

# **Szájüregi potenciálisan malignus rendellenességekben szenvedő betegek szájnyálkahártya mikrobiótájának változásai**

**Ph.D. értekezés tézisei**

**Dr. Decsi Gábor Sándor, DDS**

**Szegedi Tudományegyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola**

**Témavezetők:**

**Prof. Dr. habil. Nagy Katalin, DDS, Ph.D., DSc**

**Dr. habil. Buzás Krisztina, Ph.D.**



**Szegedi Tudományegyetem  
Fogorvostudományi Kar  
Szeged  
2020**

## A tézis alapjául szolgáló közlemények

- I. **Decsi G**, Soki J, Pap B, Dobra G, Harmati M, Kormondi S, Pankotai T, Braunitzer G, Minarovits J, Sonkodi I, Urban E, Nemeth IB, Nagy K, Buzas K (2019) Chicken or the Egg: Microbial Alterations in Biopsy Samples of Patients with Oral Potentially Malignant Disorders. *Pathol Oncol Res* 25:1023-1033

**Q2**

**IF: 2,433**

- II. Harmati M, Gyukity-Sebestyén E, Dobra G, Terhes G, Urban E, **Decsi G**, Mimica-Dukić N, Lesjak M, Simin N, Pap B, Nemeth IB, Buzas K (2017) Binary mixture of *Satureja hortensis* and *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* essential oils: in vivo therapeutic efficiency against *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 22(2)

**Q1**

**IF: 4,123**

- III. Hettmann A, Demcsák A, **Decsi G**, Bach Á, Pálinkó D, Rovó L, Nagy K, Takács M, Minarovits J (2016) Infectious Agents Associated with Head and Neck Carcinomas. *Adv Exp Med Biol* 897:63-80

**Q2**

**IF: 0,65**

### Egyéb, a Ph.D. tanulmányok alatt megjelent publikációk:

1. Sonkodi I, Boda K, **Decsi G**, Buzás K, Nagy K. (2018) A clinicopathological retrospective epidemiological analysis of benign tumors and tumor-like lesions in the oral and maxillofacial region, diagnosed at the University of Szeged, Department of Oral Medicine (1960-2014). *Orv Hetil* 159:1516-1524.

2. Hettmann A, Demcsák A, Bach Á, **Decsi G**, Dencs Á, Pálinkó D, Rovó L, Terhes G, Urbán E, Buzás K, Nagy K, Takács M, Minarovits J. (2018) Prevalence and genotypes of human papillomavirus in saliva and tumor samples of head and neck cancer patients in Hungary. *Infect Genet Evol* 59:99-106.

3. Zsedényi A, Farkas B, Abdelrasoul GN, Romano I, Gyukity-Sebestyen E, Nagy K, Harmati M, Dobra G, Kormondi S, **Decsi G**, Nemeth IB, Diaspro A, Brandi F, Beke S, Buzas K. (2017) Gold nanoparticle-filled biodegradable photopolymer scaffolds induced muscle remodeling: in vitro and in vivo findings. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 72:625-630.
4. Harmati M, Tarnai Z, **Decsi G**, Kormondi S, Szegletes Z, Janovak L, Dekany I, Saydam O, Gyukity-Sebestyen E, Dobra G, Nagy I, Nagy K, Buzas K. (2017) Stressors alter intercellular communication and exosome profile of nasopharyngeal carcinoma cells. *J Oral Pathol Med* 46:259-266.
5. Hettmann A, Demcsák A, Bach Á, **Decsi G**, Dencs Á, Pálinkó D, Rovó L, Nagy K, Minarovits J, Takács M. (2016) Detection and Phylogenetic Analysis of Torque Teno Virus in Salivary and Tumor Biopsy Samples from Head and Neck Carcinoma Patients. *Intervirology* 59:123-129.
6. Palmer SC, Ruospo M, Wong G, Craig JC, Petruzzi M, De Benedittis M, Ford P, Johnson DW, Tonelli M, Natale P, Saglimbene V, Pellegrini F, Celia E, Gelfman R, Leal MR, Torok M, Stroumza P, Bednarek-Skublewska A, Dulawa J, Frantzen L, Ferrari JN, Del Castillo D, Bernat AG, Hegbrant J, Wollheim C, Gargano L, Bots CP, Strippoli GF; ORAL-D Study Investigators. (2015) Dental Health and Mortality in People With End-Stage Kidney Disease Treated With Hemodialysis: A Multinational Cohort Study. *Am J Kidney Dis* 66:666-76.
7. Niller HH, Tarnai Z, **Decsi G**, Zsedényi A, Bánáti F, Minarovits J. (2014) Role of epigenetics in EBV regulation and pathogenesis. *Future Microbiol* 9:747-56.
8. Strippoli GF, Palmer SC, Ruospo M, Natale P, Saglimbene V, Craig JC, Pellegrini F, Petruzzi M, De Benedittis M, Ford P, Johnson DW, Celia E, Gelfman R, Leal MR, Torok M, Stroumza P, Bednarek-Skublewska A, Dulawa J, Frantzen L, Ferrari JN, del Castillo D, Hegbrant J, Wollheim C, Gargano L; ORAL-D Investigators. (2013) Oral disease in adults treated with hemodialysis: prevalence, predictors, and association with mortality and adverse cardiovascular events: the rationale and design of the ORAL Diseases in hemodialysis (ORAL-D) study, a prospective, multinational, longitudinal, observational, cohort study. *BMC Nephrol* 14:90.

