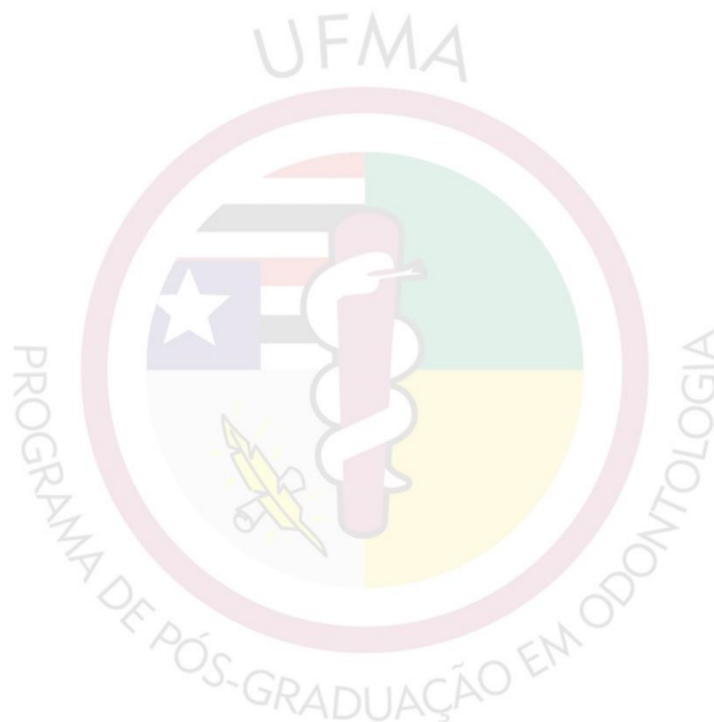




UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA



ENXAGUANTES BUCAIS E CÂNCER ORAL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E META- ANÁLISE



SÃO LUIS
2020

JENNIFER SANZYA SILVA DE ARAÚJO

**ENXAGUANTES BUCAIS E CÂNCER ORAL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E
META-ANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria Carmen Fontoura
Nogueira da Cruz

Co-Orientadora: Prof.^a Dra Erika Bárbara Abreu
Fonseca Thomaz

SÃO LUÍS

2020

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Sanzya Silva de Araújo, Jennifer.

Enxaguantes bucais e câncer oral : uma revisão sistemática e meta-análise / Jennifer Sanzya Silva de Araújo. - 2020.

57 f.

Coorientador(a): Erika Bárbara Abreu Fonseca Thomaz.

Orientador(a): Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2020.

1. Fatores de risco. 2. Meta-análise. 3. Neoplasias bucais. I. Bárbara Abreu Fonseca Thomaz, Erika. II. Fontoura Nogueira da Cruz, Maria Carmen. III. Título.

JENNIFER SANZYA SILVA DE ARAÚJO
ENXAGUANTES BUCAIS E CÂNCER ORAL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E
META-ANÁLISE

A Comissão julgadora da Defesa de Dissertação de Mestrado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia 09/11 /2020, considerou a candidata:

() APROVADA

() REPROVADA

- 1) Examinadora: Prof.^a Dra. Thalita Santana Conceição
- 2) Examinadora: Prof.^a Dra. Elma Izze da Silva Magalhães
- 3) Presidente (Orientadora): Prof.^a Dra. Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros
de gigantes.”

(Trecho de uma carta de Isaac Newton à
Robert Hooke, em 05/02/1676)

AGRADECIMENTOS

Expressar gratidão é uma das maiores virtudes que um ser humano pode ter em vida, e, de fato, esse trabalho não teria sido construído sem o conhecimento e apoio de muitas pessoas gigantes. Por tê-los ao meu redor, é que a missão se tornou menos árdua e, definitivamente, mais saborosa.

Agradeço à minha orientadora, professora Dra Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz, que me acolheu gentilmente, segurou-me pelas mãos mesmo à primeira vista, reconheceu minhas angústias e, com extremo zelo, guiou-me para um bom caminho. Conhecê-la me trouxe uma nova visão e uma nova direção. Conhecê-la mudou tudo e me falta gratidão para tanto.

À minha co-orientadora, professora Dra Erika Bárbara Abreu Fonseca Thomaz, que é a idealizadora e construtora desse projeto. Foi quem me guiou nessa difícil tarefa de realizar uma revisão sistemática e, com extrema generosidade, dedicou-me o seu tempo tão cobiçado e escasso. Eu me sinto extremamente sortuda de poder ter usufruído de um tempo de excelência com aprendizado técnico e, sobretudo, humano com alguém tão gigante profissionalmente e, ao mesmo tempo, extremamente cordial, gentil, responsável e carinhosa. Portanto, agradeço-a por diminuir os obstáculos desse trabalho, tornar o meu caminho mais transitável e, pelo exemplo, refinar a minha personalidade.

À minha dedicada colaboradora, Dra. Elma Izze da Silva Magalhães, que foi mais uma gigante que eu tive a felicidade de encontrar pelo caminho. Agradeço-a por acolher de prontidão as minhas dúvidas e em seguida compartilhar de forma tão cuidadosa o seu domínio técnico da metodologia. Sou bastante grata por ter-se colocado à disposição para a execução desse trabalho, pelas incontáveis horas que me dedicou e por fazer comigo a caminhada final.

Ao meu amigo, Hassan Lima, que dedicou seu curto tempo dividido entre sua dissertação e seus afazeres profissionais e pessoais para se dedicar à leitura e execução de uma etapa do meu trabalho. Obrigada pela amizade e pela sempre disposição em me ajudar nas minhas inúmeras demandas de vida.

Aos meus outros tão queridos amigos - Amanda Moreira e Cássio Campos, parceiros de turma. Obrigada por terem sido tão presentes, tão amigos, solidários e motivadores nos diversos momentos. Existe uma citação dedicada à Ernest Hemingway: “- Quem estará nas trincheiras ao teu lado? – E isso importa? – Importa mais do que a própria guerra”. Não consigo pensar

nestas palavras sem achar que resumem exatamente o sentimento que tenho sobre todos os amigos-companheiros que fiz durante esses dois anos dentro da sala do Mestrado.

Ao meu esposo, Bruno Braz, que foi incentivo, amparo, força e compreensão durante todo o período de execução desse projeto. Obrigada por ser luz e aconchego, acalentando os meus dias com carinho e amor.

Aos meus pais, mesmo longe, que me ofereceram o possível desde sempre, articularam meus caminhos e torcem diariamente pelo meu sucesso pessoal e profissional. Eu bem sei que a mim não faltam “pais-nossos” e “ave-marias” proferidos à distância, diariamente, capazes de me livrar de todo o mal cotidiano.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão, pelos ensinamentos que me moldaram e me conduziram durante essa jornada.

À Universidade Federal do Maranhão, a todo o Departamento de Odontologia, ao corpo docente da graduação, funcionários e discentes que tive o prazer de conviver durante todo esse tempo. Obrigada pelo acolhimento e por me oferecerem subsídios para executar essa etapa importante de minha vida. Sou bastante grata.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Processo de busca e seleção de estudos avaliando o uso de enxaguantes bucais e câncer bucal. Diagrama PRISMA de fluxo adaptado	38
Figura 2. Meta-análise de efeitos aleatórios do odds ratio de câncer oral entre usuários e não usuários de enxaguantes bucais	43
Figura 3. Meta-análise de efeitos aleatórios do odds ratio de câncer oral entre usuários e não usuários de enxaguantes bucais por frequência de uso	44
Figura 4. Gráfico de funil de estudos, que avaliam o uso de enxaguantes bucais e o câncer oral, mostrando a dispersão dos estudos de acordo com o odds ratio (OR) e o erro padrão	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estratégia de busca avaliando o uso de enxaguantes bucais e câncer oral nas bases de dados Pubmed / Medline, Embase, LILACS e ScienceDirect	37
Tabela 2. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise sobre o uso de enxaguantes bucais e câncer oral.	39
Tabela 3. Avaliação do risco de viés dos estudos incluídos na revisão sistemática sobre o uso de enxaguantes bucais e câncer oral pela escala Newcastle - Ottawa para estudos do tipo caso-controle	41
Tabela 4. Avaliação da qualidade da evidência dos estudos incluídos na meta-análise que apresentam a exposição aos enxaguantes bucais e o desfecho de câncer oral pela ferramenta GRADEpro GDT.....	42

RESUMO

O carcinoma espinocelular (CEC) representa mais de 90% de todas as malignidades orais e orofaríngeas. Implicados nesse processo, existem os fatores extrínsecos, como o consumo de tabaco fumado e mascado, o consumo de bebidas alcoólicas, infecção por papilomavírus humano e os estímulos químico-físicos; e existem os fatores intrínsecos, como as deficiências nutricionais e condições genéticas. Tendo em vista a relação do álcool ingerido como promotor da carcinogênese oral, o efeito do uso tópico a longo prazo de substâncias contendo álcool é debatido na literatura e a possível associação do uso dos enxaguantes bucais ao câncer oral é fundamentada no fato desses produtos serem de venda livre com algumas composições possuindo alto teor alcoólico. Entretanto, as meta-análises publicadas sobre esse assunto, na medida que se basearam apenas na plausibilidade biológica do efeito citotóxico do conteúdo alcoólico dos enxaguantes, não foram capazes de estimar uma medida ponderada estatisticamente significativa. Aliado a isto, até o momento, nenhum estudo parece ter examinado o efeito de enxaguatórios bucais não alcoólicos, o que sugere a possibilidade de que outros componentes das formulações também contribuam para o risco, alterando a diversidade de bactérias orais e causando danos celulares. Isto posto, este trabalho foi proposto com a finalidade de atualizar as meta-análises publicadas, estimando uma medida de efeito agrupada dos estudos observacionais que apresentam o desfecho de câncer oral. Esta revisão sistemática e meta-análise foi relatada de acordo com as recomendações PRISMA e teve seu protocolo registrado no site do PROSPERO com o número identificador CRD42020143307. A estratégia de busca utilizada foi com o acrônimo PECO. Na busca bibliográfica, foram identificados 5.696 registros em bases indexadas e literatura cinzenta, sem restrição de tempo e idioma. Após a exclusão das duplicatas, foram lidos 4.711 títulos e resumos. Destes, 22 estudos foram selecionados para leitura do texto na íntegra e 10 incluídos em nossa revisão juntamente com 01 artigo identificado na busca das listas de referência. A avaliação do risco de viés dos estudos incluídos na revisão foi feita de forma independente, por duas revisoras, pela escala Newcastle – Ottawa (NOS) para estudos tipo caso-controle e obteve-se 05 dos 11 estudos como de baixo risco de viés e 06 com moderado risco de viés. Para a meta-análise, foram selecionados 09 estudos casos-controles, que passaram pela avaliação da qualidade da evidência pela GRADEpro GDT Guideline Development Tool, constatando-se ser de muito baixa qualidade. Na análise agrupada, 10 medidas dos 09 estudos foram sumarizadas utilizando o modelo de efeitos randômicos, por meio do método DerSimonian-Laird. Como resultado, obtivemos uma associação entre o uso de enxaguantes bucais e o câncer oral (OR=1.46; IC95%: 1.12-1.91). Ao estratificar pela frequência de uso, a associação não se manteve entre os que usavam menos que uma vez ao dia (OR=0.91; IC95%: 0.61-1.36), mas permaneceu significativa na categoria de uma ou mais vezes ao dia (OR=1.74; IC95%: 1.25-2.43), sugerindo uma possível dose-resposta. Não foi possível realizar uma análise de subgrupo de acordo com o conteúdo alcoólico dos enxaguatórios, a fim de que pudéssemos avaliar se as substâncias presentes em suas formulações são importantes para o câncer oral de forma independente ao álcool. A meta-regressão foi realizada e a proporção de casos e controles contribuiu em 33% na explicação da heterogeneidade. O viés de publicação foi analisado pelo teste de regressão de Egger e mostrou-se estatisticamente significativo ($p = 0.081$). A presente revisão sistemática e meta-análise demonstra que o uso frequente de enxaguantes bucais foi associado a uma chance 46% maior de câncer oral quando comparado ao não uso e sugerimos que essa relação poderia ser explicada não apenas pelo conteúdo alcoólico, mas também pela contribuição dos compostos antibacterianos, o que fortalece a necessidade de que novos estudos com esses dados possam esclarecer apropriadamente a associação entre essa exposição e esse desfecho.

Palavras-chaves: Neoplasias bucais; Fatores de risco; Meta-análise

ABSTRACT

Squamous cell carcinoma (SCC) represents more than 90% of all oral and oropharyngeal malignancies. Involved in this process, there are extrinsic factors, such as the consumption of smoked and chewed tobacco, the consumption of alcoholic beverages, human papillomavirus infection and chemical-physical stimuli; and there are intrinsic factors, such as nutritional deficiencies and genetic conditions. In view of the relationship of alcohol ingested as a promoter of oral carcinogenesis, the effect of long-term topical use of substances containing alcohol is debated in the literature and the possible association of the use of mouthwashes with oral cancer is based on the fact that these products are of free sale with some compositions having high alcohol content. However, the published meta-analyzes on this subject, to the extent that they were based only on the biological plausibility of the cytotoxic effect of the alcohol content of the rinses, were unable to estimate a statistically significant weighted measure. Allied to this, until now, no study seems to have examined the effect of non-alcoholic mouthwashes, which suggests the possibility that other components of the formulations also contribute to the risk, altering the diversity of oral bacteria and causing cellular damage. That said, this work was proposed in order to update the published meta-analyzes, estimating a measure of the combined effect of the observational studies that present the outcome of oral cancer. This systematic review and meta-analysis was reported according to the recommendations of the PRISMA checklist and had its protocol registered on the PROSPERO website under the identifier number CRD42020143307. The search strategy used was with the acronym PECO. In the bibliographic search, 5.696 records were identified in indexed databases and gray literature, without restriction of time and language. After excluding duplicates, 4.711 titles and abstracts were read. Of these, 22 studies were selected to read the full text and 10 included in our review together with 01 article identified in the search for reference lists. The assessment of the risk of bias in the studies included in the review was carried out independently, by two reviewers, using the Newcastle - Ottawa scale (NOS) for case-control studies, and 05 out of 11 studies were found to have a low risk of bias and 06 with moderate risk of bias. For the meta-analysis, 09 case-control studies were selected, which went through the evaluation of the quality of the evidence by GRADEpro GDT Guideline Development Tool, proving to be of very low quality. In the grouped analysis, 10 measurements from the 09 studies were summarized using the random effects model, using the DerSimonian-Laird method. As a result, we obtained an association between the use of mouthwashes and oral cancer (OR = 1.46; 95% CI: 1.12-1.91). When stratifying by frequency of use, the association was not maintained among those who used it less than once a day (OR = 0.91; 95% CI: 0.61-1.36), but remained significant in the category of one or more times a day (OR = 1.74; 95% CI: 1.25-2.43), suggesting a possible dose-response. It was not possible to carry out a subgroup analysis according to the alcohol content of the mouthwashes, so that we could assess whether the substances present in their formulations are important for oral cancer independently of alcohol. Meta-regression was performed and the proportion of cases and controls contributed 33% to the explanation of heterogeneity. Publication bias was analyzed using the Egger regression test and was found to be statistically significant ($p = 0.081$). The present systematic review and meta-analysis demonstrates that the frequent use of mouthwashes was associated with a 46% higher chance of oral cancer when compared to non-use and we suggest that this relationship could be explained not only by the alcohol content, but also by the contribution antibacterial compounds, which reinforces the need for further studies with these data to properly clarify the association between this exposure and this outcome.

