

DOI: 10.17650/2222-1468-2021-11-3-83-93



Пародонтопатогенная микрофлора как фактор риска развития плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта

А.Э. Казимов¹, З.В. Григорьевская¹, М.А. Кропотов¹, Н.С. Багирова¹, И.Н. Петухова¹, И.В. Терещенко¹, М.Б. Пак²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²Клинический госпиталь «Лапино»; Россия, 143081 Московская обл., Одинцовский р-н, д. Лапино, 1-е Успенское шоссе, 111

Контакты: Александр Эркинович Казимов mr.kazimov@yandex.ru

Введение. Сегодня активно обсуждается ассоциативная роль бактериального фактора в развитии как первичных злокачественных опухолей слизистой оболочки полости рта, так и рецидивов. В опубликованной нами ранее статье уже были описаны возможные механизмы действия пародонтопатогенной микрофлоры и ее связь с развитием плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта через пролиферацию клеток, внутриклеточное накопление патогена, репликацию ДНК и влияние на сигнальные пути МАРК (митоген-активируемой протеинкиназы).

Цель исследования – проанализировать влияние инфекционных агентов (пародонтопатогенов) на развитие основного заболевания и рецидивов у больных плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта, а также оценить информативность культурального метода исследования и амплификации ДНК пародонтопатогенной микрофлоры.

Материалы и методы. Проведены культуральное исследование и определение ДНК пародонтопатогенов в опухолевой ткани методом полимеразной цепной реакции у 35 больных раком слизистой оболочки полости рта стадии Т3–4. Исследованы 5 образцов опухолевой ткани из ранее заготовленных парафиновых блоков и 30 свежезамороженных биоматериалов от первичных ($n = 15$) и повторных ($n = 15$) больных.

Результаты. Анализ результатов исследований показал, что в случае выявления возможных этиологических агентов и предикторов плоскоклеточного рака (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*) метод ДНК-амплификации является более чувствительным, чем культуральный ($p < 0,001$). Так, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola* выделены только с помощью полимеразной цепной реакции, в то время как в ходе культурального исследования они обнаружены не были. Однако при диагностике *Prevotella intermedia* традиционный культуральный метод оказался более результативным. У первичных пациентов при ассоциации всех изучаемых пародонтопатогенов с *Treponema denticola* (метод определения ДНК) рецидивы отмечены в 3–100 % случаев в зависимости от сочетания с другими анаэробами, а у повторных больных – в 66,6 %.

Заключение. Сочетание культурального метода и метода полимеразной цепной реакции при исследовании пародонтопатогенной микрофлоры показало высокую эффективность в выявлении возможных предикторов плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта и в предупреждении развития хронических инфекционных заболеваний пародонта.

Ключевые слова: пародонтопатогены, плоскоклеточный рак, *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*

Для цитирования: Казимов А.Э., Григорьевская З.В., Кропотов М.А. и др. Пародонтопатогенная микрофлора как фактор риска развития плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта. Опухоли головы и шеи 2021;11(3):83–93. DOI: 10.17650/2222-1468-2021-11-3-83-93.

Periodontal pathogens as a risk factor for oral squamous cell carcinoma

A.E. Kasimov¹, Z.V. Grigorievskaya¹, M.A. Kropotov¹, N.S. Bagirova¹, I.N. Petukhova¹, I.V. Tereshchenko¹, M.B. Pak²

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²Lapino Clinical Hospital, 111 1st Uspenskoe Hwy, Lapino Village Odintsovsky Dist., Moscow region, Russia

Contacts: Alexander Erkinovich Kazimov mr.kazimov@yandex.ru

Introduction. The associative role of the bacterial factor in the development of both primary malignant tumors of the oral mucosa and relapses is being actively discussed today. In the article published earlier, we have already described the possible mechanisms of action of periodontopathogenic microflora and its connection with the development of squamous cell carcinoma of the oral mucosa through cell proliferation, intracellular accumulation of pathogen, DNA replication and affect the signaling pathways of MARK (mitogen-activated protein kinase).

Objective – to analyze the impact of periodontal pathogens on the risk of oral squamous cell carcinoma and its recurrence, as well as to evaluate the role of polymerase chain reaction and bacterial culture in the diagnosis of squamous cell carcinoma.

Materials and methods. This study included 35 patients with stage T3–4 squamous cell carcinoma, whose tumor tissue samples were tested for periodontal pathogens using culture and PCR. We analyzed 5 paraffin-embedded and 30 frozen tissue blocks from newly diagnosed ($n = 15$) and re-treatment ($n = 15$) patients.

Results. We found that PCR was more sensitive than culture for the detection of possible etiological agents and predictors of squamous cell carcinoma (including *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, and *Treponema denticola*) ($p < 0.001$). For example, *Tannerella forsythia* and *Treponema denticola* were detected only using PCR, whereas all cultures were negative. However, conventional culture proved to be more effective than PCR for the detection of *Prevotella intermedia*. Between 3 % and 100 % of newly diagnosed patients tested positive for *Treponema denticola* and some other periodontal pathogens (PCR) developed relapses, whereas among re-treatment patients, this proportion was 66.6 %.

Conclusion. The combination of the culture method and the polymerase chain reaction method in the study of periodontopathogenic microflora has shown high efficiency in identifying possible predictors of squamous cell carcinoma of the oral mucosa and in preventing the development of chronic infectious periodontal diseases.

Key words: periodontal pathogens, squamous cell carcinoma, *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*

For citation: Kasimov A.E., Grigorievskaya Z.V., Kropotov M.A. et al. Periodontal pathogens as a risk factor for oral squamous cell carcinoma. *Opukholi golovy i shei* = Head and Neck Tumors 2021;11(3):83–93. DOI: 10.17650/2222-1468-2021-11-3-83-93.

Введение

Длительное время в этиологии гнойно-воспалительных заболеваний зубочелюстной системы ведущая роль отводилась аэробам (в основном стрепто- и стафилококковым бактериям). Это было связано с исследованиями, в которых бактерии стрепто-стафилококковой группы выделялись в экссудате, биоптате и отделяемом, взятом из гнойного очага. Развитие современных методов микробиологической диагностики позволило установить видовой состав микрофлоры заболеваний и хронического воспаления челюстно-лицевой области. С помощью анаэробного культивирования и метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) было выявлено, что бактерии с анаэробным типом дыхания являются определяющими в этиологии гнойно-воспалительных заболеваний. На их долю приходится 65–67 % выделяемых штаммов [1–3].

По мнению отечественных и зарубежных авторов, заболевания пародонта вызывают следующие микроорганизмы, а точнее, их пародонтопатогенные эндотоксины: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium species* и *Treponema denticola*. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola* составляют так называемый «красный комплекс», который связывают с образованием глубоких кровотокающих десневых карманов. К пародонтогенным эндотоксинам относятся токсины (эндотоксин, гемолизин, лейкоцидин), ферменты агрессии (коллагеназа, нейраминидаза, дезоксирибонуклеаза, гепариназа, фибринолизин)

и метаболиты (летучие и длинноцепочечные жирные кислоты) [1, 2, 4–9].