## Tartalom

1	Bevezetés .....	8
2	Célkitűzések és hipotézisek .....	10
3	Anyagok és módszerek .....	11
4	Eredmények .....	11
4.1	Metagenom szekvenálás .....	11
4.2	MALDI-TOF tömegspektrometria .....	12
4.3	<i>Fusobacterium nucleatum</i> qPCR.....	12
4.4	Bakteriális infekció okozta nyálkahártya lézió rágcsáló modellje .....	12
5	Diszkusszió .....	13
6	Konklúzió.....	15
6.1	Az értekezésben szereplő új eredmények összefoglalása.....	16
7	Köszönetnyilvánítás .....	17

Co-author certification

## Társszerzői lemondó nyilatkozat

Alulírott Harmati Mária kijelentem, hogy Decsi Gábor Sándor PhD értekezésének tézispontjaiban bemutatott - közösen publikált - tudományos eredmények elérésében a pályázónak meghatározó szerepe volt, ezért ezeket a téziseket más a PhD fokozat megszerzését célzó minősítési eljárásban nem használta fel, illetve nem kívánja felhasználni.

2019. október 04

dátum

Harmati Mária

szerző

A pályázó tézispontjaiban érintett, közösen publikált közlemények:

Harmati M, Gyukity-Sebestyen E, Dobra G, Terhes G, Urban E, Decsi G, Mimica-Dukić N, Lesjak M, Simin N, Pap B, Nemeth IB, Buzas K (2017) Binary mixture of *Satureja hortensis* and *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* essential oils: in vivo therapeutic efficiency against *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 22(2)

## TÁRSSZERZŐI LEMONDÓ NYILATKOZAT

Alulírott Hettmann Andrea kijelentem, hogy

Decsi Gábor Sándor

### **Alterations in Oral Mucosal Microbiota of Patients with Oral Potentially Malignant Disorders**

című doktori értekezésének téziseit, amelyekről közös tudományos publikáció(i)nk jelent(ek) meg, a jelölt tudományos eredményeinek ismerem el. Kijelentem továbbá, hogy ezen eredményeket korábban nem használtam fel tudományos fokozat megszerzésekor, és ezt a jövőben sem teszem.

Tézispont száma: 4

Vonatkozó közös publikáció\*:

Hettmann A, Demcsák A, Decsi G, Bach Á, Pálinkó D, Rovó L, Nagy K, Takács M, Minarovits J (2016) Infectious Agents Associated with Head and Neck Carcinomas. Adv Exp Med Biol 897:63-80

Kelt: *Gárdonyi, 2019. 12. 03.*

.....  
*[Handwritten signature]*

(aláírás)

\* Több társszerző esetén a nyilatkozatot elegendő, ha csak a közlemény első (felelős) szerzője teszi meg, abban az esetben, ha az nem a doktorjelölt.