Keywords: Mouth neoplasms; Risk factors; Meta-analysis

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. CAPÍTULO I	17
DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES	18
RESUMO	19
INTRODUÇÃO	20
MATERIAIS E MÉTODOS	22
Protocolo e registro	22
Contexto	22
Desfecho	22
Estratégia de busca e bases de dados	22
Critérios de elegibilidade	23
Seleção dos estudos	24
Extração de dados	24
Avaliação do risco de viés	25
Avaliação da qualidade da evidência	25
Análise estatística	25
RESULTADOS	26
Resultados das buscas	26
Descrição dos estudos	26
Avaliação do risco de viés	27
Avaliação da qualidade da evidência	27
Meta-análise	27
Meta-regressão	27
Viés de publicação dos estudos	27

DISCUSSÃO	28
CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS	32
TABELAS E FIGURAS	37
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXO - Diretrizes para publicação de trabalhos na revista Oral Oncology.....	50

1. INTRODUÇÃO

Anatomicamente, a cavidade oral e a orofaringe são regiões separadas que se limitam, mas não se sobrepõem (CHI; DAY; NEVILLE, 2015). Os subsítios anatômicos da cavidade oral consistem na mucosa labial, mucosa bucal, assoalho da boca, crista alveolar, gengiva, dois terços anteriores da língua (anterior às papilas circunvaladas), palato duro e trígono retromolar, enquanto que a orofaringe consiste no palato mole, base (ou terço posterior) da língua, amígdalas palatinas, pregas palatoglossais, valéculas e parede posterior da faringe (CHI; DAY; NEVILLE, 2015).

O revestimento da cavidade oral, faringe, laringe e esôfago é principalmente formado por epitélio escamoso constituído de queratinócitos. Os tecidos moles da cavidade oral e do esôfago são cobertos por um epitélio escamoso estratificado não queratinizado, enquanto as regiões associadas à mastigação (ou seja, a gengiva e o palato duro) são cobertas por um epitélio queratinizado semelhante ao da epiderme da pele (SQUIER; KREMER, 2001).

O câncer oral é uma doença multifatorial (CHATTOPADHYAY; VERMA; PANDA, 2019). Esta neoplasia exibe uma carcinogênese clássica em múltiplos passos, na qual as células sofrem aquisição acumulada de sinalização oncogênica e desvio dos mecanismos homeostáticos, podendo surgir por meio de um processo de transição do epitélio normal ao displásico através de distúrbios precursores potencialmente malignos para o carcinoma (LEEMANS; BRAAKHUIS; BRAKENHOFF, 2011).

O Carcinoma Espinocelular (CEC) ou Carcinoma de Células Escamosas Oraais representa mais de 90% de todas as malignidades orais e orofaríngeas (CHATTOPADHYAY; VERMA; PANDA, 2019; CHI; DAY; NEVILLE, 2015), sendo mais comum em homens e geralmente ocorrendo após a quinta década de vida (MONTERO; PATEL, 2015). Estes tumores apresentam uma alta taxa de recorrência, sofrem metástase linfonodal e a despeito do avanço no tratamento do câncer, possuem um prognóstico ruim, com taxas de sobrevida em cinco anos menores que 50% (CHATTOPADHYAY; VERMA; PANDA, 2019).

A etiologia do CEC resulta de influências multifatoriais por períodos prolongados, especialmente pelo consumo excessivo de tabaco e betel, além da ingestão de bebidas alcoólicas, pois atuam como carcinógenos externos nas regiões orais suscetíveis, como língua, mucosa bucal e assoalho da boca (CHOI; THOMSON, 2019). O *Human Papillomavirus* (HPV) (TIMBANG et al., 2019) e outros fatores podem ser igualmente relevantes, tais como dieta,

nutrição, status socioeconômico (CHOI; THOMSON, 2019) e a exposição persistente a fatores citotóxicos patológicos ou ambientais (CALDERÓN-MONTAÑO et al., 2018).

O álcool se constitui em um componente significativo de vários enxaguantes bucais comercialmente disponíveis (FOX et al., 2018) utilizados como parte de uma rotina diária (CARLIN et al., 2012) e adjuvantes da higiene oral mecânica (PAN et al., 2010). Dentro do enxaguatório, o etanol é usado principalmente como solvente para outros ingredientes (MCCULLOUGH; FARAH, 2008), além de ter um efeito conservante e ajudar a dissolver os óleos essenciais, disponibilizando-os na matriz do biofilme. As principais marcas de enxaguantes bucais também oferecem variantes do etanol e contêm outros agentes solubilizantes e conservantes que desempenham um papel similar ao do álcool (CALDERÓN-MONTAÑO et al., 2018).

As moléculas mais comuns contidas nos enxaguantes são: clorexidina, óleos essenciais, cloreto de cetilpiridínio, triclosan, octeneidina, delmopinol, polivinilpirrolidona, ácido hialurônico e compostos naturais (TARTAGLIA et al., 2017). O veículo mais comumente utilizado é a água e os princípios ativos são numerosos, principalmente antissépticos, antibióticos, antifúngicos, adstringentes e anti-inflamatórios (PELÁEZ et al., 2004). Os enxaguantes bucais de óleos essenciais geralmente contêm as maiores concentrações de etanol (acima de 20%), não obstante a presença desta substância ser irritante, especialmente para a mucosa sensível ou inflamada (BAHNA et al., 2007) e não ser necessária para prevenir e reduzir a gengivite e o biofilme (CALDERÓN-MONTAÑO et al., 2018).

A investigação sobre a segurança no uso dessas substâncias iniciou-se em uma publicação de uma série de casos em 1979, em que onze pacientes de um total de duzentos com diagnóstico de CEC de cabeça e pescoço não possuíam histórico de etilismo ou tabagismo, mas relataram uso de enxaguatórios bucais. Destes, dez pacientes relataram uso de produtos com teor alcoólico acima de 20%, várias vezes ao dia, por um período acima de vinte anos. (WEAVER; FLEMING; SMITH, 1979).

Uma das plausibilidades biológicas para o efeito citotóxico dos enxaguantes bucais foi proposta por Lachenmeier et al. (2009) a partir da ocorrência da oxidação do etanol para o seu metabólito mutagênico acetaldeído dentro da cavidade oral. Este já era um dos mecanismos mais comumente referidos (ELIOT et al., 2013; SEITZ et al., 2001; SQUIER; COX; HALL, 1986). Contudo, anos depois, Calderón-Montaña et al. (2018) discordaram desta hipótese, relatando que a maior parte do acetaldeído derivado do consumo de álcool é produzido no

fígado, depois distribuído por todo o corpo e que o álcool dos enxaguatórios não chega ao fígado, a menos que seja ingerido, embora haja também, por outro lado, a possibilidade de haver um metabolismo extra-hepático do etanol ocorrendo nos tecidos orais (POGGI et al., 2003; LIEBER, 1988). Assim, outro mecanismo proposto para a carcinogênese é através da indução de um efeito citotóxico acentuado nos queratinócitos epiteliais humanos da mucosa oral (CALDERÓN-MONTAÑO et al., 2018), da mesma maneira como acontece com o álcool ingerido na forma de bebidas alcoólicas.

A citotoxicidade dá-se quando o etanol nas células que revestem a cavidade oral, faringe, laringe e esôfago força as células-tronco localizadas em camadas mais profundas a se dividirem com mais frequência do que o normal para substituir o epitélio danificado. O acúmulo de divisões celulares em células-tronco promovido pelo consumo regular de álcool leva a uma variedade de erros relacionados ao câncer (por exemplo, mutações que surgem durante a replicação do DNA) que aumentam o risco de transformação maligna (GUILLÉN-MANCINA; CALDERÓN-MONTAÑO; LÓPEZ-LÁZARO, 2018).

Os resultados de um ensaio clínico randomizado de Zamora-Perez et al. (2013) exibiram alterações diretamente relacionadas com danos ao DNA e efeitos carcinogênicos através dos aumentos na frequência de micronúcleos e nas anormalidades nucleares em células bucais esfoliadas de voluntários, após o uso duas vezes ao dia, durante um mês, de enxaguatório contendo 26% de conteúdo alcoólico. Da mesma forma, Carlin et al. (2012) publicaram um estudo com o objetivo de comparar danos no DNA e morte celular em células expostas a vários enxaguantes bucais comercialmente disponíveis e os resultados sugeriram que Periogard® (sem percentual alcoólico informado) e Plax Whitening® (17,6% de álcool) foram capazes de induzir danos genéticos *in vivo* e *in vitro*.

Em um estudo *in vitro*, Fox et al. (2018) avaliaram duas marcas de bochechos comercialmente disponíveis. Para cada marca havia uma versão com conteúdo alcoólico (96 mg/mL e 213.03mg/mL) e uma versão sem álcool que foram testados em duas linhagens celulares: uma com queratinócitos humanos orais com displasia leve e outra com queratinócitos humanos normais. Em conclusão, os autores afirmaram que os enxaguantes bucais contendo álcool foram genotóxicos *in vitro* a queratinócitos orais normais e aos displásicos, induzindo mudanças generalizadas na expressão gênica. As células displásicas foram mais suscetíveis aos efeitos transcriptômicos das substâncias alcoólicas e, de acordo com os autores, esses efeitos possuem potencial de preocupação, uma vez que a exposição continuada ao etanol pode agir para facilitar a progressão para malignidade.

Uma compilação de doze estudos do tipo caso-controle com amostra de 8.981 casos e 10.090 controles provenientes dos dados do *International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium* (INHANCE) foi publicada por Boffetta et al. (2016). Os resultados exibiram que o uso prolongado de enxaguatórios bucais por um tempo acima de trinta e seis anos resultou em aumento significativo no risco de câncer de cabeça e pescoço (cavidade oral, orofaringe, hipofaringe e laringe) (OR=1.15; IC95%: 1.01–1.30) e um maior risco também foi relacionado a uma maior frequência de uso (acima de uma vez ao dia) (OR=1.31; IC 95%: 1.09–1.58). Além disso, a combinação de uso regular (mais do que duas vezes ao dia), longo prazo (acima de trinta e cinco anos) e câncer de cabeça e pescoço foi ainda maior (OR=1.75; IC95%: 1.25–2.48). Esta publicação, assim como os autores bem citaram, apresenta limitações de caráter metodológico sujeito a vieses em virtude de tratar-se de casos-controles com dados autorrelatados ao longo da vida e, em acréscimo, todos os estudos apresentam limitada capacidade de mensuração do uso dos enxaguatórios e do teor alcoólico deles.

Com o objetivo de sumarizar as evidências existentes e investigar se há dose-resposta envolvida nessa exposição, revisões sistemáticas foram publicadas (USTRELL-BORRÀS; TRABOULSI-GARET; GAY-ESCODA, 2020; ACEVES ARGEMÍ et al., 2020; GANDINI et al., 2012). Ustrel-Borràs; Traboulsi-Garet; Gay-Escoda (2020) realizaram uma revisão sistemática e a despeito de não terem realizado análise quantitativa dos dados, os autores concluíram que ainda não há evidências suficientes de o uso de enxaguatório à base de álcool ser um fator de risco independente para câncer oral ou de orofaringe.

Aceves Argemí et al. (2020) publicaram uma revisão com inclusão de quatorze artigos e meta-análise de nove, no período de 1979 a 2018, separando as análises por estudos que consideraram o uso dos enxaguatórios alcoólicos (OR=1.48; IC95%: 0.85–2.56), e os que não consideraram (OR=1.06; IC95%: 0.95–1.17), não obtendo associações estatisticamente significativas em ambos os casos, além de não terem avaliado a possibilidade de dose-resposta. Gandini et al. (2012) incluíram doze artigos em sua revisão e nove em sua meta-análise, publicados no período de 1983 a 2010 e demonstraram que tanto a análise agrupada para a exposição ao uso regular de enxaguantes bucais e o desfecho de câncer oral (OR=1.13; IC95%: 0.95–1.35), assim como a frequência de uso uma vez ao dia (OR=1.19; IC95%: 0.95–1.5), duas vezes ao dia (OR=1.42; IC95%: 0.91–2.24) e três vezes ao dia (OR=1.7; IC95%: 0.86–3.35) não exibiram associações estatisticamente significativas, além dos autores não terem conseguido fazer uma análise de subgrupo com o teor alcoólico dos enxaguatórios.

Ambas as meta-análises publicadas incluíram desfechos diferentes de câncer oral e basearam-se apenas na plausibilidade biológica do efeito citotóxico do conteúdo alcoólico dos enxaguantes, todavia, até o momento, nenhum estudo parece ter examinado o efeito de enxaguatórios bucais não alcoólicos associados ao câncer e é possível que ingredientes antibacterianos ativos, em vez do etanol, contribuam para o risco, alterando a diversidade de bactérias orais (ELIOT et al., 2013) e causando danos celulares (MÜLLER et al., 2017), como os compostos fenólicos (VLACHOJANNIS et al., 2016), triclosan (SANGROULA et al., 2020; RUSZKIEWICZ et al., 2017), cloreto de cetilpiridínio (FROMM-DORNIEDEN et al., 2015) e clorexidina (PUCHER; DANIEL, 1992; KARPIŃSKI; SZKARADKIEWICZ, 2015; COELHO et al., 2020).

Isto posto, a fim de atualizar as meta-análises publicadas com estimativa de uma medida de efeito agrupada dos estudos observacionais que apresentam o desfecho de câncer oral, nos propomos a realizar este trabalho.

2. CAPÍTULO 1

Enxaguantes bucais e câncer oral: uma revisão sistemática e meta-análise (Mouthwashes and oral cancer: *a systematic review and meta-analysis*)

(a ser submetido à Revista Oral Oncology)

Jennifer Sanzya Silva de Araújo^a, jennifer_sanzya@hotmail.com

Elma Izze da Silva Magalhães^b, elma_izze@hotmail.com

Hassan Lavalier de Oliveira Lima^a, hassan.lima@gmail.com

Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz^a, ma.carmen@uol.com.br

Erika Barbara Abreu Fonseca Thomaz^c, ebthomaz@gmail.com

^a Department of Dentistry II, Graduate Program in Dentistry, Federal University of Maranhão; 1966 Portuguese Avenue, Bacanga, Postal Code: 65.085-580, São Luís, Maranhão, Brazil.

^b Department of Public Health, Graduate Program in Collective Health, Federal University of Maranhão; 155 Barão de Itapary Street, Centro, Postal Code: 65020-070, São Luís, Maranhão, Brazil

^c Department of Public Health, Graduate Program in Collective Health, Graduate Program in Dentistry, Federal University of Maranhão; 155 Barão de Itapary Street, Centro, Postal Code: 65020-070, São Luís, Maranhão, Brazil

Corresponding author:

Jennifer Sanzya Silva de Araújo, Department of Dentistry II, Graduate Program in Dentistry, Federal University of Maranhão; 1966 Portuguese Avenue, Bacanga, Postal Code: 65.085-580, São Luís, Maranhão, Brazil. E-mail address: jennifer_sanzya@hotmail.com. Telephone/fax number: +55 98 3272-8572.

Word count: 4044

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Nada declarado.

RESUMO

Esta revisão sistemática e meta-análise estima uma medida de efeito agrupada dos estudos observacionais que apresentam como exposição o uso de enxaguantes bucais e o desfecho de câncer oral. As recomendações PRISMA foram seguidas e o protocolo foi registrado no PROSPERO (CRD42020143307). A busca bibliográfica ocorreu de junho/2019 a agosto/2020, sem restrição de tempo e idioma. As bases indexadas utilizadas foram PubMed/Medline, Embase, Web of Science, Scopus (Elsevier), Dentistry and Oral Sciences Source (EBSCO), entre outras, e se estendeu também à literatura cinzenta com as bibliotecas de teses e dissertações, e Google Scholar (n = 5.696). Para a revisão, 11 estudos foram incluídos. Para a meta-análise, 10 medidas de 09 estudos caso-controles foram incluídas (OR=1.46; IC95%: 1.12-1.91). Ao estratificar pela frequência de uso, a associação não se manteve entre os que usavam menos que uma vez ao dia (OR=0.91; IC95%: 0.61-1.36), mas permaneceu significativa na categoria de uma ou mais vezes ao dia (OR=1.74; IC95%: 1.25-2.43). Na meta-regressão, a proporção de casos e controles contribuiu em 33% na heterogeneidade. A qualidade metodológica foi avaliada pela escala Newcastle-Ottawa (05 estudos com baixo risco de viés e 06 com moderado risco de viés). A qualidade da evidência foi avaliada pelo GRADEpro Guideline Development Tool (muito baixa). O uso frequente de enxaguantes bucais foi associado a uma chance 46% maior de câncer oral quando comparado ao não uso e sugere-se que a plausibilidade biológica pode ser explicada tanto pela presença do conteúdo alcoólico quanto pela contribuição dos compostos antibacterianos nas formulações.