В здоровой десневой щели патогенные агенты пародонта не определяются или обнаруживаются в очень небольших количествах. Однако низкий уровень гигиены полости рта, снижение защитных функций организма и образование зубных бляшек, способствующих росту прихотливых анаэробных грамотрицательных бактерий, могут привести к хроническим, длительно текущим воспалительным процессам, а также к селективной колонизации десневых щелей и зубодесневых карманов бактериями, вызывающими заболевания пародонта. Все вышеописанное приводит к изменению водородного показателя (pH) (в норме среда десневой щели щелочная; pH — 7,5–8,5), окислительно-восстановительного потенциала, нормальной функции слюноотделения и коагрегации различных бактериальных видов [1, 10–12].

По степени вирулентности выделяют 2 группы пародонтопатогенов: 1-го и 2-го порядка. К пародонтопатогенам 1-го порядка относятся бактерии, в отношении которых выявлены строгие ассоциации с прогрессированием заболевания. Пародонтопатогены 2-го порядка — это бактерии, играющие второстепенную роль в развитии заболевания пародонта.

К пародонтопатогенам 1-го порядка относят *Tannerella forsythia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* и др. Эти бактерии отличаются выраженной тенденцией к внутриклеточному паразитированию

в десневом эпителии и тканях пародонта и распространяются по типу экзогенного инфекционного агента. Наиболее агрессивным пародонтопатогеном является *Porphyromonas gingivalis* — пигментообразующая бактерия, экспрессирующая 3 сильных фактора вирулентности (фимбрии, гингипаины и липополисахарид), непосредственно участвующих в разрушении тканей пародонта и костной ткани [1, 13–19].

Actinobacillus actinomycetemcomitans — это грамотрицательная неподвижная факультативно анаэробная коккобацилла, которая вырабатывает эндотоксин, разрушающий лейкоциты, моноциты и нейтрофилы (лейкотоксин), и существенно снижает местный иммунитет. Лейкотоксин вызывает образование пор в клеточных мембранах и в высоких концентрациях вызывает лизис клеток [1, 13–15, 17].

Tannerella forsythia на сегодняшний день наименее изучена. Достоверно известно, что она продуцирует протео- и гликолитические ферменты, активность которых коррелирует с клиническими признаками пародонтита. Эта бактерия может индуцировать клеточный апоптоз. При добавлении экстракта *Tannerella forsythia* к HL60 и другим клеточным линиям наблюдается ряд явлений, характерных для апоптозных процессов (активация каспазы-3, образование пор в мембранах митохондрий и др.) [1].

К пародонтопатогенам 2-го порядка относят *Streptococcus intermedius*, *Actinomyces spp.*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium spp.* и др. По вирулентности они значительно уступают пародонтопатогенам 1-го порядка, однако имеют ряд особенностей. Например, *Prevotella intermedia* выделяет эндотоксин, активность которого превышает действие липополисахарида бактериоидов. Кроме того, продуцируемая *Prevotella intermedia* фосфолипаза А нарушает целостность мембран эпителиальных клеток, что приводит к их гибели. Особенность *Fusobacterium spp.* — продуцирование фосфолипазы А и лейкоцидина. При возникновении поражений лейкоцидин оказывает цитотоксическое действие на различные клетки, тогда как фосфолипаза облегчает инвазию бактерий в глубокие ткани. *Treponema denticola* может образовывать комплексы с другими бактериями, способствуя тем самым распространению воспалительного процесса. Наиболее часто этот вид образует ассоциации с *Porphyromonas gingivalis* и *Tannerella forsythia*. Также отмечена способность этого микроорганизма к выработке химотрипсин-подобной протеиназы. Присутствие *Treponema denticola* в десневой щели, помимо других пародонтопатогенов, является предиктором генерализации воспалительного процесса [1, 13–15, 20].

Porphyromonas gingivalis, *Prevotella intermedia* и *Prevotella melaninogenica* разрушают иммуноглобулины А, G и М, компоненты комплемента С3 и С5, играющие большую роль в опсонизации и фагоцитозе. Бактеро-

иды способны усиливать экссудацию в десневые щели и зубодесневые карманы и подавлять рост других микроорганизмов [1].

Иными словами, *Porphyromonas gingivalis* может нарушить равновесие биотопов полости рта, что приводит к дисбиотическому взаимодействию хозяина и микробиоты. Впоследствии другие представители микробного сообщества, такие как *Fusobacterium nucleatum*, могут стать условно-патогенными. Комбинированное же действие дисбиотического микробного сообщества наряду со сниженным иммунным ответом в конечном счете приводит к заболеваниям пародонта.

Сегодня активно обсуждается ассоциативная роль бактериального фактора в развитии как первичных злокачественных опухолей слизистой оболочки полости рта, так и рецидивов [21–24]. В опубликованной нами ранее статье уже были описаны возможные механизмы действия пародонтопатогенной микрофлоры и ее связь с развитием плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта (РСОПР) через пролиферацию клеток, внутриклеточное накопление патогена, репликацию ДНК и влияние на сигнальные пути MAPK (митоген-активируемой протеинкиназы) [25].

В тканях пародонта моноциты/макрофаги, нейтрофилы, фибробласты и тучные клетки являются основными источниками интерлейкина 1β (ИЛ-1β). Кроме того, данные клетки синтезируют его в ответ на активацию под действием липополисахарида — основного компонента клеточных стенок грамотрицательных бактерий. ИЛ-1β вызывает образование остеокластов и резорбцию костей, что приводит к местным воспалительным изменениям в пародонте. К тому же этот цитокин стимулирует высвобождение фосфолипазы А2, простагландинов, белков острой фазы, провоспалительного цитокина ИЛ-6, фактора некроза опухоли (TNF) и многих металлопротеиназ (ММР) [26]. Он также активирует эндотелиальные клетки, чтобы продуцировать фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и другие проангиогенные факторы (например, TNF), которые обеспечивают воспалительное микроокружение для ангиогенеза и прогрессирования опухоли [27]. Высокое содержание ИЛ-1β связано с инвазией опухоли, более агрессивным ее фенотипом, а также с миграцией опухолевых клеток [28]. Миграции способствует низкая экспрессия эпителиального кадгерина (Е-кадгерина) [29]. Она коррелирует с нарушениями клеточных функций, ингибированием роста, апоптозом, остановкой клеточного цикла и дифференцировкой. Это приводит к возникновению агрессивной карциномы с более выраженной склонностью к инвазии, а также к снижению показателей выживаемости пациентов [30, 31]. Одновременно ИЛ-1β индуцирует ММР-9, которая играет большую роль в локальной деградации внеклеточного матрикса и опухолевой инвазии. Утрата адгезии посредством Е-кадгерина и увеличение

индуцированной MMP-9 миграции являются важными маркерами перехода эпителиальных опухолей из доброкачественного состояния в злокачественное [29].

