

DOI: <https://doi.org/10.17816/dv629200>

Оригинальное исследование



Взаимосвязь микробного биоразнообразия и клинических форм красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта: анализ на основе 16S рРНК секвенирования

Н.П. Теплюк¹, М.А. Степанов¹, Б.Ш. Дамдинова¹, С.В. Тошцаков², С.А. Носков²,
Н.А. Тутубалина²

¹ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Состав и изменения микробиоты могут оказывать существенное влияние на общее состояние здоровья и развитие различных заболеваний. Особую актуальность представляет проблема изменения микробиоты полости рта у пациентов с красным плоским лишаём слизистой оболочки полости рта. Изучение взаимосвязи патогенеза заболевания с составом микрофлоры полости рта позволит улучшить понимание механизмов развития патологии и разработать терапевтический подход к её лечению. Таким образом, данная тема представляет значительный интерес для широкого круга специалистов в области медицины и биологии.

Цель исследования — детальное изучение состава микробиоты полости рта у пациентов с красным плоским лишаём слизистой оболочки полости рта для выявления возможных патогенетических микробных ассоциаций.

Материалы и методы. В исследование включены образцы мазков с поверхности слизистой оболочки рта для секвенирования ДНК от пациентов с различными формами красного плоского лишая и контрольной группы. Исследование основано на анализе показателей разнообразия микробиоты (альфа- и бета-разнообразие; относительное содержание бактериальных таксонов; выявление уникальных бактериальных таксонов). Для исследования использован метод секвенирования 16S рРНК.

Результаты. Анализ выявил многообразный бактериальный состав у пациентов с красным плоским лишаём слизистой оболочки полости рта, который существенно отличается от контрольной группы, а также различия между подгруппами, особенно при типичной и эрозивно-язвенной формах заболевания. Стоит отметить, что бета-разнообразие не показало значимых различий между группами, что указывает на сходный общий состав микробиоты, несмотря на колебания в относительной численности видов. Тем не менее типичная клиническая форма заболевания демонстрирует более существенные различия в структуре микробиома по сравнению с гиперкератотической и эрозивно-язвенной формами. Более того, анализ исследуемых групп позволил установить наличие 50% общих видов микроорганизмов, а другая половина представлена уникальными видами, ассоциированными с красным плоским лишаём слизистой оболочки полости рта. В отношении подгрупп выявлено, что уникальные микроорганизмы коррелируют с типичной и эрозивно-язвенной формами соответственно, предоставляя тем самым более глубокое понимание специфики микробиологического профиля в контексте данного заболевания.

Заключение. Исследование подтвердило гипотезу о связи состава микробиоты полости рта с красным плоским лишаём слизистой оболочки полости рта, что может иметь важное значение для разработки новых терапевтических подходов.

Ключевые слова: красный плоский лишай слизистой оболочки полости рта; микробиом; альфа-разнообразие; бета-разнообразие; секвенирование.

Как цитировать:

Теплюк Н.П., Степанов М.А., Дамдинова Б.Ш., Тошцаков С.В., Носков С.А., Тутубалина Н.А. Взаимосвязь микробного биоразнообразия и клинических форм красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта: анализ на основе 16S рРНК секвенирования // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2024. Т. 27, № 3. С. 270–282. DOI: <https://doi.org/10.17816/dv629200>

Рукопись получена: 18.03.2024

Рукопись одобрена: 15.04.2024

Опубликована online: 04.07.2024



DOI: <https://doi.org/10.17816/dv629200>

Original study article

The relationship of microbial biodiversity and clinical forms of oral lichen planus: analysis based on 16S rRNA sequencing

Natalya P. Teplyuk¹, Mikhail A. Stepanov¹, Baira Sh. Damdinova¹, Stepan V. Toshchakov², Sergrey A. Noskov², Nina A. Tutubalina²¹ Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;² National Research Centre "Kurchatov Institute", Moscow, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The composition and changes of microbiota have a significant impact on overall health and the development of various diseases. Of particular relevance is the problem of changes in the oral microbiota in patients with lichen planus of the oral mucosa. Studying the relationship between the composition of the oral microbiota and the pathogenesis of oral lichen planus will improve the understanding of the mechanisms of this disease. Thus, this topic is of considerable interest to a wide range of specialists in the field of medicine and biology.

AIM: Detailed analysis of oral cavity microbiota and establishment of potential pathogenetic microbial associations with oral lichen planus.

MATERIALS AND METHODS: The study included samples from patients diagnosed with various forms of oral red squamous lichen planus (lichen planus erosive-ulcerative) and a control group. The investigation was based on analyzing microbial diversity metrics (alpha and beta diversity), relative abundance of bacterial taxa, and identification of unique bacterial taxa in the oral red squamous lichen planus patients. This analysis utilized the 16S rRNA sequencing method.

RESULTS: The analysis revealed a rich bacterial composition in patients with oral lichen planus, which was significantly different from that in the control group. Differences were also observed between the subgroups, especially between the typical and erosive-ulcerative forms of the disease. Notably, beta diversity did not show significant differences between the groups, indicating a similar overall microbiota composition despite fluctuations in the relative abundance of species. Nevertheless, the typical clinical form of the disease demonstrated more significant differences in the microbiota structure compared to the hyperkeratotic and erosive-ulcerative forms. Furthermore, analysis of the study groups revealed the presence of 50% shared microbial species, while the other half was represented by unique species associated with oral lichen planus. Regarding the subgroups, it was found that unique microorganisms correlated with the typical and erosive-ulcerative forms, respectively, providing a deeper understanding of the specific microbiological profile in the context of this disease.

CONCLUSION: The study confirmed the hypothesis of an association between the microbiota composition and oral lichen planus, which may be of importance for the development of novel therapeutic approaches.

Keywords: oral lichen planus; oral cavity microbiome; alpha diversity; beta diversity; sequencing.

To cite this article:

Teplyuk NP, Stepanov MA, Damdinova BSh, Toshchakov SV, Noskov SA, Tutubalina NA. The relationship of microbial biodiversity and clinical forms of oral lichen planus: analysis based on 16S rRNA sequencing. *Russian journal of skin and venereal diseases*. 2024;27(3):270–282. DOI: <https://doi.org/10.17816/dv629200>

Received: 18.03.2024

Accepted: 15.04.2024

Published online: 04.07.2024

ОБОСНОВАНИЕ

Красный плоский лишай слизистой оболочки полости рта (КПЛ СОПР) — хроническое воспалительное заболевание СОПР неизвестной этиологии. Характеризуется воспалением и эрозией с поражением многослойного плоского эпителия и соединительнотканной пластинки СОПР, иногда сопровождается поражением кожи и ногтей [1].

В Российской Федерации заболеваемость КПЛ среди населения старше 18 лет достигла 12,7 на 100 тысяч человек. КПЛ чаще всего встречается у людей в возрастной группе от 30 до 60 лет. Среди пациентов с поражением слизистой оболочки полости рта женщины составляют 60–75%, а среди пациентов с поражением кожи — около 50% [2].

КПЛ СОПР и красной каймы губ проявляется шестью клиническими формами: типичной (ретикулярной), гиперкератотической, экссудативно-гиперемической, эрозивно-язвенной, буллезной и атипичной [3, 4].

Современные исследования КПЛ СОПР всё больше внимания уделяют изучению роли орального микробиома и его взаимодействия с окружающей средой организма хозяина. Это связано с доказанной значимостью человеческой микробиоты в развитии различных заболеваний, что делает регуляцию микробиоценоза одним из ключевых аспектов персонализированной медицины [5].

В ряду потенциальных факторов, ассоциированных с развитием КПЛ СОПР, исследовались различные микроорганизмы, включая *Helicobacter pylori*, *Mycoplasma salivarium*, периодонтопатогенные бактерии, *Candida albicans*, вирусы папилломы человека, Эпштейна–Барр и гепатита С. Однако данные о подобных ассоциациях неоднозначны и требуют дальнейшего изучения. Существуют исследования с противоречивыми результатами, а механизмы, лежащие в основе этих взаимосвязей, полностью не изучены [4].

Несмотря на исследования, посвящённые поиску специфических микроорганизмов, ассоциированных с КПЛ СОПР, однозначного соответствия между их наличием и развитием заболевания не обнаружено. Это позволяет предположить, что функциональные характеристики микробиоты полости рта играют более значимую роль в патогенезе КПЛ СОПР, чем её видовой состав. На данный момент ни один микроорганизм не может быть признан причиной данного заболевания [5].