## **Rövidítések listája**

**DNS** – deoxiribonukleinsav

**EBV** – Epstein-Barr vírus

**HPV** – humán papillóma vírus

**LP** – lichen planus

**MALDI-TOF tömegspektrometria** – matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight tömegspektrometria

**LPO** –lichen planus oris

**PVL** – proliferatív verrucosus leukoplakia

**qPCR** – quantitative polymerase chain reaction

**TTV** – torque teno vírus

## 1 Bevezetés

Klinikai gyakorlatunkban - a Szegedi Tudományegyetem Fogorvostudományi Kar Orális Medicina Részlegén - a két leggyakrabban előforduló szájüregi potenciálisan malignus rendellenesség a leukoplakia és a lichen planus oris. Mindkét elváltozás tünete a szájnyálkahártya hyperkeratosisa miatt fehérré váló hámfelszín, hasonlóan más potenciálisan malignus rendellenességekhez.

Differenciáldiagnosztikai szempontból mindkét elváltozás az úgynevezett „fehér léziók” „potenciálisan malignus és malignus” alcsoportjába tartozik. Ebbe a csoportba tartozik még a submucosus fibrosis, a lupus erythematosus, az epidermoid carcinoma és a verrucosus carcinoma. (A „fehér léziók” csoportja más etiológiájú elváltozásokat is magában foglal, melyek között „öröklött”, „szerzett fertőzőes és nem fertőzőes”, és „egyéb” betegségek szerepelnek. Fehér színüket okozhatja a fent leírt hyperkeratosis, vagy pseudomembránt kialakító fertőzés és/vagy gyulladás. Mivel nagyszámú, különböző etiológiájú betegség okozhat hasonló tüneteket, a fehér léziók klinikai dignosztikája sokszor bonyolult feladat. A diagnózis felállítása az esetek túlnyomó többségében hisztológiai és/vagy immunológiai, mikrobiológiai elemzést igényel.)

Leukoplakiának nevezzük a szájnyálkahártya olyan le nem törölhető fehér foltját, amely nem sorolható be más jól definiálható betegségcsoportba. A leukoplakia klinikai diagnózisként állapítható meg. A leukoplakia hatszor gyakoribb dohányosoknál, mint nemdohányzóknál. Megkülönböztetünk homogén (simplex) és nem homogén típusokat: nem homogén típusok közé tartozik a verrucosus leukoplakia, a nodularis leukoplakia és az erythroleukoplakia.

A proliferatív verrucosus leukoplakia a verrucosus leukoplakia nagy malignitási- és recidívahajlamot mutató típusa, mely többnyire idősebb, alkoholt nem fogyasztó, nemdohányzó nőket érint. A klinikai kép háttérében álló hisztopathológiai elváltozás lehet hyperkeratosis dysplasia nélkül vagy dysplasiával, mely átmehet verrucosus hyperplasiába és verrucosus carcinomába. Megoszló eredményeket találunk az irodalomban a humán papillómavírus (HPV) fertőzés etiológiai szerepéről a leukoplakiák kialakulásában. Nem tisztázott még a leukoplakia kialakulásában és a karcinogenezisben a torque-tenovírus (TTV), az Epstein-Barr vírus (EBV) és a *Candida albicans* szerepe sem. Felmerült, hogy specifikus



bakteriális fertőzéseknek, mint a *Helicobacter pylori*, vagy az intracelluláris *Mycoplasma salivarium* fertőzésnek is kóroki szerepe lehet. A *Helicobacter pylori* jelenlétének a következményei már ismertek a gyomorkarcinóma esetében. Ha a *Helicobacter pylorinak* van szerepe a szájnyálkahártya hámjának karcinogenezisében, felmerül a kérdés, hogy hasonló folyamatok játszódnak-e le a szájnyálkahártya hám illetve a duodenum baktérium vagy bakteriális életközösség indukálta karcinogenezisében. A leukoplákia - és általában a karcinogenezis - létrejöttében szerepe lehet a parodontális gyulladások esetén megváltozott mikrobiótának. Ezek szerint elegendő lehet a nyál vagy a szájnyálkahártya mikrobióta egyensúlyának megváltozása ezen folyamatok indukciójához.