Эндотоксин *Treponema denticola* (Td-CTLP — *Treponema denticola* химотрипсинподобная протеиназа) способен разрушать ингибиторы TIMP-1 (тканевого ингибитора металлопротеиназы 1), TIMP-2, α -1-антихимотрипсин и комплемент C1q, а также превращать proMMP-8 и MMP-9 в их активные формы. В свою очередь, доказано, что MMP регулируют инвазию опухолевых клеток, экстравазацию, ангиогенез, воспаление и оказывают значительное влияние на микроокружение опухоли [20, 32–34, 35–37].

Porphyromonas gingivalis может подавлять химически индуцированный апоптоз и апоптоз в эпителиальных клетках [38–41].

Секреция нуклеозид-дифосфаткиназы (NDK) *Porphyromonas gingivalis* может дополнительно модулировать АТФ-индуцированные цитозольные и митохондриальные активные формы кислорода (АФК), а также антиоксидантный глутатионовый ответ, генерируемый посредством взаимодействия P2X7/NADPH-оксидазы [42]. Активные формы кислорода способны выступать ключевым медиатором активации факторов транскрипции, связанных с воспалением и развитием рака [43]. Более того, *Porphyromonas gingivalis* продуцирует цистеиновые протеиназы, называемые гингипаинами, которые могут расщеплять профермент MMP-9, превращая его в зрелую активную форму. Этот процесс зависит от NF- κ B. Активация MMP-9 гингипаинами вызывает деградацию структуры базальной мембраны, что способствует миграции и инвазии клеток карциномы [44].

Некоторые бактерии, встречающиеся в полости рта (например, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и *Fusobacterium nucleatum*), продуцируют летучие соединения серы (VSC), такие как сероводород (H_2S), метилмеркаптан (метантиол — CH_3SH), диметилсульфид ($(CH_3)_2S$), и диметилдисульфид (CH_3SSCH_3). Сероводород находится в наибольшей концентрации в воздухе внутри ротовой полости, в то время как в десневых карманах преобладающим веществом является CH_3SH [45]. Даже в низких концентрациях VSC токсичны для тканей и играют большую роль в патогенезе периодонтита и развитии хронического воспаления [46]. Сероводород — известный генотоксический агент, который может привести к геномной нестабильности или кумулятивным мутациям [47].

Материалы и методы

В 2019–2020 гг. мы выполнили проспективное исследование, в котором участвовали 35 пациентов с плоскоклеточным РСОПР. В его ходе были проведены культуральное исследование и ДНК-исследование

пародонтопатогенов в опухолевой ткани методом ПЦР.

Возраст больных варьировал от 39 до 84 лет (медиана 61,5 года). Исследованы 5 образцов опухолевой ткани из ранее заготовленных парафиновых блоков и 30 свежемороженых биоматериалов от первичных ($n = 15$) и повторных ($n = 15$) больных.

Самой частой анатомической локализацией опухоли был язык — в 12 (34,3 %) случаях. У 7 (20 %) пациентов процесс локализовался в области дна полости рта, у 6 (17,1 %) — в слизистой оболочке альвеолярного отростка нижней челюсти, у 6 (17,1 %) — в слизистой оболочке альвеолярного отростка верхней челюсти. Реже всего поражались верхняя губа и твердое небо (по 1 (2,8 %) случаю).

На 1-м этапе у всех пациентов с помощью стерильных тампонов произведен забор биологических материалов с поверхности опухоли, которые были доставлены в лабораторию в стерильных контейнерах с транспортной средой. Забор образцов опухолевой ткани и здоровой слизистой оболочки полости рта после удаления макропрепарата проводили в условиях операционной. Размер биоматериала составил 5 мм³. Затем взятые ткани были помещены в криобирки и низкотемпературную морозильную камеру Sonyo MDF-193. В течение 24 ч образцы хранились при температуре –80 °C. В лабораторию их транспортировали с помощью термоконтейнера с холодowymi аккумуляторами.

На 2-м этапе аэробные и анаэробные компоненты микробиоты из образцов с поверхности опухолевого процесса (мазки) исследовали по стандартной методике с использованием искусственных питательных сред. Для идентификации чистой культуры микроорганизмов применяли масс-спектрометрический анализ белковой фракции микробной клетки на приборе *Microflex LT MALDI-TOF*. Идентификацию производили в соответствии с инструкцией производителя.

На 2-м этапе замороженные ткани подвергали постепенной разморозке при комнатной температуре с последующим определением ДНК методом ПЦР. Для ПЦР-амплификации *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* (*Bacteroides forsythus*), *Treponema denticola* использовали набор реагентов «Пародонтоскрин», который применяется как в реальной диагностической практике, так и в научно-исследовательских целях.

Каждый образец выделенной ДНК был соответствующим образом пронумерован. К индексам образцов опухолевой ткани добавлялось обозначение «О» («опухоль»), а к индексам образцов здоровой слизистой оболочки — обозначение «С» («слизистая»). Забор здоровой слизистой осуществляли для выявления контаминации исследуемых микроорганизмов с этой слизистой в опухолевую ткань.

Таблица 1. Содержание пародонтопатогенов в биологических материалах, выделенных методом полимеразной цепной реакции и при микроскопическом исследовании мазков с поверхности опухоли

Table 1. Identification of periodontal pathogens using polymerase chain reaction and microscopy of smears from the tumor surface

