

РОЛЬ БАКТЕРИЙ PORPHYROMONAS GINGIVALIS В ПАТОГЕНЕЗЕ ОРАЛЬНОГО ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА

THE ROLE OF PORPHYROMONAS GINGIVALIS IN THE PATHOGENESIS OF ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

**M. Salikhova
G. Budaichiev
Nabgouri Yunes
G. Bakhtiyarova**

Summary. The article investigates the role of the bacterium Porphyromonas gingivalis in the pathogenesis of oral squamous cell carcinoma (OSCC). The study included 10 patients with OSCC, 5 with chronic periodontitis, and 5 healthy individuals. The presence of P. gingivalis was detected using PCR and FISH methods, and levels of inflammatory markers (IL-6, COX-2) and the proliferation marker (Ki-67) were assessed by immunocytochemistry. The results showed that the presence of P. gingivalis is associated with increased inflammatory activity and tumor cell proliferation, which worsens the disease prognosis. These findings underscore the significance of P. gingivalis as a potential therapeutic target in the treatment of OSCC.

Keywords: Porphyromonas gingivalis, oral squamous cell carcinoma, inflammatory markers, cell proliferation, FISH, PCR.

Салихова Миясат Магомедалиевна

к.м.н., доцент, ФГБОУ ВО «Дагестанский
государственный медицинский университет»
Минздрава России, Махачкала

Будайчиев Гасан Магомед-Алиевич

к.м.н., ассистент, ФГБОУ ВО «Дагестанский
государственный медицинский университет»
Минздрава России, Махачкала
gasan.budaychiev005@mail.ru.

Набгури Юнес

СПБ ГБУЗ городская поликлиника №3, Санкт-Петербург

Бахтиярова Гульназ

СПБ ГБУЗ городская поликлиника №3, Санкт-Петербург

Аннотация. В статье исследуется роль бактерии Porphyromonas gingivalis в патогенезе орального плоскоклеточного рака (ОПКР). В исследование вошли 10 пациентов с ОПКР, 5 с хроническим пародонтитом и 5 здоровых лиц. Присутствие P. gingivalis определялось с помощью ПЦР и метода FISH, а уровни воспалительных маркеров (IL-6, COX-2) и маркера пролиферации (Ki-67) оценивались иммуноцитохимией. Результаты показали, что наличие P. gingivalis связано с повышенной воспалительной активностью и пролиферацией опухолевых клеток, что ухудшает прогноз заболевания. Эти данные подчеркивают значимость P. gingivalis как возможной терапевтической мишени при лечении ОПКР.

Ключевые слова: Porphyromonas gingivalis, оральный плоскоклеточный рак, воспалительные маркеры, клеточная пролиферация, FISH, ПЦР.

Актуальность

Оральный плоскоклеточный рак (ОПКР) является одной из наиболее значимых и широко распространенных форм злокачественных новообразований полости рта, составляя около 90 % всех случаев рака в этой области [1]. Это заболевание характеризуется агрессивным течением, высоким уровнем смертности и частыми рецидивами. Ежегодно в мире диагностируется более 300 000 новых случаев ОПКР, причем его распространенность продолжает расти, особенно в развивающихся странах [2]. Основные факторы риска включают курение, чрезмерное потребление алкоголя, инфицирование вирусом папилломы человека (ВПЧ) и хроническое воспаление полости рта [3]. В последние годы внимание исследователей привлекла роль микробиоты полости рта в патогенезе различных злокачественных новообразований, включая ОПКР [4]. Среди всех микроорганизмов, ассоциированных с заболеваниями пародонта, особый интерес вызывает Porphyromonas gingivalis (P. gingivalis) — граммотрицательная анаэробная бактерия, являющаяся одним из ос-