В исследовании, представленном в данной статье, был применён метод секвенирования 16S рПНК, что позволило оценить биоразнообразие микроорганизмов у пациентов, страдающих КПЛ СОПР. Было проведено сравнение микробного состава у пациентов с КПЛ СОПР и контрольной группы с последующим попарным сравнением микробиоты при разных формах заболевания (типичной, эрозивно-язвенной и гиперкератотической). Это позволило охарактеризовать микробный профиль для каждой из клинических форм и выявить уникальные микробные сигнатуры, ассоциированные с каждым типом заболевания.

Цель исследования — детальное изучение состава микробиоты полости рта у пациентов с красным плоским лишаём слизистой оболочки полости рта для выявления возможных патогенетических микробных ассоциаций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Поперечное одномоментное.

Критерии соответствия

Критерии включения: впервые или ранее установленный диагноз КПЛ СОПР; добровольное желание и наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании, согласие на обработку персональных данных; возраст от 18 лет; пациенты разного пола; исключение приёма системных антибиотиков за 30 дней и нанесения топических средств за 3 дня до взятия материала.

Критерии невключения: несоответствие критериям включения; наличие тяжёлой сопутствующей патологии или других аутоиммунных заболеваний в анамнезе; нежелание пациента по каким-либо причинам участвовать в исследовании.

Критерии исключения: желание пациента прекратить участие в исследовании; несоблюдение пациентом режима, назначенной схемы обследования и лечения.

Условия проведения

Исследование проведено на базе Клиники кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Сеченовского Университета (Москва) и Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (Москва).

Продолжительность исследования

Исследование проведено в период с января 2022 по ноябрь 2023 года.

Методы регистрации исходов

Проводилось сравнительное исследование микробиоты СОПР методом секвенирования ДНК в группах. Основная группа состояла из 45 пациентов с КПЛ СОПР, контрольная — из 40 больных другими заболеваниями СОПР, включая 15 с вульгарной пузырчаткой, 10 с афтозным стоматитом и 15 с лейкоплакией. В зависимости от клинической формы болезни, пациенты основной группы были разделены на 4 подгруппы: с типичной ($n=9$), гиперкератотической ($n=17$), эрозивно-язвенной ($n=17$) и экссудативно-гиперемической ($n=2$) формой заболевания. В подгруппе пациентов с экссудативно-гиперемической формой в связи с малочисленностью выборки сравнительное исследование микробиоты СОПР не проводилось.

В результате секвенирования было получено от 7956 до 121 460 прочтений на образец. После фильтрации и удаления химерных последовательностей в анализ

попало от 4874 до 68 898 прочтений на образец. Данные обрабатывались на языке программирования R (v 4.2.0) с использованием пакета dada2 (v 1.24.0). Построена кривая разреживания вариантов последовательностей ампликонов (amplicon sequence variant, ASV), насыщение большинства образцов происходило на 10 000 прочтений.

Для экологического анализа микробиома буккального эпителия полости рта использовались следующие методы:

- альфа-разнообразии с помощью функции estimate_richness из пакета phyloseq (v 1.40.0): достоверность различия групп определялась Т-критерием Вилкоксона, нулевая гипотеза отвергалась при p -value $<0,05$;
- бета-разнообразии с помощью функции cal_betadiv из пакета microeco (v 0.19.5): несходство состава между группами считалось несходством Брея–Кертиеса, достоверность различий групп определялась с помощью PERMANOVA;
- анализ представленности, дифференциальный анализ представленности и анализ Венна рассчитывались в пакете microeco (v 0.19.5).

Этическая экспертиза

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Сеченовского Университета (протокол № 01–22 от 20.01.2022). От всех пациентов, включённых в исследование, получено подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Пациенты были полностью осведомлены об исследовании, курсах терапии, возможных исходах и побочных явлениях от проводимой терапии.

Статистический анализ

Для проведения статистического анализа использовалось программное обеспечение SPSS версии 27.0. Описательная статистика включала вычисление средних значений и стандартных отклонений для количественных данных, а также частот и процентов для категориальных данных. Для анализа данных секвенирования ДНК применялся язык программирования R (v 4.2.0) с использованием пакетов dada2 (v 1.24.0) и phyloseq (v 1.40.0). Значение p менее 0,05 считалось статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

Основная группа (О-Г) состояла из 45 пациентов с КПЛ СОПР [10 (22,22%) мужчин, 35 (77,78%) женщин, средний возраст $55,3 \pm 13,4$ года], контрольная группа (К-Г) — из 40 больных другими заболеваниями СОПР, включая 15 больных вульгарной пузырчаткой, 10 — афтозным стоматитом, 15 — лейкоплакией. Исследование выявило ряд существенных различий между группами. Так, в основной группе доля женщин была значительно выше (77,7% против 55% в контрольной группе, $p < 0,05$); также наблюдалась более высокая распространённость курения (33,3% против 10%, $p < 0,05$); гастрита, ассоциированного с *H. pylori* (22,2% против 10%, $p < 0,05$), сахарного диабета 2-го типа (33,3% против 2,5%, $p < 0,05$) и ожирения (22,2% против 2,5%, $p < 0,05$) (табл. 1).

Таблица 1. Основные характеристики пациентов с красным плоским лишайём слизистой оболочки полости рта

Table 1. Main characteristics of patients with red squamous lichen planus of the oral mucosa

| Параметр | Группа | | p |
|---|------------------|---------------------|------------------------------|
| | Основная, $n=45$ | Контрольная, $n=40$ | |
| Пол: | | | |
| • мужчины | 10 (22,2) | 8 (20) | - |
| • женщины | 35 (77,7) | 22 (55) | - |
| Возраст, лет, $M \pm m$ | $55,3 \pm 13,4$ | $53,7 \pm 11,9$ | $>0,05$ |
| Форма: | | | |
| • типичная | 17 (37,7) | - | - |
| • эрозивно-язвенная | 17 (37,7) | - | - |
| • гиперкератотическая | 9 (20) | - | - |
| • экссудативно-гиперемическая | 2 (4,4) | - | - |
| Курение | 15 (33,3) | 4 (10) | $<0,05$ |
| Гастрит, ассоциированный с <i>H. pylori</i> | 10 (22,2) | 4 (10) | $<0,05$ |
| Хронический эзофагит | 2 (4,4) | 1 (2,5) | $>0,05$ |
| Гипертоническая болезнь | 15 (33,3) | 10 (25) | $>0,05$ |
| Сахарный диабет 2-го типа | 15 (33,3) | 1 (2,5) | $<0,05$ |
| Ожирение | 10 (22,2) | 1 (2,5) | $<0,05$ |

Примечание. Жирным шрифтом выделены значимые различия между основной и контрольной группами при $p < 0,05$.

Note. Significant differences between the main and control groups with $p < 0,05$ are highlighted in bold.

Основные результаты исследования

Анализ альфа-разнообразия. Бактериальный состав оказался разнообразнее в образцах пациентов основной группы (рис. 1), но при сравнении разных форм КПЛ СОПР значимые различия образцов для группы контроля показали типичная и эрозивно-язвенная формы при использовании индексов Чао1 и Шеннона (рис. 2).

Кривые разреживания свидетельствуют о том, что в результатах была представлена практически вся бактериальная популяция в образцах, взятых у пациентов с КПЛ СОПР, о чём говорит 97% покрытие по Гуду (рис. 3).

