

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

МИХАЛЕВ ДМИТРИЙ ЕВГЕНЬЕВИЧ

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И  
ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОНКОГЕННОГО РИСКА ЛЕЙКОПЛАКИИ  
СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА**

3.1.7. Стоматология

диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
доцент Ольга Дмитриевна Байдик

Томск- 2023

## Оглавление

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	12
1.1 Актуальность исследования заболеваний слизистой оболочки рта .....	12
1.2 Эпидемиология лейкоплакии слизистой оболочки рта .....	13
1.3 Современные представления об этиологии лейкоплакии слизистой оболочки рта.....	15
1.4 Классификации лейкоплакии слизистой оболочки рта.....	16
1.5 Методы диагностики лейкоплакии слизистой оболочки рта.....	21
1.6 Малигнизация лейкоплакии слизистой оболочки рта.....	24
1.6.1 Клинико-морфологические критерии оценки риска малигнизации лейкоплакии слизистой оболочки рта.....	25
1.6.2 Использование убиквитин-протеасомной системы в качестве маркера малигнизации лейкоплакии и ранней диагностики плоскоклеточной карциномы полости рта.....	30
1.7 Роль вируса папилломы человека в развитии лейкоплакии и плоскоклеточных карцином слизистой оболочки рта .....	38
1.8 Эпидемиология и факторы риска развития инфекции вируса папилломы человека слизистой оболочки рта .....	41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	45
2.1 Общая характеристика групп и дизайн исследования .....	45
2.2 Анализ распространенности и качества диагностики лейкоплакии слизистой оболочки рта.....	50

2.3 Методы стоматологического обследования .....	50
2.4 Флуориметрия циркулирующих протеасом .....	52
2.5 Флуориметрия внутриклеточных протеасом .....	53
2.6 Полимеразная цепная реакция с гибридизационно-флуоресцентной детекцией для определения вируса папилломы человека слизистой оболочки рта .....	55
2.7 Статистические методы исследования .....	57
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	59
3.1 Анализ частоты выявления лейкоплакии в структуре заболеваний слизистой оболочки рта в Томской области .....	61
3.2 Клиническая характеристика пациентов в группах наблюдения .....	63
3.3 Полимеразная цепная реакция с гибридизационно-флуоресцентной детекцией для определения вируса папилломы человека слизистой оболочки рта в исследуемых группах .....	70
3.4 Флуориметрия циркулирующих и внутриклеточных протеасом в исследуемых группах .....	71
3.5 Оценка риска малигнизации лейкоплакии слизистой оболочки рта.....	74
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	88
ВЫВОДЫ .....	97
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	99
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	100
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	102

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Вопросы своевременной диагностики, лечения, реабилитации и диспансерного наблюдения пациентов с патологией слизистой оболочки рта (СОР) по-прежнему составляют проблемное поле современной стоматологии как в глобальном масштабе, так и на национальном и региональных уровнях (Заркумова А.Е., 2017; Allison H. et al., 2020; Gileva O. et al., 2020). Фундаментальные, прикладные исследования и разработки по проблемам раннего выявления и эффективного лечения различных заболеваний СОР приобрели особую актуальность в связи с сохраняющимся высоким уровнем их распространенности (Peres M. et al., 2020; Yactayo-Alburquerque M.T. et al., 2021; Mulla M., 2021). По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) среди потенциально злокачественных заболеваний (ПЗЗ) СОР весомую долю занимает лейкоплакия. Распространенность различных форм лейкоплакии в популяциях существенно варьирует и составляет от 0,9% до 4,9% (Peres M. et al., 2020; Mulla M., 2021; Mohammed F. et al., 2022). На основании специализированного лечебного приема пациентов с заболеваниями СОР лейкоплакия занимает 3-е место в структуре патологий ПР (Межевикина Г.С., 2018; Ивина А.А., 2020). Исследование E. Brouns et al. (2013) показало, что от 16% до 62% плоскоклеточного рака полости рта (ПР) развиваются на фоне уже существующей лейкоплакии. Своевременное выявление ранних клинических симптомов лейкоплакии и, соответственно, максимально быстро начатое эффективное лечение способствует решению важнейшей медико-социальной задачи – предупреждения развития плоскоклеточного рака и повышения выживаемости пациентов. Мнения исследователей относительно мест излюбленной локализации лейкоплакии на СОР существенно меняются со временем (Schepman K.P. et al., 1998; Saldivia-Siracusa C. et al., 2021). Современный взгляд на преимущественную топографию описывает поражение слизистой оболочки (СО) щек (25%), языка (10%), СО губ (5–10%), твердого нёба (10–20%), дна ПР (10–25%) и десны (20%) (Рабинович О.Ф. и соавт., 2014) в качестве наиболее частых зон поражения.

В последние 30 лет многие исследования демонстрируют значительный вклад онкогенных типов вируса папилломы человека (ВПЧ) в развитие и малигнизацию ПЗЗ СОР, при этом распространенность ВПЧ при лейкоплакии СОР составляет 22,5% (de la Cour C.D. 2021).

Наблюдения специалистов онкологического профиля свидетельствуют, что несмотря на достаточно удобную для осмотра локализацию лейкоплакии на поверхности СОР, большинство пациентов обращаются за лечением с опухолями на III-IV стадии (Bugshan A., Farooq I., 2020).

Вышеупомянутое указывает на серьезные проблемы раннего выявления и низкой онконастороженности врачами-стоматологами и врачами-интернистами. По-прежнему, существует проблема с возможностями применения скрининговых мероприятий, а также недостаточным использованием врачами-стоматологами существующих и хорошо себя зарекомендовавших методов ранней диагностики патологий СОР, низкой эффективностью профилактических осмотров, диспансерного наблюдения за пациентами с лейкоплакией (Межевикина Г.С., 2018). Поэтому особую актуальность имеют работы по совершенствованию методологии диагностики лейкоплакии и выявления ранних стадий ее озлокачествления. С этих позиций изучение возможных механизмов озлокачествления лейкоплакии СОР на молекулярном уровне, разработка новых методов и подходов к ранней диагностике и своевременному лечению отражает актуальность темы исследования.

**Степень разработанности темы.** Актуальной тенденцией в современной биомедицинской науке являются изучение специфических протеолитических систем, таких как кальпаиновая, убиквитин-протеасомная систем (УПС) при потенциально злокачественных поражениях различной локализации и онкологических заболеваниях. Установлен факт, что протеасомы играют ключевую роль в патогенезе таких онкологических заболеваний, как рак яичника, эндометрия, кишечника, почки, щитовидной железы, плоскоклеточная карцинома головы и шеи (Сорокин А.В. и соавт., 2009; Иванова Э.В. и соавт., 2014; Чойнзонов

Е.Л. и соавт., 2014; Юнусова Н.В. и соавт., 2014; Родоман Г.В. и соавт., 2015; Шашова Е.Е. и соавт., 2017). Seriously investigated possibility of using indicators of intracellular proteolytic systems for assessment of risk of malignancy and prognostication of outcome of oncological diseases (Choinzonov E.L. and coauthors, 2014; Yunusova N.V. and coauthors, 2014). Thus, a promising direction for studying the peculiarities of intracellular proteolytic systems is the malignant transformation of leukoplakia of the oral cavity, characterized by high heterogeneity both in the pathogenetic and in the prognostic plan. Despite a significant number of fundamental and clinical works on the study of proteolytic systems, the potential of using indicators of UPS as diagnostic and prognostic factors of malignancy of OSC and, in particular, leukoplakia remains unexplored.

**Цель исследования:** усовершенствовать методы диагностики лейкоплакии слизистой оболочки рта и ее дифференциальной диагностики с плоскоклеточным раком на основе разработанных клинических и молекулярных критериев онкогенного риска.

**Задачи исследования:**

1. В ретроспективном исследовании изучить частоту выявления, особенности клинической картины лейкоплакии в общей структуре заболеваний слизистой оболочки рта и оценить качество оказания лечебно-диагностической помощи пациентам с проявлениями лейкоплакии.

2. Изучить в сравнительном аспекте химотрипсиноподобную и каспазоподобную активность циркулирующих и внутриклеточных протеасом в сыворотке крови и тканях при лейкоплакии слизистой оболочки рта и плоскоклеточном раке полости рта.

3. Выявить наличие взаимосвязи между убиквитин-протеасомной системой и клинико-морфологическими проявлениями озлокачествления лейкоплакии.

4. Оценить роль вируса папилломы человека в возникновении и озлокачествлении лейкоплакии слизистой оболочки рта.

5. Разработать математические модели для дифференциальной диагностики и прогнозирования онкологического риска у пациентов с лейкоплакией слизистой оболочки рта.

**Научная новизна.** На примере жителей Томской области получены новые данные о показателях УПС при лейкоплакии, плоскоклеточном раке и здоровой СОР. По итогам ретроспективного анализа обозначены основные проблемы диагностики пациентов с лейкоплакией СОР (высокая доля гиподиагностики, низкая точность).

