

На правах рукописи

Пурсанова Анастасия Евгеньевна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СТРАТЕГИИ И ТАКТИКИ
РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ПРЕДРАКОВЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА**

3.1.7. Стоматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертация на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Воронеж – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант: **Казарина Лариса Николаевна**, доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный работник Высшей школы

Официальные оппоненты:

Блашкова Светлана Львовна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра терапевтической стоматологии, заведующая кафедрой

Борисова Элеонора Геннадьевна, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, кафедра и клиника общей стоматологии, профессор кафедры

Караков Карен Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра терапевтической стоматологии, заведующий кафедрой

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «12» октября 2022 года в 10-00 часов на заседании объединенного диссертационного совета 99.2.074.02 на базе ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 394036 Воронеж, ул. Студенческая, 10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава РФ по адресу 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, 10 и на сайте университета <http://vrngmu.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Лещева Елена Александровна

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования. Проблема высокой распространенности и низкой обращаемости за стоматологической помощью, а также не всегда эффективное лечение заболеваний слизистой оболочки рта (СОР) является одной из приоритетных задач не только науки, но и практики (Габриэлян А.Г., 2021; Гажва С.И., 2018; Гилева О.С., 2019; Кузьмина Э.М., 2019; Максимовская Л.Н., 2019; Постников М.А., 2021; Сойхер М.И., 2019; Ciccì M., 2019; Shiva A, 2018).

Актуальность этой темы обусловлена увеличением доли предраковой патологии в структуре стоматологической заболеваемости и составляет от 15,2% до 49,1%, характеризуется тенденцией к «омоложению», неблагоприятно сказывается на пищеварительном процессе, способствует снижению резистентности организма, приводит к значительным изменениям зубочелюстной системы, негативно влияет на психоэмоциональную сферу больного тем самым, ухудшая качество жизни (Джураева Ш.Ф., 2021; Кряжинова И.А., 2019; Казарина Л.Н., 2019; Patrocínio V.H., 2019; Müller S., 2018; Soares A., 2018; Warnakulasuriya S., 2020).

Особенности этиологии и патогенеза, отсутствие четкой клинической картины, присущей конкретной нозологической форме предраковых заболеваний СОР, склонность к затяжному течению, а также ограниченные возможности существующих и применяемых методов диагностики вызывают у врачей практического здравоохранения трудности при постановке диагноза, приводят к диагностическим неудачам, утяжелению течения патологических процессов, сокращению сроков их ремиссии и прогрессированию (Борисова Э.Г., 2018; Рыбак О.Г., 2019; Горбатова Е.А., 2020; Серикова О.В., 2020; Сидорова А.С., 2020; Филимонова Л.В. 2020; Aggarwal N., 2018; Swathi S., 2020; Wetzel S.L., 2020).

Поскольку предраковые заболевания СОР существенно снижают качество жизни пациентов, отражаются на их здоровье и социальной адаптации проблема ранней диагностики предраковых заболеваний СОР, ее

дифференциальной диагностики с ранними стадиями бессимптомного рака, превращается из медицинской в социально-экономическую, требующую конкретных путей решения, что позволит избежать интервенционных методов исследования, уменьшить риск развития рака и снизить летальность, что отвечает задачам, поставленным государством в рамках Национального проекта «Здравоохранение» и Федерального проекта «Борьба с онкологическими заболеваниями» (2019 - 2021 гг.) (Борисова Э.Г., 2021; Гилева О.С., 2019; Кариков К.Г., 2019; Tadakamadla J. , 2018; Relwani A.H., 2016; Peres M.A, 2019; Rana M., 2015; Swain, S. K., 2021).

По данным последних эпидемиологических исследований, недопустимо высокие показатели отмечены при диагностике новообразований визуальных локализаций, так на поздних стадиях (III-IV) выявлены 62,4%-69,0% опухолей полости рта. Установлено, что «грубый» и стандартизованный показатели смертности от злокачественных новообразований челюстно-лицевой области (ЗНО ЧЛО) по Приволжскому Федеральному округу регистрируется несколько выше российских и составляет 9,10 и 5,62 на 100 000 населения (Белякова Е.Н., 2021; Каприн А.Д., 2020, 2021).

Большинство исследователей считают, что предраковые заболевания СОР объединяют достаточно неоднородную группу заболеваний и возникают в ответ на хроническое раздражение экзо- и эндогенного характера на фоне сопутствующей патологии (Блашкова С.Н., 2018; Усова Н.Ф., 2013; Тиунова Н.В., 2020; Шумилов Б.Р., 2021; Amarasinghe H. K., 2018; Sami A., 2020). В зарубежной литературе имеются единичные сведения о роли вируса Эпштейн-Барр, вируса папилломы человека в развитии данной патологии (Боголюбова А.В., 2019; Трунин Д.А., 2020; Царев В.Н., 2017; Du J., 2021; Eliassen E., 2018; Guidry J. T., 2018; Gupta K., 2013; Hernandez V. Y., 2019; Tumban, E. A., 2019).

Перспективным подходом к диагностике новообразований ротовой полости становится исследование маркеров пролиферативной активности эпителия, цитокинов, факторов роста (Жаркова И.В., 2018; Митронин А.В.,

2018; Chiamulera M.M., 2021; Gleber-Netto F.O., 2016; Kaur J., 2018; Khurshid Z., 2018; Singh P., 2020).

В последние годы появились сведения об использовании молекулярных иммуноцитохимических (ИЦХ) способов диагностики пред- и онкологических заболеваний различной локализации. Одной из разновидностей ИЦХ является прямая флуоресцентная иммуноцитохимия (ФИЦХ), отличающаяся наличием флуоресцентной метки как системы детекции наличия специфического белка (антитела) с использованием специфического антигена, позволяющая оценить пролиферативную активность эпителия (Зиновьева О.С., 2017; Зиновьев С.В., 2017, 2018; Савостикова М.В., 2017; Круглова И.А., 2020).

До настоящего времени не теряют актуальности вопросы безопасности и эффективности медикаментозной терапии предраковых заболеваний СОР, организации высококвалифицированной помощи данному контингенту больных, разработки персонифицированных подходов и схем комплексной терапии. Принимая во внимание фоновую коморбидную патологию, риск лекарственной сенсбилизации организма, склонность к рецидивирующему течению, важен поиск не только эффективных медикаментозных препаратов, но и альтернативных способов лечения. Перспективным направлением является использование собственных клеточных культур пациента, повышающих активность локальных регенеративных процессов, в частности, тромбоцитарной аутоплазмы (Белоклицкая Г.Ф., 2018; Журавлева М.В., 2015; Загородный Г.М., 2017; Кошелева И. В., 2018; Мартынова Н.Ш., 2015).

Перспективным методом лечения стоматологических заболеваний, в том числе кератозов слизистой оболочки рта, является фотодинамическая терапия (ФДТ). Фотодинамическая терапия как метод имеет несомненные достоинства: малая инвазивность, избирательность поражения, возможность многократного применения, отсутствие токсических и иммунодепрессивных реакций основан на применении светочувствительных веществ — фотосенсибилизаторов (ФС), и, в большинстве случаев, видимого света

определённой длины волны (Гажва С.И., 2018; Карakov К.Г., 2016; Мишутина О.Л., 2019; Рабинович И.М., 2018; Рисованная О.Н., 2019; Andreadis D., 2016).

Результаты анализа доступной литературы указывают на широкий спектр предраковых заболеваний СОР и высокую их распространенность в структуре стоматологической заболеваемости. Достаточно высокий процент диагностических ошибок, отсутствие унифицированных подходов к диагностике и персонифицированных подходов к лечению актуализируют необходимость: повышения профессиональных компетенций стоматологов по данной теме; формирования онкологической настороженности в профессиональной среде стоматологов; усилении онкологической составляющей в профилактической работе врача-стоматолога; поиска новых скрининговых диагностических тестов, позволяющих на первичном этапе заподозрить и идентифицировать неопластический процесс; а также оптимизировать лечебные протоколы ведения, диспансеризации и маршрутизации больных с предраковыми заболеваниями СОР.

Степень разработанности темы. В работе последовательно применены средства научного познания, а также специальные клинические, лабораторные, инструментальные, социологические и статистические методы исследования. Поэтапно изучены данные литературы, определены дизайн, концепция, предмет и субъекты исследования. Выводы сформулированы по итогам ретроспективного и контролируемого рандомизированного проспективного сравнительного клинического исследования. На основе анализа основных составляющих актуальности темы исследования и степени ее разработанности сформулирована рабочая концепция о том, что повышение эффективности ранней диагностики и лечения больных с предраковыми заболеваниями слизистой оболочки рта представляется перспективным, крайне важным и своевременным.

Цель исследования - повышение эффективности диагностики и разработка алгоритмов комплексного персонифицированного лечения предраковых заболеваний слизистой оболочки рта.

Задачи исследования:

1. Изучить распространенность и структуру предраковых заболеваний СОР, а также применяемые методы их диагностики у населения г. Нижнего Новгорода на основании ретроспективного анализа медицинской документации за период с 2017 - 2021 гг.

2. Выявить особенности стоматологического статуса и оценить качество жизни больных с предраковой патологией и плоскоклеточным раком СОР.

3. Провести сравнительный анализ показателей маркеров пролиферативной активности эпителия P16, P53, Ki67 у больных с предраковыми заболеваниями и плоскоклеточным раком СОР с помощью комбинации цитологического и прямого флуоресцентного иммуноцитохимического методов (ФИЦХ), определить показания к применению ФИЦХ-исследования в стоматологии.

4. Разработать способ скрининговой диагностики новообразований СОР методом прямого флуоресцентного иммуноцитохимического исследования эпителия СОР и предложить тест-систему «Биочип Стом» для использования в практическом здравоохранении.

5. Выявить особенности и провести сравнительный анализ вирусологического статуса больных (ВПЧ, ВЭБ, ЦМВГ, ВГ 6 типа, ВПГ 1,2 типов) у пациентов с предраковыми заболеваниями и плоскоклеточным раком СОР, выявить взаимосвязь с клинической формой предраковой патологии СОР и обосновать выбор методики лечения в зависимости от наличия герпесвирусного инфицирования.

6. Определить профили IgG, IgA, sIgA, лизоцима, INFa, TNFa, INFg, IL 10, IL1b в ротовой жидкости и оценить уровень мукозального иммунитета (КСБ) у больных с предраковой патологией СОР.

7. Предложить способ лечения предраковых заболеваний СОР с использованием плазматерапии и оценить его эффективность на основании динамики клинико-иммунологических показателей.

8. Разработать протоколы персонифицированного лечения больных с предраковыми заболеваниями СОР и доказать их преимущество на основании оценки эффективности различных способов лечения: плазматерапии, фотодинамической терапии и традиционного лечения.

9. Разработать стратегию и тактику диагностики и менеджмента пациентов с предраковыми заболеваниями СОР и предложить практические рекомендации по применению инновационных скрининговых систем в стоматологии.

Научная новизна

1. Получены новые данные о распространенности предраковой патологии СОР в структуре стоматологической заболеваемости, дана оценка обращаемости населения за стоматологической помощью, определен объем скрининговых и диагностических методов, а также выявлены особенности стоматологического статуса и качества жизни больных с предраковыми заболеваниями и ЗНО СОР для совершенствования стратегии, разработки тактики их ранней диагностики, а также снижения риска развития онкопатологии СОР.

2. Впервые определены профили маркеров пролиферативной активности эпителия СОР P16, P53, Ki67 с помощью прямого флуоресцентного иммуноцитохимического исследования (ФИЦХИ) на биочипах, установлены их диагностические критерии и прогностические возможности у больных с предраковыми заболеваниями и плоскоклеточным раком СОР.

3. Впервые разработан способ скрининговой диагностики предраковых заболеваний и рака СОР (патент «Способ скрининговой дифференциальной диагностики предраковых заболеваний и рака слизистой оболочки рта (СОР)» № 2754295 от 31.08.2021) и предложена инновационная тест-система «Биочип Стом» для оценки пролиферативного потенциала клеток эпителия ротовой полости на основании ФИЦХИ, способствующие повышению активной выявляемости патологии СОР, своевременной ее диагностике и профилактике запущенных форм онкопатологии СОР.