Анализ представленности. Изучение десяти наиболее распространённых таксонов показало, что в О-Г наблюдается повышенная относительная численность бактерий на уровне типов (phylum) *Actinobacteria*, *Bacteroidota* и *Fusobacteria* (рис. 4, а), семейств (family) *Pasteurellaceae* и *Pseudomonadaceae* (рис. 5, а), а также родов (genus) *Pseudomonas* и *Porphyromonas*. Зафиксировано также присутствие широкого спектра других родов (рис. 6, а). Кроме того, зарегистрировано снижение количества бактерий типов (phylum) *Firmicutes* и *Proteobacteria* (см. рис. 4, а), семейств (family) *Streptococcaceae*, *Gemellaceae*

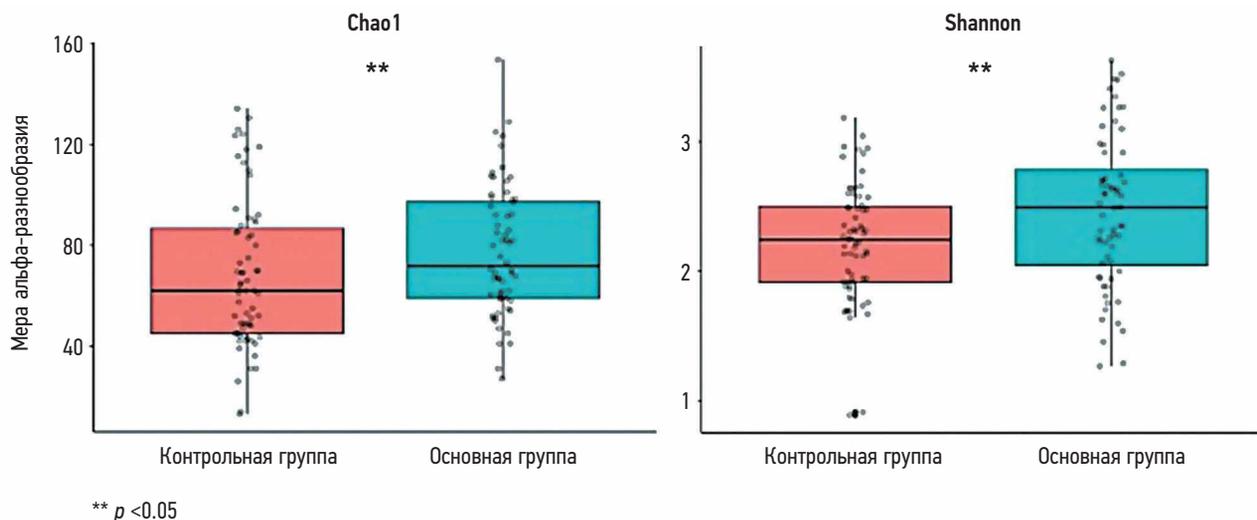


Рис. 1. Анализ альфа-разнообразия бактериального состава слизистой оболочки полости рта в зависимости от наличия болезни по индексам Чао1 и Шеннона.

Fig. 1. Analysis of alpha diversity of the bacterial composition of the oral mucosa depending on the presence of the disease using the Chao1 and Shannon indices.

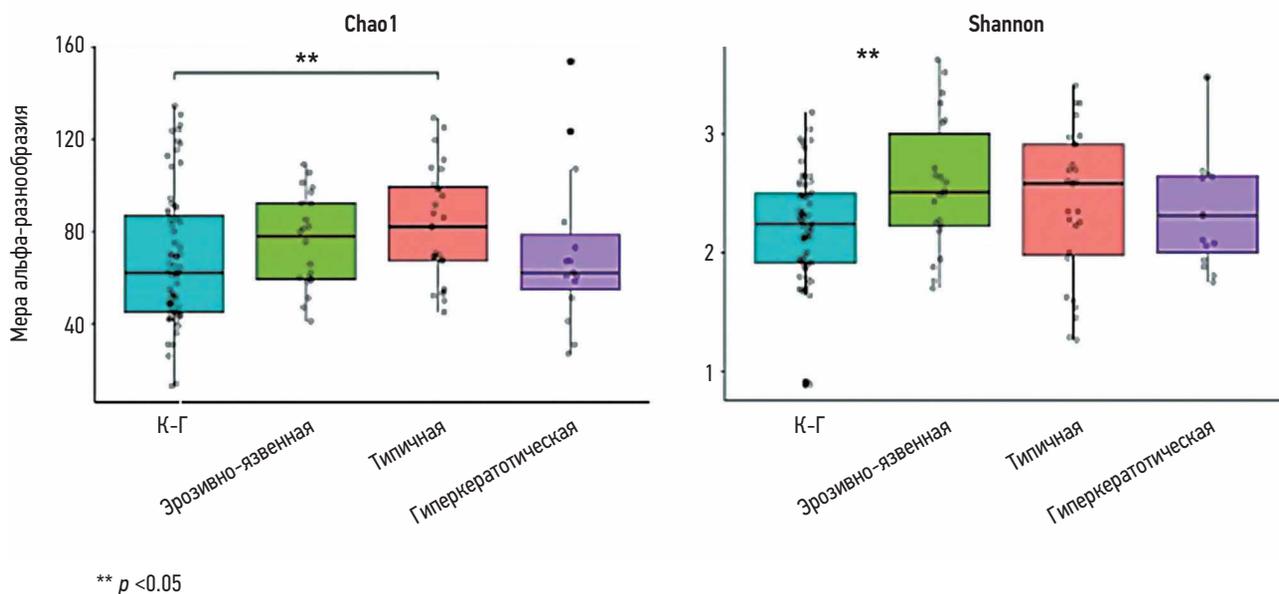


Рис. 2. Анализ альфа-разнообразия бактериального состава слизистой оболочки полости рта при разных формах красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта с использованием индексов Чао1 и Шеннона.

Fig. 2. Alpha diversity measurement of bacterial composition of oral cavity according to the form of the oral lichen planus disease using Chao1 and Shannon Index.

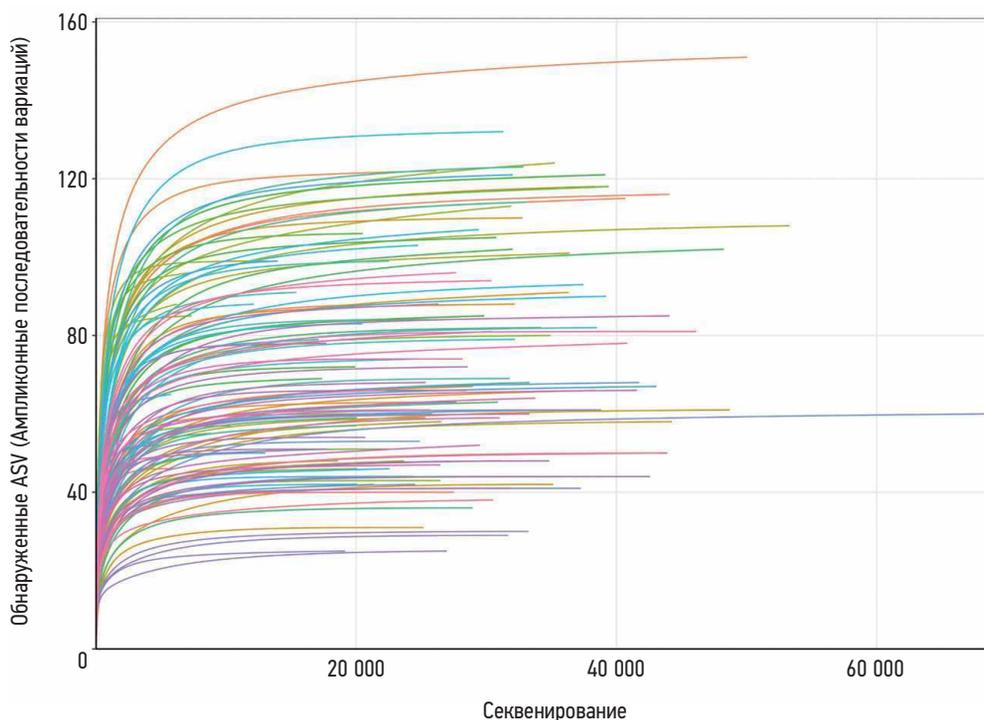


Рис. 3. Кривая разреживания вариантов последовательностей ампликонов.

Fig. 3. Rarefaction curve plot.

