Varela-Rey, M., Woodhoo, A., Martinez-Chantar, M.L., *et al.* (2013) Alcohol, DNA Methylation, and Cancer, *Alcohol Res.*, 35(1), pp. 25-35.

Vieira, M., Macedo, D.M.A., Santos, I. G. S., *et al.* (2009) A influência do etanol na abordagem da função do álcool. [Em linha]. Disponível em

<<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R1221-1.pdf>>. [Consultado em 01.07.2015].

Villacé, M. B., Fernández, A. R., Júnior, M. L. C., *et al.* (2013) Consumo de álcool de acordo com características sociodemográficas em jovens de 18 a 24 anos. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 21(5), pp. 1-7.

Visapää, J. P., Götte, K., Benesova, M., *et al.* (2004). Increased cancer risk in heavy drinkers with the alcohol dehydrogenase 1C\*1 allele, possibly due to salivary acetaldehyde. *Gut Journal*, 53(6), pp. 871-876.

Waseem, J., Tahwinder U., Hani R., *et al.* (2012) The effect of tobacco and alcohol and their reduction/cessation on mortality in oral cancer patients: short communication, *Head and Neck Oncology*, 4(6), pp. 1-5.

Weatherspoonsa, D. J., Chattopadhyayb, A., Boroumandc, S., *et al.* (2015). Oral cavity and oropharyngeal cancer incidence trends and disparities in the United States: 2000–2010. *Cancer Epidemiology*, pp. 1-8.

Williams, H. K. (2000) Molecular pathogenesis of oral squamous, *Journal of Clinical Pathology*, 53(1), pp. 165-172.

World Health Organization [Em linha]. Disponível em <<http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2015/en#/D00.0>>. [Consultado em 11.06.2015].

Barnes, L., Eveson, J., Reichart, P., *et al.* (2005). Pathology & Genetics Head and Neck Tumours [Em linha]. Disponível em <<http://www.iarc.fr/en/publications/pdfsonline/pat-gen/bb9/BB9.pdf>>. [Consultado em 14.06.2015].

Yokoyama, A. & Omori, T. (2003) Genetic Polymorphisms of Alcohol and Aldehyde Dehydrogenases and Risk for Esophageal and Head and Neck Cancers. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 33(3), pp.111-121.

Yokoyama, A., Omori, T., Yokoyama, T., *et al.* (2010). Alcohol and Aldehyde Dehydrogenase Polymorphisms and New Strategy for Prevention and Screening for Cancer in the Upper Aerodigestive tract in East Asians. *The Keio Journal of Medicine*, 159(4), pp. 115130.

Zakhari, S. (2013) Alcohol Metabolism and Epigenetics Changes, *Alcohol Research*, 35(1), pp. 6-16.

Zelner, I. & Koren, G. (2013). Pharmacokinetics of ethanol in the maternal-fetal unit. *The Canadian Journal of Clinical Pharmacology*, 20(3), pp. e-259-265.

Zhong, H., Yin, H. (2015). Role of lipid peroxidation derived 4-hydroxynonenal (4HNE) in cancer: Focusing on mitochondria. *Redox Biology*, 4, pp. 193-199.

Zhou, J., Tao, D., Xu, Q., *et al.* (2015). Expression of E-cadherin and vimentin in oral squamous, *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(7), pp. 3150-3154.

Zygianni, A. G., Kyrgias, G., Karakitsos, P., *et al.* (2011). Oral squamous cell cancer: early detection and the role of alcohol and smoking. *Head & Neck Oncology*, 3(2), pp. 1-12.