4. Теоретически обоснована и практически подтверждена необходимость включения в алгоритм диагностического обследования пациентов с предраковой патологией СОР ПЦР- исследования герпес-вирусных инфекций (вируса папилломы человека, вируса Эбштейна-Барра, цитомегаловируса, ВГ 6 типа, ВПГ 1, 2 типов), а также использование противовирусных препаратов в их комплексном лечении.

5. Впервые разработан способ лечения эрозивно-язвенных форм предраковых заболеваний СОР с использованием инъекционного способа введения тромбоцитарной аутоплазмы под очаги поражения (патент «Способ лечения пациентов с эрозивно-язвенными элементами поражениями и/или хронического течения при заболеваниях слизистой оболочки полости рта» №2692108 от 21.06.2019).

6. Впервые предложены протоколы персонифицированного лечения больных с предраковыми заболеваниями СОР и дана сравнительная оценка их эффективности в зависимости от способа лечения (плазматерапия, фотодинамическая терапия, традиционное лечение).

7. Впервые разработана стратегия диагностики и менеджмента пациентов с предраковыми заболеваниями СОР и предложен алгоритм ее реализации путем внедрения практических рекомендаций по применению инновационных скрининговых систем в стоматологии.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты проведенного комплексного обследования больных с предраковыми заболеваниями и раком СОР рекомендовано учитывать при диагностике и разработке профилактических скрининговых программ в стоматологии и онкологии в практическом здравоохранении.

Включение в алгоритм обследования пациентов с заболеваниями СОР скринингового флуоресцентного иммуноцитохимического исследования маркеров пролиферативной активности эпителия СОР P16, Ki67, P53 на биочипах с использованием телемедицинских технологий способствует повышению доли активно выявленных больных с предраковой патологией и

ранними стадиями рака органов и тканей полости рта, соответственно, их своевременному лечению, улучшению качества жизни, снижению инвалидизации и летальности.

Включение ПЦР-диагностики вирусов папилломы человека, Эбштейна-Барра, цитомегаловируса, ВГ 6 типа, ВПГ 1, 2 типов в алгоритм обследования пациентов с предраковыми заболеваниями СОР способствует выявлению латентного герпетического инфицирования и обоснования применения противовирусной терапии.

Включение инъекций тромбоцитарной аутоплазмы в комплексное лечение больных с эрозивно-язвенной формой КПЛ и хронической язвой приводит к ускорению регенеративных процессов в тканях ротовой полости и сокращению сроков лечения. Применение фотодинамической терапии в комплексном лечении эрозивной формы лейкоплакии СОР позволяют повысить эффективность лечения данной категории больных.

Методология и методы исследования. Диссертация подготовлена по правилам и принципам доказательной медицины. Диссертационное исследование одобрено локальным Этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол № 21 от 10 декабря 2021 г.) в соответствии с Хельсинкской декларацией, ее последующими поправками и Национальным стандартом Российской Федерации Надлежащая клиническая практика good clinical practice (GCP).

В работе применялся ряд способов обследования: клинические (сбор анамнеза, определение показателей стоматологического и статуса пациентов, качества жизни и уровня боли), дополнительные методы обследования (АФС-диагностика, фотодокументирование, рН-метрия), лабораторные методы исследования (цитологическая, флуоресцентная иммуноцитохимическая диагностика, гистологическое исследование, определение показателей мукозального иммунитета ротовой полости, ПЦР-диагностика герпесвирусной инфекции и бактериоскопическое исследование).

Статистическая обработка данных, полученных в ходе исследования, проводилась на персональном компьютере в программе STATISTICA 10.0.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Для пациентов с предраковыми заболеваниями СОР характерна высокая их распространенность (до 50%) в структуре патологии СОР, низкая обращаемость за стоматологической помощью (22%), не всегда эффективное лечение (44%), что сказывается на состоянии соматического (коморбидная патология - 72%), психологического здоровья (хронический стресс - 74%) и стоматологического статуса (высокая распространенность (100%) и интенсивность кариеса зубов (КПУ $18,4 \pm 0,02$) и заболеваний пародонта (88,3%), неудовлетворительный уровень гигиены полости рта (УИГР $2,35 \pm 0,01$ балла), низкое качество ортопедических конструкций (41,4%), снижение качества жизни (ОНПР 39 ± 2 баллов). Ведущим методом диагностики патологии СОР в стоматологии являлся визуальный осмотр (87,9%), установлен низкий уровень использования скрининговых оптических методов (10,0%) и морфологических способов диагностики (2,0%) врачами-стоматологами.

2. Разработанная инновационная технология, включающая метод прямого флуоресцентного иммуноцитохимического исследования экспрессии маркеров пролиферативной активности эпителия P16, P53, Ki67 и разработку тест-системы «Биочип Стом», обеспечивает повышение качества дифференциальной диагностики предраковых заболеваний и плоскоклеточного рака СОР, способствует активной выявляемости ранних форм и профилактике запущенных форм ЗНО ЧЛО.

3. Вирусологические аспекты (высокая ассоциация с герпесвирусной инфекцией ВЭБ, ЦМВГ, ВГ 6 типа, ВПГ 1, 2 типов) патогенетических механизмов развития предраковых заболеваний СОР на фоне изменения показателей мукозального иммунитета обосновывают необходимость индивидуального подхода в принятии решения и назначения персонализированных схем лечения.

4. Применение разработанных персонифицированных протоколов лечения с использованием плазматерапии и фотодинамической терапии у пациентов с предраковыми заболеваниями СОР являются методом выбора в каждой конкретной клинической ситуации и позволяют достичь стойкого положительного клинического результата, повысить качество жизни пациентов, удлинить сроки ремиссии заболевания, обеспечивая положительный прогноз в отдаленные сроки.

5. Разработка и усовершенствование системы скрининговых технологий в области диагностики предраковых заболеваний и ЗНО СОР обосновывает необходимость новых тактических подходов в достижении эффективного результата, связанного с их диагностикой, лечением, маршрутизацией и профилактикой озлокачествления.

Связь диссертационной работы с научными программами. Тема диссертации утверждена на заседании проблемной комиссии на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «ПИМУ» Минздрава России от 28 мая 2020 года выписка № 3 из протокола № 4. Диссертационное исследование выполнялось в рамках приоритетной программы ФГБОУ ВО "ПИМУ" Минздрава России «Фундаментальная онкология: от эксперимента к клинической практике» и биомедицинского кластера Нижегородской области по разделу «Персонифицированная медицина - разработка тест-систем для диагностики онкологических заболеваний, биочипов». Специальность, которой соответствует диссертация, область и способы исследования, научные положения диссертационной работы относятся к специальности стоматология, соответствуют п.2 паспорта специальности 3.1.7. Стоматология (медицинские науки).

Степень достоверности и апробация результатов работы

Материалы диссертационной работы были представлены на 13 научно-практических конференциях: межрегиональной научно-практической конференции «Современный взгляд на нерешенные вопросы стоматологии»

(Нижний Новгород, 12 февраля 2016); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы профилактики стоматологических заболеваний» (Санкт-Петербург, 19 мая 2017); региональной научно-практической конференции «Междисциплинарный подход в решении стоматологических проблем» (Нижний Новгород, 25 мая 2018); Всероссийском симпозиуме с международным участием «Актуальные проблемы стоматологии» (Санкт-Петербург, 14-15 сентября 2018); Всероссийской научно-практической конференции «Диагностические принципы и современные технологии в лечении основных стоматологических заболеваний» (Нижний Новгород, 21 ноября 2018); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии» (Киров, 5-6 апреля 2019); межрегиональной междисциплинарной научно-практической онкологической конференции «Волжские огни» (Нижний Новгород, 18 октября 2019); Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 1 декабря 2019); региональной научно-практической конференции «Междисциплинарный подход в профилактике стоматологических заболеваний» (Нижний Новгород, 30 ноября 2020); I Всероссийском конгрессе с международным участием по фундаментальным проблемам лабораторной диагностики «Академия лабораторной медицины. Новейшие достижения» (Москва, 25-27 мая 2021); Всероссийской научно-практической конференции «Теоретические и практические вопросы клинической стоматологии» (Санкт-Петербург, 7-8 октября 2021); международной научно-практической конференции по терапевтической стоматологии «Современные аспекты при диагностике и лечении стоматологических заболеваний» (Нижний Новгород, 3 декабря 2021); XXX Международном онлайн конгрессе «Инновационные технологии в стоматологии» (Омск, 2-3 марта 2022).

Основные положения и результаты исследования доложены и обсуждены на расширенном заседании проблемной комиссии по стоматологии ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России с участием кафедр, терапевтической

стоматологии, пропедевтической, ортопедической стоматологии и ортодонтии, хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии с курсом пластической хирургии, стоматологии детского возраста, стоматологии ФДПО 14 апреля 2022 года, протокол № 1.

Публикации. По результатам проведенного исследования опубликовано 22 научных работы в центральных и региональных изданиях, в том числе 12 – в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 4 - в изданиях, индексируемых международной базой данных Scopus, имеются 3 патента на изобретения.

Личный вклад автора в выполнении исследований. Разработка дизайна этапов научной работы, постановка целей и задач осуществлены вместе с научным консультантом. Ретроспективный анализ медицинской документации, клиническое обследование больных, проведение диагностических и лечебных мероприятий, оформление медицинской карты стоматологического больного, анкетирование, наблюдение в отдаленные сроки, статистическая обработка полученных результатов осуществлены лично диссертантом. Научные положения и выводы диссертации базируются на результатах собственного исследования автора.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты проведенных исследований внедрены в учебный процесс кафедры пропедевтической и терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России (Нижний Новгород); в лечебный процесс стоматологической поликлиники ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России (Нижний Новгород); в лечебный процесс ГАУЗ НО «Областная стоматологическая поликлиника» (Нижний Новгород); в учебный процесс кафедры стоматологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» (Саранск); в работу стоматологической клиники Медицинского

института ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» (Саранск); в лечебный процесс ГАУЗ МРСП «Мордовская республиканская стоматологическая поликлиника» (Саранск).

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа выполнена на 309 страницах компьютерного текста (Times New Roman 14), состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам, двух глав с результатами собственных исследований, одной главы с заключением, выводов, практических рекомендаций и шести приложений. Список используемой литературы содержит 507 источников, из них 175 отечественных и 332 зарубежных. Работа иллюстрирована 82 рисунками и содержит 52 таблицы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Данное диссертационное исследование было выполнено в рамках приоритетной программы ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России «Фундаментальная онкология: от эксперимента к клинической практике» и биомедицинского кластера Нижегородской области по разделу «Персонафицированная медицина - разработка тест-систем для диагностики онкологических заболеваний».

При проведении клинико-лабораторных исследований соблюдались этические принципы, установленные Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации врачей, (принятой 18-й Всемирной Медицинской Ассамблеей в Хельсинки, Финляндия, июнь 1964 и дополненной в 1975, 1983, 1989, 1996 годах) и Национальным стандартом РФ «Надлежащая клиническая практика (GCP)». Протокол исследования одобрен локальным Этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (Протокол № 21 от 10 декабря 2021 года). Клиническая часть исследования проводилась на базе кафедры пропедевтической стоматологии ФГБОУ ВО "ПИМУ" Минздрава России и

поликлиники ГБУЗ НО «Нижегородский областной онкологический диспансер».

Диссертация подготовлена по правилам и принципам доказательной медицины, вид исследования – «случай-контроль». В работе применялся ряд способов обследования: клинические (сбор анамнеза, определение показателей стоматологического статуса пациентов, качества жизни и уровня боли), дополнительные методы обследования (АФС-диагностика, фотодокументирование, рН-метрия), лабораторные методы исследования (цитологическая, флуоресцентная иммуноцитохимическая диагностика, гистологическое исследование, определение показателей мукозального иммунитета ротовой полости, ПЦР-диагностика герпесвирусной инфекции и бактериоскопическое исследование). За 2017-2021 гг. было обследовано 1200 человек с предраковой патологией СОР из которых 300 пациентов с эрозивно-язвенной формой красного плоского лишая (КПЛ), эрозивной формой лейкоплакии, хронической язвой СОР составили основную группу. В группу сравнения вошли 100 пациентов с плоскоклеточным раком СОР, группу контроля составили лица без патологии СОР (50 человек). Распределение участников исследования представлено на рисунке 1.