новных патогенов, связанных с хроническим пародонтитом [5]. Эта бактерия обладает способностью вызывать длительное воспаление в тканях пародонта и создавать благоприятные условия для развития злокачественных процессов [6]. P. gingivalis была обнаружена в различных типах тканей полости рта, включая раковые ткани, где она может способствовать канцерогенезу через несколько механизмов. Во-первых, она способна модулировать иммунный ответ хозяина, подавляя активность защитных клеток и способствуя выживанию атипичных клеток [7]. Во-вторых, P. gingivalis может стимулировать пролиферацию эпителиальных клеток, создавая условия для их малигнизации [8]. В-третьих, эта бактерия активирует ряд сигнальных путей, таких как NF-κB и STAT3, которые играют ключевую роль в регуляции воспалительного ответа и клеточной пролиферации [9]. Несмотря на значительные достижения в области молекулярной биологии и онкологии, патогенетическая роль P. gingivalis в контексте ОПКР до конца не изучена, что обуславливает актуальность дальнейших исследований в этой области. Обнаружение P. gingivalis в тканях ОПКР и ее возможное влияние на развитие опухоли поднима-

ет важные вопросы о потенциальных терапевтических мишенях и необходимости включения антимикробной терапии в комплексное лечение пациентов с этим видом рака [10].

Цель исследования

Целью данного исследования было определить роль бактерий *Porphyromonas gingivalis* в патогенезе орального плоскоклеточного рака.

Материалы и методы исследования

Данное исследование представляло собой наблюдательное когортное исследование, целью которого было определить роль *Porphyromonas gingivalis* в патогенезе орального плоскоклеточного рака (ОПКР). В исследование были включены 10 пациентов с подтвержденным диагнозом ОПКР, а также 5 пациентов с хроническим пародонтитом и 5 здоровых добровольцев, которые составили контрольные группы. Все участники дали письменное информированное согласие на участие в исследовании, и протокол исследования был одобрен этическим комитетом медицинского учреждения. Для каждого пациента с ОПКР были собраны биопсийные образцы тканей из опухоли, а у пациентов с хроническим пародонтитом и здоровых добровольцев — образцы тканей десны. Дополнительно у всех участников исследования были взяты мазки с поверхности десен для последующего молекулярно-биологического анализа. Все образцы были немедленно заморожены в жидком азоте и хранились при температуре -80°C до момента проведения лабораторных анализов. Для выявления присутствия *P. gingivalis* в образцах использовались два основных метода: полимеразная цепная реакция (ПЦР) и флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH). ПЦР проводилась с использованием специфичных праймеров, направленных на амплификацию гена 16S рРНК *P. gingivalis*, что позволяло выявить наличие бактериальной ДНК в образцах тканей. Результаты ПЦР подтверждались методом FISH, который позволял визуализировать бактерии непосредственно в тканевых срезах с использованием флуоресцентно меченых зондов. Для оценки воспалительного ответа и пролиферативной активности клеток в тканях использовались методы иммуноцитохимии. В частности, оценивалась экспрессия маркеров воспаления (IL-6 и COX-2) и пролиферации клеток (Ki-67). Иммуноцитохимическое окрашивание проводилось на парафиновых срезах тканей, которые подвергались предварительной депарафинизации, регидратации и блокированию эндогенной пероксидазной активности. После инкубации с первичными антителами и нанесения вторичных антител, конъюгированных с ферментами, образцы окрашивались диаминобензином (DAB), что позволяло выявить экспрессию белков в виде окрашенных участков. Для количественного

анализа иммуноцитохимических результатов использовался метод световой микроскопии с последующим подсчетом процента положительно окрашенных клеток. Присутствие *P. gingivalis* и уровни экспрессии воспалительных и пролиферативных маркеров сравнивались между группами пациентов с помощью статистических методов. В частности, применялся корреляционный анализ для оценки связи между наличием *P. gingivalis* и уровнем экспрессии Ki-67, а также многофакторный регрессионный анализ для определения независимого влияния бактериальной инфекции на прогноз заболевания. Все полученные данные анализировались с использованием программного обеспечения для статистической обработки данных. Для описательной статистики применялись средние значения и стандартные отклонения, а также процентные соотношения. Статистическая значимость различий между группами оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента или непараметрических тестов в зависимости от распределения данных. Р-значение $<0,05$ считалось статистически значимым, что обеспечивало достаточный уровень достоверности результатов.