Palavras-chaves: Enxaguantes bucais; câncer oral; fatores de risco; meta-análise

INTRODUÇÃO

O câncer oral, compreendendo os tumores do lábio, cavidade oral e orofaringe [1], consiste em um importante problema de saúde pública em todo o mundo [2] responsável por 448.000 novos casos, de acordo com o GLOBOCAN em 2018 [3]. O carcinoma espinocelular (CEC) representa mais de 90% deste total [4], é mais comum em homens e geralmente ocorre após a quinta década de vida [5].

Trata-se de uma doença com etiologia complexa e multifatorial [5] em que as células sofrem aquisição acumulada de estímulo oncogênico e desvio dos mecanismos homeostáticos, podendo surgir por meio de um processo de transição do epitélio normal ao displásico através de distúrbios precursores potencialmente malignos para o carcinoma [6]. Alguns dos principais fatores de risco são o uso de tabaco e betel, ingestão de álcool [1], infecção oral pelo papilomavírus humano [7], dieta, nutrição, status socioeconômico [1] e exposição persistente a citotóxicos patológicos ou ambientais [8].

Embora o álcool ingerido tenha seu papel esclarecido na carcinogênese oral [9,10], o efeito do uso tópico de substâncias alcoólicas ainda é debatido. O álcool se constitui em um componente significativo de vários enxaguantes bucais comercialmente disponíveis [11] e é usado principalmente como solvente para outros ingredientes [12], além de ter um efeito conservante e ajudar a dissolver os óleos essenciais, disponibilizando-os na matriz do biofilme [8].

Os enxaguatórios são utilizados há séculos como purificadores de hálito, medicamentos e antissépticos [13], mas a segurança de seu uso e uma possível associação ao câncer oral tem sido amplamente discutida [14–20], inclusive diferentes hipóteses têm sido investigadas para os mecanismos envolvidos na carcinogenicidade dos enxaguantes alcóolicos, como (1) oxidação do etanol para o seu metabólito tóxico acetaldeído dentro da cavidade oral [9,17] e (2) efeito local citotóxico acentuado nos queratinócitos epiteliais humanos da mucosa oral [8,10].

A citotoxicidade dá-se quando o etanol nas células que revestem a cavidade oral, faringe, laringe e esôfago força as células-tronco localizadas em camadas mais profundas a se dividirem com mais frequência do que o normal para substituir o epitélio danificado. O acúmulo de divisões celulares em células-tronco promovido pelo consumo regular de álcool leva a uma variedade de erros relacionados ao câncer (por exemplo, mutações que surgem durante a replicação do DNA) que aumentam o risco de transformação maligna [10].

Gandini et al. [21], a partir de nove estudos incluídos na meta-análise, relataram as estimativas do risco relativo (RR) sumarizado para o desenvolvimento do câncer oral com o uso regular de enxaguante bucal (RR=1.13; IC95%: 0.95-1.35) e para a frequência de uso uma vez ao dia (RR=1.19; IC95%: 0.95-1.5), duas vezes ao dia (RR=1.42; IC95%: 0.91-2.24) e três vezes ao dia (RR=1.7; IC95%: 0.86-3.35) culminando em nenhuma tendência significativa no risco com o aumento do uso diário. Os autores também não conseguiram associar o uso relatado de enxaguatório bucal alcoólico e o risco de câncer oral (RR=1.0; IC95%: 0.39-2.60). Ustrel-Borràs; Traboulsi-Garet; Gay-Escoda [22] realizaram uma revisão sistemática e, a despeito de não terem realizado análise quantitativa dos dados, os autores concluíram que ainda não há evidências suficientes de que o uso de enxaguatório à base de álcool seja um fator de risco independente para câncer oral ou de orofaringe. Aceves Argemí et al. [23], em uma meta-análise recente de nove estudos, sumarizaram dados que referiram o conteúdo alcoólico dos enxaguantes bucais (OR=1.48; IC95%: 0.85-2.56) e os que não referiram (OR=1.06; IC95%: 0.95-1.17), obtendo associações não significativas em ambas as análises.

Assim, a despeito do debate na literatura ser focado na exposição do uso de enxaguantes alcoólicos no desfecho do câncer oral, nenhum estudo parece ter examinado o efeito dos enxaguantes não alcoólicos [14] e, mesmo o etanol tendo um papel preponderante no potencial carcinogênico dos enxaguatórios alcoólicos, não é excluída a possibilidade de outros componentes também estarem envolvidos [8].

Embora haja evidência de que ingredientes únicos de enxaguatórios orais são citotóxicos e eficazes contra bactérias, o impacto do coquetel complexo de suplementos na citotoxicidade celular oral e na atividade antimicrobiana é amplamente desconhecido [24]. Várias moléculas incluídas nos enxaguantes bucais comerciais são preparações criadas e propostas para o mercado [25] e é possível que ingredientes antibacterianos ativos, em vez do etanol, contribuam para o risco, alterando a diversidade de bactérias orais [14] e causando danos celulares [24], como por exemplo, os compostos fenólicos [26], triclosan [27,28], cloreto de cetilperidínio [29] e clorexidina [30–32].

Isto posto, a fim de atualizar as meta-análises publicadas com estimação de uma medida de efeito agrupada dos estudos observacionais que apresentam o desfecho de câncer oral, não se focando apenas no conteúdo alcóolico dos enxaguatórios, nos propomos a realizar esta meta-análise.

MATERIAIS E MÉTODOS

Protocolo e registro

Esta revisão sistemática e meta-análise foi relatada de acordo com as recomendações do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) [33]. O protocolo detalhado foi registrado no banco de dados do International prospective register of systematic reviews (PROSPERO – Disponível em www.crd.york.ac.uk/PROSPERO) com o registro CRD42020143307.

Contexto

Esta pesquisa teve como objetivo responder as seguintes questões: 1) Enxaguantes bucais podem ser associados ao câncer oral? 2) Enxaguantes bucais possuem uma relação de dose-resposta com o câncer oral?

Desfecho

O desfecho primário foi a ocorrência de câncer oral (cavidade oral e orofaringe) de acordo com o Código Internacional de Doenças (CID), Revisão 11, 2B6E.0 [34]. Os subsítios anatômicos da cavidade oral consistem na mucosa labial, mucosa bucal, assoalho da boca, crista alveolar, gengiva, dois terços anteriores da língua (anterior às papilas circunvaladas), palato duro e trigono retromolar, enquanto que a orofaringe consiste no palato mole, base (ou terço posterior) da língua, amígdalas palatinas, pregas palatoglossais, valéculas e parede posterior da faringe [35].

Estratégia de busca e bases de dados

Inicialmente, uma examinadora foi responsável pelas buscas (JSSA), com supervisão de duas outras pesquisadoras (MCFNC, EBAFT). Utilizou-se a estratégia de busca PECO [População (adultos ou idosos), Exposição (uso de enxaguantes bucais), Grupo controle (não exposição aos enxaguantes bucais) e Desfecho (câncer oral, citotoxicidade, displasia)]. Assim, foram utilizadas palavras-chaves relevantes ao objetivo proposto, com os seus sinônimos, termos MeSH (Medical Subject Headings), DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) e foram combinados com operadores booleanos (*OR* e *AND*) para garantir que a estratégia de pesquisa fosse abrangente. A busca dos títulos foi realizada de junho de 2019 a agosto de 2020. Não houve restrição quanto ao período de tempo e idioma.

As buscas sistemáticas foram realizadas nas bases indexadas: PubMed/Medline, Embase, Web of Science, ScienceDirect, Scopus (Elsevier), Biblioteca Brasileira de Odontologia (BBO), Dentistry and Oral Sciences Source - DOSS (EBSCO), Scientific Electronic Library Online (SciELO), WHO Global Health Library, Free Medicals Journals, Latindex: Portal de Portales, BioMed Central Journals, Directory of Open Access Journals – DOAJ, LILACS, Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature (CINAHL). Esta revisão sistemática se estendeu também à literatura cinzenta, como bibliotecas de teses e dissertações: Catálogo de teses e dissertações da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), Biblioteca digital de teses e dissertações da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Biblioteca digital de teses e dissertações da Universidade de São Paulo (USP), Networked Digital Library of Theses and Dissertations (NDLTD), e Google Scholar.

A estratégia de busca nas bases de dados é exemplificada na **Tabela 1** com as bases Pubmed/Medline, Embase, LILACS e ScienceDirect.

Os títulos dos estudos provenientes da busca e suas informações foram incluídos em uma planilha do software Microsoft Excel® 2016 (Microsoft Corporation, Washington, EUA) para verificação de duplicidade e aplicação dos critérios de elegibilidade, assim como avaliação pela escala de qualidade e qualidade da evidência.

Em seguida, os estudos duplicados foram excluídos por duas examinadoras (JSSA e EBAFT), que realizaram a seleção dos estudos de forma independente, baseada no título e no resumo, com mascaramento dos nomes dos autores e os periódicos, evitando possíveis enviesamentos e conflitos de interesses durante a seleção. As buscas foram comparadas e qualquer discordância foi resolvida pela terceira revisora (MCFNC).

Critérios de elegibilidade

Critérios de inclusão: estudos observacionais com população adulta ou idosa que objetivaram analisar a associação entre enxaguantes bucais e o câncer oral. Ensaios clínicos não foram considerados pela impossibilidade ética de responder às nossas questões de pesquisa com esse desenho.

Critérios de exclusão: estudos envolvendo populações específicas com síndromes ou alterações congênitas; estudos com populações mais suscetíveis ao desenvolvimento de câncer, como exposição prévia a quimioterapia ou radioterapia e portadores de mutações genéticas específicas; estudos com publicações envolvendo a mesma população; cartas ao editor;

resumos de conferências e congressos; séries de casos; relatos de casos; estudos in vitro; estudos experimentais em animais; ensaios clínicos; estudos de revisão e meta-análises.

Seleção dos estudos

Os estudos não selecionados nesta fase ou em etapas subsequentes foram registrados na planilha como exclusão com os respectivos motivos. Nos casos em que o estudo pareceu ser elegível, mas possuía dados insuficientes no título e no resumo, o texto foi lido na íntegra e avaliado quanto aos critérios de inclusão.

Os textos completos dos estudos restantes foram recuperados e os estudos que eram elegíveis para esta revisão foram identificados. Além da busca eletrônica, as listas de referências dos artigos selecionados foram examinadas para identificar os manuscritos que não haviam sido capturados pela busca no banco de dados. As discordâncias foram resolvidas pela terceira revisora (MCFNC).

Extração de dados

Os dados relevantes dos artigos selecionados foram extraídos, processados e tabulados em um formulário de coleta de dados pré-desenvolvido no Microsoft Excel® 2016 (Microsoft Corporation, Washington, EUA) por duas revisoras (JSSA, EBAFT). Todos os artigos incluídos foram estudos caso-controles e as seguintes informações foram registradas: autores dos estudos, ano de publicação, país, cenário de recrutamento da amostra, período de recrutamento, tamanho da amostra, faixa etária da amostra, tipo de população estudada (apenas um dos gêneros ou ambos os gêneros), tipo de exposição (uso de enxaguatório de acordo com as categorias de frequência de uso), tipo de desfecho (sítio do câncer oral e Código Internacional de Doenças de acordo com a revisão utilizada), tipos de controles (comunitários ou hospitalares), medida de associação, taxa de participação dos casos e taxa de participação dos controles.

Para os estudos que exibiram as medidas de efeito de acordo com o sítio de acometimento do câncer, selecionamos as medidas de efeito referentes aos sítios cavidade oral ou cavidade oral e faringe (quando apresentada a medida de efeito nos dois sítios simultaneamente). Para aqueles estudos que relataram medidas de efeitos por categorias referentes à frequência de uso ou tempo de uso, a medida de efeito da categoria mais extrema foi a incluída na meta-análise. Para o estudo que trouxe a análise dos dados de acordo com o tipo de respondente (próprio paciente ou familiares e pessoas próximas), consideramos aqueles cujos respondentes foram os próprios pacientes. Quando os resultados do estudo foram

estratificados por gênero, as medidas de efeito de cada um desses estratos foram consideradas na meta-análise com a inserção das letras “a” e “b”.

Para aqueles estudos que apresentaram estimativas ajustadas para diferentes configurações de variáveis de confusão, consideramos a medida de efeito ajustada para o maior número de variáveis e que não foi ajustada para potenciais mediadores. O conteúdo alcoólico não teve como ser categorizado, visto a ausência de informações em alguns estudos, possivelmente pelo fato de tratarem-se de dados autorrelatados. Dados perdidos dentro dos estudos foram desconsiderados.

Avaliação do risco de viés

O risco de viés individual de cada estudo incluído na revisão sistemática foi avaliado pela escala Newcastle – Ottawa (NOS) para estudos do tipo caso-controle [36], por duas examinadoras independentes (JSSA, EISM). As divergências foram resolvidas por consenso na presença da terceira revisora.

Avaliação da qualidade da evidência

A avaliação da qualidade da evidência dos estudos incluídos na meta-análise foi feita pelo GRADEpro Guideline Development Tool (GDT) [37,38].

Análise estatística

O software Stata 14.0 (StataCorp, College Station, Texas, EUA) foi utilizado para a meta-análise. Como a heterogeneidade avaliada pelo teste I^2 foi elevada (73.8%), o modelo de efeitos randômicos com o método DerSimonian-Laird foi o escolhido. Análise de subgrupo foi feita com os estudos que relataram frequência de uso, para avaliar, dessa forma, uma provável dose-resposta. Meta-regressão foi usada para verificar a contribuição de covariáveis (país do estudo, tipo de população, ano inicial de coleta dos dados, sítio do câncer, tamanho da amostra, tipos de controles e proporção de casos e controles) à heterogeneidade entre os estudos, e estimamos a porcentagem da heterogeneidade que foi explicada pelas covariáveis com valor de $p < 0.20$. Gráfico de funil associado ao teste de assimetria de regressão de Egger foi usado para investigar a possibilidade de viés de publicação. Foram estimados odds ratios (OR) ponderados pelo tamanho da amostra do estudo e respectivos intervalos de confiança a 95% (IC95%).

RESULTADOS

Resultados das buscas

Na busca bibliográfica, foram identificados 5.696 registros. Após a exclusão das duplicatas, foram lidos 4.711 títulos e resumos. Destes, 22 estudos foram selecionados para leitura do texto na íntegra e 10 incluídos em nossa revisão juntamente com 01 artigo identificado na busca das listas de referência. Os motivos de exclusão dos 12 artigos foram: 02 possuíam um desfecho diferente de câncer oral; 03 tratavam-se de estudos de revisão; e 07 possuíam amostras contidas dentro de um estudo amplo publicado já incluído. Dos 11 manuscritos incluídos na análise qualitativa, 02 não foram para a meta-análise por não possuírem medidas de efeito ajustadas. Portanto, 09 estudos foram incluídos na meta-análise. A **Figura 1** apresenta o fluxograma do processo de busca e seleção dos estudos.