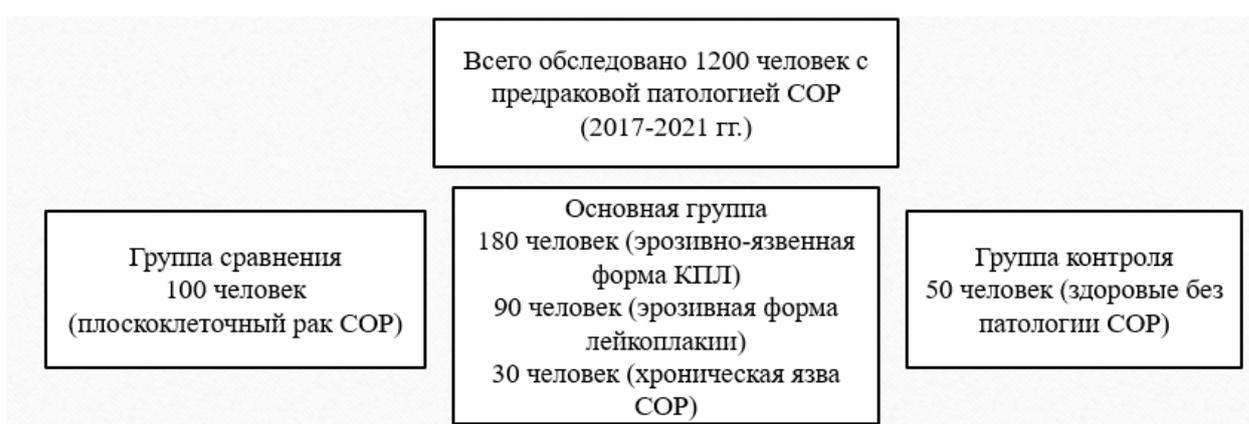


Рисунок 1 - Распределение участников исследования

Общий дизайн исследования представлен в таблице 1.

Таблица 1 - Дизайн исследования

Направления исследований	Методы сбора, анализа и обработки информации	Объем исследований
I. Подготовительный этап: ретроспективный анализ медицинской документации	аналитический, статистический	10000 медицинских карт
II. Доклинический этап – разработка инновационной тест-системы «Биочип Стом»; разработка способа скрининговой ФИЦХ – диагностики предраковых заболеваний и рака СОР		
III. Комплексное клинико-лабораторное исследование:		
Оценка стоматологического статуса	Данные клинического осмотра, аналитический, статистический	1200 пациентов
Аутофлуоресцентная диагностика	Данные клинического осмотра с использованием прибора АФС-Д, аналитический,	1200 пациентов
Оценка соматического здоровья	Данные клинического осмотра соответствующих врачей-интернистов, аналитический, статистический	450 пациентов
Исследование качества жизни и уровня боли	Тестирование, статистический	450 пациентов
Измерение рН в полости рта	Данные клинического осмотра с использованием прибора «Асоgn рН5», аналитический, статистический	300 пациентов
Цитологическое исследование СОР	Лабораторный, аналитический, статистический	450 пациентов
Прямое флуоресцентное иммуоцитохимическое исследование	Лабораторный, аналитический, статистический	450 пациентов
Гистологическое исследование биоптатов СОР	Лабораторный, аналитический, статистический	100 пациентов с плоскоклеточным раком СОР, 100 пациентов с предраковыми заболеваниями СОР.
Вирусологическое исследование	Лабораторный, аналитический, статистический	450 пациентов
Иммунологическое исследование	Лабораторный, аналитический, статистический	300 пациентов
IV. Комплексное персонифицированное лечение, оценка эффективности лечения, диспансерное наблюдение		
	Данные клинического осмотра, лабораторные исследования, статистический	300 пациентов с эрозивно-язвенной формой КПЛ, эрозивной лейкоплакией и декубитальной язвой СОР

Критерии включения пациентов в исследование: возраст от 29-70 лет, эрозивная форма лейкоплакии СОР, эрозивно-язвенная форма КПЛ, хроническая язва СОР, плоскоклеточный рак СОР, наличие информированного согласия. Критерии исключения: индивидуальная непереносимость используемых препаратов, предшествующее лечение предраковых заболеваний и ЗНО СОР, наличие вирусных гепатитов, сифилиса, туберкулеза, ВИЧ-инфекции, Covid-19, отказ от участия, беременность, лактация, обострение системных заболеваний.

На каждого пациентка заводилась специальная карта, в которую вносили паспортные данные, жалобы, анамнез заболевания и жизни, а также показатели объективного обследования: внешнего осмотра, обследования полости рта, дополнительных методов исследования, выставлялся окончательный диагноз.

Ретроспективный анализ медицинской документации проводился с использованием формы 039-2/у-88 «Учета работы врача-стоматолога стоматологической поликлиники, отделения, кабинета» и медицинских карт стоматологического больного форма 043/у Института стоматологии и кафедры пропедевтической стоматологии ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России за 2017 - 2021 годы.

Разработка инновационного биочипа на основе прямого флуоресцентного иммуноцитохимического анализа (ФИЦХ)

Второй этап заключался в разработке дизайна новой тест-системы Биочип «Стом» совместно с НПП «БИОЧИП» (Н. Новгород) при поддержке гранта инновационного центра «Сколково» (Россия) (Пат. 2754295С1 2021). Метод ФИЦХ позволяет создать тест-системы для доступной, быстрой и высокоэффективной диагностики онкологических заболеваний с помощью качественной и полуколичественной детекции маркеров малигнизации. Биосенсоры представляют собой «миниатюрные лаборатории» *in vitro*, которые могут применяться практикующими врачами посредством телемедицинских технологий для экспресс-диагностики. В настоящее время в

нашей стране этот метод активно используется в абдоминальной хирургии, онкоурологии, онкогинекологии (Савостикова М.В., 2016; Зиновьева О.В., 2017; Круглова И.А., 2020).

Оценка стоматологического статуса включал сбор анамнеза, осмотр полости рта, оценку ортопедических конструкций и площади эрозивной поверхности по методу Л.Н. Поповой (Савченко Ю.П. и Федосов С.Р., 2007). Использовалась фотофиксация элементов поражения СОР и архивирование полученных изображений (фотоаппарат Nikon D3100 с объективом Nikon AF-S Micro Nikkor 105 mm f/ 2.8 G IFED VR). Рассчитывались индексы: КПУ, УИГР, РМА, СРITN (Жулев Е.Н., 2020).

Аутофлуоресцентная диагностика проводилась с помощью отечественного диагностического комплекта АФС-Д («Полироник», Россия) (Булгакова Н.Н., 2015).

Исследование качества жизни и уровня боли осуществляли с использованием русскоязычного укороченного варианта опросника Oral Health Impact Profile (OHIP) - OHIP-14 RU и визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) соответственно (Барер Г. М., 2007).

Измерение pH ротовой жидкости проводилась с помощью рН-метра «Acorn pH5» (ОАКТОН, США) (Данилина Т.Ф., 2013).

Определение ксеростомии проводилось по методу Фокса (Будина Т.В., 2019).

Цитологическое исследование СОР. Для этого исследования забор материала проводили 3-мя способами: мазка-отпечатка, соскоба в жидкую транспортную среду (ТС), самостоятельного смыва. Цитологические препараты готовились традиционным способом с окрашиванием по Романовскому-Гимзе, исследование образцов проводилось на базе ГБУЗ НО «Городская больница № 35» г. Н. Новгорода с помощью микроскопа Zeiss Primo Star (Carl Zeiss, Германия); цитоморфологическое - с помощью сканера Aperio CS2 (Leica, Германия), используемое увеличение x200 (Круглова И.А. и соавт., 2018). В материале цитологического исследования в динамике для

оценки эффективности лечения и регенерации СОР оценивали уровень нейтрофилов и рассчитывали регенеративно-дегенеративный индекс (РДИ) (Ефимов Е.В., 2015), индекс кератинизации (ИК) (Груздева А.А., 2015).

Прямое флуоресцентное иммуноцитохимическое исследование. Принцип метода ФИЦХ основан на взаимодействии антител, расположенных в ячейках тест-системы, с антигенами клеток, являющихся материалом для исследования, с последующей оценкой наличия свечения на мембране, в цитоплазме или ядре клетки в зависимости от локализации аналита. Разработанная технология позволяет оценить уровни экспрессии белков P53, P16 и Ki67 с применением первично меченных флуоресцентных антител к P53-Cy5 (мышинные, моноклональные, клон Pab240), P16-AlexaFluor488 (кроличьи, моноклональные, клон EP1551Y), Ki67-Cy3 (мышинные, моноклональные, клон EPR3610) («Abcam», Великобритания).

Визуализация флуоресценции проводилась с помощью микроскопа «Leica DM1000» (Leica, Германия), используемое увеличение x200. Анализ полученных изображений проводился с помощью программы AxioVision Rel.4.8 (Carl Zeiss, Германия) в ходе которого было определено количество клеток с положительной экспрессией исследуемых антигенов, т.е. наличием в клетке интенсивного свечения ядра в диапазоне эмиссии выбранных флуорофоров.

Гистологическое исследование биоптатов СОР проводилось в патоморфологическом отделении на базе ГБУЗ НО «Нижегородский областной онкологический диспансер». Определение гистологического типа опухоли проводилось в соответствии с критериями классификации опухолей Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) 2004 года. Анализ образцов осуществлялся с помощью микроскопа Leica DM 2000 (Сапожников А.Г., 2000).

Вирусологическое исследование проводилось на базе лабораторий ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора (г. Н. Новгород) и ООО «Ника Спринг» (г. Н. Новгород) с

помощью методик ПЦР-диагностики real time вирусов папилломы человека (ВПЧ), цитомегаловируса (ЦМВ), вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ), вируса герпеса 6 типа (ВГ 6 тип) и вирусов простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ 1, 2) (Valones M.A.A., 2009).

Иммунологическое исследование проводилось путем определения в ротовой жидкости концентрации иммуноглобулинов IgG, IgA, sIgA методами радиальной иммунодиффузии в геле (Mancini G. et al., 1965) и иммуноферментного анализа (ИФА), а также профилей интерлейкинов: INF α , TNF α , INF γ , IL 10, IL1b с помощью ИФА (Тараканова Ю.Н. и др., 2019), активности лизоцима фотонепелометрическим методом (Дорофейчук В.Г., 2018), также рассчитывали показатель коэффициента сбалансированности факторов местного иммунитета (Ксб) по Н.И. Толкачевой (Успенская О.А., 2015).

Лечение предраковой патологии СОР. В зависимости от применяемых способов лечения пациентов с предраковой патологией СОР рандомизировали на 3 группы: 1-я – с включением инъекций тромбоцитарной аутоплазмы, плазматерапия (ПТ); во 2-ой группе проводилась фотодинамическая терапия (ФДТ); в 3-ей группе осуществлялась традиционная терапия (ТТ) согласно Клиническим рекомендациям Минздрава России (таблица 2).

Таблица 2 - Распределение больных в зависимости от способа лечения предраковых заболеваний СОР

	Способ лечения		
	1 группа (ПТ) (n=85)	2 группа (ФДТ) (n=65)	3 группа (ТТ) (n=81)
Лейкоплакия	25	25	29
КПЛ	50	30	42
Хроническая язва	10	10	10

Нами разработана следующая методика плазматерапии (патент №2692108 от 15.03.2019 года «Способ лечения пациентов с эрозивно-

язвенными элементами поражения и/или хронического течения при заболеваниях слизистой оболочки полости рта»): осуществляли забор крови из локтевой вены в вакуумную пробирку «Plasmaactive», объемом 8 мл и центрифугировали 5 минут при 3000 об/мин., полученные 3,5-4 мл плазмы забирали в одноразовый шприц. По периферии эрозивно-язвенных элементов вводили аутологичную плазму объёмом 0,1-0,3мл на 1 мм² иглой для мезотерапии 30G 0,3×4 мм. Дополнительно проводили введение аутологичной плазмы по переходной складке в проекции элементов – 0,5 мл. Кратность – 1-3 процедуры с интервалом 7 дней.