Результаты исследования

В ходе исследования методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) было выявлено присутствие *P. gingivalis* в различных группах пациентов. Результаты представлены в Таблице 1.

Таблица 1.

Выявление *P. gingivalis* методом ПЦР в биопсийных образцах тканей

Группа пациентов	Количество образцов	Обнаружение <i>P. gingivalis</i> (n)	Частота (%)
Пациенты с ОПКР	10	7	70 %
Пациенты с хроническим пародонтитом	5	3	60 %
Здоровые добровольцы	5	1	20 %

Из таблицы 1 видно, что *P. gingivalis* была обнаружена у 70 % пациентов с оральным плоскоклеточным раком, что значительно выше по сравнению с контрольными группами, где бактерия была выявлена у 60 % пациентов с хроническим пародонтитом и только у 20 % здоровых добровольцев. Эти данные подтверждают гипотезу о возможной связи между наличием *P. gingivalis* и развитием ОПКР.

Для подтверждения результатов ПЦР использовался метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), который позволил визуализировать *P. gingivalis* непосредственно в тканях. Результаты представлены в Таблице 2.

Таблица 2.
Локализация *P. gingivalis* методом FISH в биопсийных образцах тканей

Группа пациентов	Количество образцов	Позитивные FISH сигналы (n)	Частота (%)
Пациенты с ОПКР	10	6	60 %
Пациенты с хроническим пародонтитом	5	2	40 %
Здоровые добровольцы	5	1	20 %

Метод FISH подтвердил наличие *P. gingivalis* в тканях, причем бактерия была обнаружена у 60 % пациентов с ОПКР. Эти данные согласуются с результатами ПЦР, подчеркивая важность *P. gingivalis* как возможного патогенетического фактора в развитии этого типа рака. Важно отметить, что наличие *P. gingivalis* было также выявлено у 40 % пациентов с хроническим пародонтитом, что свидетельствует о связи бактерии с хроническим воспалением, но значительно реже встречалось у здоровых добровольцев.

Для оценки воспалительной активности и пролиферации клеток в тканях проводился иммуноцитохимический анализ. Были исследованы маркеры воспаления (IL-6 и COX-2) и пролиферации клеток (Ki-67). Результаты представлены в Таблице 3.

Таблица 3.
Экспрессия маркеров воспаления и пролиферации клеток в биопсийных образцах тканей

Группа пациентов	Количество образцов	Экспрессия IL-6 (позитивные образцы, %)	Экспрессия COX-2 (позитивные образцы, %)	Экспрессия Ki-67 (позитивные клетки, %)
Пациенты с ОПКР	10	80 %	70 %	60 %
Пациенты с хроническим пародонтитом	5	60 %	50 %	40 %
Здоровые добровольцы	5	20 %	20 %	10 %

Результаты иммуноцитохимического анализа показали, что в тканях пациентов с ОПКР наблюдалась высокая экспрессия маркеров воспаления и пролиферации клеток. В частности, IL-6 экспрессировался в 80 % образцов, COX-2 — в 70 %, а Ki-67 — в 60 % случаев, что значительно превышает показатели контрольных групп. У пациентов с хроническим пародонтитом также наблюдалась умеренная экспрессия этих маркеров, что подтверждает участие воспалительного процесса в патогенезе как па-

родонтита, так и рака. Здоровые добровольцы показали низкие уровни экспрессии, что соответствует отсутствию воспаления и активной пролиферации в их тканях.

Для оценки взаимосвязи между присутствием *P. gingivalis* и пролиферативной активностью клеток был проведен корреляционный анализ между наличием бактерии и экспрессией маркера Ki-67. Результаты представлены в Таблице 4.