Разработан новый способ дифференциальной диагностики лейкоплакии СОР и плоскоклеточного рака ПР, основанный на анализе удельной химотрипсинподобной (ХТП) и каспазоподобной (КП) активности функционирование УПС. Впервые определена значимость молекулярных показателей для риска малигнизации очагов лейкоплакии СОР.

Впервые разработан новый способ дифференциальной диагностики лейкоплакии СОР и плоскоклеточного рака ПР, основанный на анализе удельной ХТП и КП активности функционирования УПС (патент РФ на изобретение № 2770354 от 15.04.2022г. «Способ дифференциальной диагностики лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой полости рта на дооперационном этапе»).

**Теоретическая значимость работы.** Полученные результаты позволят расширить представления о роли УПС в озлокачествлении лейкоплакии СОР.

**Практическая значимость работы.** Практическую значимость работы определяет возможность использования исследованных показателей для ранней

диагностики малигнизации лейкоплакии СОР, а также для создания метода оценки озлокачествления данного заболевания. По результатам исследования предложены новые критерии озлокачествления, на основании которых возможно сформировать группы онкологического риска среди пациентов с лейкоплакией СОР на основании показателей УПС. Показана целесообразность внедрения в стоматологическую практику определения активности УПС в качестве скринингового метода выявления лейкоплакии СОР для снижения уровня заболеваемости плоскоклеточным раком.

**Методология и методы исследования.** Методология исследовательской работы определена последовательным применением методов научного познания, клинических и лабораторных исследований, созданием и адаптацией анализа ХТП и КП активностей протеасом в сыворотке крови и СОР методом флуориметрии и статистических методов исследования полученных данных.

Субъект исследования – пациенты с проявлениями лейкоплакии СОР, находящиеся на диспансерном учёте у врача-стоматолога, ведущего специализированный приём пациентов с патологией СОР и пациенты с проявлениями плоскоклеточного рака ПР, находящиеся на плановой госпитализации в клиниках НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ). Предмет настоящего исследования – клинические особенности, методы диагностики и оценка риска малигнизации лейкоплакии СОР.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Значительная доля лейкоплакии в клинической структуре заболеваний слизистой оболочки рта, ежегодный прирост обращаемости к врачу-стоматологу по поводу лейкоплакии слизистой оболочки рта, большое количество диагностических ошибок требуют разработки новых подходов и поиска точных критериев оценки риска озлокачествления данного заболевания.



2. Клинико-молекулярными признаками риска озлокачествления лейкоплакии слизистой оболочки рта являются: площадь очага поражения, локализация, удельная химотрипсинподобная активность циркулирующих протеасом и удельная каспазоподобная активность протеасом в измененной слизистой оболочки рта.

3. Исследование химотрипсинподобной активности циркулирующих протеасом и каспазоподобной активности протеасом в измененной слизистой оболочки рта с построением логистической модели позволяет повысить качество диагностики лейкоплакии слизистой оболочки рта.

**Связь работы с научными программами.** Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета лечебного факультета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол заседания № 9 от 26.11 2019). Диссертационное исследование выполнялось в рамках очной аспирантуры ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России по направлению «Клиническая медицина». Диссертация одобрена решением локального этического комитета университета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 7938 от 21.10.2019).

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертация по поставленной цели, задачам и полученным результатам соответствует паспорту специальности 3.1.7. Стоматология (п. 5 – Изучение этиологии, патогенеза, эпидемиологии, методов профилактики, диагностики и лечения заболеваний слизистой оболочки рта).

**Степень достоверности** определяется дизайном одноцентрового открытого когортного проспективного с элементами ретроспективного клинического исследования, репрезентативным объемом выборки клинических наблюдений и лабораторных тестов, применением современных высокоинформативных методов исследования, адекватных методов статистической обработки полученных результатов.

**Апробация результатов.** Основные положения диссертационной работы докладывались и обсуждались на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы стоматологии» (Махачкала, 2021); Всероссийских Итоговых 80-й и 81-й научных конференциях им. Н.И. Пирогова (Томск, 2021, 2022); научно-практической конференции «Актуальные вопросы диагностики, лечения и реабилитации злокачественных новообразований ПР и ротоглотки» (Томск, 2021); конференции с международным участием «По итогам НИР: наука и практика в стоматологии» (Барнаул, 2022).

**Личный вклад диссертанта в исследование.** Планирование этапов диссертационного исследования, постановка цели и задач, определение темы исследования осуществлены совместно с научным руководителем. Подбор и анализ литературы, проведение клинических исследований, флуориметрического анализа активностей тканевых и циркулирующих протеасом, определение ВПЧ в СОР, ведение медицинской документации проводились непосредственно автором. Сбор исследуемого материала, обследования пациентов, составление алгоритма посещения выполнен диссертантом. Автором лично проведен анализ полученных данных, построение логистической модели, обобщены результаты, изложены практические рекомендации. Научные положения и выводы диссертации сформулированы на основании результатов собственных исследований. Тема диссертации включена в основной план НИР, одобрена решением локального этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 7938 от 21.10.2019).

**Публикации.** Автор имеет 10 опубликованных работ по теме диссертации, из них 3 полнотекстовые статьи, входящие в базу Scopus, Web of Science и 2 статьи из перечня ВАК Минобрнауки РФ. Получен патент РФ на изобретение № 2770354 «Способ дифференциальной диагностики лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой полости рта на дооперационном этапе». Издано 1 учебное пособие «Диагностика заболеваний слизистой оболочки рта».

**Внедрение результатов исследования в практику.** Работа выполнена на кафедре стоматологии (зав. кафедрой – д.м.н., доцент О. Д. Байдик) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (ректор – д.м.н., доцент Е. С. Куликов) и в отделении опухолей головы и шеи клиники НИИ онкологии (зав. отделением - д.м.н., вед. науч. сотр. М. Р. Мухамедов) Томского НИМЦ (директор – акад. РАН, д.м.н., профессор Е. Л. Чойнзонов). Материалы диссертации внедрены в лечебный процесс областного государственного автономного учреждения здравоохранения (ОГАУЗ) «Стоматологическая поликлиника №1» (г. Томск), ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» и клиники НИИ онкологии Томского НИМЦ, используются в учебном процессе на кафедре стоматологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

**Структура и объём диссертационной работы.** Диссертация написана на 122 странице и состоит из введения, трех глав собственных исследований, обсуждения результатов и заключения, выводов. Список литературы включает 166 источников, в том числе 33 отечественных и 133 иностранных. Работа содержит 24 рисунка и включает 15 таблиц.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### *1.1 Актуальность исследования заболеваний слизистой оболочки рта*

Поражения СОР варьируются от простого изменения цвета, поверхности, отека до потери целостности. Возникновению этой группы поражений способствуют многочисленные этиологические факторы, включая микробные, вирусные, грибковые инфекции, травматизация механическими, химическими, термическими воздействиями, системные заболевания и употребление курительного или жевательного табака и алкоголя [15]. В основном, поражения СО являются доброкачественными и требуют только симптоматического лечения, влияя на качество повседневной жизни пациентов из-за жжения, кровоточивости и боли. Однако, некоторые заболевания обладают значительным злокачественным потенциалом [88].

Распространенность, диагностика и лечение патологий СОР ПР имеют большое значение для клиницистов, поскольку различные поражения СОР имеют очень схожие клинические проявления. Актуальные исследования и углубление знаний в этой области предоставляют новые возможности для диагностики и лечения заболеваний СОР наилучшим образом. Современные доступные диагностические методы и междисциплинарное сотрудничество различных специалистов, таких как патоморфологи, дерматологи, микробиологи, терапевты, стоматологи, дают возможность, во многих случаях, разобраться со сложной клинической ситуацией.

Некоторые изменения СОР могут быть симптомами различных общесоматических заболеваний: сахарный диабет, кожные заболевания, иммунодефициты и заболевания крови, аллергические и токсические реакции, заболевания желудка, дефицит витаминов и минералов [14, 16, 17, 33, 97]. Более того, здоровье ПР оказывает очевидное влияние на психологические и социальные аспекты жизнедеятельности.

Распространенность заболеваний СОР сильно различается в разных странах и группах населения, а также в зависимости от возраста, общего состояния здоровья людей и наличия факторов риска. Согласно данным проведенным эпидемиологических исследований распространенности поражений СОР колеблется от 4,9% до 64,7% [19, 88, 164].

Заболевания ПР представляют с собой широко распространенную группу патологий. В 2017 году в глобальном исследовании распространенности болезней сообщалось, что в 2016 году 3,5 миллиарда человек страдали заболеваниями СОР, что составляет почти 50% населения мира [97]. Данный факт заслуживает внимания, поскольку порождает прямые и косвенные расходы, которые ложатся на ограниченные бюджеты систем здравоохранения государства [14].