Методика проведения фотодинамической терапии (ФДТ): в качестве источника облучения использовали прибор «Лакта Милон» (ООО «МИЛОН лазер», Россия). Перед процедурой на высушенный и изолированный от слюны очаг гиперкератоза наносили фотосенсибилизатор «Гелеофор» (ООО «ЛазерМедцентр», Россия) на 20-25 минут, не смывая фотосенсибилизатор, облучали очаг поражения с плотностью энергии 100 Дж/см². Воздействие осуществляли в непрерывном режиме излучения с экспозицией 10 - 25 минут в зависимости от площади элемента поражения. Курс лечения составил 1-3 сеанса с интервалом 7 дней.

Традиционная терапия (ТТ): включала аппликации ретинола пальмитата 3 раза в день на 20 минут в течение 4-х недель; прием 100 мг альфа-токоферола ацетата по 1 капсуле 2 раза в день – 14 дней; нейромультивита по 1 таблетке 2 раза в день – 14 дней. При выявлении кандидоза – дифлюкан 150 мг 1 раз в сутки и аппликации с раствором «Кандид Б» 20 капель раствора наносили на пораженные участки СОР 3 раза в день после еды в течении 7 дней. Пациентам с эрозивной формой лейкоплакии СОР назначался метронидазол 250 мг 2 раза в сутки после приема пищи – 7-10 дней; кестин по 1 таблетке 1 раз в сутки на ночь – 7-10 дней; аппликации с мазью целестодерм Б на 20 минут 2 раза в день после приема пищи – 10 дней, затем аппликации с асепта адгезивным бальзамом 2 раза в день после еды. Пациентам с эрозивно-язвенной формой КПЛ СОР назначался метронидазол 250 мг 2 раза в сутки

после приема пищи – 7-10 дней, пентоксифиллин 100 мг 3 раза в сутки – 4 недели, плаквенил 200 мг 2 раза в сутки 5 дней, перерыв – 2 дня, затем повтор курса лечения в течение 1 месяца. Местно на пораженные участки - аппликации с мазью целестодерм Б в течение 20 минут 2 раза в день после приема пищи – 10-14 дней. При выявлении ассоциированной герпетической инфекции - аппликации на очаги поражения геля панавир инлайт 2 раза в день после приема пищи на 20 минут - 10 дней. При необходимости назначались консультация и лечение у смежных специалистов: стоматолога – хирурга, ортопеда, ортодонта.

Статистическая обработка данных была проведена с использованием критериев современной доказательной медицины. Представленное исследование является вариантом рандомизированного клинического испытания, в данном случае – это проспективное сравнительное исследование эффективности двух и более лечебных вмешательств, когда группы формируются с учетом критериев включения и исключения. При этом существует гипотеза, которую выдвинули до проведения исследования относительно эффективности предлагаемых методов лечения, что и проверяется в ходе испытания (Реброва О.И., 2002). Полученные в ходе исследования данные были обработаны с помощью параметрических и непараметрических методов математической статистики пакета прикладных компьютерных программ STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США) и MedCalc (версия 9.3.5.0) для персонального компьютера в системе Windows. Оценку диагностической эффективности нового способа ФИЦХ исследования проводили с помощью ROC – анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты ретроспективного анализа медицинской документации

Анализ данных сводных ведомостей стоматологической клиники Института стоматологии и кафедры пропедевтической стоматологии ФГБОУ ВО «ПИМУ» за 5-летний период свидетельствуют о тенденции роста обращений пациентов с заболеваниями СОР. Лишь в 2020 году отмечено

снижение обращаемости пациентов с патологией СОР, связанное с ограничениями посещаемости по коронавирусной инфекции, в 2021 году зарегистрирован рост регистрации заболеваний СОР, особенно потенциально озлокачивающихся форм (КПЛ, лейкоплакия), а также кандидоза, хронического рецидивирующего афтозного стоматита (ХРАС) и заболеваний языка и губ. Структура стоматологических заболеваний у пациентов, обратившихся на кафедру пропедевтической стоматологии ФГБОУ ВО «ПИМУ» представлена в таблице 3.

Таблица 3 - Структура заболеваний СОР и ККГ у пациентов, обратившихся на кафедру пропедевтической стоматологии ФГБОУ ВО «ПИМУ»

Год	Всего принято больных	Заболеваний СОР и ККГ	Лейкоплакия	КПЛ	Кандидоз	Герпес	ХРАС	Травма СОР	Пузырчатка	Хейлит	Глоссит	Рак
2017	890	255	38	88	24	19	31	13	4	21	21	4
2018	901	266	38	88	24	19	31	12	4	22	23	5
2019	832	273	41	93	22	17	27	11	3	23	19	6
2020	617	201	46	99	17	13	27	10	3	19	11	5
2021	840	298	54	112	21	15	33	11	4	22	26	3

Таким образом, КПЛ являлась самой распространенной формой в структуре предраковой патологии СОР (37%). При этом эрозивно-язвенная форма была доминирующей и выявлялась у 217 человек (45,0%), экссудативно-гиперемическая - у 92 человек (19,0%), типичная – у 117 больных (24,0%), гиперкератотическая – у 42 пациентов (9,0%) и буллезная – у 12 человек (3,0%). В структуре обращаемости второе место занимала лейкоплакия СОР, выявленная у 217 пациентов (16,8%). При этом также лидировали заболевания с высоким потенциальным риском озлокачивания: эрозивная форма - 54 человека (25,0%), веррукозная – 63 пациента (29,0%),

плоская форма зарегистрирована у 78 больных (35,9%), лейкоплакия Таппейнера – у 22 пациентов (10,1%). Диагноз кандидоз СОР установлен у 108 (8,4%) пациентов, герпетическая инфекция СОР наблюдалась у 83 обратившихся (6,4%), ХРАС - у 149 (11,5%) пациентов. Следует отметить, что КПЛ и лейкоплакия СОР демонстрировали тенденцию к росту заболеваемости и в 2021 году и составляли 55,7% в структуре патологии СОР.

Так же ретроспективный анализ медицинской документации показал, что ведущим методом диагностики при заболеваниях СОР являлся визуальный осмотр (87,9%). В результате исследования установлено крайне низкое применение врачами-стоматологами морфологических методов диагностики (2,1%), которые являются крайне важными, патогенетически обоснованными способами для ранней и своевременной диагностики предраковой патологии СОР, а также дифференциальной диагностики с начальными стадиями рака.

Результаты проведенного ретроспективного анализа медицинской документации свидетельствуют о преобладании у пациентов с предраковыми заболеваниями СОР эрозивно-язвенных форм, относящихся к группе потенциально озлокачивающихся, так же подтверждена неоднородность их структуры, как в возрастном, так и в гендерном отношении (КПЛ чаще выявлялся у женщин в возрасте $60,7 \pm 2,4$ года). При этом, несмотря на повышение уровня знаний врачей стоматологического профиля в области онконастороженности, зарегистрировано отсутствие тенденции к снижению заболеваемости предраковой патологией СОР, что актуализирует проблему внедрения скрининговых способов диагностики, позволяющих быстро и эффективно определять патологические изменения.

Результаты разработки инновационной тест-системы Биочип «Стом»

Биочип представляет собой биосенсор, комплекс миниатюрных химических реакционных зон, расположенных в определенном порядке и нанесенных на твердую матрицу (стеклянную подложку с размерами по длине

и ширине $25,0 \times 75,0$ мм ($\pm 0,5$ мм), толщиной 1 мм). Объем ячейки составляет $0,18 \text{ см}^3$. Поверхность разделена на две части: одна имеет положительно заряженное покрытие и считается рабочей поверхностью, разделенной решеткой на 3 ячейки, другая не имеет специфического покрытия и предназначена для фиксации тест-системы в руках, а также носит информационный характер (рисунки 2, 3).

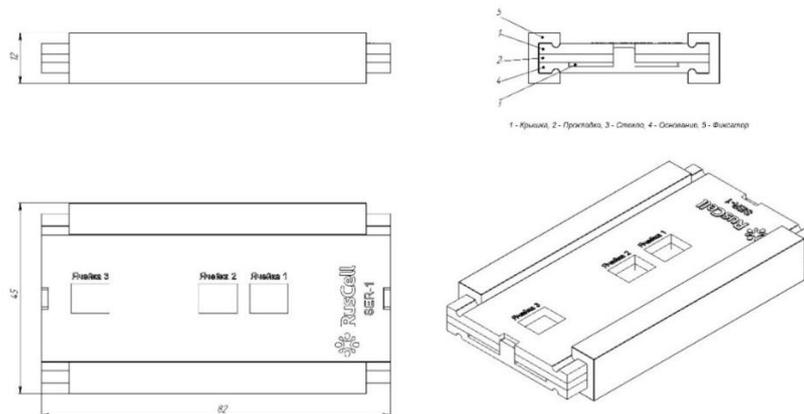


Рисунок 2 - Строение тест системы «Биочип Стом»



Рисунок 3 - Разметка тест-системы (вид сверху, ориентация по надписи на рабочей поверхности). Локация антител в ячейках тест-системы

Каждая ячейка содержит только один вид антител и является сугубо специфичной. Антитела, используемые для тест-системы, снабжены флуоресцентной меткой (ФИТЦ (флуоресцеина изотиоцианат)).

Результаты разработки методики проведения ФИЦХ-исследования

Цитологический материал центрифугировался в течение 5 минут 2000 об/мин, надосадочная жидкость убиралась микропипеткой, оставшаяся взвесь ресуспензировалась и в объеме 20 мкл помещалась в ячейку биочипа. Время инкубации с антителами составляло 60 минут в темноте. Визуализация флуоресценции проводилась с помощью микроскопа «Leica DM1000» (Leica,

Германия), используемое увеличение $\times 200$. На метку воздействовали светом определенной длины волны. Анализ полученных изображений проводился с помощью программы AxioVision Rel.4.8 (Carl Zeiss, Германия) в ходе которого было определено количество клеток с положительной экспрессией исследуемых антигенов, т.е. наличием в клетке интенсивного свечения ядра в диапазоне эмиссии выбранных флуорофоров (рисунок 4).

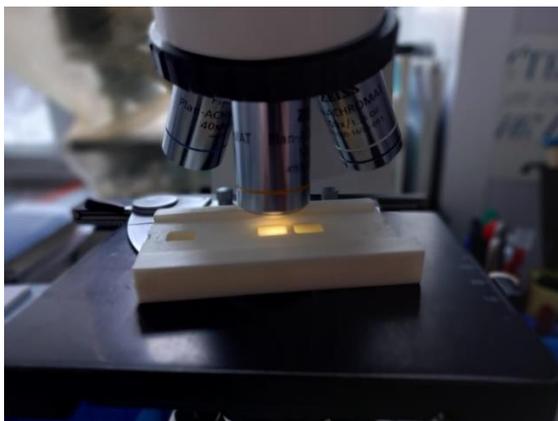


Рисунок 4 - Методика проведения ФИЦХ-исследования

Значимым считалось свечение ядра, превышающее таковое цитоплазмы исследуемой клетки в 3 и более раза. В каждом препарате просматривали не менее 10 полей зрения, полученный результат представлен в процентах в расчете на 100 клеток.

Установлены следующие диагностические критерии: при наличии в полученном препарате флуоресценции одновременно двух или трех маркеров, значения уровня экспрессии которых находятся в диапазоне $Ki67 \geq 10\%$, $P16 \geq 5$, $P53 \geq 10\%$ и при значении соотношения интенсивности флуоресценции ядра к интенсивности флуоресценции цитоплазмы 3 и более - диагностировали плоскоклеточный рак СОР.

При выявлении в препарате одновременно одного или двух маркеров пролиферации, значения уровня экспрессии которых находятся в диапазоне $Ki67$ 5-10%, $P16$ 1-5%, $P53$ 1-10% и при значении соотношения интенсивности флуоресценции ядра к интенсивности флуоресценции цитоплазмы менее 3 - диагностировали предраковое заболевание СОР.