A lichen planus (LP) a bőr és a szájnyálkahártya krónikus multifaktoriális, gyulladásos, autoimmun idiopathiás betegsége. A szájnyálkahártyán fehér lézióként jelentkezik (LPO, lichen planus oris). Pathogenezisének legfontosabb aspektusa a szájnyálkahártya bazális sejtrétege alatt sávszerűen megjelenő CD8+ T limfocita akkumuláció, ami a bazális sejtréteg keratinocitáinak a DNS károsodását okozza antigén-specifikus sejt mediálta immunválasszal. A CD8+ T sejtek a bazális membránt is károsítják. A legelfogadottabb hipotézis szerint a gyulladásos és a stromális sejtek krónikus stimulációja iniciálja a folyamatot, ami az epiteliális sejtek kontrollálatlan növekedéséhez vezet. Emellett oxidatív stressz indukálta DNS károsodás szintén okozhat neoplastikus változásokat, bár az ehhez vezető szignalizációs kaszkád aktivációs mechanizmusa jelenleg még ismeretlen. Több különböző forrás alapján vírusok, gombák és baktériumok is látókörbe kerültek, mint a lichen planus potenciális iniciációs faktorai. Ha az LPO kialakulásában valóban szerepet játszanak baktériumok, kérdés, hogy az iniciáció, illetve a folyamat triggerelésének helyszíne a szájüregi nyálkahártya-e, vagy a test más területei, mint a bőr, a genitáliák nyálkahártyája, a gastrointesztinális nyálkahártya, a gége nyálkahártyája, vagy esetleg a szem? Az sem tisztázott, hogy a folyamatot egy baktériumfaj jelenléte iniciálja, több faj interakciójára van ehhez szükség, vagy a normál szájflóra egyensúlyának megbomlása elégséges ehhez.

Annak érdekében, hogy világosabb képet kapjunk a fent leírt tényekről és feltevésekről, megvizsgáltuk pácienseink szájnyálkahártyájának mikrobiális kolonizációját. Eredményeink azt mutatják, hogy a potenciálisan malignus rendellenességeket kolonizáló mikrobiom összetétele különbözik az egészséges nyálkahártyát kolonizáló mikrobiom összetételétől.

## 2 Célkitűzések és hipotézisek

A fő célunk az ismeretlen etiológiájú szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek mikrobiomjának/mikrobiótájának vizsgálata.

Célok, hipotézisek:

1. Célunk megvizsgálni és összehasonlítani a szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek területének és a klinikailag egészséges szájnyálkahártya területének a mikrobiomját az érintett területekből vett minták metagenom szekvenálással nyert eredményei alapján.

Feltételezzük, hogy a klinikailag egészséges és a potenciálisan malignus rendellenességek területén lévő szövetek mikrobiomja eltérő és a potenciálisan malignus rendellenességek területének mikrobiomjában felülreprezentáltak pathogénként számon tartott baktériumfajok.

2. Célunk megvizsgálni és összehasonlítani a klinikailag egészséges és a potenciálisan malignus rendellenességek felszínének mikrobiótáját baktériumtenyésztés után végzett MALDI-TOF tömegspektrometriai elemzés által kapott eredmények alapján.

Feltételezzük, hogy a MALDI-TOF tömegspektrometriai vizsgálatból származó eredmények legnagyobb részét átfedőek a metagenom szekvenálásból származó eredményekkel.

3. Célunk megismerni a *Helicobacter pylori* - ismert tumorigén potenciállal rendelkező baktérium - által fertőzött rágsáló gyomornyálkahártyájának gyulladás talaján kialakuló hisztopathológiai változásait abból a célból, hogy felhasználható- e kísérleti modellként a nyálkahártyák gyulladás talaján kialakuló tumorigenezisének vizsgálatára.

Feltételezzük, hogy ha a szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek kialakulását baktériumok vagy az azok által okozott gyulladás okozza vagy triggereli, az ezekből származó szövetmintákban találhatunk hasonló hisztopathológiai eltéréseket, mint a rágsáló modelltől származó *Helicobacter pylori* okozta gyomornyálkahártya gyulladás és carcinoma mintákban.