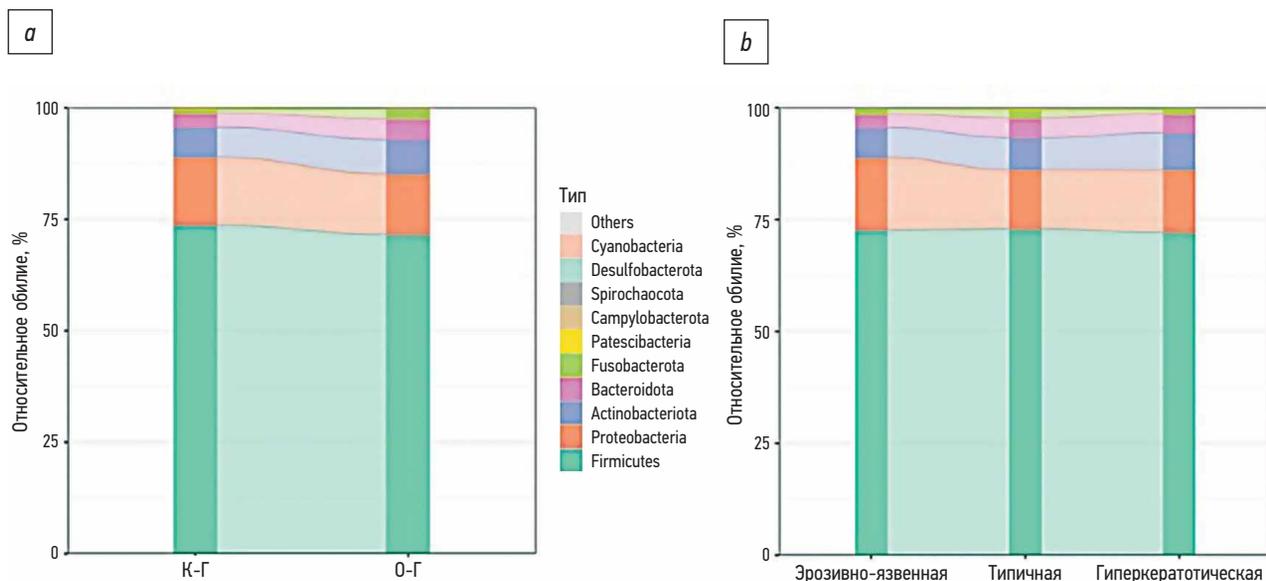


Рис. 4. Представленность бактериальных типов полости рта: сравнение между основной (О-Г) и контрольной (К-Г) группой (а); анализ для типичной, эрозивно-язвенной и гиперкератотической клинических форм (b). (Десять самых распространённых таксонов).
Fig. 4. Representation of the relative abundance of oral microbiota at the phylum level with comparisons between the main group (O-G) and control group (K-G) (a), as well as among the typical, erosive-ulcerative, and hyperkeratotic forms (b) (The 10 more frequent taxa).

и Carnobacteriaceae (см. рис. 5, a), родов (genus) *Streptococcus*, *Granulicatella* и *Gemella* (см. рис. 6, a). Следует обратить особое внимание на тот факт, что при эрозивно-язвенной и гиперкератотической форме КПЛ СОПР отмечается уменьшение численности бактерий рода *Streptococcus* по сравнению с другими клиническими вариантами заболевания (см. рис. 6, b). Статистическая значимость полученных данных подтверждена с использованием критерия Вилкоксона ($p < 0,05$).

Анализ бета-разнообразия. Расчёт бета-разнообразия не выявил различий между группой пациентов с КПЛ СОПР и контрольной группой (рис. 7), однако при сравнении по формам заболевания были зарегистрированы статистически значимые различия (рис. 8). В частности, установлено, что типичная и гиперкератотическая формы заболевания формируют более чёткую группировку (см. рис. 8, b), как и эрозивно-язвенная форма с гиперкератотической формой (см. рис. 8, d) со

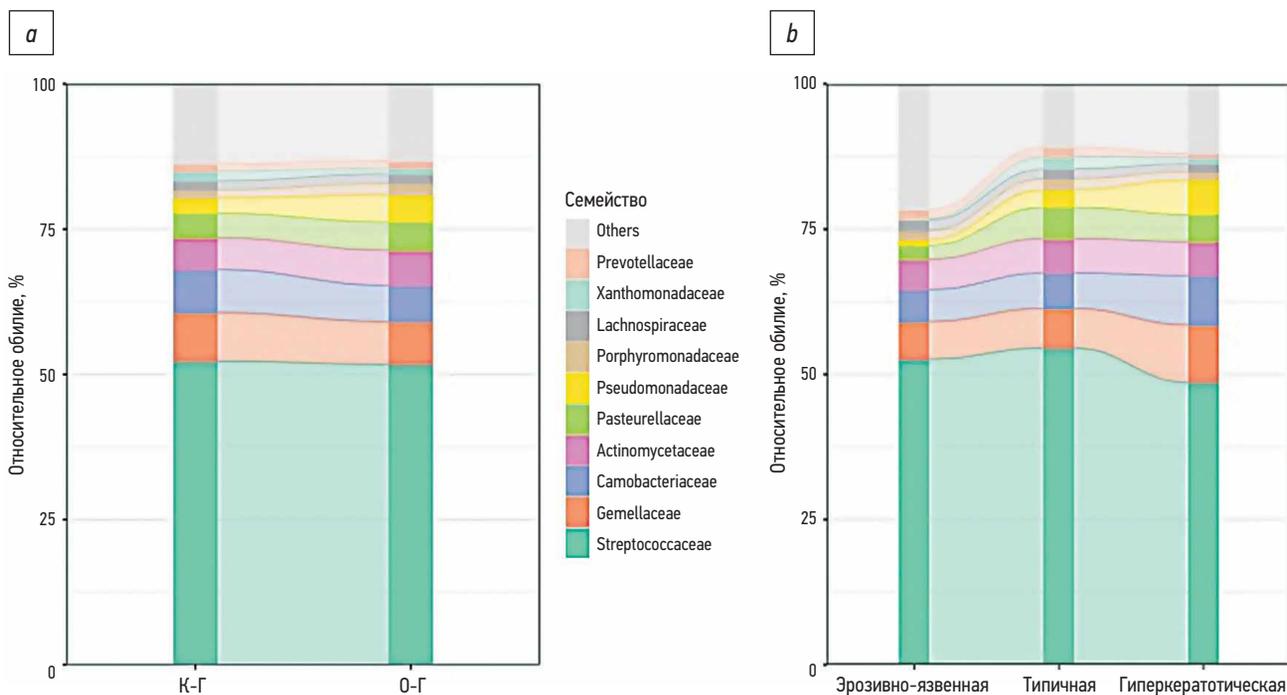


Рис. 5. Представленность бактериальных филумов полости рта на уровне семейства: сравнение между основной (O-Г) и контрольной (K-Г) группой (a); анализ для типичной, эрозивно-язвенной и гиперкератотической клинических форм (b). (Десять самых распространённых таксонов).

Fig. 5. Representation of the relative abundance of oral microbiota at a family level with comparisons between the main group (O-Г) and control group (K-Г) (a), as well as among the typical, erosive-ulcerative, and hyperkeratotic forms (b) (The 10 more frequent taxa).

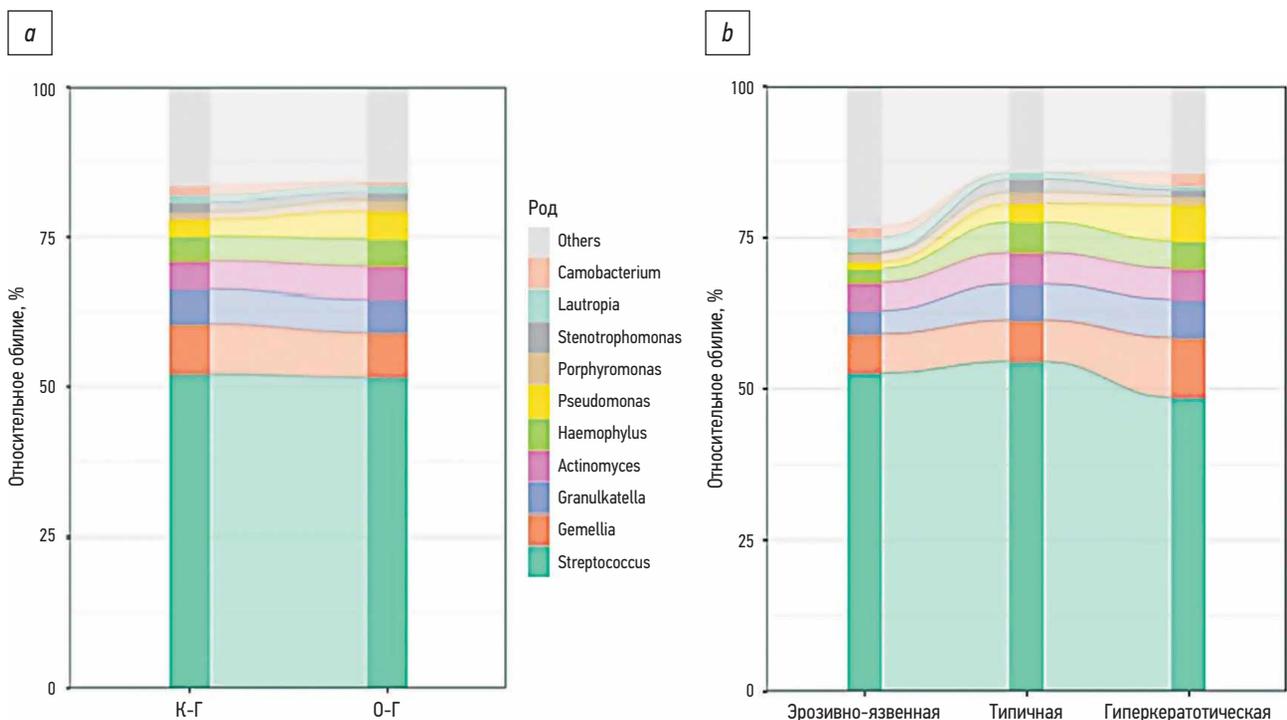


Рис. 6. Представленность бактериальных типов полости рта на уровне родов: сравнение между основной (O-Г) и контрольной (K-Г) группой (a); анализ для типичной, эрозивно-язвенной и гиперкератотической клинических форм (b). (Десять самых распространённых таксонов).