Результаты аутофлуоресцентной диагностики предраковых заболеваний СОР

При первичном осмотре и в динамике всем пациентам проводилась аутофлуоресцентная диагностика с помощью прибора АФС-Д. Из общего числа проконсультированных больных с патологией СОР нарушения флуоресценции в виде усиления или, напротив, снижения интенсивности свечения были отмечены у 71,9% пациентов. Были выявлены следующие оптические образы: у пациентов с плоской формой лейкоплакии наблюдалась бело-голубая флуоресценция; при веррукозной форме - серого цвета с нечёткими контурами; при эрозивной форме лейкоплакии наблюдалось сочетание как очагов гашения люминесценции в виде темных пятен, что соответствовало наличию эрозивных элементов, так и участков гиперкератоза с менее интенсивным серым или бело-голубым свечением. У больных с эрозивно-язвенной формой КПЛ наблюдался эффект «темного пятна» в местах эрозий, при этом в очагах гиперкератоза наблюдалось усиление флуоресценции в виде серо-белого свечения. У пациентов с хронической язвой СОР в области патологических элементов отмечался также эффект «темного пятна». У 23 пациентов (7,6%) выявлено аномальная, красная флуоресценция, характерная для ЗНО, больные были направлены к врачу ЛОР-онкологу для проведения гистологического исследования.

Результаты клинической характеристики больных предраковыми заболеваниями СОР и раком СОР

В основной группе наблюдения пациентов с предраковыми заболеваниями СОР средний возраст составил $59,1 \pm 3,2$ года; при этом средний возраст женщин был равен $60,7 \pm 2,4$ годам, мужчин - $56 \pm 3,2$ годам.

При оценке жалоб пациенты отмечали наличие патологических элементов и боль (51,3%), дискомфорт (12,5%), парестезии и жжение (7,4%), несколько симптомов одновременно наблюдалось у 10,5% пациентов, у 18,3% жалобы отсутствовали.

На базе ГБУЗ НО «Нижегородский областной онкологический диспансер» было проведено одномоментное обследование 100 больных с плоскоклеточным раком СОР T₁₋₄ N₀₋₂M₀. Среди них доля мужчин составила 57% человек, женщин – 43%, средний возраст – 58,3±12,8 года у мужчин и 58,0±8,2 лет у женщин. Наиболее частая локализация ЗНО СОР наблюдалась на языке – 38% и дне полости рта – 27%, наиболее редко – на твердом небе (2%) и альвеолярном отростке верхней челюсти (2%). В данной группе основными жалобами были выраженная боль при приеме пищи, затруднение при ее глотании, наличие длительно незаживающих изъязвлений или новообразований на поверхности СОР.

Анализ известных патогенетических факторов продемонстрировал статистически значимую большую их частоту ($p < 0,05$) при раке СОР: курение (52,0% и 72,0% предраковая патология и рак СОР соответственно), злоупотребление алкоголем (7,6 % и 32,0% предраковая патология и рак СОР соответственно), злоупотребление горячей, острой пищей (47,6 % и 89,0% предраковая патология и рак СОР соответственно), хроническая травма СОР зубами, протезами (5,0% и 12,0% предраковая патология и рак СОР соответственно), наследственность (72,0% и 81,0% предраковая патология и рак СОР соответственно). В группе пациентов, страдающих ЗНО СОР, у 9,0% отмечались профессиональные вредности, у 72,0% пациентов выявлены хронический стресс и эмоциональная лабильность, что было также статистически выше, чем в группе больных с предраковыми заболеваниями (59,0%). Фоновая коморбидная патология встречалась практически одинаково часто в обеих группах, наиболее часто отмечено сочетание сердечно-сосудистой и патологии желудочно-кишечного тракта.

Стоматологический статус пациентов с предраковыми заболеваниями и раком СОР. При оценке стоматологического статуса обеих групп пациентов распространенность кариеса составила 100%. Проведенное исследование показало, что такие индексы, как КПУ, УИГР, РМА и СРITN продемонстрировали большую интенсивность кариеса, худший статус уровня

гигиены полости рта, большую выраженность воспалительных явлений в тканях пародонта у пациентов, страдающих раком СОР, чем у пациентов с предраковыми поражениями СОР (таблица 4). Некачественные ортопедические конструкции регистрировались у 41,4% больных с предраковой патологией СОР.

Таблица 4 - Значения показателей стоматологического статуса у пациентов с предраковой патологией и плоскоклеточным раком СОР

Патология		КПУ	УИГР, баллы	РМА, %	СПТН, баллы
Рак СОР		21 [17; 22]	2.40 [2.07; 2.83]	32 [25; 40]	3 [2; 3]
Предраковая патология (все нозологии)		17 [14; 21]*	2.19 [1.87; 2.50]*	25 [20; 36]*	2 [2; 2]*
Предраковая патология (по нозологиям)	Лейкоплакия	17 [15; 21]*	2.20 [1.90; 2.57]*	22 [20; 33]*	2 [2; 2]*
	КПЛ	17 [14; 21]*	2.16 [1.89; 2.50]*	30 [20; 36]*	2 [2; 2]*
	Декубитальная язва	16 [12; 18]*	2.10 [1.79; 2.40]*	22 [12; 32]*	2 [1; 2]*

Примечания: значения представлены в виде Ме [Q1; Q3], где Ме – медиана, Q1 и Q3 – первый и третий квартили, соответственно.

* - статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от пациентов, страдающих раком СОР.

Результаты цитологического исследования при предраковых заболеваниях и плоскоклеточном раке слизистой оболочки рта

В работе были проанализированы результаты цитологического исследования 1200 образцов биоматериала при различных предраковых заболеваниях (лейкоплакия, КПЛ, хроническая язва СОР) и плоскоклеточном раке СОР. Наибольшая эффективность выявления патологических изменений отмечалась при заборе материала методом соскоба с помещением материала в жидкую транспортную среду (ТПС), что объясняется максимальной концентрацией патологически измененных клеток. Кроме того, хранение и транспортировка цитологического материала в жидкостной среде, позволяет

использовать часть материала для дополнительных методов исследования (ПЦР на герпес-вирусы, для иммунологических исследований, ИЦХ).

При анализе результатов оценки индекса кератинизации установлено, что максимальные его значения регистрировались у пациентов с плоскоклеточным раком и лейкоплакией СОР (71,2% [53,5; 86,2] и 86,7% [44,6; 83,4] соответственно), при КПЛ и хронической язве СОР он составил 43,1% [40,3; 44,0] и 38,5% [43,0; 54,2] соответственно.

В результате проведенного исследования установлено, что применение цитологического метода диагностики позволило выявить злокачественные изменения в группе пациентов с плоскоклеточным раком СОР в 80% случаев, установить диагноз в группе с предраковой патологией при лейкоплакии в – 80%, КПЛ – 65%, хронической язве - 62%. Сходность цитологической картины различных патологических процессов на СОР, недостаточная эффективностью традиционной цитологической диагностики обуславливает необходимость применения новых уточняющих методов с целью повышения информативности дифференциальной диагностики пред- и онкологической патологии СОР.

Результаты флуоресцентной иммуоцитохимической (ФИЦХ) диагностики предраковых заболеваний и плоскоклеточного рака СОР

В настоящем исследовании впервые было проведено иммуоцитохимическое исследование 450 образцов цитологического материала методом прямой иммуофлуоресценции, определены уровни экспрессии опухолевых маркеров P53, P16 и Ki67. Данные сопоставлены с результатами гистологического анализа. В образцах, полученных у практически здоровых людей, не было выявлено клеток, экспрессирующих белки P16 и P53. Клетки, экспрессирующие Ki67, наблюдали в 28% препаратов. При плоскоклеточном раке СОР клетки, экспрессирующие белки P53, P16 и Ki67 выявлены в 100% препаратов. В группе пациентов с предраковой патологией экспрессия маркеров P16 и Ki67 была обнаружена также в 100% препаратах.

Следует отметить, что при всех нозологических формах предраковой патологии по сравнению с пациентами с плоскоклеточным раком СОР уровень экспрессии P53 был статистически ниже в 4 раза: при лейкоплакии – на 2% (ДИ = 1 – 4, $p = 0,004$), при КПЛ – на 3% (ДИ = 2 – 5, $p < 0,001$), при декубитальной язве – на 4% (ДИ = 2 – 5, $p < 0,001$). Положительная экспрессия маркера P53 у пациентов с КПЛ выявлена в 56%, у пациентов с лейкоплакией СОР - в 94% препаратов. В подгруппе пациентов с хронической язвой СОР экспрессия P16 была выявлена в 37% препаратов, экспрессия P53 – в 17%, клетки, экспрессирующие Ki67, наблюдали в 100% случаев (таблица 5).

Таблица 5 - Значения показателей экспрессии P16, P53, Ki67 у пациентов разных групп

Патология		P16	P53	Ki67
Практически здоровые лица		0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 1]
Рак СОР		2 [1; 5] *	4 [2; 7] *	4 [2; 11] *
Предраковая патология (все нозологии)		2 [0; 4] *	0 [0; 1] * **	7 [4; 11] *
Предраковая патология (по нозологиям)	Лейкоплакия	4 [3; 5] * **	2 [1; 3] * **	5 [3; 5] *
	КПЛ	2 [1; 2] * ** +	1 [0; 1] * ** +	11 [9; 12] * ** +
	Хроническая язва СОР	0 [0; 5] * ** +	0 [0; 0] * ** + ++	7 [4; 11] * +

Примечания: значения представлены в виде Me [Q1; Q3], где Me – медиана, Q1 и Q3 – первый и третий квартили, соответственно.

* - статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от практически здоровых доноров.

** - статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от пациентов с раковой патологией СОР.

+ - статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от пациентов с лейкоплакией.

++ - статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от пациентов с КПЛ.

Кроме того, в результате проведенного ФИЦХ-исследования в группе пациентов с плоскоклеточным раком СОР в 6,52% была зарегистрирована совместная экспрессия маркеров Ki67 и P16 (рисунок 5).

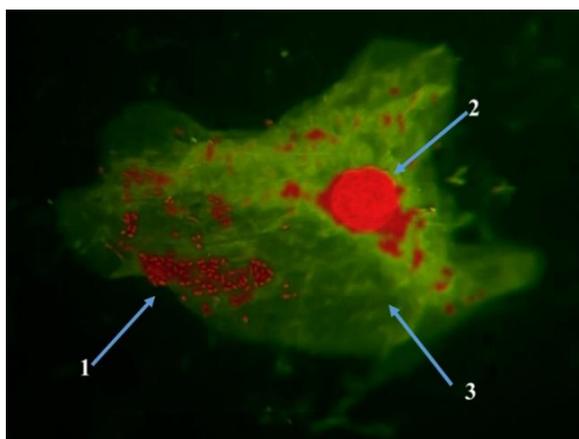


Рисунок 5 - Коэкспрессия P16 и Ki67 в одной клетке эпителия СО ротовой полости (Ув. x200.)

Примечания: 1 - сопутствующая микрофлора ротовой полости; 2 – визуализация коэкспрессии P16; 3 – визуализация коэкспрессии Ki67.

Проведенный ROC-анализ позволил установить чувствительность и специфичность ФИЦХ метода при сочетании его с цитологическим исследованием. Значение показателя AUC составило $0,89 \pm 0,07$, что указывает на достаточно высокую эффективность метода. Чувствительность такой диагностической комбинации оказалась равным 99%, а специфичность равна 89%, что приблизило ее характеристики к гистологическому методу (рисунок б). Таким образом, комбинация методов классической цитологии и ФИЦХ диагностики позволили повысить эффективность неинвазивной диагностики злокачественных новообразований органов и тканей полости рта.