Descrição dos estudos

A **Tabela 2** apresenta as principais características dos estudos incluídos. Todos os estudos possuem o mesmo desenho: observacional do tipo caso-controle. Um dos estudos é um compilado de casos-controles publicados e não publicados [39]. Cinco estudos foram publicados nos últimos oito anos [14,39–42], dois estudos na primeira década de 2000 [43,44], um estudo na década de 1990 [45] e três estudos na década de 1980 [46–48]. Dois estudos foram caracterizados como multicêntricos [39,41], cinco foram realizados nos Estados Unidos [14,45–48], dois realizados no Brasil [40,43], um na Itália [44] e um na China [42]. A maioria dos estudos usaram controles hospitalares e apenas três utilizaram controles comunitários em suas amostras [14,39,45]. Em relação à proporção de casos e controles, apenas dois estudos tiveram uma proporção de no mínimo 2 controles para cada caso [47,48], os demais utilizaram a proporção de 1:1. Quanto ao desfecho, foram inseridos os CIDs e os números de suas respectivas revisões citadas na metodologia de cada estudo como sendo as topografias referentes aos desfechos dos seus casos. Além disso, considerando a relevância de uma discussão mais aprofundada sobre a probabilidade de confusão residual, fornecemos também informações sobre as variáveis de confusão incluídas para ajuste em cada estudo no modelo multivariável. Entretanto, houveram dois estudos que forneceram apenas medidas brutas de associação e, dessa forma, foram excluídos da meta-análise [40,46].

Avaliação do risco de viés

Na avaliação individual do risco de viés dos estudos incluídos na revisão sistemática, 05 estudos apresentaram-se com baixo risco de viés [14,39,43–45] e 06 com moderado risco de viés [40–42,46–48]. A avaliação do risco de viés detalhada é apresentada na **Tabela 3**.

Avaliação da qualidade da evidência

Verificamos que a qualidade das evidências nos estudos incluídos na meta-análise sobre a associação do uso dos enxaguantes bucais e o câncer oral são muito baixas. Os detalhes da avaliação da qualidade da evidência e suas explicações são apresentados na **Tabela 4**.

Meta-análise

A **Figura 2** apresenta a sumarização das dez medidas de efeito dos nove estudos incluídos na meta-análise. Na análise agrupada, o uso de enxaguantes bucais foi associado ao câncer oral (OR=1.46; IC-95%: 1.12-1.91) e a heterogeneidade entre os estudos foi substancial (I^2 : 73.8%).

A análise de subgrupo de acordo com a frequência de uso dos enxaguantes bucais foi realizada para investigar uma possível dose-resposta entre exposição aos enxaguantes bucais e o câncer oral. A **Figura 3** demonstra uma medida de efeito (OR=0.91; IC-95%: 0.61-1.36) para o subgrupo de menos que uma vez ao dia e outra medida para o subgrupo de uma ou mais vezes ao dia (OR=1.74; IC95%: 1.25-2.43).

Meta-regressão

A análise de meta-regressão foi feita com as variáveis país, gênero, ano inicial da coleta de dados, sítio do câncer, tamanho da amostra, tipos de controles e proporção de casos e controles. Na análise univariada, apenas a proporção de casos e controles apresentou-se com o valor de $p < 0.20$ ($p = 0.066$), sendo que esta variável explicou 33.11% da heterogeneidade dos estudos. As demais variáveis não obtiveram o valor de p estatisticamente significativo ($p < 0.20$).

Viés de publicação dos estudos

A dispersão exibida no gráfico de funil sugere viés de publicação nos estudos e o teste de assimetria de regressão de Egger com nível de significância 0.10 apresentou-se estatisticamente significativo ($p = 0.081$). A **Figura 4** mostra o gráfico de funil com a linha referente ao teste de assimetria de Egger.

DISCUSSÃO

Na presente revisão sistemática e meta-análise, observamos que o uso frequente de enxaguantes bucais foi associado a uma chance 46% maior de câncer oral quando comparado ao não uso (OR=1.46; IC-95%: 1.12-1.91). Considerando-se também a magnitude das estimativas de efeito na análise de subgrupo, a chance de câncer oral foi maior com o aumento da frequência de uso do enxaguante bucal, sugerindo um efeito de dose-resposta.

Fatores epigenéticos, tais como consumo de tabaco, álcool, betel, dieta e nutrição, assim como a imunossupressão, e os fatores ambientais e genéticos são considerados de risco para o câncer oral [35,49] e, ao excluirmos os estudos que relataram associações brutas, reduzimos a probabilidade de que a confusão enviesasse as estimativas combinadas, todavia, a possibilidade de confusão não medida não pode ser completamente descartada porque fatores de confusão importantes podem não ter sido incluídos nos modelos de regressão. Adicionalmente, se um fator de confusão foi mal medido ou definido de uma forma inadequada, ocorrerá confusão residual.

A heterogeneidade entre os estudos incluídos nesta meta-análise foi substancial, e parte dessa heterogeneidade derivou de diferenças entre os estudos quanto à proporção de casos e controles (33%). Para as situações em que as covariáveis da meta-regressão não explicaram a heterogeneidade entre os estudos, também é possível que o confundimento residual possa ter desempenhado um papel importante nos resultados não significativos.

A composição alcoólica dos enxaguatórios não tem sido bem descrita em todos os estudos primários, contudo trata-se de um dos mecanismos biológicos plausíveis para os enxaguantes bucais serem associados ao câncer oral. O processo de carcinogênese aconteceria através da via de indução de um efeito citotóxico acentuado nos queratinócitos epiteliais humanos [8,10], o que foi investigado em um estudo in vitro com duas marcas de enxaguatórios comercialmente disponíveis [11]. Para cada marca havia uma versão com conteúdo alcoólico (96 mg/mL e 213.03mg/mL) e uma versão sem álcool que foram testados em queratinócitos humanos orais com displasia leve e queratinócitos humanos normais. Os autores concluíram que os enxaguantes bucais contendo álcool foram genotóxicos in vitro a queratinócitos orais normais e aos displásicos, induzindo mudanças generalizadas na expressão gênica.

Resultados semelhantes também foram encontrados em células bucais esfoliadas de voluntários em ensaios clínicos que avaliaram enxaguantes alcoólicos e não alcoólicos [50,51] e exibiram aumento na frequência de micronúcleos e anormalidades celulares no grupo exposto

ao enxaguatório com álcool. Devido às características de superfície compactada e material intracelular do epitélio da mucosa oral, a detecção de danos ao DNA e morte celular em células epiteliais descamadas requer que o agente genotóxico ultrapasse os alcances da barreira de permeabilidade da camada basal e induza lesões no DNA que são convertidas em micronúcleos durante a divisão celular [52].

A correlação entre o número de divisões de células-tronco que ocorrem em um tecido durante a vida de uma pessoa e o risco de ser diagnosticado com câncer nesse tecido é altamente positiva e estatisticamente significativa [53], o que foca os esforços em avaliar o potencial citotóxico do álcool. Entretanto, não podemos deixar de abordar o fato de que os enxaguantes bucais não alcoólicos com atividade antimicrobiana também podem ser citotóxicos [24,54]. Como uma grande variedade de antissépticos contendo diferentes ingredientes ativos estão disponíveis, amplamente utilizados na odontologia [30] e regulamentados como produtos cosméticos, a declaração dos ingredientes não é exigida [26]. Assim, podemos supor que outros componentes também podem estar envolvidos no dano celular [24] ou em alterações nas bactérias orais com potencial de alterar o equilíbrio da tolerância imunológica e contribuir ainda mais para a gênese e promoção do câncer oral [14].

As moléculas mais comuns contidas nos enxaguantes bucais são: clorexidina, óleos essenciais, cloreto de cetilpiridínio, triclosan, octeneidina, delmopinol, polivinilpirrolidona, ácido hialurônico e compostos naturais [25]. A clorexidina 0.2% quando exposta a fibroblastos gengivais humanos na concentração requerida para inibir 50% da atividade metabólica celular (IC50), resultou na diminuição do número de células viáveis e no aumento de células em apoptose [30]. Outros estudos *in vitro* [54–57] corroboraram esses achados. O cloreto de cetilperidíneo também exibiu efeitos citotóxicos graves, mesmo em baixas concentrações, contra queratinócitos humanos e fibroblastos murinos [29].

O triclosan, um tóxico mitocondrial, também imunotóxico por meio de sua modulação da transdução de sinal de células imunes [27] e um possível neurotóxico [28], foi removido pela empresa Colgate-Palmolive [58] de uma de suas pastas de dentes a fim de diminuir a repercussão pública gerada, desde dezembro de 2017, quando a United States Food and Drug Administration [59] determinou que as empresas não poderiam usar o triclosan ou vinte e três outros ingredientes ativos nos produtos antissépticos de venda livre sem uma análise pré-comercialização, em razão da insuficiência de dados sobre sua segurança e eficácia.

Vlachojannis et al. [26], em uma revisão, analisaram o potencial citotóxico do Listerine®, cuja composição possui timol (0.064%), eucaliptol (0.092%), metil salicilato (0.06%) e mentol (0.01%) [54] e, sugeriram, a partir de estudos in vitro, que todos os compostos fenólicos em Listerine® podem contribuir, até certo ponto, para o dano celular. Teste de citotoxicidade do lauril sulfato de sódio e a cocamidopropil betaína, detergentes também encontrados em enxaguantes bucais, em fibroblastos gengivais humanos, resultaram na eliminação de uma porcentagem considerável de células. A citotoxicidade da cocamidopropil betaína teve correlação significativa com o tempo e a concentração [60].

Dito isso, não termos conseguido realizar uma análise de subgrupos de acordo com o conteúdo alcoólico dos enxaguatórios citados nos estudos foi uma limitação da nossa meta-análise, pois do contrário, poderíamos avaliar se as substâncias presentes em suas formulações são importantes para o câncer oral independentemente do conteúdo alcoólico, visto que as evidências disponíveis são apoiadas apenas em estudos in vitro. Assim, novos estudos que apresentem dados referentes ao conteúdo alcóolico dos enxaguantes e seus principais componentes são fundamentais para investigar e esclarecer o impacto que essas moléculas exercem.

Além disso, as diferenças entre os estudos na forma de medir a frequência e duração da exposição inviabilizaram análises com uma maior quantidade de categorias de exposição. Conquanto, ainda assim, foi possível categorizar em “menos de uma vez ao dia” ou “uma ou mais vezes ao dia”, representando uma estimativa de uso diário do enxaguante bucal e estimando uma dose-resposta, o que foi um ponto forte desse trabalho.

A qualidade da evidência, analisada pelo GRADEpro GDT, demonstrou ser muito baixa, pois é apoiada em estudos observacionais tipo caso-controle, em que alguns apresentam amplo intervalo de confiança, há a presença de viés de aferição na exposição por ser baseada no autorrelato dos participantes e possui a implicação adicional do viés de lembrança dos participantes. Embora estes fatores expliquem a diminuição da evidência gerada por esta meta-análise, por outro lado, a própria avaliação da qualidade da evidência se constitui em uma contribuição na medida em que esta é a primeira meta-análise sobre esse assunto que realiza essa análise. Adicionalmente, pontos fortes desse trabalho são a estimativa da medida ponderada a partir das medidas ajustadas dos estudos primários e a realização de meta-regressão com o propósito de investigar a heterogeneidade e as possíveis covariáveis participantes.

CONCLUSÕES

A presente revisão sistemática e meta-análise demonstra que há associação estatisticamente significativa entre o uso dos enxaguantes bucais e o câncer oral e que o efeito é dose-dependente com o aumento da frequência de uso ao dia, embora haja substancial heterogeneidade dos estudos e evidência caracterizada como de muito baixa qualidade. Por tratar-se de um problema de saúde pública, pesquisas devem continuar avaliando a segurança no uso de substâncias tóxicas amplamente disponíveis comercialmente que impactam os cirurgiões-dentistas como prescritores e o público geral como consumidor. Lançamos outro ponto de vista sobre a plausibilidade biológica da associação do uso dos enxaguantes e o câncer oral, abrindo possibilidades para que novos estudos possam focar nas composições dos enxaguatórios utilizados, na frequência de uso ao dia e no tempo de uso ao longo dos anos.

REFERÊNCIAS

- [1] Choi S, Thomson P. Increasing Incidence of Oral Cancer in Hong Kong – Who, Where...and Why? *J Oral Pathol Med* 2019;48:483–90. doi:10.1111/jop.12868.
- [2] Fan J, Liu W, Zhang M, Xing C. A literature review and systematic meta-analysis on XRCC3 Thr241Met polymorphism associating with susceptibility of oral cancer. *Oncol Lett* 2019;19:3265–73. doi:10.3892/ol.2019.10609.
- [3] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R, Torre L, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68(6):394–424. doi:https://doi.org/10.3322/caac.21492.
- [4] Jay S. Cooper, Porter K, Mallin K, Hoffman HT, Weber RS, Ang KK, et al. National Cancer Database report on cancer of the head and neck: 10-Year update. *Head Neck* 2009;June:748–58. doi:10.1002/HED.
- [5] Montero PH, Patel SG. Cancer of the oral cavity. *Surg Oncol Clin N Am* 2015;24(3):491–508. doi:10.1016/j.soc.2015.03.006.
- [6] Leemans CR, Braakhuis BJM, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer* 2011;11(1):9–22. doi:10.1038/nrc2982.
- [7] Timbang MR, Sim MW, Bewley A, Farwell DG, Mantravadi A, Moore M, et al. HPV-related oropharyngeal cancer: a review on burden of the disease and opportunities for prevention and early detection. *Hum Vaccin Immunother* 2019;3:1–9. doi:10.1080/21645515.2019.1600985.
- [8] Calderón-Montaña JM, Jiménez-Alonso JJ, Guillén-Mancina E, Burgos-Morón E, López-Lázaro M. A 30-s exposure to ethanol 20% is cytotoxic to human keratinocytes: possible mechanistic link between alcohol-containing mouthwashes and oral cancer. *Clin Oral Investig* 2018;22(8):2943–6. doi:10.1007/s00784-018-2602-z.
- [9] Seitz HK, Matsuzaki S, Yokoyama A, Homann N, Väkeväinen S, Wang XD. Alcohol and cancer. *Drug Abus Addict Med Illn Causes, Consequences Treat* 2001;25:137S-143S. doi:10.1007/978-1-4614-3375-0_35.
- [10] Guillén-Mancina E, Calderón-Montaña JM, López-Lázaro M. Avoiding the ingestion of cytotoxic concentrations of ethanol may reduce the risk of cancer associated with alcohol consumption. *Drug Alcohol Depend* 2018;183:201–4. doi:10.1016/j.drugalcdep.2017.11.013.
- [11] Fox SA, Currie SS, Dalley AJ, Farah CS. Transcriptome changes induced in vitro by alcohol-containing mouthwashes in normal and dysplastic oral keratinocytes. *J Oral Pathol Med* 2018;47(5):511–8. doi:10.1111/jop.12704.
- [12] McCullough MJ, Farah CS. The role of alcohol in oral carcinogenesis with particular reference to alcohol-containing mouthwashes. *Aust Dent J* 2008;53(4):302–6. doi:10.1111/j.1834-7819.2008.00070.x.
- [13] Adams D, Addy M. Mouthrinses. *Adv Dent Res* 1994;8(2):291–301.
- [14] Eliot MN, Michaud DS, Langevin SM, McClean MD, Kelsey KT. Periodontal disease and mouthwash use are risk factors for head and neck squamous cell carcinoma.