| Номер пробы Sample number | Анализируемые бактерии Bacteria analyzed | | | | | | | | | | | |
|--|---|--------|----------------|------------------------------|--------|----------------|---|--------|----------------|----------------------------|--------|----------------|
| | <i>Porphyromonas gingivalis</i> | | | <i>Prevotella intermedia</i> | | | <i>Tannerella forsythia</i> (<i>Bacteroides forsythus</i>) | | | <i>Treponema denticola</i> | | |
| | ПЦР PCR | | Мазок Smear | ПЦР PCR | | Мазок Smear | ПЦР PCR | | Мазок Smear | ПЦР PCR | | Мазок Smear |
| | С N | О T | О T | С N | О T | О T | С N | О T | О T | С N | О T | О T |
| Первичные пациенты Newly diagnosed patients | | | | | | | | | | | | |
| 1 | — | + | — | — | + | — | — | — | — | — | — | — |
| 2 | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 3 | + | + | — | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 4 | + | + | — | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 5 | + | + | — | + | — | + | + | — | — | — | + | — |
| 6 | + | — | — | + | — | + | — | — | — | + | — | — |
| 7 | + | + | — | + | — | + | + | — | — | — | + | — |
| 8 | — | — | — | — | — | — | + | + | — | — | + | — |
| 9 | + | — | — | + | — | + | — | + | — | — | + | — |
| 10 | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | + | — |
| 11 | — | — | — | — | + | + | — | + | — | — | + | — |
| 12 | + | + | — | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 13 | — | + | — | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 14 | + | + | — | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 15 | + | + | — | — | + | + | — | + | — | — | + | — |
| Повторные пациенты Re-treatment patients | | | | | | | | | | | | |
| 1 | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 2 | + | + | + | + | + | + | — | — | — | + | + | — |
| 3 | + | + | — | + | + | + | — | + | — | — | + | — |
| 4 | — | + | — | — | + | + | — | + | — | — | + | — |
| 5 | + | + | — | + | + | + | — | + | — | — | + | — |
| 6 | + | + | — | — | — | + | — | + | — | — | + | — |
| 7 | + | + | — | + | + | + | — | — | — | — | — | — |
| 8 | + | + | — | + | + | + | — | — | — | — | — | — |
| 9 | + | + | — | + | + | + | — | + | — | — | + | — |
| 10 | — | + | — | — | + | + | — | + | — | — | + | — |
| 11 | — | + | — | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 12 | + | + | + | — | — | + | — | + | — | — | + | — |
| 13 | + | + | — | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 14 | + | + | — | + | + | + | — | + | — | — | + | — |
| 15 | + | + | — | — | — | — | — | + | — | — | + | — |

Примечание. О — опухолевая ткань; С — здоровая слизистая оболочка; «+» — наличие копий ДНК указанных бактерий в образцах; «—» — отсутствие копий ДНК указанных бактерий в образцах.

Note. T — tumor tissue; N — normal healthy mucosa; “+” — pathogen DNA detected in the samples; “—” — no pathogen DNA detected in the samples.

Также проводилось сравнение результатов культурального исследования мазков и ПЦР-амплификации ДНК бактерий, представленных в наборе «Пародонто-скрин» (табл. 1).

Сравнительный анализ результатов микробиологического исследования мазков и ПЦР-амплификации

Для определения возможности выделения ДНК методом ПЦР из готовых гистологических препаратов в исследование был включен анализ 5 образцов опухолевой ткани из ранее заготовленных парафиновых блоков. Ни в одном случае не удалось определить ДНК исследуемых бактерий методом ПЦР в реальном времени. Таким образом, обязательным критерием для выделения ДНК микроорганизмов с помощью этого метода является использование «свежзамороженного» биоматериала, заготовленного ранее по всем правилам стандартных операционных процедур.

На основании данных, полученных в результате проведения ПЦР, в группе первичных пациентов ($n = 15$) ДНК *Porphyromonas gingivalis* выявлена в 10 (66,7 %) образцах опухолевой ткани, тогда как при микробиологическом исследовании мазков с поверхности опухоли эту бактерию удалось обнаружить только в 1 (6,6 %) случае ($p < 0,001$).

Prevotella intermedia выявлена методом ПЦР в 9 (60 %) пробах опухолевой ткани, а при микробиологическом исследовании мазков с поверхности опухоли — в 12 (80 %) образцах ($p > 0,05$).

Tannerella forsythia и *Treponema denticola* вовсе не были выделены в ходе микробиологического исследования проб (мазков) с поверхности опухоли, тогда как при использовании ПЦР они обнаружены в 11 (73,3 %) и 7 (47 %) образцах опухолевой ткани соответственно ($p < 0,001$).

В группе пациентов с рецидивом ($n = 15$) ДНК *Porphyromonas gingivalis* в образцах опухолевой ткани методом ПЦР выделены в 15 (100 %) случаях, а при исследовании мазков с поверхности опухоли — в 3 (20 %) случаях ($p < 0,001$).

Prevotella intermedia с помощью ПЦР обнаружена в 12 (80 %) образцах, в ходе исследования мазков — в 14 (93,3 %) образцах ($p > 0,05$).

При анализе *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola* отмечалась такая же тенденция, как и в группе первичных больных. При микробиологическом исследовании мазков с поверхности опухоли слизистой оболочки полости рта бактерии не были выявлены (0 %), а при использовании ПЦР ДНК этих бактерий в опухолевой ткани обнаружены в 12 (80 %) и 9 (60 %) случаях соответственно ($p < 0,001$).

При анализе данных первичных пациентов (рис. 1) ДНК всех 4 бактерий обнаружены только у 1 (6,6 %) больного раком слизистой оболочки альвеолярного

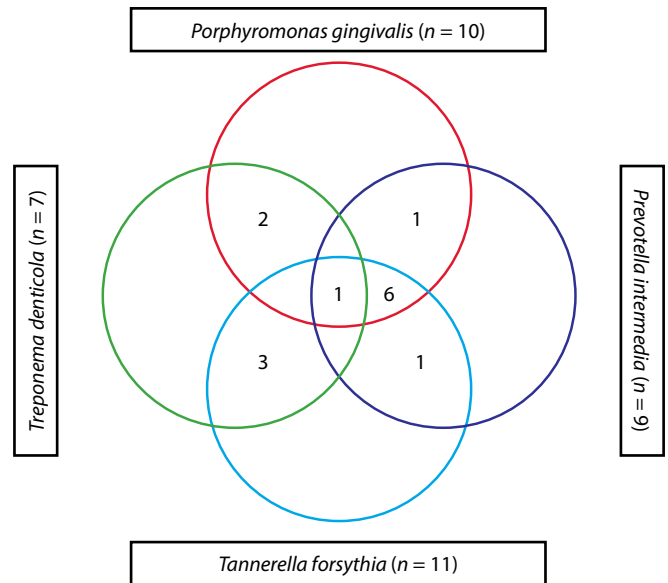


Рис. 1. Ассоциация ДНК пародонтопатогенов в опухолевой ткани первичных пациентов, выявленных методом полимеразной цепной реакции
Fig. 1. Association of DNA of periodontal pathogens detected using polymerase chain reaction in the tumor tissue of newly diagnosed patients

отростка нижней челюсти, у которого в последующем, через 13 мес, возник рецидив. У 6 (40 %) первичных больных выявлена ассоциация 3 пародонтопатогенов: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*. Рецидив у этой когорты больных отмечен не был. В 3 (20 %) случаях обнаружено сочетание *Treponema denticola* и *Tannerella forsythia*. В последующем у 1 (33 %) пациента развился рецидив. Ассоциация *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* встречалась в 2 (13,3 %) случаях. В данной когорте пациентов также в 1 (50 %) случае был отмечен локальный рецидив. В 1 (6,6 %) случае обнаружена ассоциация *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia* и также 1 (6,6 %) случае — ассоциация *Prevotella intermedia* и *Tannerella forsythia*. В 1 случае не удалось выделить ДНК исследуемых бактерий из опухолевой ткани.