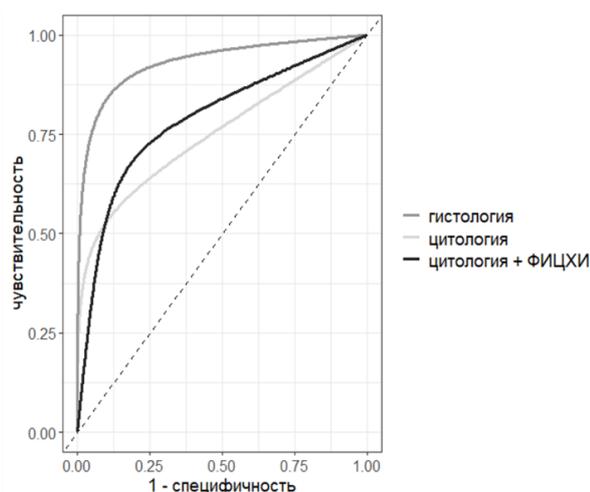


Рисунок 6 - ROC-анализ предиктивной силы методов дифференциальной диагностики злокачественных новообразований СОР и предраковой патологии

Сравнение диагностических методик продемонстрировало отсутствие ложноположительных результатов у цитологического и гистологического исследований. Уровень ложноотрицательных заключений при цитологическом исследовании, оказался крайне высок – 45%. Гистологическое исследование показало 7% ложноотрицательных результатов, по-видимому, вследствие ошибки при заборе биоматериала.

Таким образом, применение нового способа позволяет повысить чувствительность традиционного цитологического исследования до 99% и увеличить количество выявляемых случаев злокачественных новообразований СОР на этапе донозологической диагностики.

Результаты ПЦР-диагностики семейства герпесвирусов у пациентов с предраковой патологией СОР

При анализе лабораторных данных вероятность обнаружения таких вирусов, как ВПЧ, ЦМВ, ВЭБ, ВГ 6 и ВПГ-1, 2 типов у пациентов, страдающих раком и предраковой патологией СОР значительно различалась. При ЗНО СОР частота обнаружения ВПЧ в биологических образцах оказалась выше в 103 раза по сравнению с таковой у пациентов с предраковыми заболеваниями СОР ($p < 0,001$). У лиц с плоскоклеточным раком СОР ВПЧ был обнаружен в 42% случаев, ВЭБ - 47% и ЦМВ - 63%, ВПГ-1,2 типов - 5% случаев.

У пациентов с предраковой патологией СОР структура инфицирования вирусом была иной: также часто регистрировался ВЭБ (41%), ВГ 6 типа (45%) и ЦМВ (61%), при этом ВПЧ был обнаружен менее 1% случаев.

Таким образом, выявлена высокая ассоциация герпесвирусного инфицирования у пациентов с предраковыми заболеваниями СОР. Отсутствие ВПЧ при предраковой патологии и высокое распространение при раке СОР позволяют предположить особенность течения ВПЧ-ассоциированного онкологического поражения СОР: скорее всего злокачественная опухоль в этом случае появляется без предшествующего развития предраковых поражений, либо присоединение ВПЧ-инфекции может приводить к быстрой малигнизации существующего предракового процесса.

Результаты лечения предраковых заболеваний СОР. Динамика показателей стоматологического статуса

Включение инъекций ТАП у пациентов с КПЛ демонстрировали наилучшие результаты, исследуемые показатели статистически значимо снижались: УИГР – на 0,4 баллов (ДИ = 0,2 – 0,6 баллов, $p = 0,001$); РМА – на 16 (14 - 17) баллов: СРITN – на 1 балл (ДИ = 1 – 2 балл, $p = 0,004$), все медианные тесты имели $p < 0,05$.

У пациентов с лейкоплакией СОР применение ПТ также привело к статистически значимому снижению показателя УИГР на 0,4 балла (ДИ = 0,1 – 0,6 балла, $p = 0,029$), индекса РМА на 14 баллов (ДИ=12 – 16, $p < 0,001$); показателя СРITN – на 1 балл (ДИ = 0 – 1 балл, $p < 0,001$).

Лечение хронической травматической язвы методом ПТ привело к статистически значимому снижению всех стоматологических индексов по сравнению с исходными значениями: УИГР – на 0,5 баллов (ДИ = 0,2 – 0,9 баллов, $p = 0,004$); РМА – на 18 баллов (ДИ=14 – 20 баллов); СРITN – на 1 балл (ДИ = 1 – 2 балл, $p < 0,001$).

При анализе результатов ФДТ у пациентов с различной предраковой патологией СОР более выраженная динамика зарегистрирована в группе больных лейкоплакией СОР и выразилось в статистически значимом снижении показателя УИГР на 0,3 балла (ДИ = 0,1 – 0,5 балла, $p = 0,005$), РМА – на 17 баллов (ДИ = 13 – 21 балла, $p < 0,001$); показателя СРITN – на 1 балл (ДИ = 1 – 1 балл, $p < 0,001$).

При сравнении различных способов терапии при различных нозологических формах предраковых заболеваний СОР наибольшая клиническая эффективность достигнута при применении ПТ в группах больных с КПЛ и хронической травматической язвой; а методом ФДТ - у пациентов с лейкоплакией, при этом ТТ демонстрировала менее позитивную динамику.

Динамика показателей качества жизни и уровня боли на фоне лечения предраковых заболеваний СОР

Исходно болевой синдром по шкале ВАШ был наиболее выраженным при ЗНО СОР, а среди предраковой патологии – при хронической язве СОР (рисунок 7). В результате традиционного лечения у больных лейкоплакией СОР значения показателя ВАШ снизились на 50%, а при лечении методами ФДТ и ПТ – на 67% ($p < 0,01$).

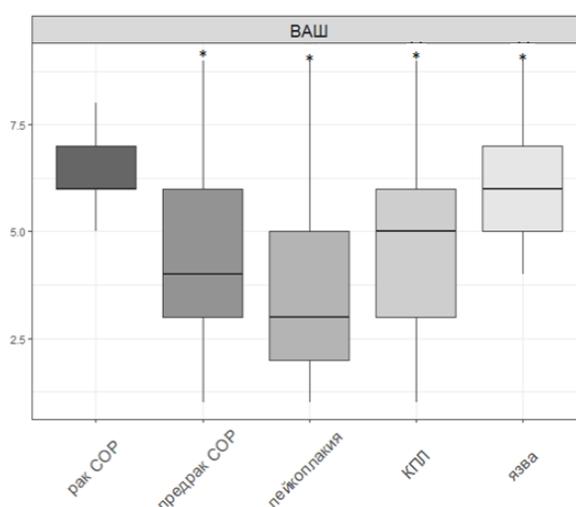


Рисунок 7 - Значения показателя ВАШ у пациентов, страдающих раком и различными формами предраковой патологии СОР

Примечания: * - статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от пациентов, страдающих раком СОР.

У пациентов с КПЛ ТТ также привела к снижению индекса ВАШ на 50%, а ФДТ и ПТ – на 83% ($p < 0,001$). ТТ декубитальной язвы СОР привела к снижению индекса ВАШ на 50%, ФДТ – на 80%, а ПТ – на 83% (динамика показателя в группе ФДТ и ПТ была существенно выше таковой в группе ТТ, $p = 0,004$ и $p < 0,001$ соответственно).

Исходный уровень качества жизни согласно ОНIP-14 оказался наиболее низким при плоскоклеточном раке СОР (48 [42; 56] баллов, $p < 0,05$) по отношению ко всем вариантам предраковой патологии; общая оценка для предраковой патологии - 39 [33; 47] балла, самый низкий уровень качества жизни наблюдался у пациентов с хронической язвой СОР (41 [39; 47] балл, $p < 0,05$) по сравнению с другими вариантами предраковой патологии.

У пациентов с КПЛ инъекции аутоплазмы приводили к наилучшим результатам и максимальному снижению показателя ОНП-14 на 71%; при этом ФДТ была менее эффективна по влиянию на данный показатель, снижая его на 67%; при этом ТТ способствовала его снижению на 49%.

У пациентов с хронической язвой СОР ПТ оказала также более выраженный эффект, что выразилось в статистически значимом снижении значений показателя при ПТ – на 70%, при ФДТ – на 63% и на 45% при ТТ ($p < 0,001$).

У пациентов с лейкоплакией СОР, получивших курс инъекций тромбоцитарной аутоплазмы, показатель ОНП-14 снизился на 60%, а при лечении методом ФДТ - на 67% ($p < 0,001$), традиционное лечение приводило к уменьшению показателя качества жизни на 45%.

Таким образом, уровень качества жизни у пациентов с КПЛ и декубитальной язвой СОР повысился при лечении методом ПТ, а у больных с лейкоплакией СОР – при ФДТ.

Результаты оценки площади эпителизации до и после лечения предраковых заболеваний СОР. Динамика регенеративно-дегенеративного индекса

При включении ПТ в комплексное лечение КПЛ полная эпителизация эрозивно-язвенных элементов наблюдалась у 98 % [95; 100] больных; при ФДТ полное заживление отмечалось у 93% [89; 99] пациентов; при этом традиционное лечение демонстрировало худшие результаты, эпителизации удалось достичь у 71 % [64; 75] больных с КПЛ. Средние сроки эпителизации составили при ПТ КПЛ составили $16 \pm 2,5$ дней.

Анализируя эффективность сравниваемых способов терапии лейкоплакии СОР, установлено, что включение в схему комплексного лечения инъекций ТАП способствовало эпителизации у 97 % [94; 100] пациентов; применение ФДТ – у 99 % [95; 100] больных, традиционного лечения – у 70% [65; 75] пациентов. Средние сроки эпителизации при ФДТ лейкоплакии составило $21 \pm 2,2$ дня.

При разных вариантах лечения декубитальной язвы СОР полной эпителизации удалось достигнуть при применении инъекций ТАП у 99% [98; 100] больных; при использовании ФДТ - у 94% [90; 100] пациентов традиционное лечение оказалось эффективным у 90% [38; 92] больных.

При оценке динамики РДИ установлено, что применение ПТ при хронической язве СОР и КПЛ оказали наиболее выраженное влияние на данный показатель. У пациентов с лейкоплакией СОР наиболее быстрый и выраженный эффект на динамику РДИ давало ФДТ, при этом ТТ уступила другим изучаемым методам терапии (таблица 6).

Таблица 6 - Сравнительная динамика РДИ на фоне лечения предраковой патологии СОР

Сутки	Параметр	ПТ			ФДТ			ТТ		
		КПЛ	Язва	Лейк	КПЛ	Язва	Лейк	КПЛ	Язва	Лейк
Д.01	РДИ	0,13	0,11	0,17	0,13	0,13	0,13	0,12	0,12	0,13
Д.07	РДИ	0,33	0,26	0,26	0,24	0,22	0,27	0,27	0,28	0,28
	¹ ΔРДИ, %	153*	136* ⁺	53 ⁺	85* ⁺⁺⁺	70*	110	125	130*	115
Д.14	РДИ	0,64	0,63	0,43	0,65	0,64	0,71	0,43	0,38*	0,39*
	¹ ΔРДИ, %	94*	142*	65	170 ⁺⁺	190* ⁺⁺	163 ⁺⁺	60	36	40
Д.21	РДИ	0,85*	0,82*	0,63	0,77	0,75	0,86	0,67	0,61	0,58
	¹ ΔРДИ, %	31*	30*	47	18*	17*	12 ⁺⁺	56	61 ⁺⁺⁺	49
Д.28	РДИ	0,97	0,98	0,89	0,87	0,87	0,97	0,83	0,83	0,85
	¹ ΔРДИ, %	14*	20*	42	13	16	13 ⁺⁺	24*	36*	47
Д.01 – Д.28	² ΔРДИ, %	650* ⁺	800* ⁺	424	570*	570*	650 ⁺⁺	590	550**	550**

Примечания: ¹ рост от предыдущего уровня; ² рост от исходного уровня; * статистически значимая ($p < 0,05$) динамика РДИ по сравнению с таковой у пациентов с лейкоплакией; ** статистически значимая ($p < 0,05$) динамика РДИ по сравнению с таковой у пациентов с КПЛ; + статистические различия ($p < 0,05$) по сравнению с таковыми в группах ФДТ и ТТ; ++ статистические различия ($p < 0,05$) по сравнению с таковыми в группах ПТ и ТТ; +++ статистические различия ($p < 0,05$) по сравнению с таковыми в группе ФДТ.

Динамика иммунологических показателей ротовой жидкости на фоне лечения предраковых заболеваний СОР. У пациентов с предраковой патологией СОР исходно в ротовой жидкости концентрации IgG и IL1β

оказались значимо выше, а концентрации IgA, sIgA, IL10, INF α , INF γ и TNF α ниже, чем таковые у здоровых лиц (таблица 7).