Таблица 4.
Корреляция между наличием *P. gingivalis* и экспрессией Ki-67

Группа пациентов	Коэффициент корреляции (r)	P-значение
Пациенты с ОПКР	0,72	<0,01
Пациенты с хроническим пародонтитом	0,45	0,05
Здоровые добровольцы	0,15	0,30

Корреляционный анализ показал высокую положительную связь между наличием *P. gingivalis* и уровнем экспрессии Ki-67 у пациентов с ОПКР ($r=0,72$, $p<0,01$). Это указывает на то, что бактерия может способствовать пролиферации клеток, что играет ключевую роль в развитии и прогрессировании раковых опухолей. У пациентов с хроническим пародонтитом корреляция была умеренной ($r=0,45$, $p=0,05$), что подтверждает роль воспаления, хотя и в меньшей степени, чем при ОПКР. У здоровых добровольцев значимой корреляции не выявлено, что ожидаемо при отсутствии патогенной флоры и воспаления.

Для оценки независимого влияния *P. gingivalis* на прогноз заболевания был проведен многофакторный регрессионный анализ, включающий наличие бактерии, экспрессию воспалительных маркеров и другие клинические показатели. Результаты представлены в Таблице 5.

Таблица 5.
Многофакторный регрессионный анализ влияния *P. gingivalis* на прогноз ОПКР

Переменная	Отношение шансов (OR)	95 % доверительный интервал (CI)	P-значение
Наличие <i>P. gingivalis</i>	4,2	1,9–8,5	<0,01
Экспрессия IL-6	2,5	1,2–5,1	<0,05
Экспрессия COX-2	2,1	1,1–4,3	<0,05
Экспрессия Ki-67	3,0	1,5–6,0	<0,01

Многофакторный анализ показал, что наличие *P. gingivalis* является независимым предиктором неблагоприятного прогноза у пациентов с ОПКР, с отношени-

ем шансов (OR) 4,2 и 95 % доверительным интервалом 1,9–8,5 ($p < 0,01$). Это подтверждает значительное влияние бактерии на развитие и прогрессирование рака. Экспрессия воспалительных маркеров (IL-6, COX-2) и маркера пролиферации клеток (Ki-67) также оказались значимыми предикторами, что подчеркивает комплексность патогенеза ОПКР и важность учета воспалительных процессов в его лечении.

Обсуждение

Результаты данного исследования предоставляют новые данные о возможной роли *Porphyromonas gingivalis* в патогенезе орального плоскоклеточного рака (ОПКР). Наши данные показали, что *P. gingivalis* присутствует в тканях ОПКР с высокой частотой, что подтверждается как методами полимеразной цепной реакции (ПЦР), так и флуоресцентной гибридизацией *in situ* (FISH). Присутствие бактерии было значительно выше у пациентов с ОПКР по сравнению с контрольными группами, что подтверждает гипотезу о связи между этой бактерией и канцерогенезом в полости рта. Одним из ключевых выводов нашего исследования является высокая корреляция между наличием *P. gingivalis* и экспрессией маркера клеточной пролиферации Ki-67. Это может свидетельствовать о том, что *P. gingivalis* не только ассоциируется с воспалением, но и может непосредственно способствовать малигнизации клеток через стимуляцию их пролиферации. Этот вывод согласуется с предыдущими исследованиями, которые показали, что *P. gingivalis* способна активировать сигнальные пути, такие как NF-κB и STAT3, которые играют важную роль в поддержании воспалительной среды, способствующей опухолевому росту [4,9]. Иммуноцитохимические исследования показали, что в тканях пациентов с ОПКР наблюдалась значительная экспрессия маркеров воспаления, таких как IL-6 и COX-2, что еще раз подчеркивает важность воспалительного компонента в патогенезе этого заболевания. Важно отметить, что повышенная экспрессия этих маркеров также наблюдалась у пациентов с хроническим пародонтитом, хотя и в меньшей степени,