- Cancer Causes Control 2013;24(7):1315–22. doi:10.1007/s10552-013-0209-x.
- [15] Lachenmeier DW. Alcohol-containing mouthwash and oral cancer - Can epidemiology prove the absence of risk? *Ann Agric Environ Med* 2012;19:609–10. doi:10.1002/ptr.4762.15.
 - [16] La Vecchia C. Mouthwash and oral cancer risk: An update. *Oral Oncol* 2009;45(3):198–200. doi:10.1016/j.oraloncology.2008.08.012.
 - [17] Lachenmeier DW, Gumbel-Mako S, Sohnus EM, Keck-Wilhelm A, Kratz E, Mildau G. Salivary acetaldehyde increase due to alcohol-containing mouthwash use: A risk factor for oral cancer. *Int J Cancer* 2009;125(3):730–5. doi:10.1002/ijc.24381.
 - [18] Lachenmeier DW. Safety evaluation of topical applications of ethanol on the skin and inside the oral cavity. *J Occup Med Toxicol* 2008;3(1):1–16. doi:10.1186/1745-6673-3-26.
 - [19] Poggi P, Baena RRY, Rizzo S, Rota MT. Mouthrinses with alcohol: cytotoxic effects on human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 2003;74(5):623–9. doi:10.1902/jop.2003.74.5.623.
 - [20] Gagari E, Kabani S. Adverse effects of mouthwash use: a review. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;80(4):432–9. doi:10.1016/S1079-2104(05)80337-3.
 - [21] Gandini S, Negri E, Boffetta P, La Vecchia C, Boyle P. Mouthwash and oral cancer risk - quantitative meta-analysis of epidemiologic studies. *Ann Agric Environ Med* 2012;19(2):173–80.
 - [22] Ustrell-Borràs M, Traboulsi-Garet B, Gay-Escoda C. Alcohol-based mouthwash as a risk factor of oral cancer: A systematic review. *Med Oral Patol Oral y Cir Bucal* 2020;25:e1–12. doi:10.4317/medoral.23085.
 - [23] Aceves Argemí R, González Navarro B, Ochoa García-Seisdedos P, Estrugo Devesa A, López-López JosOS. Mouthwash With Alcohol and Oral Carcinogenesis: Systematic Review and Meta-analysis. *J Evid Based Dent Pract* 2020;20:1–9. doi:10.1016/j.jebdp.2020.101407.
 - [24] Müller HD, Eick S, Moritz A, Lussi A, Gruber R. Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of Oral Rinses in Vitro. *Biomed Res Int* 2017;2017. doi:10.1155/2017/4019723.
 - [25] Tartaglia GM, Kumar S, Fornari CD, Corti E, Connelly ST. Mouthwashes in the 21st century: a narrative review about active molecules and effectiveness on the periodontal outcomes. *Expert Opin Drug Deliv* 2017;14(8):973–82. doi:10.1080/17425247.2017.1260118.
 - [26] Vlachojannis C, Al-Ahmad A, Hellwig E, Chrubasik S. Listerine® Products: An Update on the Efficacy and Safety. *Phyther Res* 2016;30:367–73. doi:10.1002/ptr.5555.
 - [27] Sangroula S, Baez Vasquez AY, Raut P, Obeng B, Shim JK, Bagley GD, et al. Triclosan disrupts immune cell function by depressing Ca²⁺ influx following acidification of the cytoplasm. *Toxicol Appl Pharmacol* 2020;405:115205. doi:10.1016/j.taap.2020.115205.
 - [28] Ruszkiewicz JA, Li S, Rodriguez MB, Aschner M. Is Triclosan a neurotoxic agent? *J*

- Toxicol Environ Heal - Part B Crit Rev 2017;20:104–17.
doi:10.1080/10937404.2017.1281181.
- [29] Fromm-Dornieden C, Rembe JD, Schäfer N, Böhm J, Stuermer EK. Cetylpyridinium chloride and miramistin as antiseptic substances in chronic wound management – Prospects and limitations. *J Med Microbiol* 2015;64:407–14.
doi:10.1099/jmm.0.000034.
 - [30] Coelho AS, Laranjo M, Gonçalves AC, Paula A, Paulo S, Abrantes AM, et al. Cytotoxic effects of a chlorhexidine mouthwash and of an enzymatic mouthwash on human gingival fibroblasts. *Odontology* 2020;108:260–70. doi:10.1007/s10266-019-00465-z.
 - [31] Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK. Chlorhexidine - Pharmacobiological activity and application. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19:1321–6.
 - [32] Pucher JJ, Daniel C. The Effects of Chlorhexidine Digluconate on Human Fibroblasts In Vitro. *J Periodontol* 1992;63:526–32. doi:10.1902/jop.1992.63.6.526.
 - [33] Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Altman D, Antes G, et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Med* 2009;6. doi:10.1371/journal.pmed.1000097.
 - [34] World Health Organization. International classification of diseases for mortality and morbidity statistics (11th Revision). 2018. Retrieved from [s.d.].
<https://icd.who.int/browse11/l-m/en>.
 - [35] Chi AC, Day TA, Neville BW. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma-an update. *CA Cancer J Clin* 2015;65(5):401–21. doi:10.3322/caac.21293.
 - [36] Wells G, Shea B, O’Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, et al. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. Available from
http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp 2016.
 - [37] GRADEpro GDT: GRADEpro Guideline Development Tool [Software]. McMaster Univ , 2020 (developed by Evid Prime, Inc) Available from grade.pro.org [s.d.].
 - [38] Ryan R, Hill S. How to GRADE the quality of the evidence. *Cochrane Consum Commun Gr* 2016;Version 3.:1–24.
 - [39] Boffetta P, Hayes RB, Sartori S, Lee Y-CA, Muscat J, Olshan A, et al. Mouthwash use and cancer of the head and neck: a pooled analysis from the international head and neck cancer epidemiology consortium. *Eur J Cancer Prev* 2016;25(4):344–8.
doi:10.1097/cej.000000000000179.
 - [40] Assunção Junior JNR, Teixeira VP, Lemos CA. Use of mouthwashes in patients with oral and oropharyngeal cancer. *Clin Lab Res Dent* 2015;21:91–8.
doi:10.11606/issn.2357-8041.clrd.2015.102956.
 - [41] Ahrens W, Pohlabein H, Foraita R, Nelis M, Lagiou P, Lagiou A, et al. Oral health, dental care and mouthwash associated with upper aerodigestive tract cancer risk in Europe: The ARCAGE study. *Oral Oncol* 2014;50:616–25.
doi:10.1016/j.oraloncology.2014.03.001.
 - [42] Chang JS, Lo HI, Wong TY, Huang CC, Lee WT, Tsai ST, et al. Investigating the

- association between oral hygiene and head and neck cancer. *Oral Oncol* 2013;49:1010–7. doi:10.1016/j.oraloncology.2013.07.004.
- [43] Marques LA, Eluf-Neto J, Figueiredo RAO, de Góis-Filho JF, Kowalski LP, de Carvalho MB, et al. Oral health, hygiene practices and oral cancer. *Rev Saude Publica* 2008;42:471–9. doi:10.1590/s0034-89102008000300012.
 - [44] Talamini R, Vaccarella S, Barbone F, Tavani A, La Vecchia C, Herrero R, et al. Oral hygiene, dentition, sexual habits and risk of oral cancer. *Br J Cancer* 2000;83:1238–42. doi:10.1054/bjoc.2000.1398.
 - [45] Winn DM, Blot WJ, McLaughlin JK, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, et al. Mouthwash Use and Oral Conditions in the Risk of Oral and Pharyngeal Cancer. *Cancer Res* 1991;51:3044–7.
 - [46] Young TB, Ford CN, Brandenburg JH. An epidemiologic study of oral cancer in a statewide network. *Am J Otolaryngol Neck Med Surg* 1986;7:200–8. doi:10.1016/S0196-0709(86)80007-2.
 - [47] Mashberg A, Barsa P, Grossman ML. A study of the relationship between mouthwash use and oral and pharyngeal cancer. *J Am Dent Assoc* 1985;110:731–4. doi:10.14219/jada.archive.1985.0422.
 - [48] Blot WJ, Winn DM, Fraumeni Jr JF. Oral cancer and mouthwash. *J Natl Cancer Inst* 1983;70:251–3.
 - [49] Kumar M, Nanavati R, Modi T, Dobariya C. Oral cancer: etiology and risk factors: a review. *J Cancer Res Ther* 2016;12:458–63. doi:10.4103/0973-1482.186696.
 - [50] Carlin V, Matsumoto MA, Saraiva PP, Artioli A, Oshima C, Ribeiro DA. Cytogenetic damage induced by mouthrinses formulations in vivo and in vitro. *Clin Oral Investig* 2012;16:813–20. doi:10.1007/s00784-011-0559-2.
 - [51] Zamora-Perez AL, Mariaud-Schmidt RP, Fuentes-Lerma MG, Guerrero-Velázquez C, Gómez-Meda BC, López-Verdín S, et al. Increased number of micronuclei and nuclear anomalies in buccal mucosa cells from people exposed to alcohol-containing mouthwash. *Drug Chem Toxicol* 2013;36(2):255–60. doi:10.3109/01480545.2012.737804.
 - [52] Hernandez KC, Silva CA da, Schmidt VKDO, Boeira JM. Assessment of effects of mouthwash by Buccal Micronucleus Cytome Assay: a Preliminary Study. *R Eletr Cient Uergs* 2016;2:267–75. doi:10.21674/2448-0479.23.267-275.
 - [53] Tomasetti C, Vogelstein B. Cancer etiology. Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions. *Science* 2015;347:78–81. doi:10.1126/science.1260825.
 - [54] Balloni S, Locci P, Lumare A, Marinucci L. Cytotoxicity of three commercial mouthrinses on extracellular matrix metabolism and human gingival cell behaviour. *Toxicol Vitro* 2016;34:88–96. doi:10.1016/j.tiv.2016.03.015.
 - [55] Liu JX, Werner J, Kirsch T, Zuckerman JD, Virk MS. Cytotoxicity evaluation of chlorhexidine gluconate on human fibroblasts, myoblasts, and osteoblasts. *J Bone Jt Infect* 2018;3:165–72. doi:10.7150/jbji.26355.
 - [56] Schmidt J, Zyba V, Jung K, Rinke S, Haak R, Mausberg RF, et al. Effects of octenidine

- mouth rinse on apoptosis and necrosis of human fibroblasts and epithelial cells—an in vitro study. *Drug Chem Toxicol* 2018;41:182–7. doi:10.1080/01480545.2017.1337124.
- [57] Khan S, Khan AU, Hasan S. Genotoxic assessment of chlorhexidine mouthwash on exfoliated buccal epithelial cells in chronic gingivitis patients. *Indian Soc Periodontol* 2017;20:584–91. doi:10.4103/jisp.jisp.
- [58] Kary TB. Colgate Total Toothpaste to Relaunch without Controversial Chemical. Available from <https://www.bloomberg.com/news/articles/2019-01-15/colgate-total-toothpaste-to-relaunch-this-time-sans-triclosan> 2019.
- [59] U.S. Food and Drug Administration. 5 Things to Know About Triclosan. Available from <https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/5-things-know-about-triclosan> 2019.
- [60] Hasani Tabatabaei M, Sadeghi Mahounak F, Asgari N, Moradi Z. Cytotoxicity of the Ingredients of Commonly Used Toothpastes and Mouthwashes on Human Gingival Fibroblasts. *Front Dent* 2020. doi:10.18502/fid.v16i6.3444.

Tabela 1. Estratégia de busca avaliando o uso de enxaguantes bucais e câncer oral nas bases de dados Pubmed / Medline, Embase, LILACS e ScienceDirect.

Bases de dados	Estratégia de busca
Pubmed/Medline	“adult” OR “adults” OR “young adult” OR “young adults” OR “adult, young” OR “adults, young” OR “elderly” OR “old” OR “aged” OR “old-aged” OR “old man” OR “old men” OR “oldest old” AND “mouthwash” OR “mouth wash” OR “wash, mouth” OR “mouthwashes” OR “bath, mouth” OR “baths, mouth” OR “mouth bath” OR “mouth baths” OR “mouth wash” OR “wash, mouth” OR “mouthrinse” OR “mouthrinse” OR “mouth rinses” OR “rinse, mouth” OR “rinses, mouth” OR “gargle” OR “oral antiseptics” OR “sanguinaria” OR “lavoris mouthwash” OR “rembrandt mouthwash” OR “scope mouthwash” OR “plax” OR “xeros mouthwash” OR “crest pro-health mouthrinse” OR “tartar control listerine” OR “kavosan” OR “chlorhexidine” OR “delmopinol” OR “eucalyptol” OR “listerine” OR “meridol” OR “zinc chloride” AND “mouth neoplasm” OR “neoplasm, mouth” OR “oral cancer” OR “oral neoplasm” OR “oral neoplasms” OR “neoplasms, mouth” OR “cancer of mouth” OR “mouth cancers” OR “oral cancer” OR “oral cancers” OR “cancer, oral” OR “cancers, oral” OR “cancer of the mouth” OR “cancer of the mouth” OR “mouth cancer” OR “mouth cancers” OR “cancer, mouth” OR “cancers, mouth” OR “squamous cell carcinoma” OR “carcinoma, squamous cell” OR “squamous cell carcinomas” OR “squamous cell carcinoma of head and neck” OR “carcinoma, epidermoid” OR “epithelial dysplasia” OR “carcinoma in situ” OR “carcinogenesis” OR “cytotoxicity”
Embase	(mouthwash OR mouthwashes OR 'bath, mouth' OR 'baths, mouth' OR 'mouth bath' OR 'mouth baths' OR 'mouth wash' OR 'wash, mouth' OR 'mouthrinse OR mouthrinses OR 'mouth rinse' OR 'mouth rinses' OR 'rinse, mouth' OR 'rinses, mouth' OR 'oral antiseptics' OR 'sanguinaria OR 'lavoris mouthwash' OR 'rembrandt mouthwash' OR 'scope mouthwash' OR 'plax OR 'xeros mouthwash' OR 'crest pro-health mouthrinse' OR 'tartar control listerine' OR 'kavosan OR chlorhexidine OR delmopinol OR eucalyptol OR listerine OR meridol OR 'zinc chloride') AND ('mouth neoplasm' OR 'neoplasm, mouth' OR 'neoplasm, oral' OR 'oral neoplasms, oral' OR 'oral neoplasm' OR 'oral neoplasms' OR 'neoplasms, mouth' OR 'cancer of mouth' OR 'cancer of mouth' OR 'oral cancer' OR 'oral cancers' OR 'cancer, oral' OR 'cancers, oral' OR 'cancer of the mouth' OR 'mouth cancer' OR 'mouth cancers' OR 'cancer, mouth' OR 'cancers, mouth' OR 'squamous cell carcinoma' OR 'carcinoma, squamous cell' OR 'squamous cell carcinomas' OR 'neoplasms' OR 'neoplasms, mouth' OR 'cancer, mouth' OR 'cancers, mouth' OR 'squamous cell carcinoma' OR 'carcinoma, squamous cell' OR 'squamous cell carcinomas' OR 'carcinoma in situ' OR 'carcinogenesis OR cytotoxicity OR 'dna damage' OR 'dna damages' OR 'dna' OR 'damages, dna' OR 'dna injury' OR 'dna injuries' OR 'injuries, dna' OR 'injury, dna' OR 'genotoxic stress' OR 'genotoxic stresses' OR 'stresses, genotoxic' OR 'stress, genotoxic' OR mutation OR mutagens OR mutagenesis OR mutageneses)
LILACS	(mouthwash OR mouthwashes OR mouthrinse OR “oral antiseptics”) [Words]
ScienceDirect	(adult OR elderly) AND (mouthwash OR mouthrinse OR “oral antiseptics”) AND (“epithelial dysplasia” OR “mouth neoplasm” OR “oral cancer” OR carcinogenesis)