Таблица 7 - Значение иммунологических параметров ротовой жидкости у здоровых лиц и пациентов с предраковой патологией СОР до начала лечения

Показатель	Здоровые лица	Лейкоплакия		КПЛ		Хроническая язва	
	значение	значение	Δ (патология – норма); p	значение	Δ (патология – норма); p	значение	Δ (патология – норма); p
IgG, г/л	0.03 [0.00; 0.04]	0.05 [0.05; 0.05]*	0.02 (0.01 – 0.04); p < 0.001	0.05 [0.05; 0.05]*	0.02 (0.01 – 0.04); p < 0.001	0.05 [0.05; 0.05]*	0.02 (0.01 – 0.04); p < 0.001
IgA, г/л	0.20 [0.16; 0.27]	0.02 [0.02; 0.03]*	-0.17 (-0.17 – -0.22); p < 0.001	0.02 [0.02; 0.03]*	-0.17 (-0.17 – -0.22); p < 0.001	0.02 [0.02; 0.03]*	-0.17 (-0.16 – -0.23); p < 0.001
sIgA, мг/л	303 [238; 329]	248 [242; 253]*	-57 (5 – 75); P = 0.020	250 [245; 254]*	-57 (3 – 75); P = 0.037	250 [243; 253]*	-57 (2 – 76); P = 0.043
INF α , пг/мл	0.65 [0.43; 2.02]	0.30 [0.23; 0.65]*	-0.33 (-0.13 – -0.48); P = 0.001	0.30 [0.23; 0.65]*	-0.33 (-0.13 – -0.48); P = 0.001	0.33 [0.27; 0.65]*	-0.30 (-0.08 – -0.49); p = 0.008
TNF α , пг/мл	2.60 [0.22; 18.10]	0.21 [0.19; 0.28]*	-2.39 (-0.14 – -8.62); p = 0.001	0.21 [0.19; 0.28]*	-2.39 (-0.17 – -8.61); P = 0.001	0.22 [0.19; 0.28]*	-2.39 (-0.14 – -8.62); p = 0.004
INF γ , пг/мл	2.50 [1.33; 9.17]	0.35 [0.31; 0.39]*	-2.14 (-1.22 – -6.13); p < 0.001	0.35 [0.31; 0.39]*	-2.14 (-1.22 – -6.13); p < 0.001	0.35 [0.31; 0.36]*	-2.15 (-1.23 – -7.14); p < 0.001
IL10, пг/мл	0.44 [0.31; 0.58]	0.19 [0.17; 0.28]*	-0.22 (-0.14 – -0.32); p < 0.001	0.18 [0.12; 0.28]*	-0.23 (-0.14 – -0.33); p < 0.001	0.19 [0.17; 0.28]*	-0.22 (-0.12 – -0.33); p < 0.001
IL1 β , пг/мл	408 [135; 425]	427 [372; 497]*	87 (51 – 145); p = 0.004	427 [372; 497]*	87 (51 – 145); p = 0.004	458 [383; 497]*	94 (51 – 196); p = 0.004
Лизоцим, %	48 [43; 46]	28 [23; 36]*	48 [43; 46]	27 [23; 36]*	48 [43; 46]	27 [24; 34]*	48 [43; 46]
Ксб	1.6 [1.5; 2.1]	5.6 [4.5; 7.1]*	1.6 [1.5; 2.1]	5.6 [4.5; 7.1]*	1.6 [1.5; 2.1]	5.4 [4.5; 7.1]*	1.6 [1.5; 2.1]

Примечания: * - статистически значимые различия по сравнению с практически здоровыми лицами

После лечения статистически значимые изменения изучаемых параметров локального иммунитета были выявлены для всех показателей. На фоне ПТ при КПЛ и хронической язве СОР и в результате применения ФДТ при лечении лейкоплакии установлено наиболее значимое снижение содержания IgG, IL1 β и показателя Ксб, а также повышение уровней IgA, sIgA, INF α , TNF α , INF γ , IL10 и лизоцима ротовой жидкости.

Результаты сравнительной оценки эффективности лечения различных форм предраковой патологии СОР

Применение ПТ привело к полному клиническому выздоровлению в 96,0% случаев и к частичному - в 4,0% к 28 дню наблюдения. При ФДТ у 91% пациентов удалось достичь полной элиминации очагов поражения, частичной в – 7% в указанные сроки, при этом 3 больных (3%) отмечено отсутствие положительного клинического результата. Традиционное лечение демонстрировало худшие результаты и привело к полному заживлению в 68% случаев, к частичному в – 19%, отсутствие положительного эффекта данного способа установлено в 13% случаев (таблица 8).

Таблица 8 - Результаты лечения предраковой патологии СОР методами плазматерапии, ФДТ и традиционным способом (суммарно для всех нозологий)

Параметр	ПТ		ФДТ		ТТ	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
ПКВ	96	96%	91	91%	68	68%
ЧКВ	4	4%	7	7%	19	19%
ПКРО	0	-	3	3%	13	13%

Примечания: ПКВ – полное клиническое выздоровление (уменьшения очага на 100%); ЧКВ – частичное клиническое выздоровление (уменьшение очага на 50%); ПКРО – положительный клинический результат отсутствует.

Организация лечебно-консультативного приема и маршрутизации пациентов с предраковыми заболеваниями слизистой оболочки рта и подозрением на ЗНО. Алгоритм диагностики и выбора методики лечения.

Всем первично обратившимся пациентам после тщательного сбора анамнеза, визуального осмотра тканей и органов ротовой полости проводилась АФС-диагностика, при выявлении нарушения флуоресценции и наличии патоморфологических элементов на СОР осуществлялся забор цитологического материала с помещением в жидкую ТПС для ФИЦХИ и ПЦР-диагностики на исследуемые вирусы и их транспортировка в лабораторию. При наличии данных о выявлении одновременно двух или трех маркеров (значения уровня экспрессии Ki67 - 10%, P16 – 5%, P53 - 10%) и при значении соотношения интенсивности флуоресценции ядра к интенсивности флуоресценции цитоплазмы 3 и более - диагностировали плоскоклеточный рак СОР, и далее оформляли направление по форме 057/У-04 на консультацию к врачу-онкологу для проведения биопсии и проведения лечения. Наличие в цитопрепарате признаков ВПЧ, ВЭБ, ЦМВГ-инфицирования расценивалось как фактор риска и требовало дальнейшего обследования и консультации у врачей-инфекционистов и иммунологов.

При регистрации в цитопрепарате одновременно одного или двух маркеров пролиферации, значения уровня экспрессии которых находятся в диапазоне Ki67 5-10%, P16 1-5%, P53 1-10% и при значении соотношения интенсивности флуоресценции ядра к интенсивности флуоресценции цитоплазмы менее 3 - диагностировали предраковое заболевание СОР. Пациенту назначалось комплексное лечение согласно нозологической форме с учетом клинических рекомендаций и персонифицированного подхода.

ВЫВОДЫ

1. Результаты проведенного ретроспективного анализа медицинской документации свидетельствуют о сохранении тенденции роста обращений пациентов с заболеваниями СОР и преобладании нозологических форм, относящихся к группе потенциально озлокачивающихся (53%), подтверждена неоднородность их структуры, как в возрастном, так и гендерном отношении: преобладали женщины (79,3%), средний возраст 60,7±2,4 года, при этом доля мужчин составила 20,7%, средний возраст 56±3,2

года. Установлено, что основным методом диагностики патологии СОР в первичном звене стоматологии являлся визуальный осмотр (87,9%), оптические методы диагностики в своей практике применяли около 10,0% специалистов, морфологические – 2,0%.

2. При оценке стоматологического статуса пациентов с предраковой патологией СОР обнаружена высокая распространенность (100%) и интенсивность кариеса (КПУ $18,4 \pm 0,02$), неудовлетворительный уровень гигиены полости рта (УИГР $2,35 \pm 0,01$ балла); 63,3% больных имели частичную потерю зубов, некачественные ортопедические конструкции регистрировались у 41,4% больных. У пациентов с предраковой патологией СОР установлена высокая распространенность заболеваний пародонта (88,3%). В подгруппе с КПЛ значения индексов РМА и СРITN были статистически выше ($p < 0,001$), чем при лейкоплакии и хронической язве СОР; у 91,05% пациентов с КПЛ зарегистрирован хронический пародонтит. Предраковая патология СОР приводит к значительному снижению качества жизни пациентов особенно формы, сопровождающиеся выраженным болевым и эрозивно-язвенным синдромом (ОНП-14 - 39 [33; 47] баллов; увеличение ВАШ на 2 балла (ДИ = 2– 2 балла, $p < 0,001$)).

3. Изучены уровни экспрессии маркеров пролиферативной активности эпителия в норме, при предраковой патологии и ЗНО СОР. При выявлении одновременно двух или трех маркеров, значения уровня экспрессии которых находятся в диапазоне $Ki67 \geq 10\%$, $P16 \geq 5$, $P53 \geq 10\%$ и при значении соотношения интенсивности флуоресценции ядра к интенсивности флуоресценции цитоплазмы 3 и более - диагностируют плоскоклеточный рак СОР. При обнаружении одновременно одного или двух маркеров пролиферации, значения уровня экспрессии которых находятся в диапазоне $Ki67$ 5-10%, $P16$ 1-5%, $P53$ 1-10% и при значении соотношения интенсивности флуоресценции ядра к интенсивности флуоресценции цитоплазмы менее 3 - диагностируют предраковую патологию СОР.

4. Разработан способ скрининговой диагностики предраковых заболеваний и рака СОР методом флуоресцентного иммуноцитохимического исследования эпителия СОР, доказана его эффективность в 99% случаев, предложена инновационная тест-система «Биочип Стом» для использования в практическом здравоохранении с помощью телемедицинских технологий (патент «Способ скрининговой дифференциальной диагностики предраковых заболеваний и рака слизистой оболочки рта (СОР)» № RU 2 754 295 С1 от 31.08.2021 г).

5. Изучение особенностей вирусологического статуса пациентов с предраковой патологией выявила высокую ассоциацию герпесвирусных инфекций: ЦМВ (41%), ВЭБ (45%) и ВГ 6 типа (61%). Наибольшие различия были зарегистрированы при ВПЧ инфекции: у пациентов с плоскоклеточным раком СОР вероятность обнаружения ВПЧ оказалась выше в 103 раза по сравнению с больными с предраковой патологией СОР ($p < 0,001$).

6. У пациентов с предраковой патологией СОР выявлены значимые нарушения в системе мукозального иммунитета: повышение концентрации в ротовой жидкости IgG на 66,7% и IL1 β , на 4,7%, КСБ - в 3,4 - 3,5 раза и снижение профиля IgA, sIgA, IL10, INF α , INF γ и TNF α от 2,4 до 12,4 раз сравнению со здоровыми лицами.

7. Разработан способ лечения предраковых заболеваний СОР с применением инъекций тромбоцитарной аутоплазмы, основанный на изучении клинических и иммунологических показателей: а именно, наличия эрозивно-язвенных элементов на СОР, снижения уровней ($p \leq 0,01$) слюварных цитокинов, иммуноглобулинов, показателя Ксб в ротовой жидкости (патент №2692108 «Способ лечения пациентов с эрозивно-язвенными элементами поражения и/или хронического течения при заболеваниях слизистой оболочки полости рта» от 21.06.2019 г.). Предложенный способ лечения приводит к сокращению сроков эпителизации на 20% по сравнению с традиционной терапией.

8. Разработана стратегия и тактика диагностики и менеджмента пациентов с предраковыми заболеваниями СОР, предусматривающие АФС-диагностику, цитологическое исследование и оценку экспрессии маркеров пролиферативной активности P16, P53 и Ki67 эпителия СОР методом прямого ФИЦХИ на биочипах, а также ПЦР-исследования на ВПЧ, ВЭБ, ЦМВГ, ВГ 6 типа.