Fig. 6. Representation of the relative abundance of oral microbiota at a genus level with comparisons between the main group (O-Г) and control group (K-Г) (a), as well as among the typical, erosive-ulcerative, and hyperkeratotic forms (b) (The 10 more frequent taxa).

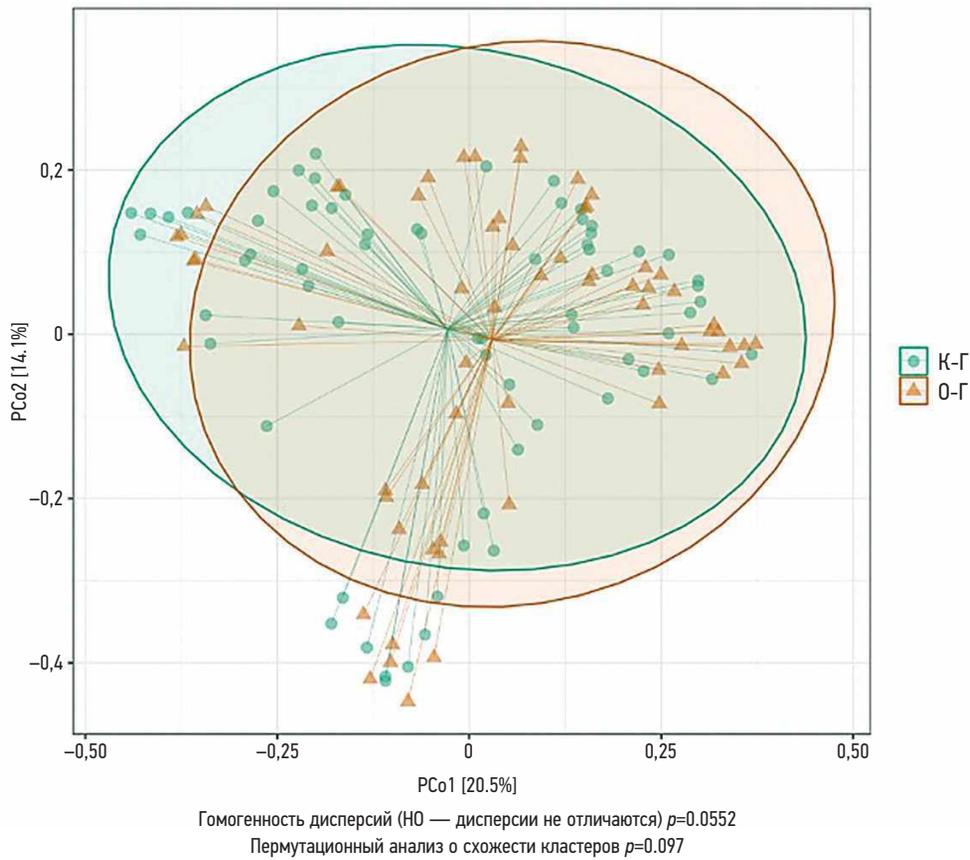


Рис. 7. Бета-разнообразие у пациентов основной (O-Г) и контрольной (К-Г) групп с применением метода PCoA (главных координат).
Fig. 7. Beta-diversity analysis of microbial community compositional differences between the main group (O-Г) and the control group (К-Г) using PCoA (Principal coordinate Analysis).

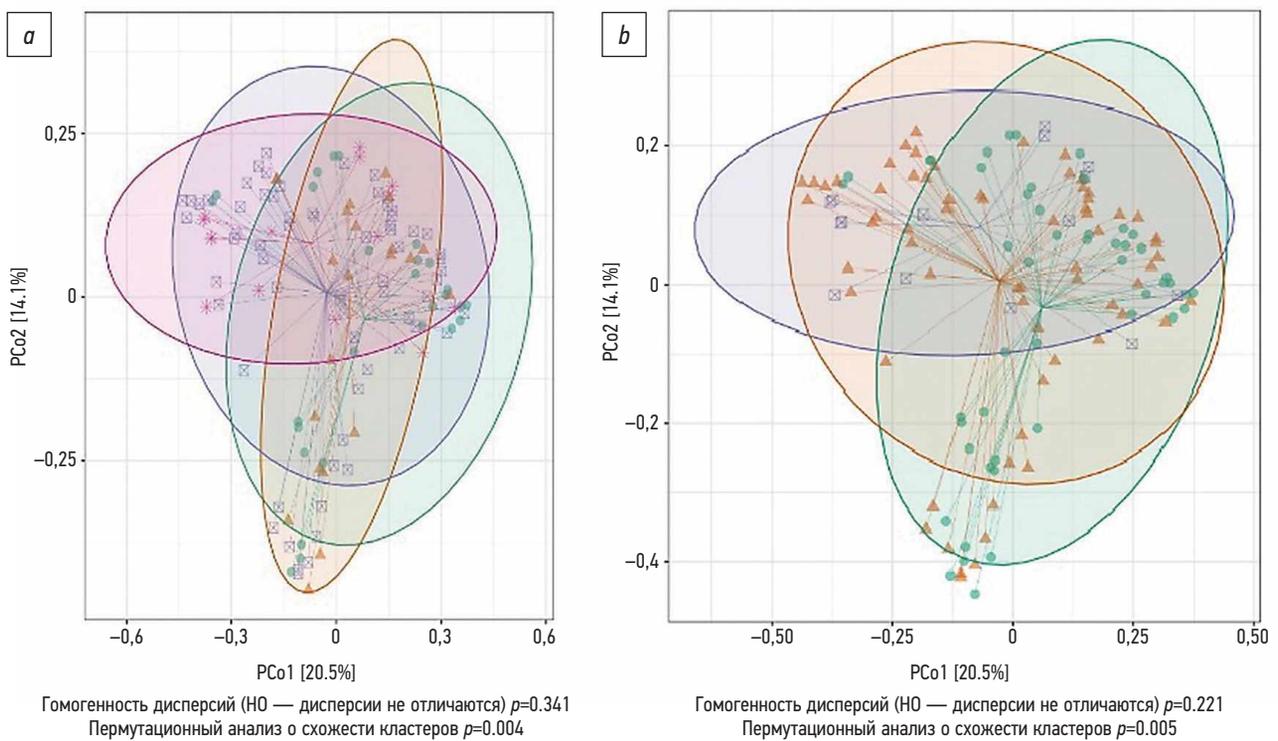


Рис. 8. Бета-разнообразие в зависимости от формы заболевания с использованием метода PCoA (главных координат).
Fig. 8. Beta-Diversity Analysis of microbial community compositional differences according to the form of the disease using PCoA (Principal coordinate Analysis).