При анализе частоты развития местного рецидива у первичных пациентов в зависимости от видов пародонтопатогенов, выделенных при ПЦР-амплификации, выявлено следующее. Из 10 пациентов, из биоматериала которых выделены ДНК *Porphyromonas gingivalis*, у 2 (20 %) развился местный рецидив опухолевого процесса. ДНК *Prevotella intermedia* обнаружена у 9 пациентов; у 1 (11,1 %) из них развился рецидив основного заболевания. Из 11 пациентов с *Tannerella forsythia* он возник у 2 (18,2 %). Чаще всего местный рецидив отмечен у пациентов ($n = 7$), в опухолевой ткани которых выделена ДНК *Treponema denticola* ($n = 3$; 43 %) ($p < 0,05$).

При детальном анализе повторных пациентов отмечены следующие тенденции. У 6 (40 %) пациентов в ходе проведения ПЦР-амплификации выделены ДНК всех 4 бактерий. В 4 (66,6 %) случаях в последующем

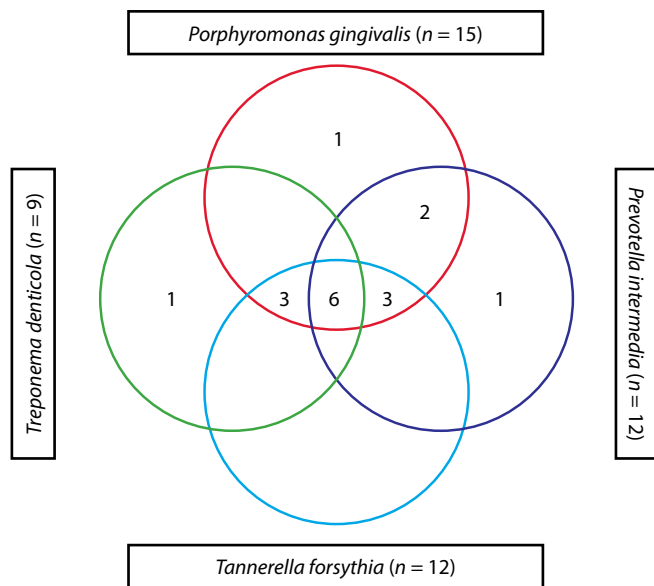


Рис. 2. Ассоциация ДНК пародонтопатогенов в опухолевой ткани повторных пациентов, выявленных методом полимеразной цепной реакции
Fig. 2. Association of DNA of periodontal pathogens detected using polymerase chain reaction in the tumor tissue of re-treatment patients

развился местный рецидив: у 2 больных с раком слизистой оболочки альвеолярного отростка нижней челюсти, у 1 — с плоскоклеточным раком слизистой оболочки альвеолярного отростка верхней челюсти и у 1 — с раком языка (рис. 2).

У 3 (20 %) пациентов встречалась ассоциация ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*. Рецидив отмечен у 2 (66,6 %) больных. У 3 (20 %) пациентов обнаружено сочетание *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* и *Tannerella forsythia*. В данной когорте больных рецидив также отмечен в 1 (33 %) случае. Ассоциация *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia* наблюдалась в 2 (13,3 %) случаях. Местный рецидив развился у 1 (50 %) пациента.

По 1 (6,6 %) случаю приходится на выявление *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* и *Treponema denticola*. В дальнейшем у пациента, из опухолевой ткани которого выделена ДНК *Treponema denticola*, возник рецидив.

При анализе частоты развития местного рецидива у повторных пациентов в зависимости от видов пародонтопатогенов, выделенных при ПЦР-амплификации, отмечены следующие тенденции. Из 15 больных, в биоматериале которых обнаружена ДНК *Porphyromonas gingivalis*, у 8 (57,3 %) развился местный рецидив опухолевого процесса. ДНК *Prevotella intermedia* выявлена у 12 пациентов, у 6 (50 %) из них возник рецидив основного заболевания. Из 12 пациентов, в биоматериале которых обнаружена ДНК *Tannerella forsythia* (*Bacteroides forsythus*), у 7 (58,3 %) развился рецидив. Из 9 больных, в опухолевой ткани которых выделена ДНК *Treponema denticola*, местный рецидив возник у 7 (77,7 %) из них; различия статистически не значимы ($p > 0,05$).

При сравнительном анализе выделенных из биоматериалов первичных и повторных пациентов ДНК пародонтопатогенов выявлено следующее. ДНК *Prevotella intermedia* обнаруживалась реже у первичных больных РСРПР, чем у больных, ранее получавших лечение (60 и 80 % соответственно), как и ДНК *Porphyromonas gingivalis* (66,7 и 100 % соответственно). Достоверно значимых различий в частоте выявления *Tannerella forsythia* в исследуемых группах обнаружено не было (73,3 и 80 % соответственно; $p > 0,05$). *Treponema denticola* выделялась чаще у повторных пациентов, чем у первичных, и в контрольной группе (60 и 47 % соответственно) (табл. 2).

У повторных пациентов с *Porphyromonas gingivalis* местный рецидив развивался чаще, чем у первичных пациентов, в биоматериалах которых обнаружена данная бактерия: в 8 (57,3 %) и 2 (20 %) случаях соответственно ($p < 0,01$). Аналогичная тенденция наблюдалась в группах больных с выявленными *Prevotella intermedia*,

Таблица 2. Сравнение частоты выделения ДНК пародонтопатогенов в биологических материалах первичных ($n = 15$) и повторных ($n = 15$) пациентов методом полимеразной цепной реакции в реальном времени

Table 2. Comparing positive detection rates of periodontal pathogens using real-time polymerase chain reaction between newly diagnosed ($n = 15$) and re-treatment ($n = 15$) patients

| Бактерия Bacteria | Число случаев выявления у первичных пациентов ($n = 15$) методом полимеразной цепной реакции, абс. (%) Positive detection rate in newly diagnosed patients ($n = 15$) using polymerase chain reaction, abs. (%) | Число случаев выявления у повторных пациентов ($n = 15$) методом полимеразной цепной реакции, абс. (%) Positive detection rate in re-treatment patients ($n = 15$) using polymerase chain reaction, abs. (%) |
|--|--|---|
| <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 10 (66,7) | 15 (100,0) |
| <i>Prevotella intermedia</i> | 9 (60,0) | 12 (80,0) |
| <i>Tannerella forsythia</i> (<i>Bacteroides forsythus</i>) | 11 (73,3) | 12 (80,0) |
| <i>Treponema denticola</i> | 7 (47,0) | 9 (60,0) |

Tannerella forsythia и *Treponema denticola*. У повторных пациентов, в биоматериалах которых была обнаружена ДНК *Prevotella intermedia*, местный рецидив возникал чаще, чем у первичных больных (6 (50 %) и 1 (11,1 %) случай соответственно; $p < 0,001$). У повторных пациентов, у которых выявлена *Tannerella forsythia* (*Bacteroides forsythus*), местный рецидив наблюдался в 12 (58,3 %) случаях, а у первичных — только в 11 (18,2 %) случаях ($p < 0,001$). Местный рецидив у повторных больных, из биоматериала которых выделена ДНК *Treponema denticola*, выявлен в 7 (77,7 %) случаях, а у первичных больных ($n = 7$) — в 3 (43 %) случаях ($p < 0,01$).