В литературе сообщалось о различных патологиях ПР, однако особого внимания заслуживает группа заболеваний СОР, в частности, заболевания с малоинформативными клиническими проявлениями, имеющие хроническое длительное течение, ускользающие от внимания специалистов, и, что чрезвычайно важно, обладающие высоким риском малигнизации. Патологии с такими характеристиками относятся к группе ПЗЗ ПР: красный плоский лишай, лейкоплакия, подслизистый фиброз, эритроплакия, врожденный дискератоз, табачный кератоз у некурильщиков, поражение неба вследствие курения перевернутой сигареты, хронический кандидоз, дискоидная форма системной красной волчанки, сифилитический глоссит [35]. Стоит отметить, что достаточно большую долю ПЗЗ ПР составляет лейкоплакия СОР. Существует много методов диагностики заболеваний СОР, которые будут рассмотрены ниже.

### *1.2 Эпидемиология лейкоплакии слизистой оболочки рта*

Распространенность заболеваний СОР во всем мире, по-прежнему, остается высокой. Этот факт определяется увеличением числа пациентов с клинически бессимптомным и длительным течением заболеваний СОР [7, 63, 83].

Согласно классификации ВОЗ (2007) лейкоплакия СОР относится к ПЗЗ и представляет собой гиперкератоз, сопровождающийся воспалением стромы и возникающий, как правило, в ответ на хронические экзогенные и эндогенные раздражения. Распространенность лейкоплакии варьируется среди различных научных исследований. По данным Hamed Mortazavi et al. (2019) распространенность лейкоплакии среди населения составляет 2,6%, а среди всех эпителиальных новообразований от 0,2% до 5% [100].

По данным исследования, проводимого О. С. Гилевой и соавт. (2013) на протяжении 5 лет из 2 225 пациентов с патологией СОР, лейкоплакия СОР была выявлена у 13,4% пациентов, в 69,0% у курящих мужчин в возрасте 55-64 года [3]. Согласно данным И.К. Луцкой и соавт. (2018), распространенность лейкоплакии в структуре заболеваний СОР составляет 13,2%. Большинство случаев регистрировалось в возрастной группе 35–54 лет без гендерных отличий [13].

Другое пятилетнее ретроспективное исследование, проведенное И.В. Стариковой и соавт. (2018), для выявления обращаемости пациентов с лейкоплакией СОР продемонстрировало, что в структуре заболеваний СОР лейкоплакия встречалась у 26,5% пациентов. Пик распространенности лейкоплакии приходился на возраст 50-59 лет, без существенной разницы среди лиц женского и мужского пола [24].

Известно, что заболевание поражает преимущественно взрослое население в возрасте 50–70 лет [18]. При этом показатели заболеваемости значительно различаются в зависимости от географических и демографических факторов. В регионах мира с высокой солнечной активностью, неблагоприятными метеорологическими условиями, а также с некоторыми национально-этническими особенностями питания и пищевого поведения населения встречаемость лейкоплакии СОР у мужчин среднего и старшего возраста колеблется от 3,46 до 11,6% [15, 88]. Согласно официальной статистики, показатели заболеваемости лейкоплакией в Российской Федерации, составляют 2,1% верифицированных случаев на 1000 населения [3]. К преимущественной локализации лейкоплакии

СОР относят поражение СО щек (25%), языка (10%), спаек губ (5–10%), твердого нёба (10–20%), дна ПР (10–25%) и десны (20%) [18].

### *1.3 Современные представления об этиологии лейкоплакии слизистой оболочки рта*

Доказано, что лейкоплакия СОР возникает как ответная реакция СОР на хроническое экзогенное и эндогенное раздражение. Важная этиопатогенетическая роль отводится курению, употреблению алкоголя, хронической механической травматизации СОР вследствие патологии прикуса, острыми, травмирующими краями разрушенных зубов и зубными протезами с дефектами изготовления. В том случае, если протез изготовлен из разнородных металлов в ПР может возникать гальванический ток, способствующий нарушению кератинизации СО [19, 158].

Эндогенные факторы, оказывают значительное влияние на возникновение и клиническое течение лейкоплакии СОР. В результате проведенных исследований, установлена взаимосвязь между возникновением лейкоплакии СОР и наличием патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), стрессом, недостатком витаминов А, Е, В12, гормональными расстройствами, предрасположенностью при некоторых генетических заболеваниях и синдромах, таких как врожденный дискератоз, врожденная пахионихия, идиопатический кератоз Сименсаи [19]. Имеются данные, подтверждающие связь возникновения и развития лейкоплакии СОР с инфицированием пациента вирусами папилломы человека (ВПЧ) 11, 16 и 18-го типов [116, 138, 139], хронической кандидозной инфекцией [163]. Лейкоплакия может возникать на фоне дистрофических процессов и хронического воспаления слизистых оболочек и кожи при таких заболеваниях как акантолитическая пузырчатка, эрозивно-язвенный и буллезная форма красного плоского лишая [19]. Проведенные исследования указывают на развитие лейкоплакии ПР на фоне эндокринных заболеваний: сахарный диабет 1 и 2, изменение уровня половых и стероидных гормонов [25].

#### 1.4 Классификации лейкоплакии слизистой оболочки рта

В 1990 году была принята классификация МКБ-10. Согласно этой классификации лейкоплакия входит в группу заболеваний губ и СОР (К 13.-) вместе с такими заболеваниями как: гранулема и гранулемоподобные поражения СОР, подслизистый фиброз ПР и т.д. (Таблица 1).

Таблица 1 - Классификация заболеваний СОР согласно МКБ-10

Код по МКБ-10	Расшифровка (описание)
К13	Другие болезни губ и слизистой оболочки ПР Включено: изменения эпителия языка Исключено: болезни языка (К 14.-), кисты области рта (К.09.-) некоторые изменения десны и беззубого альвеолярного края (К05-К06) стоматит и родственные поражения (К12.-)
К 13.0	Болезни губ Исключено: арибофлавиноз (Е53.0), трещина спайки губ (заеда) вследствие: кандидоза (В37.8), недостаточности рибофлавина (Е53.0), хейлит, связанный с излучением (Б55-Е59)
К 13.1	Прикусывание щеки и губ
К13.2	Лейкоплакия и другие изменения эпителия ПР, включая язык Исключено: волосатая лейкоплакия (К13.3)
К 13.3	Волосатая лейкоплакия
К13.4	Гранулема и гранулемоподобные поражения СО ПР
К13.5	Подслизистый фиброз ПР
К13.6	Гиперплазия слизистой оболочки ПР вследствие раздражения Исключено: гиперплазия беззубого альвеолярного края вследствие раздражения (К06.2)
К13.7	Другие и неуточнённые поражения слизистой оболочки ПР



Согласно классификации МКБ-10 помимо «Лейкоплакии и других изменений включая язык» выделяют «Волосатую лейкоплакию», которую рассматривают как проявление ВИЧ-инфекции в ПР (Таблица 2).

Таблица 2 - Классификация лейкоплакии СОР согласно МКБ-10

Код по МКБ-10	Расшифровка (описание)
K13.2	Лейкоплакия и другие изменения эпителия ПР, включая язык Исключены: кандидозная лейкоплакия (B37.02), очаговая эпителиальная гиперплазия (B07.X2), фрикционный кератоз (K06.22), функциональный кератоз (K06.22), волосатая лейкоплакия (K.13.3)
K 13.20	Лейкоплакия идиопатическая
K13.21	Лейкоплакия, связанная с употреблением табака Исключены: никотиновый лейкокератоз неба (K.13.24) небо курильщика (K13.24)
K13.22	Эритроплакия
K13.23	Лейкедема
K 13.24	Небо курильщика [никотиновый лейкокератоз неба] [никотиновый стоматит]
K 13.28	Другие изменения эпителия
K13.29	Неуточненные изменения эпителия лейкоплакия «без дополнительного уточнения»
K13.3	Волосатая лейкоплакия

*Примечание:* Поражения (такие, как лейкоплакия, эритроплакия) без указания на тяжелую дисплазию представлены в данном разделе; при этом можно использовать следующие шестизначные подрубрики:

0 — без выявления дисплазии (или степень 0)

1 — незначительная (легкая) дисплазия (или степень 1)

2 — умеренная дисплазия (или степень 2)

9 — без указания на дисплазию

Поражения с тяжелой формой дисплазии (степень 3 или 4) указываются в разделе «Новообразования *in situ*» (D00—D09).

Согласно классификации ВОЗ 10-го пересмотра (1999), лейкоплакию СОР разделяют на гомогенную и негомогенную. Гомогенная подразделяется на плоскую, пемзаподобную, складчатую и морщинистую. Негомогенная лейкоплакия СОР, в свою очередь, на веррукозную, узелковую, пятнистую формы [147].

Гомогенная лейкоплакия представляет собой однородную тонкую белую область СО. Риск злокачественной трансформации является относительно низким. Негомогенные поражения несут гораздо более высокий риск злокачественной трансформации [51]. Пятнистый тип представляет с собой белые и красные поражение, с преимущественно белой поверхностью. Узелковый тип представлен в виде небольших полиповидных, белых наростов, округлой формы. Веррукозная лейкоплакия имеет возвышающуюся над СОР рифленую поверхность.