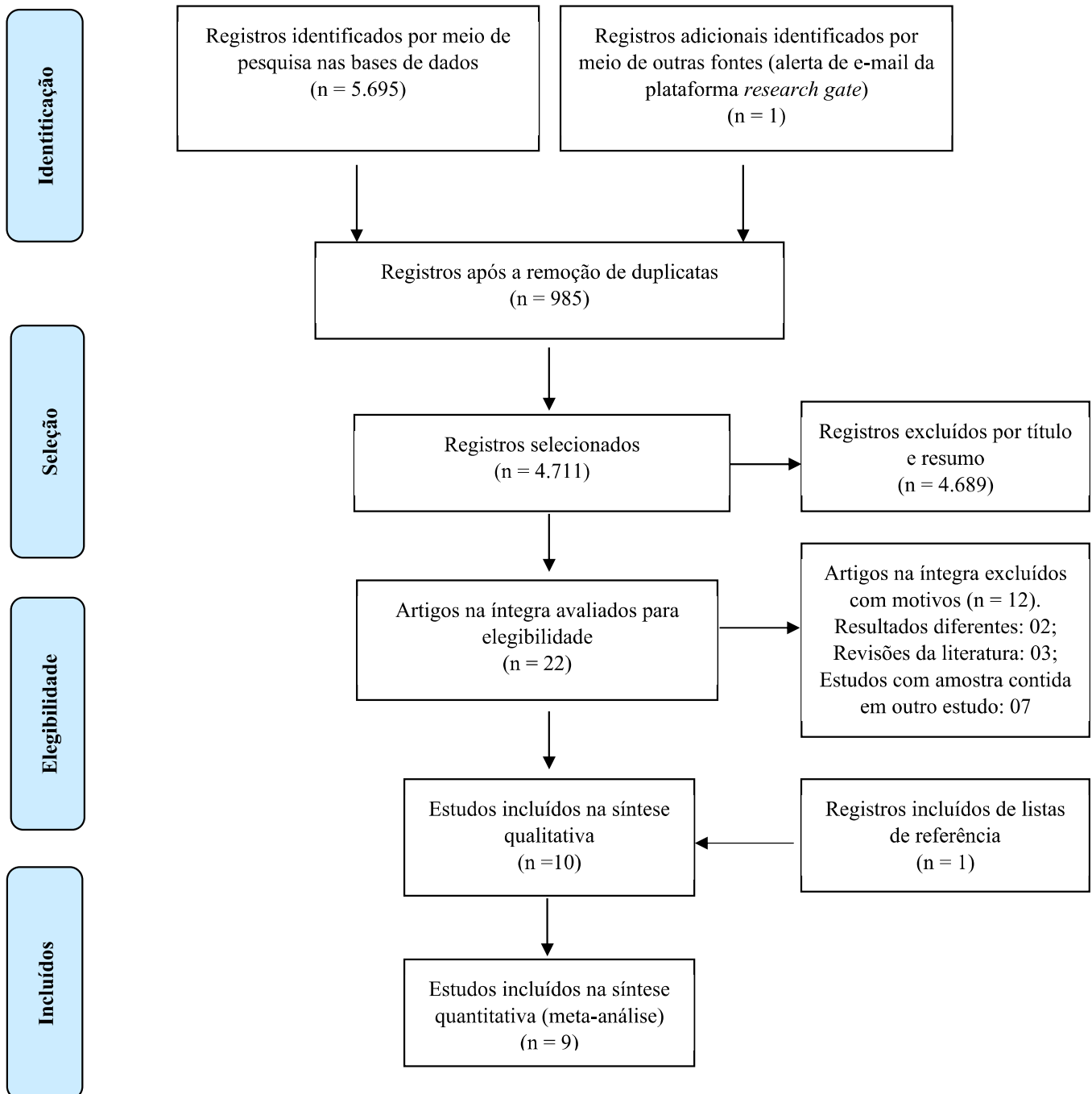


Figura 1. Processo de busca e seleção de estudos avaliando o uso de enxaguantes bucais e câncer bucal. Diagrama PRISMA de fluxo adaptado.

Tabela 2. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise sobre o uso de enxaguantes bucais e câncer oral.

ID	Estudo	País	Período de recrutamento	Tipo de controles	Tamanho da amostra	Faixa de idade/ mediana	Exposição (ou categorias de exposição)	Desfecho	Taxa de participação dos casos/ controles (%)	Variáveis confundidoras introduzidas para ajuste nas análises de regressão
1	Blot et al., 1983[48]	Estados Unidos	1975-1978	Hospitalar	206 casos 352 controles	67	Anos de uso do enxaguante bucal (0-4, 5-9, 10-24, ≥ 25) e duração de retenção na boca, e frequência de uso, e concentração	Pacientes mulheres com cancer oral e de faringe CID, Rev. 8 (141, 143-146, 148, 149)	89/86	Hábitos tabagistas
2	Mashberg et al., 1985[47]	Estados Unidos	1981-1983	Hospitalar	95 casos 913 controles	40-70+	Uso de enxaguante bucal (pacientes que usaram rotineiramente foram aqueles que relataram o uso do enxaguatório por pelo menos quatro vezes por semana)	Câncer oral e de faringe.	99/100	Etilismo
3	Young et al., 1986[46]	Estados Unidos	Não relatado	Hospitalar	317 casos 306 controles	63.2/61.5	Uso de enxaguante bucal	Câncer de cavidade oral, câncer de orofaringe e câncer de hipofaringe	97/97	Modelo não ajustado
4	Winn et al., 1991[45]	Estados Unidos	1984-1985	Comunitário	866 casos 1.249 controles	18-79	Uso de enxaguante bucal (aqueles que usaram enxaguatório pelo menos uma vez por semana por seis meses ou mais). Idade inicial (anos): <20, 20-29, 30-49, 50+, nunca. Duração (anos): 0, 1-19, 20-39, 40+; Frequência (vezes/mês): 0, 1-29, 30-59, 60+. Conteúdo alcoólico: nenhum, baixo '< 25%', high '≥ 25%', misto	Incidência primária de câncer de cavidade oral ou faringe CID, Rev. 9 (141, 143-146, 148; 149)	78/99	Idade, raça, educação, tabagismo, etilismo e consumo de frutas
5	Talamini et al., 2000[44]	Itália	1996-2000	Hospitalar	132 casos 148 controles	27-86	Uso de enxaguante bucal (vezes/semana)	Câncer de cavidade oral e orofaringe	92/96	Gênero, idade, consumo de frutas e vegetais, tabagismo e etilismo
6	Marques et al., 2008[43]	Brasil	1998-2002	Hospitalar	309 casos 468 controles	40-70+	Frequência de uso de enxaguante bucal (nunca, menos do que uma vez ao dia, uma ou mais vezes ao dia)	CEC oral CID, Rev. 10 (C00-C06, C02.4 C05.1, C05.2, C09, C10)	85/89	Gênero, idade, formação escolar, tabagismo, etilismo e outras variáveis de higiene/saúde oral
7	Chang et al., 2013[42]	China	2010-2012	Hospitalar	317 casos 296 controles	20-80	Uso de enxaguante bucal (sem álcool ou contendo álcool). Não uso do enxaguatório	CEC oral localizado na cavidade oral, orofaringe, hipofaringe e laringe, que não tenha diagnóstico prévio de câncer	76/87	Gênero, idade, educação, hábito de fumar cigarro (maço-categorias de anos), hábito de mascar betel (maço-categorias de ano), ingestão de bebida alcoólica (frequência)

8	Eliot et al., 2013[14]	Estados Unidos	2006 - 2011	Comunitário	513 casos 567 controles	56/ 60.5	Frequência de uso do enxaguante bucal (nunca; as vezes; pelo menos uma vez por dia). Uso do enxaguatório pelo conteúdo alcoólico (raramente ou nunca; não alcoólico; alcoólico). Uso do enxaguatório pelo conteúdo alcoólico e frequência (baixo ou sem álcool infrequentemente; Baixo ou sem álcool frequentemente; alto com álcool infrequentemente; Alto com álcool frequentemente)	Casos incidentes de CEC de cabeça e pescoço CID, Rev. 9 (141-146; 161)	99/100	Idade, gênero, raça, tabagismo, etilismo, educação, renda familiar anual e história de doença periodontal
9	Assunção Junior, 2015[40]	Brasil	Não relatado	Hospitalar	33 casos 20 controles	26-87	Uso de enxaguante bucal, o tipo e a frequência semanal	CEC localizado na cavidade oral e orofaringe	100/100	Não realizou análise de regressão
10	Ahrens et al., 2014[41]	Multicêntrico (Espanha, República Tcheca, Grécia, Alemanha, Irlanda, Itália, Noruega, Croácia, Reino Unido)	2002-2005	Hospitalar	1.963 casos e 1.933 controles	59.8	Frequência de uso do enxaguante bucal	CID Rev. 10 (C00-06), orofaringe (C09, 10), hipofaringe (C12, 13), faringe (C14), laringe (C32), ou esôfago (C15).	80/66	Idade, gênero, centro do estudo, status tabagista, consumo cumulativo de tabaco, duração do consumo de álcool, consumo cumulativo de álcool, educação profissional, grau universitário, consumo de frutas e vegetais
11	Boffetta et al., 2016[39]	Multicêntrico (Estados Unidos, Porto Rico, Argentina, Brasil e Cuba, Itália, Espanha, Polônia, Canadá e Índia)	1981 - 2012	Hospitalar e comunitário	8.981 casos 10.090 controles	15-80	Uso de enxaguante bucal. Duração de uso (anos): 0 (não usuários), 1-15, 16-35 ou 36+. Frequência de uso (vezes/dia): 0 (não usuários), até 1 vez/dia, mais do que uma vez/dia	Câncer de cabeça e pescoço CID Rev. 10 (C00.3-C00.9, C02.0-C02.3, C03.0, C03.1, C03.9, C04.0, C04.1, C04.8, C04.9, C05.0, C06.0-C06.2, C06.8, C06.9, C01.9, C02.4, C05.1, C05.2, C09.0, C09.1, C09.8, C09.9, C10.0, C10.4, C10.8, C10.9, C12.9, C13.0-13.2, C13.8, C13.9; C32.0-C32.3, C32.8-C32.9.	49-100/61-95+	Centro do estudo, idade, gênero, tabagismo cumulativo (anos-maço), média da quantidade de álcool ingerido e nível educacional

ID: Identificação; CEC: Carcinoma Espinocelular; CID: Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde; Rev.: Revisão

Tabela 3. Avaliação do risco de viés dos estudos incluídos na revisão sistemática sobre o uso de enxaguantes bucais e câncer oral pela escala Newcastle - Ottawa para estudos do tipo caso-controle.

Estudos	Seleção				Comparabilidade	Exposição		
	1.	2.	3.	4.	1.	1.	2.	3.
Blot et al., 1983[48]	★	★		★	★		★	★
Mashberg et al., 1985[47]	★	★		★	★		★	★
Young et al., 1986[46]	★	★					★	★
Winn et al., 1991[45]	★	★	★	★	★★		★	
Talamini et al., 2000[44]	★	★		★	★★		★	★
Marques et al., 2008[43]	★	★		★	★★		★	★
Chang et al., 2013[42]	★	★		★	★★		★	
Eliot et al., 2013[14]	★	★	★	★	★★		★	★
Assunção Junior, 2015[40]	★	★		★			★	★
Ahrens et al., 2014[41]	★	★		★	★★		★	
Boffetta et al., 2016[39]	★	★	★	★	★★		★	★

Escala de classificação: 7 a 9 estrelas = baixo risco de viés; 4 a 6 estrelas = risco moderado de viés; 0 a 3 estrelas = alto risco de viés.

Seleção: 1. A definição de caso é adequada?; 2. Representatividade dos casos; 3. Seleção de controles (comunitário ou hospitalar); 4. Definição de controles. Comparabilidade: 1. Comparabilidade de casos e controles com base no projeto ou análise. Exposição: 1. Determinação da exposição; 2. O mesmo método de apuração para casos e controles; 3. Taxa de não resposta. - Um estudo pode receber no máximo uma estrela (★) para cada item numerado nas categorias de seleção e exposição. Um máximo de duas estrelas (★★) pode ser dado para comparabilidade

Tabela 4. Avaliação da qualidade da evidência dos estudos incluídos na meta-análise que apresentam a exposição aos enxaguantes bucais e o desfecho de câncer oral pela ferramenta GRADEpro GDT.

Evidência GRADE e resumo das descobertas

Questão: Uso de enxaguatórios bucais associado ao câncer oral

Avaliação de certeza												Efeito		Certeza	Importância
Nº de estudos	Desenho do estudo	Risco de viés	Inconsistência			Indiretamente	Imprecisão	Outras considerações	Nº de pacientes		Efeito		Certeza	Importância	
			Inconsistência						Uso de enxaguantes bucais	Não uso de enxaguantes bucais	Relativo (IC95%)	Absoluto (IC95%)			
Câncer oral															
9	observational studies	sério ^a	séria ^b		não séria	séria ^c	viés de publicação fortemente suspeito		4135 casos	10263 controles	OR 1.46 (1.12-1.91)	-	⊕○○○ MUITO BAIXA	CRÍTICA	

GDT: Guideline Development Tool; IC: Intervalo de confiança; OR: Odds ratio

Explicações

- a. A qualidade das evidências depende do desenho do estudo e, para todos os estudos, as evidências obtidas são de estudos observacionais, o que favorece a sua baixa qualidade. A maioria dos estudos (5 de 9) utiliza amostra hospitalar em vez de seleção da comunidade, o que aumenta o risco de viés e os dados sobre o uso de enxaguatórios bucais são autorrelatados e dependem da memória dos participantes, o que também implica viés de aferição.
- b. A heterogeneidade entre os estudos, evidenciada pelo teste de percentual de inconsistência de Higgs, foi de 73,8%, caracterizando-a como substancial.
- c. A maioria dos estudos mostrou amplos intervalos de confiança, demonstrando imprecisão quanto ao verdadeiro efeito da exposição.
- d. A dispersão apresentada no gráfico de funil e no teste de regressão de Egger com nível de significância de 0,10 foi estatisticamente significativa (p = 0,081).

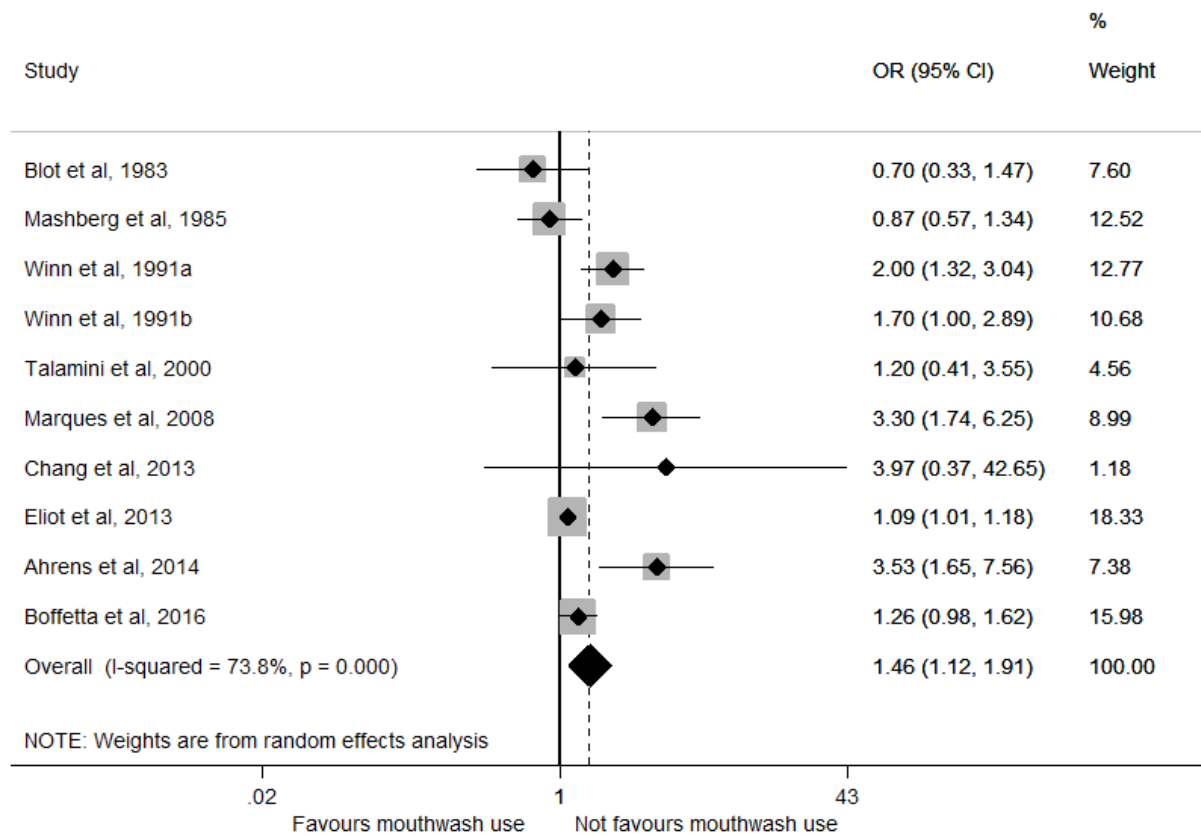


Figura 2. Meta-análise de efeitos aleatórios do odds ratio de câncer oral entre usuários e não usuários de enxaguantes bucais.