Таким образом, в группе повторных пациентов, в биоматериалах которых обнаружена ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*, в последующем местный рецидив отмечается значительно чаще, чем в группе первичных больных.

Обсуждение

С учетом высокой частоты определения ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola* в подгруппах первичных больных и пациентов с рецидивом рака слизистой оболочки тканей дна полости рта в биологических образцах можно сказать, что ПЦР является более чувствительным методом для выявления возможных этиологических агентов и предикторов плоскоклеточного рака ($p < 0,001$). Однако в сочетании с микробиологическим методом ПЦР-амплификация позволяет оперативно реагировать на изменение микробиологического окружения полости рта и определять чувствительность микроорганизмов к противомикробным препаратам, что позволяет предупредить развитие послеоперационных инфекционных осложнений.

В ходе анализа группы первичных ($n = 15$) и повторных ($n = 15$) больных было выявлено, что частота определения ДНК исследуемых микроорганизмов (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*) выше в группе повторных

пациентов. Это косвенно свидетельствует о том, что предшествующее лечение приводит к изменению состава микробиоты, развитию дисбиоза и тем самым к увеличению количества пародонтопатогенных микроорганизмов, и, как следствие, к повышению концентрации продуцируемых данными бактериями эндотоксинов, которые служат причинами хронического воспаления, ингибируют клеточный апоптоз и обладают канцерогенными свойствами.

Кроме того, у первичных пациентов, в опухолевой ткани которых отмечалась ассоциация всех 4 бактерий, рецидив развивался чаще, чем у повторных, — 100 и 66,6 % соответственно ($p < 0,02$). Также местный рецидив чаще отмечался в группе повторных больных, в биоматериалах (опухолевой ткани) которых выявлены ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*, что также может влиять на прогноз течения заболевания.

Заключение

Таким образом, можно предположить, что наличие ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola* в опухолевой ткани является одним из факторов, способствующих развитию рецидива у данной когорты пациентов, а также фактором плохого прогноза (высоким риском возникновения рецидива ассоциированного с бактериями РСОР). Если учесть, что выявление ДНК *Treponema denticola* в тканях при хроническом инфекционном процессе рассматривается как неблагоприятный показатель и предиктор генерализации инфекционного процесса, то данные больные нуждаются в более тщательном динамическом наблюдении. Также очевидна необходимость соблюдения санитарно-гигиенических норм и проведения профилактики с санацией очагов хронической пародонтогенной инфекции у пациентов, ранее получавших радикальное лечение по поводу РСОР. Это будет способствовать предупреждению развития хронического инфекционного процесса и, как следствие, возможных рецидивов опухоли, а также улучшению отдаленных результатов терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Салина Е.В., Рассанов С.П. Микрофлора полости рта: норма и патология: Учеб. пособие. Нижний Новгород: Издательство НГМА, 2004. 158 с. [Zelenova E.G., Zaslavskaya M.I., Salina E.V., Rassanov S.P. Microflora of the oral cavity: norm and pathology: Textbook. Nizhny Novgorod: NGMA Publishing House, 2004. 158 p.]
2. Шибеева А.В., Аймадинова Н.К., Трубникова Е.В. и др. Изучение роли *Prevotella intermedia* в развитии хронического пародонтита методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Вестник Российского государственного медицинского университета 2015;4:10–4. [Shibaeva A.V., Aimadinova N.K., Trubnikova E.V. et al. To study the role of *Prevotella intermedia* in the development of chronic periodontitis by real-time polymerase chain reaction. Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta = Bulletin of the Russian State Medical University 2015;4:10–4. (In Russ.)].
3. Torrungruang K., Jitpakdeebordin S., Charatkulangkun O., Gleeabbua Y. *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacte*