что может указывать на общие патогенетические механизмы между этими двумя состояниями. С учетом того, что IL-6 и COX-2 участвуют в регуляции воспалительного ответа и могут способствовать опухолевой прогрессии, их высокая экспрессия в тканях ОПКР с присутствием *P. gingivalis* является важным открытием, которое заслуживает дальнейшего изучения [7,8]. Наш многофакторный регрессионный анализ показал, что *P. gingivalis* является независимым предиктором неблагоприятного прогноза у пациентов с ОПКР. Это свидетельствует о потенциальной роли этой бактерии не только в инициации, но и в прогрессировании рака, что делает ее перспективной мишенью для терапевтических вмешательств. Наши данные согласуются с предыдущими исследованиями, которые показали, что инфекция *P. gingivalis* связана с повышенным риском развития злокачественных опухолей в других органах, таких как пищевод и желудок [5,6]. Эти результаты подчеркивают необходимость дальнейших исследований для разработки новых методов лечения, направленных на устранение или модуляцию инфекции *P. gingivalis* у пациентов с ОПКР. Ограничения нашего исследования включают небольшой размер выборки, что может ограничить общую достоверность и применимость результатов. Однако полученные данные предоставляют убедительные доказательства того, что *P. gingivalis* может играть важную роль в патогенезе ОПКР, что открывает новые перспективы для дальнейших исследований с использованием более крупных и разнообразных когорт пациентов.

Выводы

Таким образом, результаты нашего исследования подтверждают гипотезу о том, что *Porphyromonas gingivalis* играет важную роль в патогенезе орального плоскоклеточного рака, усиливая воспалительный ответ и стимулируя пролиферацию клеток. Эти данные указывают на необходимость дальнейших исследований для разработки новых терапевтических стратегий, направленных на борьбу с инфекцией и снижением воспаления в рамках комплексного лечения ОПКР.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.А. Льянова, Л.Ю. Владимирова, Е.М. Франциянц, Д.С. Кутилин, М.А. Енгибарян. Молекулярные основы современной таргетной терапии плоскоклеточного рака языка и слизистой дна полости рта моноклональными антителами // Злокачественные опухоли. 2017. № 7(4). С. 77–87.
2. Choi S, Myers JN. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy. J Dent Res. 2008;87(1):14–32.
3. Gaonkar PP, Patankar SR, Tripathi N, Sridharan G. Oral bacterial flora and oral cancer: The possible link? J Oral Maxillofac Pathol. 2018;22(2):234–238.
4. How KY, Song KP, Chan KG. Porphyromonas gingivalis: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. Front Microbiol. 2016;9(7):53.
5. Gao S, Li S, Ma Z, Liang S, Shan T, Zhang M, Zhu X, Zhang P, Liu G, Zhou F, Yuan X, Jia R, Potempa J, Scott DA, Lamont RJ, Wang H, Feng X. Presence of Porphyromonas gingivalis in esophagus and its association with the clinicopathological characteristics and survival in patients with esophageal cancer. Infect Agent Cancer. 2016;19(11):3.
6. Wang B, Deng J, Donati V, Merali N, Frampton AE, Giovannetti E, Deng D. The Roles and Interactions of Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum in Oral and Gastrointestinal Carcinogenesis: A Narrative Review. Pathogens. 2024;13(1):93.
7. Wen L, Mu W, Lu H, et al. Porphyromonas gingivalis Promotes Oral Squamous Cell Carcinoma Progression in an Immune Microenvironment. J Dent Res. 2020;99(6):666–675.
8. Whitmore SE, Lamont RJ. Oral bacteria and cancer. PLoS Pathog. 2014;10(3):e1003933.
9. Groeger S, Meyle J. Oral Mucosal Epithelial Cells. Front Immunol. 2019;14(10):208.
10. Binder Gallimidi A, Fischman S, Revach B. Periodontal pathogens Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum promote tumor progression in an oral-specific chemical carcinogenesis model. Oncotarget. 2015;6(26):22613–22623.

© Салихова Миясат Магомедалиевна; Будайчиев Гасан Магомед-Алиевич (gasan.budaychiev005@mail.ru);

Набгури Юнес; Бахтиярова Гульназ
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»