4. Célunk összehasonlítani az eredményeinket a szakirodalomban szereplő adatokkal.

Feltételezzük, hogy a szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek mikrobiomjában létrejött változások átfedőek a szakirodalomban fellelhető szájüregi laphámrákok mikrobiomjának eltéréseivel.

### 3 Anyagok és módszerek

Kutatásunk szájüregi potenciálisan malignus rendellenességben szenvedő betegek szájnyálkahártya mikrobiomjának illetve mikrobiótájának meghatározására irányul, összehasonlítva a klinikailag egészséges, és a rendellenes területek bakteriális kolonizációját. Az elváltozások hisztológiai vizsgálatához az érintett területekből punch biopsziát vettünk, melyekből hematoxilin-eozin festéssel preparált metszetek készültek. A mikrobiom meghatározását az érintett területekből és az ipsilateralis klinikailag ép területekből vett szövetmintákból nyert és tisztított teljes DNS-ből metagenom szekvenálással végeztük. A mikrobióta meghatározásához a nyálkahártyafelszínről vett kenetek baktériumainak tenyésztését végeztük. A kitenyészett telepek azonosítására MALDI-TOF tömegspektrometriát használtunk. A két módszer eredményeiben az átfedések mellett számos különbség mutatkozott. Ezek közül a legfontosabbnak tartottuk, hogy míg a metagenom szekvenálás eredményeiben a *Fusobacterium nucleatum* - melyről tudott, hogy szerepe lehet a karcinogenezisben - jelenléte és annak változásai jól követhetők voltak, a tenyészetek MALDI-TOF vizsgálatának eredményei ezt nem támasztották alá. Ennek tisztázása céljából a MALDI-TOF vizsgálatához előkészített mintáinkból *Fusobacterium nucleatum* DNS-t azonosítottunk qPCR analízissel. A csíraszámot a küszöbciklusok átlagának kontroll *F.nucleatum* kultúra hígítási sorával való összehasonlításával határoztuk meg. A szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek és a bakteriális jelenlét kapcsolatának további vizsgálatához kísérleti modellt keresve megvizsgáltuk rágcsálók gyomrájának *Helicobacter pylori* fertőzésben történő hisztopathológiai változásait – mint ismert bakteriális gyulladás talaján kialakuló malignus elváltozást, melyeket összehasonlítottuk a vizsgálati alanyaink hisztológiai mintáinak rendellenességeivel. A vizsgálat során hematoxilin-eozin és Giemsa festéssel preparált metszetek fénymikroszkópos elemzése történt.

## 4 Eredmények

### 4.1 Metagenom szekvenálás

Míg a taxonómiai domének eloszlásában nem találtunk szignifikáns eltérést az egészséges és a potenciálisan malignus rendellenességek között, - az egészséges mintákban 6,78%, a fehér elváltozások mintáiban 6,87% volt a baktérium domén aránya - a metagenom szekvenálás eredményei rávilágítottak, hogy a potenciálisan malignus rendellenességekben a bakteriális

diverzitás nagyobb az egészséges szövetekéhez képest. A klinikailag egészséges nyálkahártyaterületekből származó mintákban a baktérium doménből a *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* törzsek reprezentáltak. A potenciálisan malignus rendellenességek mintáiban szintén jelen voltak ezek a törzsek, ezeken kívül ezekben a mintákban találtunk fajokat a *Fibrobacteres* és a *Spirochaetes* törzsekből is. A metagenom szekvenálással 18 különböző fajt találtunk a klinikailag ép nyálkahártyaterület mintáiban és 43 fajt a rendellenességek területéből származó mintákban. A Streptococcusok aránya nem volt szignifikánsan eltérő a klinikailag ép és a rendellenes területek mintáiban, viszont a *Streptococcus mitis* aránya drámaian csökkent a rendellenességek területén a klinikailag ép területekhez képest. Ezzel ellentétben a *Fusobacterium nucleatum* aránya kimutathatóan nőtt a rendellenességek területéről származó mintákban a klinikailag ép területekből származó mintákkal összehasonlítva.