9. В протоколы персонафицированного комплексного лечения больных с эрозивно-язвенной формой КПЛ и хронической язвой СОР целесообразно включение плазматерапии, а применение методики ФДТ – при лечении эрозивной формы лейкоплакии СОР, что приводило к достоверно ($p \leq 0,01$) значимой положительной динамике как показателей стоматологического здоровья, индекса регенерации СОР, так и большинства иммунологических показателей (IgG, IgA, sIgA, INF α , TNF α , INF γ , IL10, IL1 β , КСБ).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В алгоритм диагностики при патологии СОР целесообразно включение скрининговых морфологических методов диагностики, а именно комбинации цитологического и прямого ФИЦХ исследования на биочипах.

2. Для выбора оптимальной стратегии лечения предраковых заболеваний СОР рекомендуется проведение ПЦР-диагностики канцерогенных вирусов (ВПЧ, ВЭБ, ЦМВГ, ВГ 6 типа).

3. У больных с предраковыми заболеваниями СОР перед началом лечения и в динамике рекомендуется осуществлять оценку и анализ параметров мукозального иммунитета ротовой полости.

4. Для определения и выбора схем персонафицированного лечения у пациентов с предраковыми заболеваниями СОР рекомендован следующий алгоритм обследования: оценка показателей стоматологического статуса, АФС-диагностика, цитологическое исследование в комбинации с прямой ФИЦХ-диагностикой маркеров пролиферативной активности эпителия P16, P53, Ki 67 на биочипах, ПЦР диагностика герпесвирусного инфицирования, исследование факторов мукозального иммунитета ротовой полости.

5. Наиболее целесообразно включение инъекций аутоплазмы в комплексное лечение пациентов с эрозивно-язвенной формы КПЛ и хронической язвой СОР.

6. Наиболее приемлемо применение ФДТ в комплексном лечении эрозивной формы лейкоплакии СОР.

7. Пациентов с предраковой патологией СОР рекомендуется брать на диспансерный учет и проводить контрольные осмотры каждые 6 месяцев.

Перспективы дальнейшей разработки темы диссертации

Перспективы дальнейшей разработки темы заключается во внедрении предложенного алгоритма диагностики с включением технологии прямого флуоресцентного иммуноцитохимического исследования на устройстве «Биочип Стом» для скринингового исследования населения с целью повышения эффективности ранней диагностики и доли активно выявленных больных с предраковыми заболеваниями и онкопатологией СОР, что, в свою очередь, будет способствовать более раннему началу лечения, снижению заболеваемости на поздних стадиях, следовательно, уменьшению инвалидизации и летальности населения. Целесообразно создание кабинетов онкоскринга и центров морфологической диагностики с использованием телемедицинских технологий. Требуется дальнейшее развитие и внедрение в комплексное лечение больных с предраковыми заболеваниями СОР плазматерапии и ФДТ, что будет способствовать повышению эффективности их лечения и профилактике осложнений.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Казарина, Л. Н. Влияние иммунокорректирующей терапии на ионный и цитокиновый профиль ротовой жидкости пациентов с непереносимостью металлических сплавов в полости рта / Л. Н. Казарина, Е. В. Серхель, А. Е. Пурсанова // *Cathedra-Кафедра. Стоматологическое образование.* – 2017. – № 60–61. – С. 22–24.

2. Оценка эффективности терапии предраковых заболеваний слизистой оболочки рта при помощи аутофлуоресцентной диагностики / А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина, У. Г. Гулян, Е. В. Серхель // *Современные проблемы науки и образования.* – 2018. – № 4. – С. 151–153.

3. Клинико-иммунологические особенности предраковых заболеваний слизистой оболочки рта и красной каймы губ / А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина,

О. О. Гущина, Е. В. Серхель, А. Е. Белозеров, З. М. Абаев // *Стоматология*. – 2018. – Том 97, № 5. – С. 23–26.

4. Пурсанова, А. Е. Влияние плазматерапии на состояние местного иммунитета ротовой полости у больных с предраковыми заболеваниями слизистой оболочки рта / А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина // *Пародонтология*. – 2018. – Том 23, № 4(89). – С. 73–76.

5. Казарина, Л. Н. Клиническая характеристика больных предраковыми заболеваниями слизистой оболочки рта и красной каймы губ (по данным консультативного приема) / Л. Н. Казарина, А. Е. Белозеров, А. Е. Пурсанова // *Научный посыл высшей школы – реальные достижения практического здравоохранения : сборник научных трудов*. – Нижний Новгород, 2018. – С. 617–622.

6. Влияние способа забора материала на результаты морфологического анализа в диагностике рака слизистой оболочки рта / И. А. Круглова, А. Е. Пурсанова, О. В. Уткин, С. В. Зиновьев, А. Н. Денисенко // *Злокачественные опухоли*. – 2019. – Том 9, № 3S1. – С. 138–139.

7. Совершенствование диагностики и лечения предраковых заболеваний слизистой оболочки рта / А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина, А. Е. Белозеров, Е. В. Серхель, У. Г. Гулян // *Вятский медицинский вестник*. – 2019. – № 2(62). – С. 46–50.

8. Казарина, Л. Н. Парестезия слизистой оболочки рта у больных с предраковыми заболеваниями / Л. Н. Казарина, А. Е. Пурсанова, А. Е. Белозеров // *Cathedra-Кафедра. Стоматологическое образование*. – 2019. – № 70. – С. 26–30.

9. Диагностика предраковых заболеваний слизистой оболочки рта методом ИКС / Л. Н. Казарина, А. Е. Белозеров, А. С. Гордцев, О. В. Красникова, А. Е. Пурсанова // *Медико-фармацевтический журнал Пульс*. – 2019. – Том 21, № 12. – С. 77–82.

10. Пурсанова, А. Е. Повышение эффективности диагностики предраковых заболеваний полости рта / А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина // *Актуальные вопросы стоматологии : материалы Всероссийской научно-практической конференции, Кемерово, 20 марта 2019 года*. – Кемерово : КемГМУ, 2019. – С. 92.

11. Частота выявления герпесвирусов при патологии слизистой оболочки рта / К. А. Орлова, Н. Ф. Бруснигина, А. Е. Пурсанова, О. М. Черневская, М. А. Махова // *Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы : материалы XI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, Москва, 01–03 апреля 2019 года*. – Москва : Медицинское маркетинговое агентство, 2019. – С. 152.

12. Пурсанова, А. Е. Влияние пенки "Splat oral care foam 2 in 1" на гигиенический статус больных с предраковыми заболеваниями слизистой оболочки рта / А. Е. Пурсанова, У. Г. Гулян, А. Н. Молотков // *Дебют в стоматологии : сборник тезисов межвузовской конференции, Москва, 06 марта 2019 года*. – Москва : Российский университет дружбы народов, 2019. – С. 22–23.

13. Казарина, Л. Н. Комплексный подход к профилактике и лечению лейкоплакии слизистой оболочки рта / Л. Н. Казарина, А. Е. Белозеров, А. Е. Пурсанова // *Dental Forum*. – 2020. – № 1(76). – С. 52–54.

14. Оценка эффективности лечения предраковых заболеваний слизистой оболочки рта методом инфракрасной спектроскопии / Л. Н. Казарина, А. Е.

Белозеров, А. С. Гордцев, О. В. Красникова, А. Е. Пурсанова, А. С. Казарин // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2020. – Том 22, № 5. – С. 139–145.

15. Цитологическое исследование в стоматологии. Взаимосвязь морфологического заключения и способа забора материала в дифференциальной диагностике предрака и рака слизистой оболочки рта / И. А. Круглова, А. Е. Пурсанова, С. В. Зиновьев, О. В. Уткин, А. Н. Денисенко // Лабораторная служба. – 2020. – Том 9, № 1. – С. 36–37.

16. Пурсанова, А. Е. Повышение эффективности индивидуальной гигиены полости рта у пациентов с предраковыми заболеваниями слизистой оболочки рта / А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина // Dental Forum. – 2020. – № 4(79). – С. 50–51.

17. Влияние способа забора материала на результаты цитоморфологического исследования в диагностике новообразований слизистой оболочки рта / И. А. Круглова, С. В. Зиновьев, А. Е. Пурсанова, О. В. Уткин, А. Н. Денисенко // Вопросы онкологии. – 2020. – Том 66, № 5. – С. 500–506.

18. Грачева, А. С. Применение зубных паст на основе альгинатов у пациентов с предраковыми заболеваниями слизистой оболочки рта / А. С. Грачева, Т. С. Грачева, А. Е. Пурсанова // VOLGAMEDSCIENCE : сборник тезисов VI Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием, Нижний Новгород, 16–17 марта 2020 года. – Нижний Новгород : Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Приволжский исследовательский медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2020. – С. 521–523.

19. Пурсанова, А. Е. К вопросу о фотодинамической терапии предраковых заболеваний слизистой оболочки полости рта / А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина, О. С. Шабалина // Dental Forum. – 2021. – № 4(83). – С. 66–67.

20. Цитологическое исследование новообразований ротовой полости. Взаимосвязь морфологического заключения и способа забора материала / И. А. Круглова, А. Е. Пурсанова, С. В. Зиновьев, О. В. Уткин, А. Н. Денисенко // Евразийский онкологический журнал. – 2021. – Том 9, № S1. – С. 287–288.

21. Мониторинг биохимических показателей ротовой жидкости у больных с предраковыми заболеваниями слизистой оболочки рта, использующих ортопедические конструкции / К. Н. Конторщикова, Л. Н. Казарина, У. Г. Гулян, А. Е. Пурсанова, А. Р. Захарова, М. М. Конторщиков, О. О. Гущина // Клиническая лабораторная диагностика. – 2022. – Том 67, № 1. – С. 19–23.

22. Флуоресцентная иммуноцитохимическая диагностика предраковых заболеваний и рака слизистой оболочки рта / А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина, И. А. Круглова, С. В. Зиновьев, О. В. Уткин, Е. Н. Филатова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2022. – Том 67, № 4. – С. 219–227.

Патенты на изобретения:

1. Патент № 2692108 С1 Российская Федерация, МПК А61К 35/16, А61К 35/00, А61Р 1/02. Способ лечения пациентов с эрозивно-язвенными элементами поражения и/или хронического течения при заболеваниях слизистой оболочки полости рта : № 2019107454 : заявл. 15.03.2019 : опубл. 21.06.2019 / А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина, А. Е. Белозеров, У. Г. Гулян ; заявитель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Приволжский

исследовательский медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО "ПИМУ" Минздрава России). – EDN IUFXFG.

2. Патент № 2737523 С1 Российская Федерация, МПК G01N 21/3577. Способ диагностики предраковых заболеваний слизистой оболочки полости рта : № 2019139902 : заявл. 05.12.2019 : опубл. 01.12.2020 / А. С. Гордцев, О. В. Красникова, А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина, А. Е. Белозеров. – EDN RFOBFP.

3. Патент № 2754295 С1 Российская Федерация, МПК А61В 5/1468, G01N 33/483, G01N 33/50. Способ скрининговой дифференциальной диагностики предраковых заболеваний и рака слизистой оболочки рта (СОР) : № 2021109823 : заявл. 09.04.2021 : опубл. 31.08.2021 / А. Е. Пурсанова, Л. Н. Казарина, И. А. Круглова, С. В. Зиновьев, О. В. Уткин. – EDN JPDAVU.

Список сокращений и условных обозначений

СРITN	Community Periodontal Index of Treatment Needs
Ig	иммуноглобулин
IL	интерлейкин
ОНIP	Oral Health Impact Profile
ОHI-S	oral hygiene index-simplified
PMA	папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс
PRP	platelet-rich plasma
sIgA	секреторный иммуноглобулин А
TNF	Tumor Necrosis Factor
ВАШ, VAS	Visual Analog Scale
ВПЧ	вирус папилломы человека
ВЭБ	вирус Эпштейна-Барр
ИФА	иммуноферментный анализ
ККГ	красная кайма губ
КПЛ	красный плоский лишай
Ксб	коэффициент сбалансированности факторов местного иммунитета
МКБ	международная классификация болезней
ПТ	плазматерапия
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РДИ	регенеративно-дегенеративный индекс
РИД	радиальная иммунодиффузия
СОР	слизистая оболочка рта
ТТ	традиционная терапия
ТПС	транспортная питательная среда
ФИЦХ	флуоресцентная иммуноцитохимия
ФНО- α	фактор некроза опухоли- α
ФС	фотосенсибилизатор
ФДТ	фотодинамическая терапия