- actinomycetemcomitans*, and *Treponema denticola*/Prevotella intermedia co-infection areas associated with severe periodontitis in a Thai population. PLoS One 2015;(8):0136646. DOI: 10.1371/journal.pone.0136646.
4. Тамарова Э.Р., Масагутова Н.Р. Молекулярно-генетическая характеристика микрофлоры полости рта при пародонтите. Вестник Челябинского государственного университета 2013;7(298):70–1. [Tamarova E.R., Masagutova N.R. Molecular genetic characteristics of the oral microflora in periodontitis. Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of Chelyabinsk State University 2013;7(298):70–1. (In Russ.)].
 5. Костригина Е.Д., Зюлькина Л.А., Иванов П.В. Современный взгляд на этиопатогенез пародонтита (обзор литературы). Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки 2017;3(43):118–28. [Kostrigina E.D., Zyulkinina L.A., Ivanov P.V. Modern view on the etiopathogenesis of periodontitis (literature review). News of higher educational institutions. Volga region. Medicinskie nauki = Medical Sciences 2017;3(43):118–28. (In Russ.)].
 6. Rajkarnikar J., Thomas B., Rao S. Interrelationship between rheumatoid arthritis and periodontitis. Kathmandu Univ Med J 2013;11(41):22–6. DOI: 10.3126/kumj.v11i1.11018.
 7. Тамарова Э.Р., Мавзютов А.Р. Особенности микрофлоры полости рта у больных пародонтитом. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН 2013;3. Доступно по: <https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-mikroflory-polosti-rta-u-bolnyh-parodontitom>. [Tamarova E.R., Mavzyutov A.R. Features of the microflora of the oral cavity in patients with periodontitis. Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra Uro RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences 2013;3. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-mikroflory-polosti-rta-u-bolnyh-parodontitom>. (In Russ.)].
 8. Зорина О.А., Беркутова И.С., Антидзе М.К., Рехвиашвили Б.А. Повышение эффективности лечения хронического и агрессивного пародонтита. Медико-фармацевтический журнал «Пульс» 2012;14(2):13–4. [Zorina O.A., Berkutova I.S., Antidze M.K., Rekhviashvili B.A. Improving the effectiveness of treatment of chronic and aggressive periodontitis. Mediko-farmaceuticheskij zhurnal "Pul's" = Medical and pharmaceutical journal "Pulse" 2012;14(2):13–4. (In Russ.)].
 9. Ximenez-Fyvie L.A., Haffajee A.D., Socransky S.S. Comparison of the microbiota of supra and subgingival plaque in health and periodontitis. J Clin Periodontol 2000;27(9):648–57. DOI: 10.1034/j.1600-051x.2000.02709648.x.
 10. Соколова О.А. Этиологическое и патогенетическое обоснование значимости гигиенических мероприятий у больных с патологией системы крови. Медико-фармацевтический журнал «Пульс» 2012;14(3):261–2. [Sokolova O.A. Etiological and pathogenetic substantiation of the importance of hygienic measures in patients with pathology of the blood system. Mediko-farmaceuticheskij zhurnal "Pul's" = Medical and pharmaceutical journal "Pulse" 2012;14(3):261–2. (In Russ.)].
 11. Овчаренко Е.Н. Изменение микробиоценоза ротовой жидкости под воздействием кобальтохромовых и никелевых сплавов ортопедических конструкций у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Журнал Гродненского государственного медицинского университета 2014;1(45):39–41. [Ovcharenko E.N. Change of microbiocenosis of oral fluid under the influence of cobalt-chromium and nickel-chromium alloys of orthopedic structures in patients with type 2 diabetes mellitus. Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta = Journal of Grodno State Medical University. 2014;1(45):39–41. (In Russ.)].
 12. Алиев М.Х., Ердоган И., Мамедов Ф.Ю. Микробиологические аспекты здоровья полости рта на фоне соматической патологии. European research 2016;10(21):86–8. [Aliyev M.H., Erdogan I., Mammadov F.Y. Microbiological aspects of oral health against the background of somatic pathology. European research 2016;10(21):86–8. (In Russ.)].
 13. Ипполитов Е.В., Диденко Л.В., Царев В.Н. Особенности морфологии биопленки пародонта при воспалительных заболеваниях десен (хронический катаральный гингивит, хронический пародонтит, кандидо-ассоциированный пародонтит) по данным электронной микроскопии. Клиническая лабораторная диагностика 2015;12:59–64. [Ippolitov E.V., Didenko L.V., Tsarev V.N. Morphology features of periodontal biofilm in inflammatory gum diseases (chronic catarrhal gingivitis, chronic periodontitis, candida-associated periodontitis) according to electron microscopy. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical laboratory diagnostics 2015;12:59–64. (In Russ.)].
 14. Еловицова Т.М., Гайсина Е.Ф., Приходкин А.С. Применение антибактериальных препаратов при агрессивных формах пародонтита. Проблемы стоматологии 2019;15(1):10–5. [Elvikova T.M., Gaisina E.F., Prikhodkin A.S. The use of antibacterial drugs in aggressive forms of periodontitis. Problems of Dentistry 2019;15(1):10–5. (In Russ.)].
 15. Зорина О.А., Беркутова И.С., Рехвиашвили Б.А., Аймадинова Н.К. Сравнительная характеристика микробиоценозов пародонтальных карманов при хроническом генерализованном и агрессивном пародонтите до и после комплексного лечения. Российский стоматологический журнал 2013;127–31. [Zorina O.A., Berkutova I.S., Rekhviashvili B.A., Aimadinova N.K. Comparative characteristics of microbiocenosis of periodontal pockets in chronic generalized and aggressive periodontitis before and after complex treatment. Rossijskij stomatologicheskij zhurnal = Russian Dental Journal 2013;127–31. (In Russ.)].
 16. Губайдуллин А.Г., Туйгунов М.М., Булгаков А.К., Савченко Т.А. Особенности патогенеза заболеваний пародонта, вызванных *Porphyromonas gingivalis*. Медицинский вестник Башкортостана 2015;5(59):108–10. (59):108–10. Gubaidullin A.G., Tuigunov M.M., Bulgakov A.K., Savchenko T.A. Features of the pathogenesis of periodontal diseases caused by *Porphyromonas gingivalis*. Medical Bulletin of Bashkortostan 2015;5(59):108–10. (In Russ.)].
 17. Вертиева Е.Ю., Белый Ю.Ф. Разработка иммуносерологической тест-системы для диагностики агрессивных форм пародонтитов, вызываемых *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Porphyromonas gingivalis*. Молекулярная диагностика 2010; сб. тр. VII всероссийской научно-практической конференции с международным участием. М., 2010. С. 426–7. [Vertieva E.Yu., Bely Yu.F. Development of an immunoserological test system for the diagnosis of aggressive forms of periodontitis caused by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. Molecular diagnostics 2010: Collection of works of the VII All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation. Moscow, 2010. Pp. 426–7. (In Russ.)].
 18. Bostanci N., Belibasakis G.N. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. FEMS Microbiol Lett 2014;333(1):1–9. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2012.02579.x.
 19. Ganuelas L.A., Li N., Yun P. et al. The lysine gingipain adhesin domains from *Porphyromonas gingivalis* interact with erythrocytes and albumin: structures correlate to function. Eur J Microbiol Immunol 2013;3(3):152–62. DOI: 10.1556/EuJMI.3.2013.3.2.
 20. Hagström J., Yucel-Lindberg T., Tervahartiala T. et al. *Treponema denticola* chymotrypsin like proteinase may contribute to orodigestive carcinogenesis through immunomodulation. British