Пролиферативная веррукозная лейкоплакия является подтипом веррукозной лейкоплакии и характеризуется агрессивным ростом, частыми рецидивами, наличием множества очагов, устойчивостью к лечению, более высоким риском злокачественной трансформации.

В 2005 г. ВОЗ приняла еще одну классификацию заболеваний головы и шеи, в которой появляется понятие «эпителиальный предрак». К последнему относят лейкоплакию СОР, которая в свою очередь, гистологически подразделяется на очаговую эпителиальную гиперплазию (без атипии), дисплазию низкой, средней и высокой степени. Последние три гистологических варианта лейкоплакии входят в понятие «плоскоклеточная интраэпителиальная неоплазия» (Squamous Intraepithelial Neoplasia —SIN), которая дифференцируется от 1 до 3 степеней тяжести. Главной особенностью классификации SIN является понятие

отображение каждого этапа злокачественной трансформации эпителия СОР [160]. Следует сказать, что эта классификация является прежде всего патоморфологической и дополняет собственно клинический диагноз.

В 2020 г. рабочая группа ВОЗ по вопросам классификации ПЗЗ СОР выделила веррукозную форму лейкоплакии в отдельную нозологическую единицу, подчеркнув высокий онкогенный потенциал этого заболевания (Таблица 3).

Таблица 3 - Клинические особенности поражений ПЗЗ СОР

Нозология	Клиническая картина
Гомогенная лейкоплакия	Равномерно белые, плоские и тонкие, с гладкой поверхностью патологические очаги, иногда с неглубокими трещинами. Плотно прилегают к СО, не удаляются при соскабливании.
Негомогенная лейкоплакия	Полипоподбные или округлые выросты, красные или белые наросты на поверхности СОР. Поверхность патологического очага приподнята над СО, экзофитная, морщинистая или гофрированная.
Эритроплакия	Локализованное красное пятно с четкими краями и матовой поверхностью.
Пролиферативная мультифокальная лейкоплакия	Множественные выдающиеся над поверхностью СО белые пятна, локализованный в двух и более топографических зонах ПР. Поражения распространяются и сливаются во время прогрессирования. Часто рецидивируют.
Красный плоский лишай	Преимущественно белые линии, кружева, точки или бляшка, в зависимости от формы. Для атрофической и эрозивно-язвенной формы характерно красный цвет патологического очага и изъязвление.
Подслизистый фиброз полости рта	Побледнение СОР ПР. Заметная потеря сосочков языка. Пальпируемые фиброзные тяжи в СО. Ограниченная подвижность языка (ригидность). Сморщенный или деформированный язычок. Ограничение открывания рта, впалые щеки.

В 2000 году van der Waal et al. предложили систему классификации лейкоплакии СОР по стадиям, по аналогии с классификацией TNM, используемой в онкологии. Основными критериями этой классификации являются суммарная площадь очага лейкоплакии и наличие дисплазии эпителия по результатам гистологии (Таблица 4) [148].

Таблица 4 - Система классификации и стадирования лейкоплакии СОР

Признак	Описание
L (Площадь очага лейкоплакии)	
L1	Размер единичных или множественных очагов лейкоплакии $\leq 2 \text{ см}^2$
L2	Размер единичных или множественных очагов лейкоплакий 2-4 $\text{см}^2$
L3	Размер единичных или множественных очагов лейкоплакий $\geq 4 \text{ см}^2$
Lx	Размер не указан
P (Гистология)	
P0	Отсутствие эпителиальной дисплазии (включает «отсутствие эпителиальной дисплазии или, возможно, легкую эпителиальную дисплазию»)
P1	Отчетливая эпителиальная дисплазия (включает «от легкой до умеренной» и «от умеренной до возможно тяжелой» эпителиальную дисплазию)
Px	Отсутствие или наличие эпителиальной дисплазии, не указанной в заключении гистологии
C (клиническое проявление) * вместо P (Гистология)	
C1	Гомогенная лейкоплакия
C2	Негомогенная лейкоплакия
Стадии лейкоплакии	
Стадия I	L1P0/L1C1
Стадия II	L2P0/L2C1
Стадия III	L3P0 или L1L2P1/L3C1 или L1L2C2,
Стадия IV	L3P1/L3C2

### *1.5 Методы диагностики лейкоплакии слизистой оболочки рта*

При исследовании патологии СОР ПЗЗ вызывают наибольшие трудности у практикующих врачей-стоматологов. Вероятность озлокачествления лейкоплакии СОР и длительный характер течения актуализируют необходимость проведения тщательного обследования пациентов с этой патологией [84]. Возникают трудности при дифференциальной диагностике злокачественных поражений и доброкачественных или воспалительных заболеваний СОР. В большинстве случаев диагноз ЗНО ПР ставится поздно, вследствие того, что врачи-стоматологи испытывают затруднение при оценке степени тяжести поражения и риска трансформации очага в *cancer in situ* [114]. Ухудшает ситуацию недостаток клинических критериев обратимости процесса.

При диагностике лейкоплакии СОР выделяют основные и дополнительные методы обследования. К основным методам относится опрос и осмотр, к дополнительным - морфологическое исследование, которое может быть проведено двумя методами - цитологическим и гистологическим; оптическая когерентная томография (ОКТ), флуоресцентная стоматоскопия, методы окрашивания.

#### *Основные методы диагностики лейкоплакии*

Опрос включает выяснение жалоб анамнеза заболевания. При лейкоплакии жалобы отсутствуют либо сводятся к ощущению шероховатости поверхности СО, дискомфорту, чувству стянутости, сухости, жжения в очаге поражения. В анамнезе выясняют вредные привычки, профессиональные вредности, наличие фоновых заболеваний.

Осмотр проводится согласно рекомендациям ВОЗ (1997). Различают внешний, внутриоральный осмотр. При внешнем осмотре обычно особенностей не выявляется. При внутриоральном осмотре при локализации лейкоплакии на СОР определяются белесоватые бляшки. Поверхность очага поражения гладкая либо шероховатая в зависимости от клинической формы, четко отграничен от

нормальной СОР. При пальпации очага поражения консистенция мягкая. Выявление уплотнения является настораживающим признаком малигнизации.

### *Дополнительные методы диагностики лейкоплакии СОР*

Уточнение клинического диагноза и определение онкогенного потенциала заболевания определяет необходимость использования дополнительных методов диагностики при лейкоплакии СОР. Эти методы диагностики ПЗЗ СОР можно разделить на две группы: 1-я группа - методы, направленные на обнаружение и выявления четких границ очагов поражения СОР (витальное окрашивание, аутофлуоресцентная визуализация). 2-я группа – методы для оценки риска малигнизации очагов поражения. К первой группе можно отнести цитологию, биопсию, оптико-когерентную томографию (ОКТ), витальное окрашивание [65]. В некоторых случаях очаги повышенного риска озлокачествления не сопровождаются типичными признаками малигнизации лимфаденопатией на ранних стадиях, образованием инфильтрата в основании очага, изъязвлением, кровотечением. Поэтому применение исключительно визуальной оценки состояния СОР является ненадежным методом. В большинстве случаев применение дополнительных методов диагностики обусловлено значимой долей гиподиагностики ПЗЗ СОР [2, 8].

Морфологическое исследование осуществляется цитологическим и гистологическим методами. Цитологический метод позволяет оценить качественные и количественные изменения клеток, наличие внутри- и внеклеточных включений, и микроорганизмов. Материал для исследования получают путем отпечатка, соскоба с измененной поверхности СОР.

Гистологическое исследование является «золотым стандартом» для диагностики лейкоплакии и основан на изучении морфологической структуры, клеточного строения тканей организма. Материалом для исследования являются фрагменты тканей, взятые оперативным путем специально для установления диагноза или удаленные во время оперативного лечения. Как правило, используют

инцизионную биопсию, забор материала осуществляется с клинически измененной области. Забор материала у пациентов с множеством очагов производится с каждого участка СОР. Для гистологической картины при лейкоплакии характерны гипер-, паракератоз, акантоз, дискератоз, утолщение рогового и зернистого слоев. В подлежащей соединительной ткани выявляются хроническое воспаление, гиперемия межклеточная инфильтрация, отек. Наличие дисплазии эпителия является индикатором злокачественного потенциала заболевания. Риск злокачественной трансформации лейкоплакии возрастает с увеличением степени тяжести дисплазии [54]. Архитектурные особенности дисплазии включают асимметричное расслоение эпителия, повышенное количество митотических фигур в эпителии, дискератоз, каплевидные сетчатые стержни и кератиновые жемчужины внутри этих сетчатых стержней, потерю полярности базальных клеток и гиперплазию базальных клеток или анаплазию. В то время как цитологические особенности включают ядерный плеоморфизм, клеточный плеоморфизм, увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения, заметные ядрышки и гиперхромазию. Классификация легкой, средней и тяжелой дисплазии применяется, когда эта архитектурная и цитологическая атипия затрагивает менее трети, от одной трети до двух третей и более двух третей эпителия, соответственно [159].