#### **4.2 MALDI-TOF tömegspektrometria**

MALDI-TOF tömegspektrometriai vizsgálattal 41 különböző baktériumfajt találtunk a klinikailag ép nyálkahártyaterületekről, és 36 fajt a rendellenesség területéről származó mintákban. Ezek közül 25 faj mindkét mintacsoportban jelen volt. A metagenom szekvenálás során detektált *Fusobacterium nucleatum* nem volt jelen a potenciálisan malignus rendellenességek területéről vett mintákban.

#### **4.3 Fusobacterium nucleatum qPCR**

A klinikailag ép és a rendellenességek területéről vett kenetektől tenyésztett és a tenyészetektől preparált minták - melyek a MALDI-TOF tömegspektrometriai vizsgálathoz készültek - *Fusobacterium nucleatum*- specifikus qPCR vizsgálata a potenciálisan malignus rendellenességek területének szignifikánsan magasabb *Fusobacterium nucleatum* kolonizációját mutatta.

#### **4.4 Bakteriális infekció okozta nyálkahártya lézió rágcsáló modellje**

Hosszú idejű *Helicobacter pylori* fertőzésben szenvedő egér gyomrának fundusában a baktériumok foveoláris kolonizációja figyelhető meg. A mucosában intra-epitheliálisan elszórtan elhelyezkedő mononukleáris lymphoid sejtek láthatók, melyek jelen lehetnek az általunk vizsgált szájüregi potenciálisan malignus rendellenességekben is, viszont a gyomornyálkahártya hám-kötőszöveti határon nem alkotnak lichenoid infiltrációt, mint az orális lichen vagy bizonyos esetekben a proliferatív verrucosus leukoplákia esetében.

## 5 Diszkusszió

A metagenom szekvenálás eredményei alapján a potenciálisan malignus rendellenességek területéről származó mintáinkban az *Actinomyces spp.*, *Veilonella spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.*, *Streptococcus spp.*, és *Corynebacterium spp.* reprezentáltak azok közül, melyekről irodalmi adatok alapján feltételezzük, hogy a szájüregi laphámkarcinómák kialakulásában szerepet játszanak. A *Gemella spp.*, melyről szintén feltételezik, hogy a szájüregi laphámrákok kialakulásában szerepet játszhat, szintén jelen volt a potenciálisan malignus rendellenességek mintáiban, de nagyobb számban fordult elő a klinikailag ép nyálkahártyán. Nem találtunk a mintáinkban számos olyan baktériumot, melyeket az irodalom leír a laphámrákok esetében, mint a *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis*, *Propionibacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Bacteroides ureolyticus/gracilis*, *Clavibacter michigenensis*, *Ralstonia insidiosa*, *Peptostreptococcus stomatis*, *Johnsonella ignova*, *Enterobacteriaceae* (család), *Tenericutes* (törzs), *Stomatococcus spp.*

Áttekintve azokat a baktériumokat, amelyek hatással lehetnek a tumorigenezisre, kiemelkedik a *Fusobacterium nucleatum*, melynek szerepére egyre több bizonyítékot írnak le az irodalomban a kolorektális karcinómák és a szájüreg karcinómáinak kialakulásában. Különösképpen kiemelhetőek bizonyos alfajai, mint a *F. nucleatum subsp. polymorphonum*, melynek a szájüregi laphámrák karcinogenezisében lehet szerepe.

Úgy találtuk, hogy a *Streptococcus mitis* aránya drámaian csökkent a szájnyálkahártya potenciálisan malignus rendellenességei területének patológiás nich-ében. Tudjuk, hogy nagyszámú *Streptococcus* faj tagja az egészséges szájüreg opportunistá flórájának. Annak a megismerése, hogy ezen fajok arányának a változása milyen ok-okozati tényezők eredménye, elengedhetetlen a patológiás folyamatok megértésében. A *Streptococcus*ok között számos olyan faj akad, melyek az orális mikrobiom más tagjaival különböző kölcsönhatásban vannak. Az irodalomban több utalás található arra nézve, hogy a *Streptococcus mitis* kulcsszerepet játszik az egészséges szájüregi flóra fenntartásában, más (pl. parodontopathogén) baktériumok adhéziójának, és a biofilmképződésnek a szabályozásában.