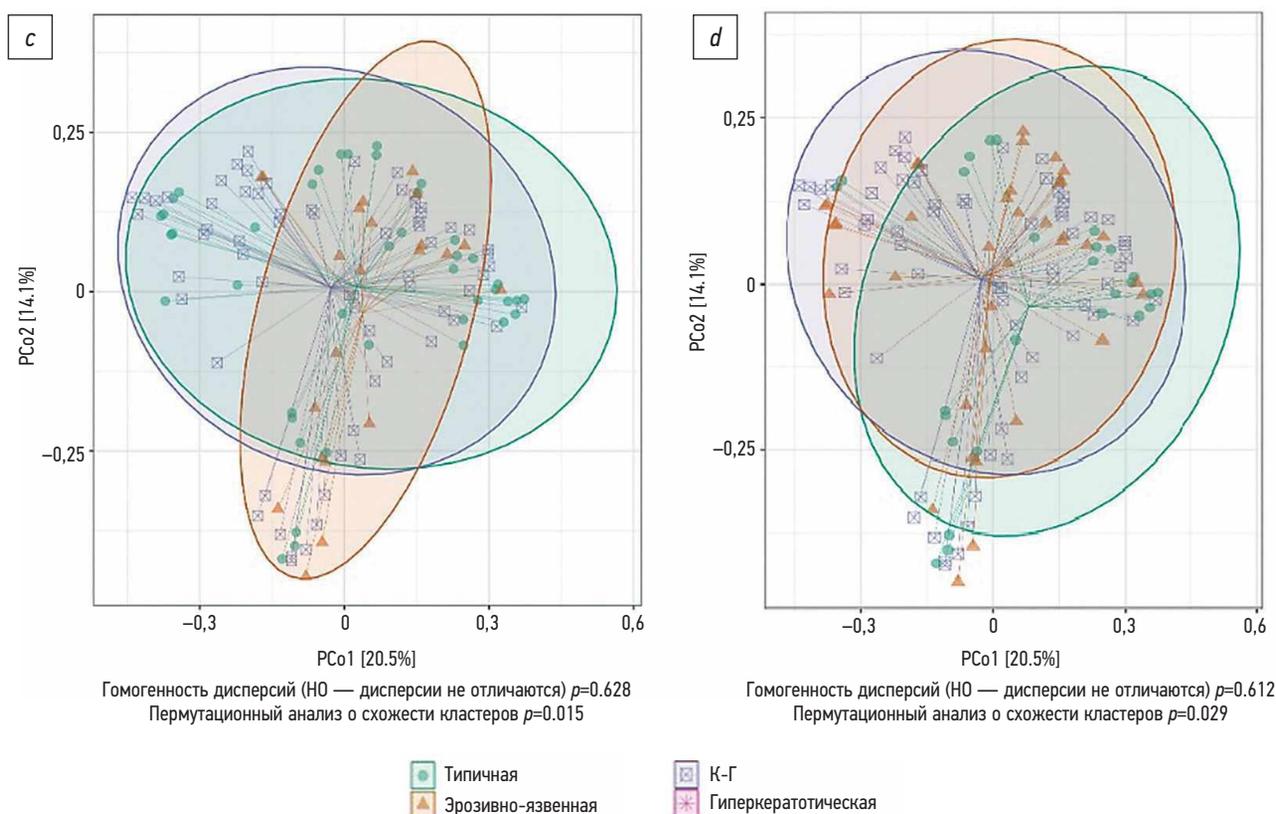


Рис. 8. Окончание.
Fig. 8. Ending.

значениями $p=0,628$ и $p=0,612$ соответственно. Данное наблюдение даёт основание предполагать, что типичная клиническая форма заболевания демонстрирует более значительные дифференциации в структуре микробиома по сравнению с гиперкератотической и эрозивно-язвенной формами.

Анализ Венна. Анализ Венна даёт информацию о пересекающихся и уникальных ASV в анализируемых группах. Между основной и контрольной группой пересекается только половина ASV (рис. 9, a). При сравнении видов заболевания сильнее всего от микробиома группы

контроля отличается гиперкератотическая форма, она также отличается от остальных форм (рис. 9, b).

Анализ дифференциальной представленности. В основной группе в сравнении с контрольной были обнаружены значимые различия в количестве девяти уникальных видов микроорганизмов различных таксономических уровней (рис. 10). Дополнительно сравнительный анализ микробиоты сгруппированного по клиническим формам заболевания выявил разнообразие в составе видов между гиперкератотической и типичной формами, подчёркивая специфику микробного профиля для каждой из них (рис. 11).

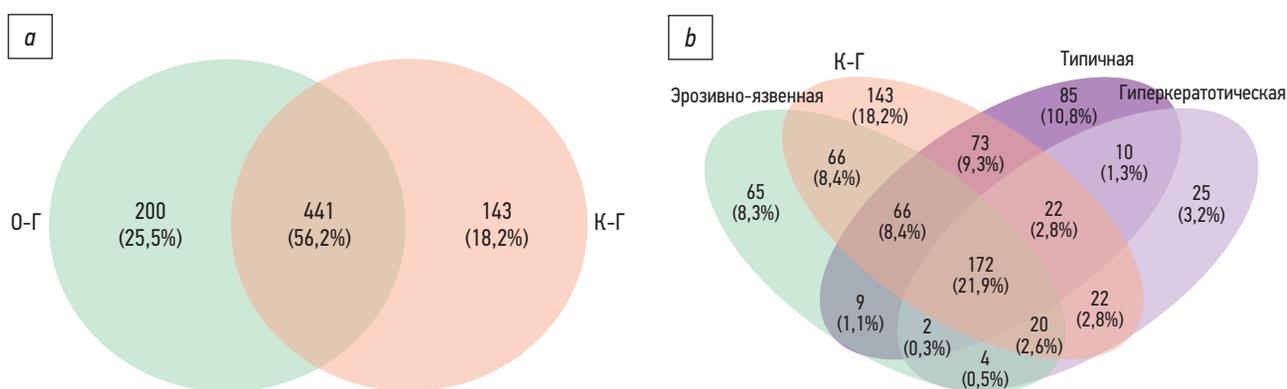


Рис. 9. Диаграмма Венна: для основной (O-Г) и контрольной (K-Г) групп (a); согласно клинической форме заболевания (b).
Fig. 9. Venn diagram representation of the main (O-Г, oral lichen planus patients) and control (K-Г) group (a) and according to clinical form (b).

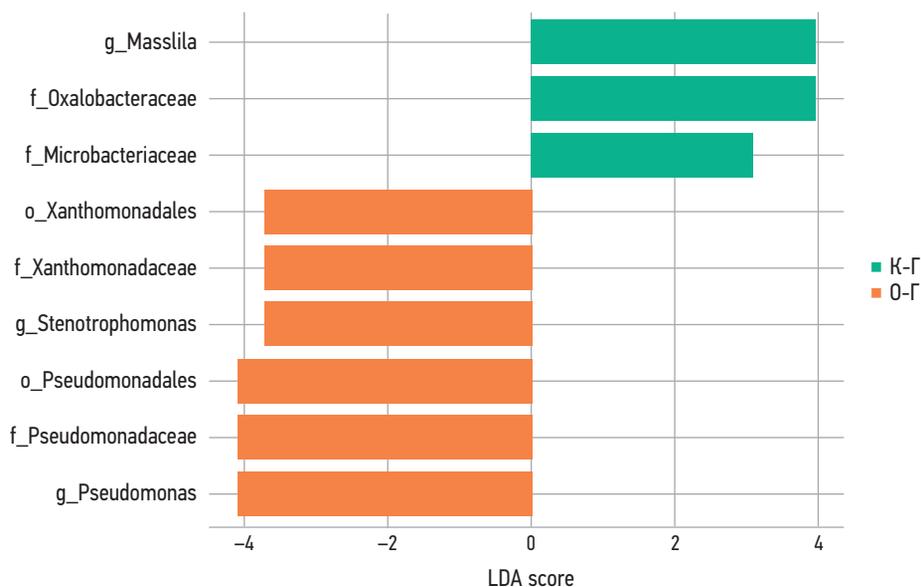


Рис. 10. Дифференциальная представленность ASV между пациентами основной (O-Г) и контрольной (K-Г) групп с использованием линейного дискриминантного анализа (LDA).

Fig. 10. Differential abundance of amplicon sequence variants (ASV) between the main group (O-Г) and the control group (K-Г) as determined by linear discriminant analysis (LDA).