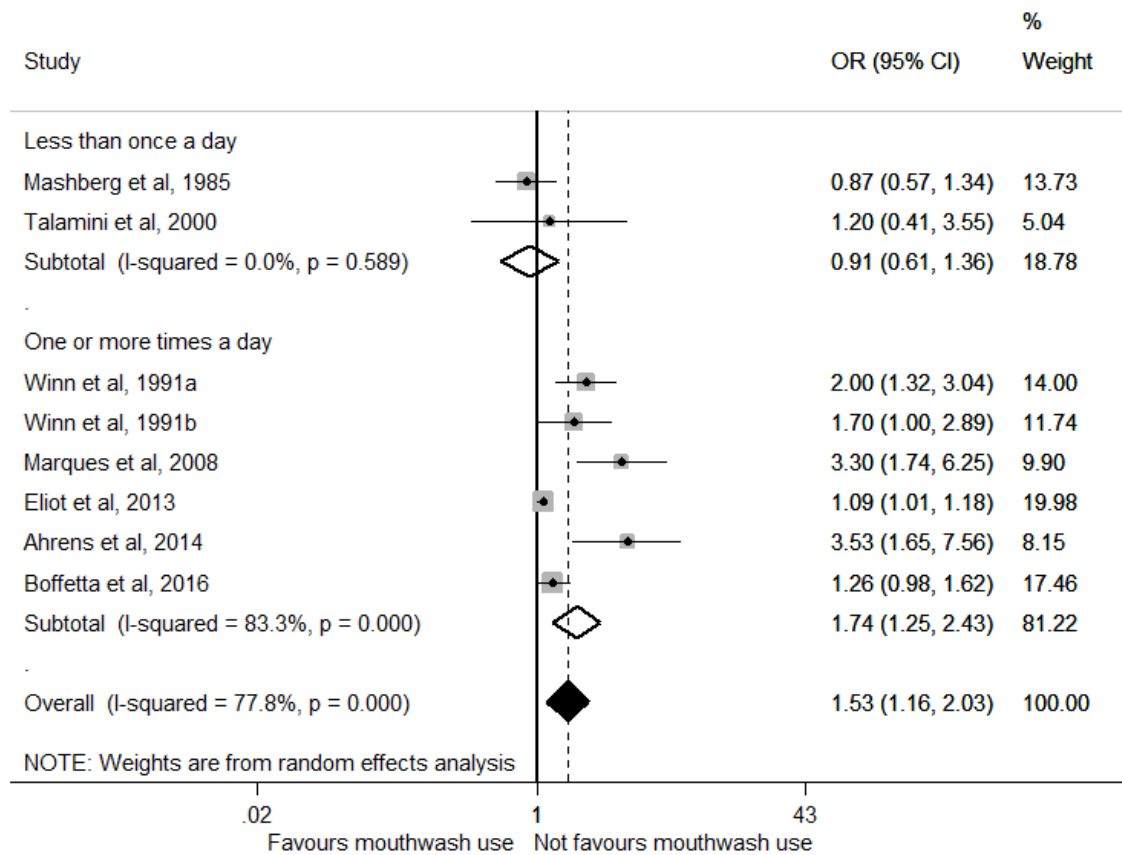


Figura 3. Meta-análise de efeitos aleatórios do odds ratio de câncer oral entre usuários e não usuários de enxaguantes bucais por frequência de uso.

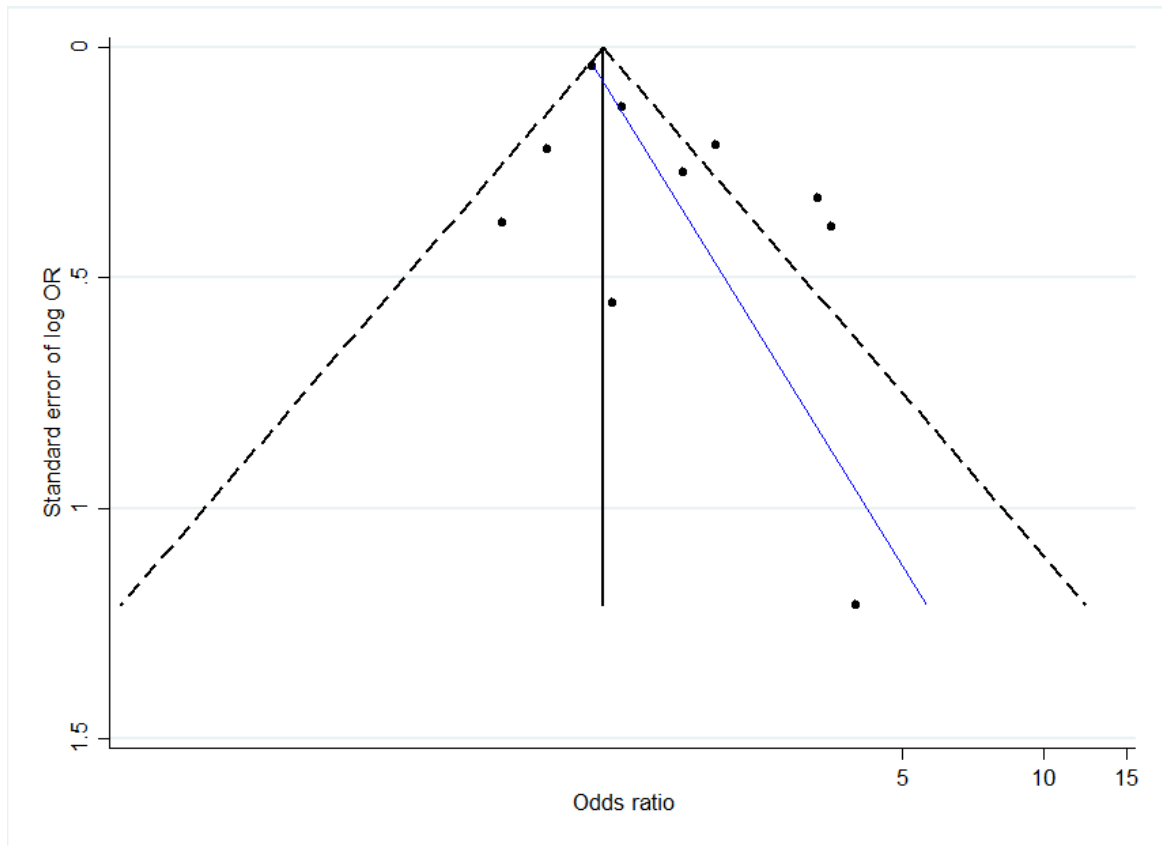


Figura 4. Gráfico de funil de estudos, que avaliam o uso de enxaguantes bucais e o câncer oral, mostrando a dispersão dos estudos de acordo com o odds ratio (OR) e o erro padrão. A linha vertical preta corresponde ao OR estimado na meta-análise (ver Figura 2). As duas linhas diagonais intermitentes representam os intervalos de confiança de pseudo-95%. Os círculos pretos representam os estudos publicados. A linha azul representa a linha ajustada correspondente ao teste de regressão de assimetria de Egger no gráfico de funil.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nossa meta-análise de estudos observacionais, através das medidas sumarizadas estatisticamente significativas, demonstra que o uso frequente de enxaguantes bucais foi associado a uma chance 46% maior de câncer oral quando comparado ao não uso e que o efeito aumenta com o aumento da frequência de uso ao dia. Sugerimos que essa relação poderia ser explicada não apenas pelo conteúdo alcoólico, mas também pela contribuição dos componentes antibacterianos, o que fortalece a necessidade de que novos estudos que ofereçam dados sobre o conteúdo dos enxaguatórios possam esclarecer apropriadamente a associação entre essa exposição e esse desfecho a fim de nortear os profissionais que prescrevem e os pacientes que utilizam sobre os impactos que o consumo a longo prazo dessas substâncias têm para a saúde oral.

REFERÊNCIAS

- ACEVES ARGEMÍ, R. et al. Mouthwash With Alcohol and Oral Carcinogenesis: Systematic Review and Meta-analysis. **Journal of Evidence-Based Dental Practice**, v. 20, n. 2, p. 1–9, 2020.
- AHRENS, W. et al. Oral health, dental care and mouthwash associated with upper aerodigestive tract cancer risk in Europe: The ARCAGE study. **Oral Oncology**, v. 50, n. 6, p. 616–625, 2014.
- BAHNA, P. et al. Antiseptic effect of a novel alcohol-free mouthwash: A convenient prophylactic alternative for high-risk patients. **Oral Oncology**, v. 43, n. 2, p. 159–164, 2007.
- BOFFETTA, P. et al. Mouthwash use and cancer of the head and neck: a pooled analysis from the internacional head and neck cancer epidemiology consortium. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 25, n. 4, p. 344–348, 2016.
- CALDERÓN-MONTAÑO, J. M. et al. A 30-s exposure to ethanol 20% is cytotoxic to human keratinocytes: possible mechanistic link between alcohol-containing mouthwashes and oral cancer. **Clinical Oral Investigations**, v. 22, n. 8, p. 2943–2946, 2018.
- CARLIN, V. et al. Cytogenetic damage induced by mouthrinses formulations in vivo and in vitro. **Clinical Oral Investigations**, v. 16, p. 813–820, 2012.
- CARRETERO-PELÁEZ, M. A. et al. Colutorios con alcohol y su relación con el cáncer oral. Análisis crítico de la literatura. **Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 9, p. 116–123, 2004.
- CHATTOPADHYAY, I.; VERMA, M.; PANDA, M. Role of Oral Microbiome Signatures in Diagnosis and Prognosis of Oral Cancer. **Technology in Cancer Research & Treatment**, v. 18, p. 1–19, 2019.
- CHI, A. C.; DAY, T. A.; NEVILLE, B. W. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma-an update. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 65, n. 5, p. 401–421, 2015.
- CHOI, S.; THOMSON, P. Increasing Incidence of Oral Cancer in Hong Kong – Who, Where...and Why? **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 48, p. 483–490, 2019.
- COELHO A. S. et al. Cytotoxic effects of a chlorhexidine mouthwash and of an enzymatic mouthwash on human gingival fibroblasts. **Odontology**, v. 108, p. 260–270, 2020.
- ELIOT, M. N. et al. Periodontal disease and mouthwash use are risk factors for head and neck squamous cell carcinoma. **Cancer Causes and Control**, v. 24, n. 7, p. 1315–1322, 2013.
- FOX, S. A. et al. Transcriptome changes induced in vitro by alcohol-containing mouthwashes in normal and dysplastic oral keratinocytes. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 47, n. 5, p. 511–518, 2018.
- FROMM-DORNIEDEN, C. et al. Cetylpyridinium chloride and miramistin as antiseptic substances in chronic wound management—prospects and limitations. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, n. 4, p. 407–414, 2015.
- GANDINI, S. et al. Mouthwash and oral cancer risk - quantitative meta-analysis of epidemiologic studies. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 19, n. 2, p. 173–180, 2012.

GUILLÉN-MANCINA, E.; CALDERÓN-MONTAÑO, J. M.; LÓPEZ-LÁZARO, M. Avoiding the ingestion of cytotoxic concentrations of ethanol may reduce the risk of cancer associated with alcohol consumption. Short communication. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 183, p. 201–204, 2018.

KARPIŃSKI, T. M.; SZKARADKIEWICZ, A. K. Chlorhexidine - Pharmacobiological activity and application. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 19, p. 1321–1326, 2015.

LA VECCHIA, C. Mouthwash and oral cancer risk: An update. **Oral Oncology**, v. 45, n. 3, p. 198–200, 2009.

LACHENMEIER, D. W. Safety evaluation of topical applications of ethanol on the skin inside the oral cavity. **Journal of Occupational Medicine and Toxicology**, v. 3, n. 1, p. 1–4, 2008.

LACHENMEIER, D. W. et al. Salivary acetaldehyde increase due to alcohol-containing mouthwash use: A risk factor for oral cancer. **International Journal of Cancer**, v. 125, n. 3, p. 730–735, 2009.

LACHENMEIER, D. W. Alcohol-containing mouthwash and oral cancer - Can epidemiology prove the absence of risk? **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 19, n. 3, p. 609–610, 2012.

LEEMANS, C. R.; BRAAKHUIS, B. J. M.; BRAKENHOFF, R. H. The molecular biology of head and neck cancer. **Nature reviews. Cancer**, v. 11, n. 1, p. 9–22, 2011.

LIEBER C. S. Metabolic effects of acetaldehyde. **Biochemical Society Transactions**, v. 16, p. 241–7, 1988.

MCCULLOUGH, M. J.; FARAH, C. S. The role of alcohol in oral carcinogenesis with particular reference to alcohol-containing mouthwashes. **Australian Dental Journal**, v. 53, n. 4, p. 302–306, 2008.

MONTERO, P. H.; PATEL, S. G. Cancer of the oral cavity. **Surgical Oncology Clinics of North America**, v. 24, n. 3, p. 491–508, 2015.

MÜLLER, H. D. et al. Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of Oral Rinses in Vitro. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 1–9, 2017.

O'REILLY, P.; MCCARTAN, B. E.; CLANCY, J. Alcohol content of proprietary mouthwashes. **Irish Journal of Medical Science**, v. 163, n. 4, p. 178–181, 1994.

PAN, P. C. et al. In-vitro evidence for efficacy of antimicrobial mouthrinses. **Journal of Dentistry**, v. 38, p. 16–20, 2010.

PERES, M. A. et al. Series oral health 1 - Oral diseases: a global public health challenge. **The Lancet**, v. 394, p. 249–260, 2019.

POGGI, P. et al. Mouthrinses with alcohol: cytotoxic effects on human gingival fibroblasts in vitro. **Journal of Periodontology**, v. 74, n. 5, p. 623–629, 2003.

PUCHER, J. J.; DANIEL, C. The Effects of Chlorhexidine Digluconate on Human Fibroblasts In Vitro. **Journal of Periodontology**, v. 63, p. 526–532, 1992.

RUSZKIEWICZ, J.A. et al. Is Triclosan a neurotoxic agent? **Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B, Critical reviews**, v. 20, p. 104–17, 2017.

SANGROULA, S. et al. Triclosan disrupts immune cell function by depressing Ca^{2+} influx following acidification of the cytoplasm. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 405, p. 115205, 2020.

SEITZ, H. K. et al. Alcohol and cancer. **Alcoholism, Clinical and Experimental Research**, v. 25(5 Suppl ISBRA), p.137S–143S, 2001.

SQUIER, C. A.; KREMER, M. J. Biology of oral mucosa and esophagus. **Journal of the National Cancer Institute. Monographs.**, v. 29, p. 7–15, 2001.

SQUIER, C. A.; COX P.; HALL, B. K. Enhanced penetration of ni- trosonornicotine across oral mucosa in the presence of ethanol. **Journal of Oral Pathology**, v. 15, n. 5, p. 276–279, 1986.

TARTAGLIA, G. M. et al. Mouthwashes in the 21st century: a narrative review about active molecules and effectiveness on the periodontal outcomes. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 14, n. 8, p. 973–982, 2017.

TIMBANG, M. R. et al. HPV-related oropharyngeal cancer: a review on burden of the disease and opportunities for prevention and early detection. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 3, p. 1–9, 2019.

USTRELL-BORRÀS, M.; TRABOULSI-GARET, B.; GAY-ESCODA, C. Alcohol-based mouthwash as a risk factor of oral cancer: A systematic review. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v. 25, n. 1, p. e1–e12, 2020.