A *S. mitis* arányának a csökkenése, és a *F. nucleatum* arányának a növekedése szerepet játszhat a szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek állapotának romlásában, illetve laphámrákká való transzformációjában.

Bár a baktériumtenyésztés utáni MALDI-TOF tömegspektrometriai vizsgálat és a metagenom szekvenálás eredményei részben átfedőek, a tenyésztés utáni MALDI-TOF tömegspektrometriai vizsgálattal nem tudtuk detektálni a potenciálisan malignus rendellenességekben a *Fusobacterium nucleatum* jelenlétét. Ugyanazon minták qPCR vizsgálatával ez a jelenlét igazolható volt. Ennek fényében kijelenthetjük, hogy a tenyésztés utáni MALDI-TOF tömegspektrometriai vizsgálat szenzitivitása és/vagy specificitása az esetünkben alacsony volt. A két különböző módszer eredményeinek összehasonlítása alapján megállapíthatjuk, hogy a metagenom szekvenálással a vizsgált potenciálisan malignus rendellenességekben sokkal diverzebb baktériumflórát detektáltunk, mint a tenyésztés utáni MALDI-TOF tömegspektrometriával.

A nyálkahártya fertőzéseire adott immunválasz részeként a fertőzött területen az immunsejtek megjelenése, működése kapcsán kialakuló **gyulladásos jelenségek** szintén részt vehetnek a tumorigenezisben. Ennek a jelenségnek a részleteit hisztológiai szempontból vizsgálva megismerhetjük a szövetek, sejtek változásait, a gyulladásos sejtek akkumulációját, és a bakteriális inváziót.

Olyan ismert bakteriális nyálkahártyafertőzés könnyen reprodukálható modelljét kerestük, mely bizonyítottan megemeli a fertőzött terület malignus transzformációjának valószínűségét, hogy összevessük vele az általunk vizsgált szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek szövetmintáiból származó metszetek fénymikroszkópos képében látható változásokat. A legkönnyebben elérhető ilyen lehetőségünk az egér *Helicobacter pylori* okozta fertőzés következtében gyulladt gyomornyálkahártyája volt. (Az irodalomban pozitív és negatív eredményt is találunk a potenciálisan malignus rendellenességek és a *Helicobacter pylori* közötti kapcsolatra.) Az egér modell gyomornyálkahártyájában **számos mononukleáris sejtet találtunk, melyek a nyálkahártya gyulladását okozzák, létrehozva ezáltal egy tumorigén mikrokörnyezetet.**

## 6 Konklúzió

Bár a munkánk nem alkalmas a „tyúk vagy a tojás” kérdésének az eldöntésére - miszerint a mikrobiális változások okai vagy következményei a potenciálisan malignus rendellenességek kialakulásának - de kijelenthetjük, hogy a klinikailag rendellenes területek bakteriális kolonizációja különbözik a klinikailag egészséges területekétől. Az általunk talált változások egy része korrelál az irodalomban a szájüregi laphámrákok eseteiben leírt változásokkal. A legszembetűnőbb felfedezésünk, hogy a *Fusobacterium nucleatum* felülreprezentált a szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek mintáiban. Tudjuk, hogy a *Fusobacterium nucleatum*-nak szerepe van a gasztrointesztinális traktus, pontosabban a colon malignus transzformációjában és több tanulmány alapján gyanítjuk, hogy a szájnyálkahártyán is hasonló szerepe lehet más baktériumokkal együtt.

1. Úgy találtuk, hogy a klinikailag egészséges nyálkahártya és a szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek területének a mikrobiomja különböző: a rendellenességek területén a patogén baktériumok felülreprezentáltak, köztük a *Fusobacterium nucleatum*, melynek ismert szerepe van a tumorigenezisben. Ezen kívül a rendellenességek területén a bakteriális diverzitás növekedését tapasztaltuk a klinikailag ép nyálkahártya területeihez képest. Ezek a megfigyelések alapjául szolgálhatnak új módszerek kidolgozásának az ilyen rendellenességekben szenvedő betegeknél a karcinogenezis befolyásolására és megelőzésére.
2. A tenyésztés utáni MALDI-TOF tömegspektrometriai analízis és a metagenom szekvenálás eredményeinek összehasonlítása **részben átfedő** eredményt hozott.
3. Mind a vizsgált szájüregi potenciálisan malignus rendellenességekből, mind a *H. pylori* fertőzött egér modell gyomrából származó mintákban a nyálkahártya gyulladással elváltozásai láthatók. Ez alapján **nem zárható ki akár a *H.pylori*, akár más baktérium által okozott gyulladás szerepe a rendellenességek karcinómává való transzformációjában.**