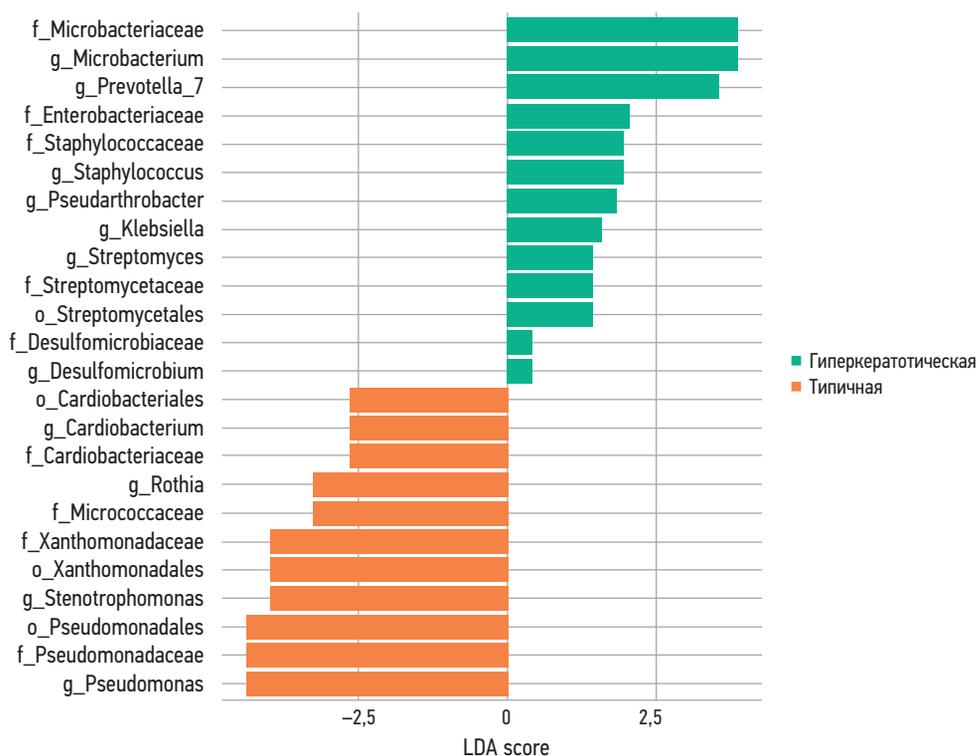


Рис. 11. Дифференциальная представленность ASV между типичной и гиперкератотической формой красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта на основе линейного дискриминантного анализа (LDA).

Fig. 11. Differential abundance of amplicon sequence variants (ASVs) between the typical and hyperkeratotic forms of oral lichen planus using linear discriminant analysis (LDA).

ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках исследования проведён анализ микробного состава у пациентов, страдающих КПЛ СОПР, с последующим сравнением полученных данных с показателями контрольной группы. Особое внимание было уделено

изучению различий микробного состава в зависимости от клинической формы заболевания — типичной, эрозивно-язвенной и гиперкератотической, что позволило провести детальный сравнительный анализ подгрупп.

Результаты анализа альфа-разнообразия, представленные на рис. 1, показали, что микробный состав

у пациентов основной группы был более разнообразным. В то же время, сравнивая различные клинические формы КПЛ СОПР с показателями контрольной группы, были обнаружены значительные различия в биоразнообразии микроорганизмов, особенно в типичной и эрозивно-язвенной формах, что подтверждается данными индексов Чао1 и Шеннона (см. рис. 4–6). Полученные результаты отличаются от представленных в работе F.Y. Yu и соавт. [6]. Различия могут быть обусловлены спецификой состава контрольной группы, разнообразием секвенированных регионов и прочими конфаундерами, способными модифицировать связь между рассматриваемым фактором риска и результатом исследования.

Относительная численность микробиоты полости рта на всех таксономических уровнях (тип, семейство и род) также показала, что доминирующие бактерии в КПЛ СОПР существенно отличаются от тех, которые были обнаружены в контрольной группе. Подгрупповой анализ относительной численности выявил, что в эрозивно-язвенной и гиперкератотической формах число бактерий рода *Streptococcus* было ниже по сравнению с типичной формой заболевания. Напротив, в исследовании M.M. Bornstein и соавт. [7] у пациентов с КПЛ, имеющих неэрозивные/бессимптомные поражения, бактериальная нагрузка для *Campylobacter sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Lactobacillus crispatus*, *Mobiluncus curtisii*, *Neisseria mucosa*, *Prevotella bivia*, *Prevotella intermedia* и *Streptococcus agalactiae* в области поражения КПЛ была значительно выше, чем на аналогичных участках контрольных субъектов. Однако это расхождение может объясняться тем, что исследуемые пациенты были бессимптомными, что подразумевает исключение фактора влияния оральной гигиены, способного вносить различия в видовой состав микроорганизмов [8].

Результаты подтверждают также, что микробиота у исследуемых пациентов обеих групп, несмотря на наличие многочисленных язв СОПР, заметно различается. Данное наблюдение предполагает, что изменение микробиоты полости рта может быть непосредственно связано с основным патологическим процессом, а не только с наличием язв СОПР или воспалительной среды в полости рта.

Исследование микробного состава у пациентов с КПЛ СОПР показало существенные отличия от показателей контрольной группы. Особое внимание привлекло повышенное, в сравнении с контрольной группой, присутствие в группе пациентов таких патогенов, ассоциированных с пародонтитом, как *Pseudomonas* и *Porphyromonas*, что подчёркивает значительное различие в микробной экосистеме (см. рис. 4–6).

Настоящее исследование подтверждает результаты предыдущих работ, где оценивалась распространённость пародонтопатогенных микроорганизмов с использованием культурального метода. Однако в отличие от предыдущего исследования, где контрольная группа состояла

из пациентов без КПЛ СОПР, но страдающих пародонтитом или гингивитом, в данном исследовании контрольная группа не имела никаких заболеваний полости рта. Благодаря такому подбору контрольной группы удалось выявить, что микроорганизмы, обладающие пародонто-разрушающим воздействием, такие как *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Veillonella parvula*, *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola*, могут быть ассоциированы с КПЛ СОПР [8].

В отличие от показателей альфа-разнообразия, которые продемонстрировали различия в микробиоте полости рта пациентов основной группы в сравнении с контрольной, анализ бета-разнообразия не выявил значительных различий между группами. Это подчёркивает, что состав микробиоты (бета-разнообразия) остаётся практически схожим между исследуемыми группами, разнообразие и численность отдельных видов (альфа-разнообразия) отличаются, что указывает на специфические изменения в микробном сообществе, связанные с состоянием здоровья полости рта.

Возможная интерпретация данного явления заключается в том, что наличие определённых условий может способствовать росту специфических видов бактерий, уже существующих в полости рта. Эти виды бактерий затем увеличиваются в численности, в то время как другие могут уменьшаться, что приводит к изменению альфа-разнообразия без выраженных изменений общего спектра присутствующих бактерий.

Попарное сравнение показателей бета-разнообразия между подгруппами показало, что образцы из подгруппы с типичной формой заболевания характеризовались более выраженным различием в составе микробиоты по сравнению с гиперкератотическими и эрозивно-язвенными формами. Эти различия в микробном составе, наблюдаемые при сравнении клинических форм, позволяют предположить, что изменения в микробиоте полости рта не только предшествуют развитию более серьёзных форм заболевания, но и могут активно влиять на его форму/тяжесть.

Диаграммы Вейна демонстрируют значительное сходство микрофлоры между контрольной (К-Г) и основной (О-Г) группой, подтверждая результаты ранее проведённого анализа бета-разнообразия. Тем не менее наличие уникальных микроорганизмов в группе пациентов с заболеванием подчёркивает их специфическую роль и указывает на отдельную микробиомную сигнатуру, ассоциированную с данным состоянием.

Детальный (линейный дискриминантный) анализ выявил уникальные бактериальные таксоны, характерные для основной группы: *Pseudomonas*, *Pseudomonadaceae* и *Pseudomonadales* заслуживают особого внимания ввиду их высокой экологической устойчивости и потенциала оппортунистической патогенности. Их повышенное присутствие у пациентов с КПЛ СОПР предполагает возможные патогенные изменения в составе микробиоты полости

рта [9]. Вызывают опасения также *Stenotrophomonas*, *Xanthomonadaceae* и *Xanthomonadales*, связанные с антибиотикорезистентностью и инфекциями, что при их доминировании в основной группе свидетельствует о дисбиозе, ассоциированном с заболеванием [10]. Наконец, *Massilia*, *Oxalobacteraceae* и *Microbacteriaceae*, менее доминирующие в полости рта, могут представлять собой комменсальные бактерии, характерные для здорового орального микробиома.

Анализ подгрупп с помощью линейного дискриминантного анализа (linear discriminant analysis, LDA) выявил ряд бактериальных таксонов с существенно различающейся численностью между гиперкератотической и типичной формами заболевания, что согласуется с бета-разнообразием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменения в составе микробиоты полости рта могут играть ключевую роль в патогенезе КПЛ СОПР, указывая на взаимосвязь микробного дисбаланса с развитием этого заболевания. При этом обнаружение повышенного числа патогенов, ассоциированных с заболеваниями пародонта, подчёркивает возможное перекрытие патогенетических механизмов между КПЛ СОПР и пародонтитом, что открывает перспективы для дальнейшего изучения их связи. Кроме того, выявленные уникальные микробные сигнатуры, ассоциированные с различными клиническими формами КПЛ СОПР, предлагают основу для разработки целенаправленных терапевтических подходов. Такой подход может способствовать созданию дифференцированных стратегий лечения, адаптированных к специфике каждой клинической формы заболевания.