VLACHOJANNIS, C. et al. Listerine® Products: An Update on the Efficacy and Safety. **Phytotherapy Research:PTR**, v. 30, p. 367–373, 2016.

WEAVER, A.; FLEMING, S.; SMITH, D. Mouthwash and oral cancer: carcinogen or coincidence? **Journal of oral surgery**, v. 37, n. 4, p. 250–253, 1979.

WINN, D. M. et al. Mouthwash in the etiology of oral cancer in Puerto Rico. **Cancer Causes and Control**, v. 12, n. 5, p. 419–429, 2001.

ZAMORA-PEREZ, A. L. et al. Increased number of micronuclei and nuclear anomalies in buccal mucosa cells from people exposed to alcohol-containing mouthwash. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 36, n. 2, p. 255–260, 2013.

ANEXO - Diretrizes da Revista Oral Oncology (em tradução livre)

Os artigos de revisão devem conter um breve resumo indicando o objetivo da revisão, uma introdução, discussão e conclusão. Os artigos de revisão podem conter até 5.000 palavras, 7 figuras e / ou tabelas e 120 referências. Todas as contagens de palavras estão excluindo o resumo, palavras-chave, referências, tabelas e figuras.

Apresentação do Manuscrito: por favor, escreva seu texto em um bom inglês (o uso americano ou britânico é aceito, mas não uma mistura dos dois). Itálico não deve ser usado para expressões de origem latina, por exemplo, *in vivo*, *et al.*, *per se*. Use pontos decimais (não vírgulas); use um espaço para milhares (10.000 e acima).

O texto deve estar em formato de coluna única. Mantenha o layout do texto o mais simples possível. A maioria dos códigos de formatação será removida e substituída no processamento do artigo. Em particular, não use as opções do processador de texto para justificar o texto ou hifenizar palavras. No entanto, use negrito, itálico, subscrito, sobrescrito etc. Ao preparar tabelas, se estiver usando uma grade de tabela, use apenas uma grade para cada tabela individual e não uma grade para cada linha. Se nenhuma grade for usada, use tabulações, não espaços, para alinhar as colunas.

Conflito de interesses: por meio de uma "declaração de conflito de interesses", todos os autores devem divulgar quaisquer relações financeiras e pessoais com outras pessoas ou organizações que possam influenciar inadequadamente (enviesar) seu trabalho. Se não houver conflito de interesses, indique "Nenhum declarado". Este documento deve ser encontrado como uma página separada dentro do manuscrito diretamente abaixo da página de título.

Todas as fontes de financiamento devem ser declaradas como um reconhecimento no final do texto.

Estrutura do artigo

Subdivisão - seções não numeradas: divida seu artigo em seções claramente definidas. Cada subseção recebe um breve título. Cada título deve aparecer em sua própria linha separada. As subseções devem ser usadas tanto quanto possível ao fazer referência cruzada ao texto: consulte a subseção por título em vez de simplesmente 'o texto'.

Introdução: indique os objetivos do trabalho e forneça uma fundamentação adequada, evitando um levantamento detalhado da literatura ou um resumo dos resultados.

Material e métodos: forneça detalhes suficientes para permitir que o trabalho seja reproduzido por um pesquisador independente. Os métodos já publicados devem ser resumidos e indicados por uma referência. Se estiver citando diretamente de um método publicado anteriormente, use aspas e também cite a fonte. Quaisquer modificações nos métodos existentes também devem ser descritas.

Resultados: os resultados devem ser claros e concisos.

Discussão: isso deve explorar a importância dos resultados do trabalho, não os repetir. Uma seção combinada de Resultados e Discussão costuma ser apropriada. Evite citações extensas e discussão da literatura publicada.

Informações essenciais da página de título

- Título. Conciso e informativo. Os títulos são frequentemente usados em sistemas de recuperação de informações. Evite abreviações e fórmulas sempre que possível.

- Nomes e afiliações dos autores. Indique claramente o (s) nome (s) e sobrenome (s) de cada autor e verifique se todos os nomes foram digitados corretamente. Você pode adicionar seu nome entre parênteses em seu próprio script por trás da transliteração em inglês. Apresente os endereços de afiliação dos autores (onde o trabalho real foi feito) abaixo dos nomes. Indique todas as afiliações com uma pequena letra sobrescrita imediatamente após o nome do autor e antes do endereço apropriado.

Forneça o endereço postal completo de cada afiliação, incluindo o nome do país e, se disponível, endereço de e-mail de cada autor.

- Autor correspondente. Indique claramente quem tratará da correspondência em todas as fases da arbitragem

e publicação, também pós-publicação. Essa responsabilidade inclui responder a quaisquer perguntas futuras sobre metodologia e materiais. Certifique-se de que o endereço de e-mail foi fornecido e os detalhes de contato são mantidos atualizados pelo autor para correspondência.

- Endereço atual / permanente. Se um autor mudou desde que o trabalho descrito no artigo foi feito, ou estava visitando, um 'endereço atual' (ou 'endereço permanente') pode ser indicado como uma nota de rodapé para o nome desse autor. O endereço onde o autor realmente fez o trabalho deve ser retido como o endereço de afiliação principal. Números arábicos sobrescritos são usados para essas notas de rodapé.

- Contagem de palavras. Inclua uma contagem de palavras em sua página de título. Sua contagem de palavras deve excluir o resumo, palavras-chave, referências, tabelas e figuras.

Destaques: os destaques são obrigatórios para Artigos Originais de Pesquisa, Artigos de Revisão e Perspectivas. Eles consistem em uma pequena coleção de tópicos que capturam os novos resultados de sua pesquisa, bem como novos métodos que foram usados durante o estudo (se houver).

Exemplo:

From: Cancer Cell, Volume 32, Issue 2, 14 August 2017, Pages 169-184.e7

Highlights

- Metastases mostly disseminate late from primary breast tumors, keeping most drivers
- Drivers at relapse sample from a wider range of cancer genes than in primary tumors
- Mutations in SWI-SNF complex and inactivated JAK-STAT signaling enriched at relapse
- Mutational processes similar in primary and relapse; radiotherapy can damage genome

Os destaques devem ser enviados em um arquivo editável separado no sistema de submissão online. Use 'Destaques' no nome do arquivo e inclua de 3 a 5 marcadores (máximo de 85 caracteres, incluindo espaços, por marcador).

Palavras-chave: imediatamente após o resumo, forneça no máximo dez palavras-chave, a serem escolhidas nos *Medical Subject Headings from Index Medicus*. Essas palavras-chave serão usadas para fins de indexação. Geralmente é necessário incluir palavras-chave como Câncer Oral ou Câncer de Cabeça e Pescoço.

Abreviações: defina as abreviaturas que não sejam padrão neste campo em uma nota de rodapé a ser colocada na primeira página do artigo. As abreviaturas inevitáveis no resumo devem ser definidas na primeira menção lá, bem como no rodapé. Assegure a consistência das abreviaturas em todo o artigo.

Reconhecimentos: reúna os agradecimentos em uma seção separada no final do artigo antes das referências e, portanto, não os inclua na página do título, como nota de rodapé do título ou de outra forma. Liste aqui as pessoas que forneceram ajuda durante a pesquisa (por exemplo, fornecendo ajuda com o idioma, assistência na redação ou leitura de revisão do artigo, etc.).

Formatação de fontes de financiamento: liste as fontes de financiamento desta forma padrão para facilitar o cumprimento dos requisitos do financiador:

Financiamento: Este trabalho foi financiado pelo National Institutes of Health [números de concessão xxxx, yyyy]; a Fundação Bill e Melinda Gates, Seattle, WA [número da concessão zzzz]; e os Institutos de Paz dos Estados Unidos [número de concessão aaaa]. Não é necessário incluir descrições detalhadas sobre o tipo de programas de bolsas e prêmios. Quando o financiamento vier de um subsídio em bloco ou outros recursos disponíveis para uma universidade, faculdade ou outra instituição de pesquisa, envie o nome do instituto ou organização que forneceu o financiamento.

Se nenhum financiamento tiver sido fornecido para a pesquisa, inclua a seguinte frase: Esta pesquisa não recebeu nenhuma bolsa específica de agências de financiamento nos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

Unidades: siga as regras e convenções aceitas internacionalmente: use o sistema internacional de unidades (SI). Se outras unidades forem mencionadas, forneça seu equivalente em SI.

Notas de rodapé: as notas de rodapé devem ser usadas com moderação. Numere-os consecutivamente ao longo do artigo. Muitos processadores de texto podem incluir notas de rodapé no texto e esse recurso pode ser usado. Caso contrário, indique a posição das notas de rodapé no texto e liste as próprias notas de rodapé separadamente no final do artigo. Não inclua notas de rodapé na lista de referências.

Artes

Arte eletrônica

Pontos gerais

- Certifique-se de usar letras e tamanhos uniformes de sua arte original.
- Incorpore as fontes usadas se o aplicativo fornece essa opção.
- Procure usar as seguintes fontes em suas ilustrações: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol ou use fontes que sejam semelhantes.
- Numere as ilustrações de acordo com sua seqüência no texto.
- Use uma convenção de nomenclatura lógica para seus arquivos de arte.
- Forneça legendas para as ilustrações separadamente.

- Dimensione as ilustrações próximo às dimensões desejadas da versão publicada.
- Envie cada ilustração como um arquivo separado.
- Garanta que as imagens coloridas sejam acessíveis a todos, incluindo aqueles com visão de cores prejudicada

Formatos

Se sua arte eletrônica for criada em um aplicativo do Microsoft Office (Word, PowerPoint, Excel), forneça "no estado em que se encontra" no formato de documento nativo. Independentemente do aplicativo usado diferente do Microsoft Office, quando sua arte eletrônica for finalizada, 'Salvar como' ou converta as imagens em um dos seguintes formatos (observe os requisitos de resolução para desenhos de linhas, meios-tons e combinações de linha / meio-tom fornecidos abaixo):

EPS (ou PDF): Desenhos vetoriais, incorpora todas as fontes usadas.

TIFF (ou JPEG): Fotografias coloridas ou em escala de cinza (meios-tons), com um mínimo de 300 dpi.

TIFF (ou JPEG): Desenhos de linha em bitmap (pixels puros em preto e branco), com um mínimo de 1000 dpi.

TIFF (ou JPEG): Combinações de linha de bitmap / meio-tom (colorido ou tons de cinza), mantendo um mínimo de 500 dpi.

Por favor, não:

- Forneça arquivos que são otimizados para uso na tela (por exemplo, GIF, BMP, PICT, WPG); estes normalmente têm um baixo número de pixels e conjunto limitado de cores;
- Forneça arquivos com resolução muito baixa;
- Envie gráficos desproporcionalmente grandes para o conteúdo.

Arte colorida

Certifique-se de que os arquivos de arte estão em um formato aceitável (TIFF (ou JPEG), EPS (ou PDF) ou arquivos do MS Office) e com a resolução correta. Se, junto com seu artigo aceito, você enviar figuras coloridas utilizáveis, a Elsevier garantirá, sem nenhum custo adicional, que essas figuras aparecerão em cores online (por exemplo, ScienceDirect e outros

sites), independentemente de essas ilustrações serem ou não reproduzidas em cores na versão impressa. Para a reprodução em cores na impressão, você receberá informações sobre os custos da Elsevier após o recebimento do artigo aceito. Indique a sua preferência de cor: impressa ou apenas online.

Legendas de figuras

Certifique-se de que cada ilustração tenha uma legenda. Forneça as legendas separadamente, não anexadas à figura. A legenda deve conter um breve título (não na própria figura) e uma descrição da ilustração. Reduza o texto nas próprias ilustrações, mas explique todos os símbolos e abreviações usados.

Tabelas

Numere as tabelas consecutivamente de acordo com o seu aparecimento no texto. Coloque notas de rodapé nas tabelas abaixo do corpo da tabela e indique-as com letras minúsculas sobrescritas. Evite linhas verticais. Seja cauteloso no uso de tabelas e certifique-se de que os dados apresentados nas tabelas não duplicam os resultados descritos em outras partes do artigo.

Notas de rodapé das tabelas

Indique cada nota de rodapé da tabela com uma letra minúscula sobrescrita. Legendas das Figuras, Tabelas, Figuras e Esquemas devem ser apresentadas, nesta ordem, no final do artigo. Elas são descritas em mais detalhes abaixo. Arquivos gráficos de alta resolução devem sempre ser fornecidos separados do arquivo de texto principal.

Referências

Citação no texto

Certifique-se de que todas as referências citadas no texto também estão presentes na lista de referências (e vice-versa). Quaisquer referências citadas no resumo devem ser fornecidas por extenso. Resultados não publicados e comunicações pessoais não são recomendados na lista de referências, mas podem ser mencionados no texto. Se essas referências estiverem incluídas na lista de referências, elas devem seguir o estilo de referência padrão da revista e devem incluir uma substituição da data de publicação por 'Resultados não publicados' ou 'Comunicação pessoal'. A citação de uma referência como 'in press' implica que

o item foi aceito para publicação e uma cópia da página de título do artigo relevante deve ser enviada.

Links de referência

Maior capacidade de descoberta de pesquisas e revisão por pares de alta qualidade são garantidas por links online para as fontes citadas. Para nos permitir criar links para serviços de abstração e indexação, como Scopus, CrossRef e PubMed, certifique-se de que os dados fornecidos nas referências estão corretos. Observe que sobrenomes, títulos de periódicos / livros, ano de publicação e paginação incorretos podem impedir a criação de links. Ao copiar referências, tenha cuidado, pois elas já podem conter erros. O uso do DOI é altamente encorajado. Um DOI tem garantia de nunca mudar, então você pode usá-lo como um link permanente para qualquer artigo eletrônico.

Um exemplo de citação usando DOI para um artigo que ainda não foi publicado é: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Continuação asísmica da laje das Pequenas Antilhas abaixo do nordeste da Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>.

Observe que o formato de tais citações deve ser no mesmo estilo que todas as outras referências no artigo.

Referências da web

No mínimo, o URL completo deve ser fornecido e a data em que a referência foi acessada pela última vez. Quaisquer informações adicionais, se conhecidas (DOI, nomes dos autores, datas, referência a uma publicação fonte, etc.), também devem ser fornecidas. As referências da web podem ser listadas separadamente (por exemplo, após a lista de referência) sob um título diferente, se desejado, ou podem ser incluídas na lista de referência.

Referências de dados

Este jornal encoraja você a citar conjuntos de dados subjacentes ou relevantes em seu manuscrito, citando-os em seu texto e incluindo uma referência de dados em sua Lista de Referência. As referências de dados devem incluir os seguintes elementos: nome (s) do autor, título do conjunto de dados, repositório de dados, versão (quando disponível), ano e identificador persistente global. Adicione [dataset] imediatamente antes da referência para que possamos identificá-lo corretamente como uma referência de dados. O identificador [dataset] não aparecerá em seu artigo publicado.

Estilo de Referência

Nota: Para fins de uso de software para formatar referências, use o estilo de referência AMA.

Texto: indica as referências por número (s) entre colchetes de acordo com o texto. Os autores reais podem ser citados, mas o (s) número (s) de referência sempre devem ser fornecidos.

Lista: Numere as referências (números entre colchetes) na lista na ordem em que aparecem no texto.

Exemplos:

Referência a uma publicação de jornal:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. A arte de escrever um artigo científico. J Sci Commun 2010; 163: 51–9.

Referência a um livro:

[2] Strunk Jr W, White EB. Os elementos de estilo. 4ª ed. Nova York: Longman; 2000.

Referência a um capítulo em um livro editado:

[3] Mettam GR, Adams LB. Como preparar uma versão eletrônica de seu artigo. In: Jones BS, Smith RZ, editores. Introdução à era eletrônica, Nova York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Observe o formato abreviado para o número da última página. por exemplo, 51-9, e que para mais de 6 autores, os primeiros 6 devem ser listados seguidos por 'et al.'

Fonte de abreviações de periódicos

Os nomes das revistas devem ser abreviados de acordo com a Lista de abreviações de palavras de título