Для оценки характерных для каждого заболевания СОР морфологических изменений подходит патогистологический метод. Однако существует ряд ограничений: нерелевантный выбор участка СОР для биопсии, инвазивность, малоинформативность для пациентов [1, 166].

Опыт врача – морфолога во многом определяет интерпретацию результатов гистологического исследования [125]. К другим ограничениям этого метода стоит отнести длительность получения результатов, высокую стоимость процедуры, низкую специфичность и чувствительность метода, невозможность частых повторов биопсии. Стоит отметить, что довольно часто при проведении биопсии СОР случаются осложнения такие как местное кровотечение и формирование

послеоперационного рубца [166]. Беря во внимание множественное расположение патологических очагов при лейкоплакии СОР, неоднородность проявлений клинических изменений на разных участках СО, динамическое течение этого заболевания, становится затруднительно осуществить объективную оценку общей картины на основании лишь небольшого фрагмента СО. По-прежнему, биопсия является основным методом диагностики очагов лейкоплакии СОР и может применяться для прогнозирования течения заболевания [96, 129].

На сегодняшний день, применение эксфолиативной цитологии позволяет подтвердить клинический диагноз заболевания СОР, осуществить мониторинг течения заболевания, в том числе лейкоплакии СОР [44]. К преимуществам этого метода стоит отнести быстроту и малоинвазивность при получении образцов, также данный метод позволяет определить степень дифференцирования эпителиоцитов [57, 85]. Для забора исследуемого материала используют шпатель или щеточку.

Этот метод позволяет выявлять заболевание на ранней стадии, мониторировать его течение и оценивать онкогенный потенциал трансформации. Специфичность и чувствительность этого метода составляет от 55 до 100 % [43]. Таким образом, эксфолиативная цитология является мало специфическим методом, однако простота и малоинвазивность этого исследования дают возможность в короткие сроки определить степень дифференцировки эпителиоцитов.

### *1.6 Малигнизация лейкоплакии слизистой оболочки рта*

Частота диспластических изменений при лейкоплакии СОР составляет от 15,6% до 39,2% [113]. Лейкоплакия обычно возникает примерно на 5 лет раньше, чем плоскоклеточный рак ПР [93]. По данным М. Glick (2015) от 16% до 62% плоскоклеточного рака ПР связано с уже существующей лейкоплакией [68].

Гомогенная лейкоплакия подвергается злокачественной трансформации в 1–7% случаев. Частота злокачественных изменений при веррукозной и пятнистой лейкоплакии колеблется от 4% до 15% и от 18% до 47%, соответственно.



Озлокачествление пролиферативной веррукозной лейкоплакии происходит в 63,3-100% случаев [99]. Обычно трансформация происходит в течение 8 лет после первоначальной диагностики пролиферативной веррукозной лейкоплакии [104].

### *1.6.1 Клинико-морфологические критерии оценки риска малигнизации лейкоплакии слизистой оболочки рта*

Принято считать, что негомогенные поражения СО имеют больший риск злокачественной трансформации по сравнению с гомогенными поражениями [34]. Warnakulasuriya и Ariyawardana (2016) провели систематический обзор 24 исследований и обнаружили 8 исследований, в которых сравнивались гомогенные и негомогенные поражения СОР. Полученные данные свидетельствуют, что негомогенные поражения имели самую высокую скорость малигнизации [160].

В Калифорнии Silverman (1984) в результате своего исследования показал, что негомогенные поражения трансформировались в 23,4% случаев по сравнению с 6,5% гомогенных поражений [132]. В работе, проведенной Holmstrup и соавт. неоднородные поражения показали 7-кратное увеличение риска прогрессирования рака по сравнению с гомогенными поражениями. Из всех факторов тип поражения был наиболее значимым в прогнозировании течения заболевания [73].

Использование терминов «гомогенная лейкоплакия» и «негомогенная лейкоплакия» подверглось жесткой критике, поскольку это может переоценить важность белых поражений и отвлечь внимание врачей от более значительных и опасных красных поражений. Как отмечалось ранее, самые высокие показатели злокачественных изменений были отмечены в повреждениях, которые были описаны как «крапчатые» или «эрозивные» или как «эритролейкоплакия» - другими словами, подчеркивая, что эти поражения на самом деле не являются истинными «лейкоплакиями» (белые бляшки), но имеют красный компонент. Основополагающая работа Mashberg [91], в которой показано, что большинство ранних случаев рака ПР имеют красный цвет или имеют значительный красный компонент («эритроплазия»). В этом исследовании Mashberg выявил 158

бессимптомных ранних поражений у 125 пациентов. 112 поражений были инвазивными плоскоклеточным раком, а 46 – *cancer in situ*. Его основной вывод заключался в том, что более 90% поражений имели красный компонент и только 14 (9%) были описаны как белые. В более поздних исследованиях (рассмотренных Mashberg и Samit) Машберг подтвердил эти результаты в когорте из 236 бессимптомных раковых заболеваний, из которых только 6% были белыми. Остальные были полностью красными (32%), имели преобладающий красный компонент (32%) или были смешанными (29%) [91]. В своих обзорах Машберг подчеркивал важность покраснения как раннего признака рака и выражал беспокойство по поводу чрезмерного акцента на «лейкоплакию» как ПЗЗ, которое, как он утверждал, является основной причиной отсутствия прогресса в ранней диагностике рака.

Местоположение поражения во рту может влиять на риск злокачественной трансформации и связано с этиологическими факторами. Например, при жевании бетеля СО щеки является наиболее пораженным участком, а при курении наибольшее воздействие оказывается на небо [74]. Латеральная граница языка и дна ПР являются самым распространенным местом для лейкоплакии и плоскоклеточного рака ПР в развитом мире, где курение табака и употребление алкоголя являются наиболее важными этиологическими факторами. В британском исследовании 630 пациентов с диспластическими поражениями СОР, 95% из которых были лейкоплакиями, большинство поражений (42%) располагались на латеральной, вентральной поверхностях языка и дне ПР. Кроме того, поражения в этом месте с большей вероятностью демонстрировали выраженную эпителиальную дисплазию. И наоборот, только 21% поражений возникли на СО щеки, при этом регистрировалась легкая степень дисплазии [76]. В аналогичном исследовании, проведенном в Австралии, Dost и соавт. [61] обнаружили, что 40% повреждений возникли на языке в сочетании с диспластическими изменениями. В 31% случаев поражения располагались на СО щеки, но они были менее склонны к дисплазии по сравнению с локализацией на СО языка, и ни один из случаев не прогрессировал

до злокачественной опухоли. В исследовании, проведенной группой ученых в США, из 3256 случаев лейкоплакий СОР наибольшая распространенность тяжелой дисплазии или рака *in situ* (CIS) была в области дна ПР (13,5%) и языка (5%). Эти данные свидетельствуют о том, что эти места подвергаются наибольшему риску [156].

Таким образом, большинство работ подчеркивает, что латеральная, вентральная поверхность языка и дно ПР являются областями с высокой вероятностью малигнизации, что может связано с их чрезмерным воздействием канцерогенов на данную область в результате употребления алкоголя и табака.

В исследовании, проведенном Holmstrup et al., (2006) размер поражения был единственным фактором, который показал корреляцию со злокачественной трансформацией. В частности, поражения, превышающие 200 мм<sup>2</sup>, имели более высокую вероятность прогрессирования по сравнению с меньшими по размеру поражениями [73]. В исследовании 50 пациентов из Северной Ирландии Napier и соавт. (2003), обнаружили, что риск трансформации был в 6 раз выше у пациентов с большими сливными повреждениями, которые распространялись более чем на один анатомический участок, по сравнению с пациентами, имеющими меньший участок поражения. Из 12 пациентов с такими поражениями у 7 развился рак ПР [103]. Warnakulasuriya и Ariyawardana (2016), на основе данных их систематического обзора, предположили, что любая лейкоплакия, которая превышает 200 мм<sup>2</sup>, имеет более высокий риск злокачественной трансформации [161].

В своем систематическом обзоре Warnakulasuriya и Ariyawardana (2016) описали 5 исследований, в которых анализировалась трансформация по возрастным группам. В целом, показатели злокачественной трансформации были выше у пожилых людей [161].

Исследование, проведенное в Нидерландах Schepman et al. (1998), продемонстрировало, что число трансформированных поражений увеличивалось с

пропорционально времени наблюдения. Авторы подсчитали, что у 50% пациентов с лейкоплакией плоскоклеточный рак разовьется в течение 200 месяцев после постановки диагноза. Среднее время до злокачественной трансформации составило всего 32 месяца. Ученые обнаружили, что 12,4% поражений подверглись злокачественной трансформации и средний возраст пациентов, у которых развился рак, составил 67,1 год [123].