Важность дополнительных исследований для уточнения причинно-следственных связей между изменениями в микробиоте и КПЛ СОПР не может быть переоценена. Глубокое понимание этих связей может стать ключом к разработке персонализированных подходов к терапии и профилактике КПЛ СОПР, что, в конечном итоге, повысит эффективность лечения и качество жизни пациентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Roopashree M.R., Gondhalekar R.V., Shashikanth M.C., et al. Pathogenesis of oral lichen planus: A review // *J Oral Pathol Med*. 2010. Vol. 39, N 10. P. 729–734. doi: 10.1111/j.1600-0714.2010.00946.x
2. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных красным плоским лишаем. Москва: Российское общество дерматовенерологов и косметологов, 2015. 19 с.
3. Чуйкин С.В., Акмалова Г.М., Чернышева Н.Д. Особенности клинического течения красного плоского лишая с локализацией на слизистой оболочке полости рта // *Клиническая дерматология и венерология*. 2015. Т. 14, № 3. С. 72–75. doi: 10.17116/klinderma201514372-75

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: Н.П. Теплюк, М.А. Степанов — концепция исследования, внесение в рукопись существенных правок с целью повышения научной ценности; Б.Ш. Дамдинова — анализ полученных данных, интерпретация результатов, существенный вклад в написание статьи; С.В. Тошчаков, С.А. Носков, Н.А. Тутубалина — получение данных, существенные правки с целью повышения научной ценности статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. The work was carried out as part of the fulfillment of the state task of the Scientific Research Center “Kurchatov Institute”.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. N.P. Teplyuk, M.A. Stepanov — research concept, making significant edits to the manuscript in order to increase the scientific value of the article; B.Sh. Damdinova — analysis of the data obtained, interpretation of the results, a significant contribution to the writing of the article; S.V. Toshchakov. S.A. Noskov, N.A. Tutubalina — obtaining data, significant edits in order to increase the scientific value of the article.

4. Теплюк Н.П., Степанов М.А., Дамдинова Б.Ш., Лазарева П.И. Этиология, клинические проявления и микробиота красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта: обзор научной литературы // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2023. Т. 26, № 6. С. 553–562. EDN: IMYRHA doi: 10.17816/dv569013
5. Jung W., Jang S. Oral microbiome research on oral lichen planus: Current findings and perspectives // *Biology*. 2022. Vol. 11, N 5. P. 723. doi: 10.3390/biology11050723
6. Yu F.Y., Wang Q.Q., Li M., et al. Dysbiosis of saliva microbiome in patients with oral lichen planus // *BMC Microbiol*. 2020. Vol. 20, N 1. P. 75. doi: 10.1186/s12866-020-01733-7

7. Bornstein M.M., Hakimi B., Persson G.R. Microbiological findings in subjects with asymptomatic oral lichen planus: A cross-sectional comparative study // *J Periodontol.* 2008. Vol. 79, N 12. P. 2347–2355. doi: 10.1902/jop.2008.080303
8. Свитич О.А., Теплюк Н.П., Степанов М.А., и др. Изучение взаимосвязи между красным плоским лишаем слизистой оболочки полости рта и заболеваниями пародонта: значение микробиоты пародонтальных патогенов и гигиены полости рта // Россий-

- ский журнал кожных и венерических болезней. 2024. Т. 27, № 1. С. 45–54. EDN: CKPMVN doi: 10.17816/dv624269
9. Zaatout N. Presence of non-oral bacteria in the oral cavity // *Arch Microbiol.* 2021. Vol. 203, N 6. P. 2747–2760. doi: 10.1007/s00203-021-02300-y
10. Brooke J.S. *Stenotrophomonas maltophilia*: An emerging global opportunistic pathogen // *Clin Microbiol Rev.* 2012. Vol. 25, N 1. P. 2–41. doi: 10.1128/CMR.00019-11

REFERENCES

1. Roopashree MR, Gondhalekar RV, Shashikanth MC, et al. Pathogenesis of oral lichen planus: A review. *J Oral Pathol Med.* 2010;39(10):729–734. doi: 10.1111/j.1600-0714.2010.00946.x
2. *Federal clinical recommendations for the management of patients with red squamous lichen planus.* Moscow: Russian Society of Dermatovenereologists and Cosmetologists, 2015. 19 p. (In Russ).
3. Chuykin SV, Akmalova GM, Chernysheva ND. Clinical features of lichen ruber planus of the oral mucosa. *Russ J Clin Dermatol Venereol.* 2015;14(3):72–75. doi: 10.17116/klinderma201514372-75
4. Teplyuk NP, Stepanov MA, Damdinova BSh, Lazareva PI. Etiology, clinical manifestations, and oral microbiota in oral lichen planus: A review of the scientific literature. *Russ J Skin Venereal Dis.* 2023;26(6):553–562. EDN: IMYRHA doi: 10.17816/dv569013
5. Jung W, Jang S. Oral Microbiome research on oral lichen planus: Current findings and perspectives. *Biology.* 2022;11(5):723. doi: 10.3390/biology11050723
6. Yu FY, Wang QQ, Li M, et al. Dysbiosis of saliva microbiome in patients with oral lichen planus. *BMC Microbiol.* 2020;20(1):75. doi: 10.1186/s12866-020-01733-7
7. Bornstein MM, Hakimi B, Persson GR. Microbiological findings in subjects with asymptomatic oral lichen planus: A cross-sectional comparative study. *J Periodontol.* 2008;79(12):2347–2355. doi: 10.1902/jop.2008.080303
8. Svitich OA, Teplyuk NP, Stepanov MA, et al. Studying the relationship between oral lichen planus and periodontal disease: Value on periodontal pathogens and oral hygiene. *Russ J Clin Dermatol Venereol.* EDN: CKPMVN 2024;27(1):45–54. doi: 10.17816/dv624269
9. Zaatout N. Presence of non-oral bacteria in the oral cavity. *Arch Microbiol.* 2021;203(6):2747–2760. doi: 10.1007/s00203-021-02300-y
10. Brooke JS. *Stenotrophomonas maltophilia*: An emerging global opportunistic pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(1):2–41. doi: 10.1128/CMR.00019-11

ОБ АВТОРАХ

* Дамдинова Баира Шойсороновна;

адрес: Россия, 119992, Москва, ул. Трубетцкая, д. 8, стр. 2;
ORCID: 0000-0002-4162-2928;
e-mail: baira_d@mail.ru

Теплюк Наталия Павловна, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0002-5800-4800;
eLibrary SPIN: 8013-3256;
e-mail: teplyukn@gmail.com

Степанов Михаил Александрович, канд. мед. наук, доцент;
ORCID: 0000-0002-1872-9487;
eLibrary SPIN: 6524-5665;
e-mail: Doctor.stepanov@gmail.com

Тощаков Степан Владимирович, канд. биол. наук;
ORCID: 0000-0001-7549-3450;
eLibrary SPIN: 8994-5224;
e-mail: stepan.toshchakov@gmail.com

Носков Сергей Александрович;
ORCID: 0009-0006-1578-1382;
e-mail: sergey.noskov.2001@icloud.com

Тутубалина Нина Алексеевна;
ORCID: 0009-0004-7016-3670;
e-mail: nina.tutubalina@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

* Baira Sh. Damdinova;

address: 8-2 Trubetskaya street, 119992 Moscow, Russia;
ORCID: 0000-0002-4162-2928;
e-mail: baira_d@mail.ru

Natalya P. Teplyuk, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;
ORCID: 0000-0002-5800-4800;
eLibrary SPIN: 8013-3256;
e-mail: teplyukn@gmail.com

Mikhail A. Stepanov, MD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor;
ORCID: 0000-0002-1872-9487;
eLibrary SPIN: 6524-5665;
e-mail: Doctor.stepanov@gmail.com

Stepan V. Toshchakov, Cand. Sci. (Biol.);
ORCID: 0000-0001-7549-3450;
eLibrary SPIN: 8994-5224;
e-mail: stepan.toshchakov@gmail.com

Sergey A. Noskov;
ORCID: 0009-0006-1578-1382;
e-mail: sergey.noskov.2001@icloud.com

Tutubalina Nina Alekseevna;
ORCID: 0009-0004-7016-3670;
e-mail: nina.tutubalina@gmail.com