- Journal of Cancer 2018;118(3):428–34. DOI: 10.1038/bjc.2017.409.
21. Kudo Y., Tada H., Fujiwara N. et al. Oral environment and cancer. *Genes Environ* 2016;38:13. DOI: 10.1186/s41021-016-0042-z.
 22. Karpiński T.M. Role of oral microbiota in cancer development. *Microorganisms* 2019;7(1):20. DOI: 10.3390/microorganisms7010020.
 23. Hirakawa H., Hasegawa Y., Hanai N. et al. Surgical site infection in clean-contaminated head and neck cancer surgery: risk factors and prognosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013;270(3):1115. DOI: 10.1007/s00405-012-2128-y.
 24. Whitmore S.E., Lamont R.J. Oral bacteria and cancer. *PLoS Pathog* 2014;10(3): e1003933. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003933.
 25. Казимов А.Э., Мудунов А.М., Григорьевская З.В. и др. Роль пародонтопатогенов в канцерогенезе плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта. *Опухоли головы и шеи* 2020;10(4): 74–85. [Kazimov A.E., Mudunov A.M., Grigorievskaya Z.V. et al. The role of periodontal pathogens in the carcinogenesis of squamous cell carcinoma of the oral mucosa. *Opuholi golovy i shei = Tumors of the head and neck* 2020;10(4):74–85. (In Russ.)].
 26. Hou L.T., Liu C.M., Liu B.Y. et al. Interleukin-1 β , clinical parameters and matched cellular-histopathologic changes of biopsied gingival tissue from periodontitis patients. *J Period Res* 2003;38(3):247–54. DOI: 10.1034/j.1600-0765.2003.02601.x.
 27. Carmi Y., Dotan S., Rider P. et al. The role of IL-1 β in the early tumor cell-induced angiogenic response. *J Immunol* 2013;190(7):3500–9. DOI: 10.4049/jimmunol.1202769.
 28. Jin L., Yuan R.Q., Fuchs A. et al. Expression of interleukin-1 β in human breast carcinoma. *Cancer* 1997;80(3):421–34. DOI: 10.1002/(sici)1097-0142(19970801)80:3<421::aid-cnrc10>3.0.co;2-z.
 29. Wang F.M., Liu H.Q., Liu S.R. et al. SHP-2 promoting migration and metastasis of MCF-7 with loss of E-cadherin, dephosphorylation of FAK and secretion of MMP-9 induced by IL-1 *beta* *in vivo* and *in vitro*. *Breast Cancer Res Treat* 2005;89(1):5–14. DOI: 10.1007/s10549-004-1002-z.
 30. Pannone G., Santoro A., Feola A. et al. The role of E-cadherin down-regulation in oral cancer: CDH1 gene expression and epigenetic blockage. *Curr Cancer Drug Targets* 2014;14(2):115–27. DOI: 10.2174/1568009613666131126115012.
 31. Wong S.H.M., Fang C.M., Chuah L.H. et al. E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications. *Crit Rev Oncol Hematol* 2018;121:11–22. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2017.11.010.
 32. Belusic-Gobica M., Cara M., Juretica M. et al. Risk factors for wound infection after oral cancer surgery. *Oral Oncology* 2007;43(1):77–81. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2006.01.006.
 33. Gao S., Li S., Ma Z. et al. Presence of *Porphyromonas gingivalis* in esophagus and its association with the clinicopathological characteristics and survival in patients with esophageal cancer. *Infect Agent Cancer* 2016;11:3. DOI: 10.1186/s13027-016-0049-x.
 34. Михальченко Д.В., Жидовинов А.В. Ретроспективный анализ статистических данных заболеваемости злокачественными новообразованиями челюстно-лицевой локализации. Современные проблемы науки и образования 2016;6:151. [Mikhailchenko D.V., Zhidovinov A.V. Retrospective analysis of statistical data on the incidence of malignant neoplasms of maxillofacial localization. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* 2016;6:151. (In Russ.)].
 35. Mendoza M.C., Er E.E., Blenis J. The Ras-ERK and PI3K-mTOR pathways: cross-talk and compensation. *Trends Biochem Sci* 2011;36(6):320–8. DOI: 10.1016/j.tibs.2011.03.006.
 36. Yang S.H., Sharrocks A.D., Whitmarsh A.J. MAP kinase signalling cascades and transcriptional regulation. *Gene* 2013;513(1):1–13. DOI: 10.1016/j.gene.2012.10.033.
 37. Kessenbrock K., Plaks V., Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell* 2010;141(1):52–67. DOI: 10.1016/j.cell.2010.03.015.
 38. Mao S., Park Y., Hasegawa Y. et al. Intrinsic apoptotic pathways of gingival epithelial cells modulated by *Porphyromonas gingivalis*. *Cell Microbiol* 2007;9(8):1997–2007. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2007.00931.x.
 39. Yilmaz O., Jung T., Verbeke P., Ojcius D.M. Activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway contributes to survival of primary epithelial cells infected with the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 2004;72(7):3743–51. DOI: 10.1128/IAI.72.7.3743-3751.2004.
 40. Yao L., Jermanus C., Barbetta B. et al. *Porphyromonas gingivalis* infection sequesters pro-apoptotic Bad through Akt in primary gingival epithelial cells. *Mol Oral Microbiol* 2010;25(2):89–101. DOI: 10.1111/j.2041-1014.2010.00569.x.
 41. Moffatt C.E., Lamont R.J. *Porphyromonas gingivalis* induction of microRNA-203 expression controls suppressor of cytokine signaling 3 in gingival epithelial cells. *Infect Immun* 2011;79(7):2632–7. DOI: 10.1128/IAI.00082-11.
 42. Choi C.H., Spooner R., DeGuzman J., Koutouzis T. et al. *Porphyromonas gingivalis*-nucleoside-diphosphate-kinase inhibits ATP-induced reactive-oxygen-species via P2X7 receptor/NADPH-oxidase signalling and contributes to persistence. *Cell Microbiol* 2013;15(6):961–76. DOI: 10.1111/cmi.12089.
 43. Spooner R., Yilmaz O. The role of reactive-oxygen-species in microbial persistence and inflammation. *Int J Mol Sci* 2011;12(1):334–52. DOI: 10.3390/ijms12010334.
 44. Inaba H., Sugita H., Kuboniwa M. et al. *Porphyromonas gingivalis* promotes invasion of oral squamous cell carcinoma through induction of proMMP9 and its activation. *Cell Microbiol* 2014;16(1):131–45. DOI: 10.1111/cmi.12211.
 45. Koczorowski R., Karpiński T.M. Halitosis – problem społeczny. Halitosis – a social problem. *Now Lek* 2001;70(3):657–64.
 46. Milella L. The negative effects of volatile sulphur compounds. *J Ve Dent* 2015;32(2):99–102. DOI: 10.1177/089875641503200203.
 47. Attene-Ramos M.S., Wagner E.D., Plewa M.J., Gaskins H.R. Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent. *Mol Cancer Res* 2006;4(1):9–14. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-05-0126.

Вклад авторов

А.Э. Казимов: сбор данных, анализ полученных данных, обзор литературы по теме статьи, написание текста статьи;
З.В. Григорьевская: анализ полученных данных, обзор литературы по теме статьи, научное редактирование статьи;
М.А. Кропотов: анализ полученных данных, научное редактирование статьи;
Н.С. Багирова, И.Н. Петухова, М.Б. Пак: обзор литературы по теме статьи, научное редактирование статьи;
И.В. Терещенко: анализ полученных данных, проведение диагностических исследований.

Authors' contribution

A.E. Kazimov: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, reviewing of publications of the article's theme, article writing;
Z.V. Grigorievskaya: analysis of the obtained data, reviewing of publications on the article's theme, scientific editing of the article;
M.A. Kropotov: analysis of the obtained data, scientific editing of the article;
N.S. Bagirova, I.N. Petukhova, M.B. Pak: reviewing of publications on the article's theme, scientific editing of the article;
I.V. Tereshchenko: analysis of the obtained data, conducting diagnostic tests.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.Э. Казимов / A.E. Kazimov: <https://orcid.org/0000-0002-7117-9453>

З.В. Григорьевская / Z.V. Grigorievskaya: <https://orcid.org/0000-0003-4294-1995>

М.А. Кропотов / M.A. Kropotov: <https://orcid.org/0000-0002-9132-3416>

Н.С. Багирова / N.S. Bagirova: <https://orcid.org/0000-0003-1405-3536>

И.Н. Петухова / I.N. Petukhova: <https://orcid.org/0000-0003-3077-0447>

И.В. Терешенко / I.V. Tereshchenko: <https://orcid.org/0000-0002-5052-7391>

М.Б. Пак / M.B. Pak: <https://orcid.org/0000-0003-4546-0011>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 08.09.2021. **Принята к публикации:** 11.10.2021.

Article submitted: 08.09.2021. **Accepted for publication:** 11.10.2021.