Большие исследования, проведенные в Индии, подтверждают мнение о том, что поражения могут развиваться и прогрессировать до плоскоклеточного рака у пожилых людей, так как самые высокие показатели лейкоплакии, обнаруживаются в младших возрастных группах. Например, самая высокая заболеваемость лейкоплакией в штате Керала была обнаружена в возрасте от 35 до 54 лет, тогда как самая высокая заболеваемость плоскоклеточным раком ПР была обнаружена в возрасте от 55 до 74 лет [108].

Обзор литературы, проведенный Warnakulasuriya и Ariyawardana (2016) [161], выявил 12 исследований, в которых рассматривались взаимосвязь между полом и злокачественной трансформация. В 9 из 12 исследований скорость трансформации была выше у женщин - 13,1%, тогда как для мужчин этот показатель был в 9 раз ниже (1,7%). По данным из Северной Ирландии, самый высокий показатель среди женщин составил 40,6%, а в Дании самый низкий - 3,7%. У мужчин самый высокий показатель - 28,6%, в Соединенном Королевстве, а самый низкий - 0% в Нидерландах [161]. Однако в другом исследовании, проведенном K.P. Scherpan et al. (1998) в Нидерландах, было обнаружено 76 мужчин с лейкоплакией, из которых у 4-х развился рак ПР (5,3%), а у 90 женщин с лейкоплакией поражения прогрессировали до рака у 6 (17,7%) [123]. Тем не менее, до сих пор неясно, почему женщины более предрасположены к злокачественной трансформации по сравнению с мужчинами. Глобальные геномные массивы могут иллюстрировать дифференциальную экспрессию генов, которая объясняет эту половую предрасположенность.

Употребление табака и алкоголя являются общепризнанными этиологическими факторами развития лейкоплакии, однако поражения у некурящих, так называемая «идиопатическая лейкоплакия»), подвержена более высокому риску малигнизации. В работе К. Р. Scherpan (1998) были выявлены 3 фактора, связанных с наибольшим риском озлокачествления: неомогенное поражение, женский пол и отсутствие курения как вредной привычки [123].

В Калифорнии S. Silverman и соавт. (1984) обнаружили, что поражения у курильщиков и некурящих демонстрируют совершенно разное течение. В группе из 257 пациентов у 45 развился плоскоклеточный рак ПР в течение 7,2 года. Из 133 пациентов, которые курили и не отказались от вредной привычки в 21 (16%) случае поражения трансформировались в плоскоклеточный рак ПР, регрессировали или исчезли у 49 (37%) пациента. Из 74 некурящих, рак ПР развился у 18 пациентов (24%), но поражения регрессировали или исчезли только у 2 пациентов (3%) [132]. Оставшиеся 50 пациентов бросили курить после постановки диагноза, среди них у 6 (12%) пациентов развился плоскоклеточный рак ПР, у 22 (44%) поражения стали меньше или элиминировались [132]. Английские ученые Но и соавт. (2012) обнаружили, что наиболее значимым предиктором злокачественных изменений является статус некурящих. Авторы изучили 91 пациента с гистологически диагностированной дисплазией, из которых 20 никогда не курили, 29 были умеренными и 42 были заядлыми курильщиками. После 5 лет наблюдения у 13 никогда некурящих (43%) развился рак по сравнению с 11% и 4% среди умеренно курящих и заядлых курильщиков соответственно [72].

Заслуживает внимания тот факт, что ПЗЗ СОР, сочетающиеся с диспластическими процессами, имеют очень высокий уровень злокачественной трансформации в рак *in situ* [26, 112]. Вероятность злокачественного образования при легкой или умеренной степени диспластического поражения составляет от 4 до 11% и от 2 до 35% при тяжелых диспластических изменениях. Для малигнизации ПЗЗ с дисплазией СОР необходимо около 3 лет [130].

### *1.6.2 Использование убиквитин-протеасомной системы в качестве маркера малигнизации лейкоплакии и ранней диагностики плоскоклеточной карциномы полости рта*

Наиболее охарактеризованные молекулярные маркеры для определения степени риска и прогноза вероятности злокачественной трансформации ПЗЗ СОР являются плоидность дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), потеря гетерозиготности, рб3, сурвивин, подоплатин, матриксные металлопротеиназы 1 и 9, однако в последнее время активно изучается роль УПС как предиктора малигнизации ПЗЗ [80, 135, 154].

#### *Характеристика УПС*

УПС осуществляет образование регуляторных пептидов и активацию белков-предшественников, обеспечивает гидролиз внутриклеточных белков, принимает участие в подготовке пептидов для комплекса гистосовместимости I класса (МНС-1) [87]. Основными компонентами УПС являются протеасомы, молекулы убиквитина, и ферменты, активирующие и переносящие убиквитин. Функциональной единицей данной системы является протеасома.

Протеасомы — основные нелизосомальные мультисубъединичные протеазы эукариот, гидролизуют до 90% клеточных белков. Протеасомы представляют собой мультিকаталитические комплексы, содержащие цилиндрическое ядро 20S, которое состоит из четырех гетерогептамерных колец [71]. Два внутренних  $\beta$ -кольца содержат шесть протеолитических центров, где субстраты расщепляются; каждое кольцо обладает каспазоподобной ( $\beta 1$ ), трипсиноподобной ( $\beta 2$ ) и химотрипсиноподобной ( $\beta 5$ ) активностями [20].

$\beta$ -субъединицы ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$  и  $\beta 5$ ) протеасомы 20S могут быть полностью или частично заменены так называемыми иммуносубъединицами LMP7 ( $\beta 5i$ ), LMP2( $\beta 1i$ ) и MECL1 ( $\beta 2i$ ), в результате чего образуется иммунопротеасома [131]. Основная роль иммунопротеасомы заключается в обработке антигенов для представления на молекулах МНС-1. Иммунопротеасома имеет более высокую

химотрипсиновую и трипсиновую активность и более низкую каспазную активность, чем стандартная протеасома 20S, что приводит к альтернативному расщеплению белков [69].

Два внешних кольца состоят из  $\alpha$ -субъединиц, которые действуют как привратники, контролирующие доступ субстратов в каталитически активную  $\beta$ -камеру.

Протеасомы не являются статическими комплексами, и их активность можно модулировать путем связывания различных активаторов протеасом (АП): 19S, PA28 и PA200.

Эти регуляторы протеасом могут симметрично и асимметрично связываться с  $\alpha$ -кольцами ядра 20S, образуя протеасомы с одинарной или двойной крышкой. Связывание  $\alpha$ -колец с активаторами приводит к усилению активности протеасомы во много раз. Тем не менее, свободная 20S протеасомная единица остается очень распространенной конформацией в клетках [52, 86, 90, 122].

Выделяют 2 типа протеасом 26S и 20S. Основная гидролизующая 26S протеасома состоит из двух субкомплексов: каталитической коровой частицы 20S и одной или двух концевых регуляторных частиц 19S, которые служат в качестве активатора протеасомы с молекулярной массой приблизительно 700 кДа (PA700). 19S субкомплекс распознает убиквитинированные белки, разворачивает их и перемещении внутрь 20S коровой частицы [128, 143]. Иммунные формы 26S-протеасом выполняют важную функцию – продукцию иммуногенных белков для их дальнейшей презентации МНС-1 [29]. Регуляторные частицы реализуют специфичную деградацию субстратов. Например, если в роли регуляторной частицы выступает белковый комплекс PA28, то данная активированная 20S-протеасома будет подвергать протеолизу аномальные, малые и короткоживущие белки [143].

### *Убиквитирование*

Вход в коровую 20S-протеасому обычно закрыт регуляторной частицей, выполняющей роль привратника. Для проникновения внутрь протеасомы белок-субстрат должен пройти полиубиквитирование – присоединение полиубиквитиновой цепи (полиUb), в состав которой входят минимум четыре мономера убиквитина (Ub). Убиквитин присоединяется к субстратам посредством согласованного действия убиквитин-активирующего фермента (E1), убиквитин-конъюгированного фермента (E2) и убиквитинлигазы (E3). В ходе нескольких циклов убиквитинирования белков происходит наращивание убиквитиновой метки, которую распознает 26S протеасома.

Распознавание субстратов 26S протеасомами и продвижение их в протеолитическую камеру происходит за счет мультисубъединичной структуры активатора PA700. Цепь белка, состоящая из полипептидов, входит в канал протеасомы, разворачивается и протягивается через него, гидролизуясь до коротких пептидов, которые затем выходят на противоположном полюсе протеасомы. При этом убиквитин внутрь протеасомы не заходит. После протеолиза маркированной молекулы убиквитин освобождается и метит в другую мишень. Протеасома способна регулировать как количество, так и функции белков: в некоторых случаях белок подвергается ограниченному протеолизу (процессингу), что способствует существенному изменению функции белка (Рисунок 1). Киназы, фосфатазы, факторы транскрипции, трансляции, циклины, ингибиторы циклин-зависимых киназ подвергаются процессингу или элиминируются протеасомой. Данная ключевая биологическая роль убиквитин-протеасомной системы предполагает, что она вовлечена в патофизиологические процессы, воспалительных, вирусных, нейродегенеративных, аутоиммунных и онкологических заболеваний [20].