4. Összehasonlítva az általunk vizsgált szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek területének mikrobiomját az irodalom áttekintésével nyert információkkal a szájüregi laphámrák mikrobimjáról/mikrobiótájáról azt állapítottuk meg, hogy több egyezés mellett nagyszámú, a mi vizsgálati eredményeinkben nem szereplő bakteriális taxont találtak különböző laphámrákokban. Az általunk kiemelőnek tartott *Fusobacterium nucleatum* számos közleményben szerepelt. Ebből arra következtethetünk, hogy ez a baktériumfaj **fontos szerepet játszhat a potenciálisan malignus rendellenességek laphámrákba való átfordulásában.**

## 6.1 Az értekezésben szereplő új eredmények összefoglalása

1. A szájüregi potenciálisan malignus rendellenességek területén a patogén baktériumok felülreprezentáltak.
2. A metagenom szekvenálás és a tenyésztés utáni MALDI-TOF tömegspektrometriai analízis specificitása és szenzitivitása a szájüreg baktériumaira nézve eltérő.
3. *Helicobacter pylori* okozta gyomornyálkahártya gyulladás egerekben - figyelembe véve az alanyok és a modellorganizmusok közötti különbségekből eredő korlátokat - modellje lehet a szájnyálkahártya bakteriális gyulladás által triggerelt karcinogenezisének.
4. *Fusobacterium nucleatum* fontos szerepet játszhat a potenciálisan malignus rendellenességek laphámrákba való átfordulásában.



## 7 Köszönetnyilvánítás

Köszönöm társ-témavezetőmnek, **Dr. Buzás Krisztina** tanszékvezető egyetemi docensnek, hogy lehetővé tette kutatási munkában való részvételemet, miközben klinikusként dolgoztam. Segített az elméleti kérdések megoldásában, és a laboratóriumi munkák megszervezésében.

Szeretném megköszönni társ-témavezetőmnek, **Prof. Dr. Nagy Katalinnak**, a Fogorvostudományi Kar volt dékánjának és a Szájsebészeti Tanszék vezetőjének a támogatását és útmutatását.

Hálás vagyok **Prof. Dr. Sonkodi Istvánnak**, aki segített a páciens-szelekcióban, és lehetővé tette, hogy az általa kezelt páciensekkel dolgozhassak. Ő vezetett be az orális medicina elméleti és gyakorlati kérdéseinek megoldásával kapcsolatos munkába.

Köszönöm **Harmati Máriának**, **Dobra Gabriellának**, **Gyukity-Sebestyén Edinának**, a kutatócsoportnak, akik betekintést engedtek az állatmodellel való munka részleteibe.

Hálás vagyok **Prof. Dr. Minárovits Jánosnak**, aki bevezetett a kutatás világába.

Köszönöm **Dr. Németh Istvánnak** a szövettani vizsgálatokban való együttműködést.

Köszönettel tartozom **Dr. Maróti Gergelynek** a metagenom szekvenálásban való együttműködéséért.

Köszönöm **Dr. Urbán Editnek**, **Dr. Sóki Józsefnek** és **Fenyvesi Viktornak**<sup>†</sup> a MALDI-TOF tömegspektrometriai elemzésben és a PCR vizsgálatokban való közreműködését.

Köszönöm **Dr. Braunitzer Gábornak** a publikációink formai előkészítésében vállalt segítségét.

Nem utolsósorban köszönöm a családom segítségét és támogatását.

A dolgozat alapjául szolgáló közlemények, és az azokban publikált eredmények létrejöttéhez szükséges vizsgálatokat az OTKA NKFI-6-K 11493, GINOP-2.3.2-15-2016-00011, GINOP-2.3.2-15-2016-00015 projektek és a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatásával végeztük.