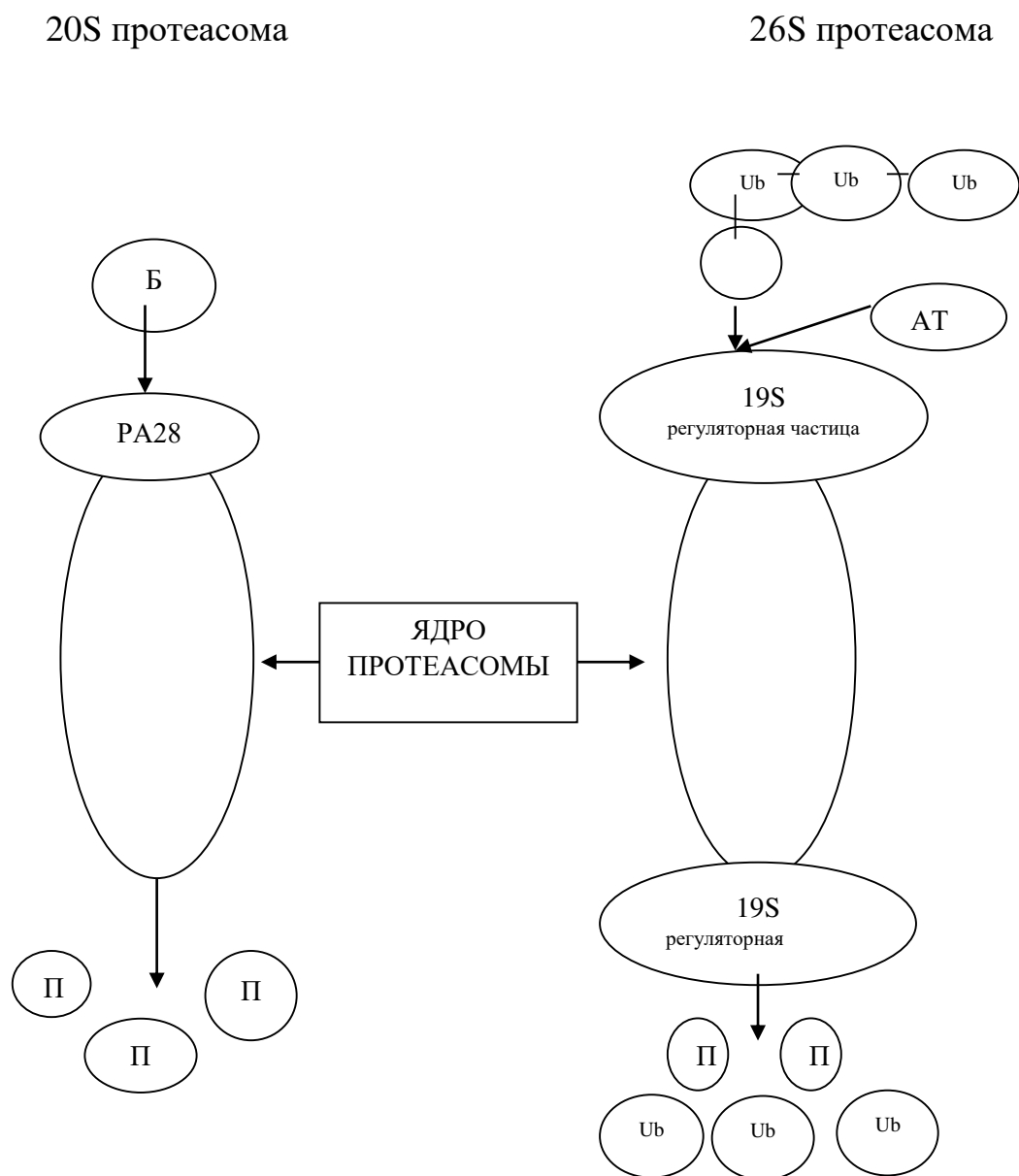


Рисунок 1 - Убиквитирование белков

### *Циркулирующие протеасомы*

В настоящее время активно исследуется проблема циркулирующих протеасом: обсуждаются патогенетическая и прогностическая значимость данных протеасом, их биологическое значение и пути выхода во внеклеточное пространство. Проведенные исследования показывают, что циркулирующие протеасомы присутствуют во внеклеточных жидкостях как здоровых, так и

больных людей [123]. По результатам масс-спектрометрического анализа было выявлено, что состав внеклеточной популяции протеасом включал в себя все субъединицы 19S регуляторного комплекса и субъединицы 20S протеасом [6]. Кроме того, циркулирующие протеасомы, полученные из плазмы крови здоровых доноров, по размеру и форме сходны с 20S протеасомами [44, 133]. Внеклеточные протеасомы способны расщеплять специфичные для протеасом олигопептиды, при этом данная активность подавляется ингибиторами протеасом [5, 133]. Принимая во внимание важную роль протеасомной системы в патогенезе злокачественных новообразований, можно допустить, что при опухолевых процессах протеасомы способны секретироваться раковыми клетками во внеклеточное пространство или выходить в циркуляцию при распаде опухолевых клеток [149]. Более того, внеклеточные протеасомы могут появляться при разрушении микрочастиц, образованных в результате мембранного блеббинга. Данный процесс характеризуется попаданием содержимого цитоплазматической мембраны в мембранные выступы и последующим формированием из активированных клеток везикул, который представляют собой микрочастицы гетерогенного размера от 0,1 мкм до 1 мкм с соответствующим содержимым. Вышеупомянутые структуры, транспортируя различные молекулы, могут выполнять роль мессенджеров между клетками [144, 165]. Циркулирующие протеасомы могут существовать в свободной невезикулярной форме. Протеасомы способны существовать во внеклеточном пространстве, выходя из экзосом. Экзосомами являются микроскопические внеклеточные везикулы диаметром 30–100 нм, секретлируемые различными клетками и способные нести генетическую информацию и белковые маркеры, таким образом, они принимают участие в межклеточной коммуникации [32]. Считается, что экзосомы участвуют в презентации антигенов и неклассической секреции белков, в патогенезе болезней, связанных с расстройствами метаболизма, в горизонтальном переносе РНК и белков, транспорте лекарств, облегчают иммунный ответ и играют принципиальную роль в развитии злокачественных опухолей [31, 79, 116].

*Роль УПС в молекулярном патогенезе малигнизации ПЗЗ ПР*

26S протеасомы играют значимую роль в патогенезе малигнизации ПЗЗ ПР, в частности, в регуляции пролиферации. Циклины, путем последовательной активации циклинзависимых киназ (CDK), регулируют продвижение клетки по клеточному циклу. Данные белки очень нестабильны и существуют в клетке краткосрочный период. Количество и присутствие циклинов в клетке регулируется протеасомозависимой деградацией и факторами транскрипции. Убиквитин-протеасомная система участвует в регуляции стабильности CDK-ингибиторов и гидролизе циклинов, их комплексов [146].

Общая схема взаимодействия циклина и 26 S протеасомы выглядит следующим образом: после выполнения своей функции циклин полиубиквитинируется и гидролизуется протеасомой, из-за чего соответствующая ему CDK становится неактивной, и начинается следующая фаза клеточного цикла. К примеру, протеасомное разрушение циклина В приводит к выходу из митоза [42]. При прохождении клетки через точку рестрикции, находящуюся между G1-фазой и S-фазой, происходит протеасомное разрушение циклина А. Комплекс стимуляции анафазы (APC), который является E3-убиквитинлигазой, осуществляет убиквитинирование данного циклина [45]. Комплексы SCF и APC представляют собой ключевые факторы деградации циклинов. Вместе с тем, сам комплекс SCF регулируется APC через убиквитинирование адаптерного белка Skp2, который подавляет активность SCF до перехода из G1-фазы в S-фазу [134].

Проведенные исследования сообщают, что циклин D1 избыточно экспрессируется в ряде первичных раковых заболеваний человека, что подтверждает его роль в качестве онкогена. Во многих опухолях генетические изменения, затрагивающие ген циклин D1, часто приводят к сверхэкспрессии белка циклин D1. Установлено, что циклин D1 также действует как модулятор транскрипции, регулируя активность нескольких факторов транскрипции и гистондеацетилазы. Белок циклин D1 нестабилен с коротким периодом

полураспада, около 24 минут. Он расщепляется, главным образом, 26S протеасомой по убиквитин-зависимому пути. Вместе с тем, циклин D1 является важным протоонкогеном. Сверхэкспрессия циклина D1 приводит к укорочению фазы G1 и меньшей зависимости от экзогенных митогенов, что приводит к аномальной пролиферации клеток, что, в свою очередь, может способствовать возникновению дополнительных генетических повреждений [78].

УПС играет важное значение в поддержании функциональной активности клеток, а именно в регуляции работы сигнальных систем, которые активируются при взаимодействии ростовых факторов с соответствующими рецепторами [75]. Показано, что протеасомы регулируют уровень фактора транскрипции NF-κB, который важен для активации экспрессии генов врожденного и адаптивного иммунитета, воспалении, стрессовых ответах. В раковых клетках NF-κB участвует в экспрессии антиапоптотического семейства генов IAP, а также генов выживания BCL-2 [145]. Проведенные исследования показывают, что активность протеасом у пациентов с злокачественными опухолями головы и шеи выше, чем в окружающей относительно нормальной ткани. Существуют доказательства того, что у пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи поражение регионарных лимфоузлов сопровождалось усилением процессов внутриклеточного протеолиза. Повышение тотальной активности протеасом происходило с увеличением стадии опухоли, при этом наблюдалось снижение экспрессии LMP-2 субъединицы протеасом. Были обнаружены изменения экспрессии транскрипционного фактора NFκappaBp50 и регрессионные зависимости экспрессии ядерного фактора NFκappaBp65 от тотальной активности протеасом [137].

Механизмы участия УПС в канцерогенезе включают ингибирование опосредованного фактором роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактором роста тромбоцитов (PDGF) ангиогенеза через дегградацию PDGFR и убиквитинирование компонентов VEGFR сигнального пути, а также протеасомальное разрушение α-субъединицы транскрипционного фактора HIF-1, которое нарушается в условиях гипоксии, что впоследствии приводит к накоплению HIF-1 в опухолевых клетках и

активации транскрипции участвующих в ангиогенезе генов [136]. Существуют исследования доказывающие, что протеасомы принимают участие в посттрансляционной модификации полипептида p105, который является предшественником транскрипционного фактора NF-κB (NF-κappaBp50), что ведет к возникновению активных форм транскрипционного фактора NF-κappaB. Продемонстрирована зависимость между уровнем продукции фактора HIF1 и содержанием транскрипционного фактора NF-κappaB, что, скорее всего, обеспечивает косвенное участие NF-κappaBp50 в регуляции уровня ростового фактора VEGF и процесса неоангиогенеза в ткани плоскоклеточного рака головы и шеи [136]. Проведенное исследование показывает, что протеасомная деградация HIF-1 с участием PP-2A ведет к нарушению адгезивных контактов с экстраклеточным матриксом *in vitro* [110].

УПС может играть важную роль в получении трансформированными клетками невосприимчивости к антиростовым сигналам, деградируя наравне с каспазами белок гена ретинобластомы pRb (retinoblastoma protein) при участии убиквитин-лигазы Mdm2 (mouse double minute 2) и разрушая многие компоненты сигнального пути, опосредованного рост-ингибирующим цитокином, трансформирующий фактор роста бета (TGF-β) [67]. Вдобавок, УПС участвует в регуляции апоптоза. Многие ядерные белки, осуществляющие программируемую клеточную гибель, являются субстратами для протеасом: опухолевый супрессор p53, транскрипционные факторы (c-Fos, c-Myc, AP-1), ингибитор NFκB IκB, белки, контролирующие клеточный цикл, белки, контролирующие активность каспаз (IAPs) и участвующие в проведении проапоптотического сигнала (cFLIP) белки семейства Bcl-2 [27].

Протеасомы осуществляют избирательный протеолиз белков в клетке и играют принципиальную роль в таких клеточных процессах, как регуляция пролиферации, клеточного цикла, апоптоза, неоангиогенеза, прогрессирования и метастазирования опухоли [77].

Анализ систематических обзоров литературы на платформах PubMed (Ovid), EMBASE (Ovid), EBM (Ovid) и Web of Science (ISI), проведенный Alessandro Villa et al. в 2018 году с целью выявления прогностических биомаркеров для стратификации и долгосрочного наблюдения за прогрессированием лейкоплакии СОР, как ПЗЗ, показал связь между увеличением экспрессии генов, связанных с протеасомной системой, с высоким риском развития плоскоклеточного рака ПР [155].

Протеомное исследование, проведенное Zhi Wang et al. (2009) с целью выявления потенциальных путей злокачественной трансформации лейкоплакии СОР в плоскоклеточную карциному, показало увеличение экспрессии активаторов протеасом PA28a и PA28b, что подтверждает клиническую значимость протеасом как маркера ранней малигнизации. Данное исследование продемонстрировало роль протеасомной деградации белков в процессинге внутриклеточных антигенов в пептиды, которые в дальнейшем связываются с МНС-1 [157].

Протеасомы играют ключевую роль в развитии лейкоплакии и ее дальнейшей малигнизации, однако изученность данной темы носит фрагментарный характер. На сегодняшний день исследование протеасом как маркеров диагностики, прогноза малигнизации и эффективности проводимого лечения лейкоплакии СОР представляются перспективными и требуют дальнейшего изучения.

### *1.7 Роль вируса папилломы человека в развитии лейкоплакии и плоскоклеточных карцином слизистой оболочки рта*

Нарушение целостности слоев эпителия ПР, эрозии и язвы при эрозивно-язвенной форме лейкоплакии делают СОР более восприимчивым к инфекции ВПЧ. Именно негомогенная лейкоплакия СОР могут быть в большей степени связаны с инфекцией ВПЧ [119, 140].

Генотипы низкого онкологического риска, такие как ВПЧ 6 и 11 типов, могут вызывать доброкачественные опухоли ПР, в то время как генотипы высокого онкологического риска, включая ВПЧ 16, 18 типов, играют важную роль в

прогрессировании опухоли [127, 138]. Многие исследования также подтвердили связь между плоскоклеточным раком ПР и инфекцией ВПЧ [94, 152]. Недавние исследования, основанные на всестороннем анализе генетических изменений, показали, что онкобелки ВПЧ 16, взаимодействующие с геномными изменениями хозяина, могут нарушать стабильность генома, дифференцировку эпителия, регуляцию транскрипции и противовирусный иммунный ответ при плоскоклеточном раке ПР [66, 152].

### *Механизм канцерогенеза, индуцированного ВПЧ*

Возможность развития злокачественного новообразования зависит от множества факторов: типа вируса, синергетического действия с различными физическими, химическими и биологическими агентами, генетической конституции и механизмов иммунной защиты хозяина; каждый из которых может изменять течение инфекции ВПЧ. В случае инфицирования ВПЧ высокого онкологического риска и при благоприятных условиях вирусный геном интегрируется в геном хозяина, что является необходимым событием для нарушения механизма апоптоза эпителиальных клеток [120].

Ранние белки Е6 и Е7 занимают ключевую роль в канцерогенезе ВПЧ – позитивных плоскоклеточных карцином ПР [50, 150]. Ингибирование клеточного апоптоза и дерегуляция контрольной точки клеточного цикла G2 / М осуществляется за счёт деградации белков-супрессоров p53 под воздействием онкопротеина Е6 ВПЧ. Белки – супрессоры опухолей p53 и p21 поддерживают остановку клеточного цикла G2 / М в ответ на различные вредоносные факторы (например, вирусы или повреждение ДНК, вследствие воздействия ионизирующего излучения). Стресс-индуцированная стабилизация p53 запускает повышенную экспрессию белка p21, который может поддерживать остановку клеточного цикла G2 / М путем прямого ингибирования комплекса CDK1 – циклин В [82]. Кроме того, Е6 взаимодействует с другими проапоптотическими белками: Вак и прокаспазой 8, чтобы полностью предотвратить апоптоз [81]. В то время как онкопротеин Е7 ВПЧ связывается с pRb и способствует его деградации и активации

фактора транскрипции E2F [142]. Эти события приводят к дерегуляции контрольной точки клеточного цикла G1 / S, активации повторного входа в S-фазу и репликации вируса. Комплекс Rb / E2F ингибирует транскрипцию нескольких генов, включая ген CDKN2A, кодирующий p16INK4a. Следовательно, расщепление членов семейства Rb белком E7 приводит к гиперэкспрессии p16INK4a за счет высвобождения гена CDKN2A [120]. Это позволяет эпителиоцитам ускользать от старения и активировать сигнальные пути выживания [120]. Суперэкспрессия p16INK4a имеет ключевое значение для выживания клеток в ВПЧ-ассоциированных опухолях, а в новообразованиях, не связанных с данным вирусом, она часто инактивируется [39]. Это делает избыточную экспрессию p16INK4a приемлемым суррогатным маркером транскрипционно активного ВПЧ при канцерогенезе [109]. Последствия, связанные с экспрессией белков E6 / E7 или инактивацией генов, кодирующих белки опухолевых супрессоров p53 и pRB хромосомная нестабильность, потеря регуляции клеточного цикла, ингибирование апоптотической передачи сигналов, повышение активности теломеразы. Белки E6 и E7 могут взаимодействовать с клеточными онкобелками, такими как gas и c-myc, что позволяет вирусу действовать на уровне факторов роста и клеточного и ядерного метаболизма, производя онкогенные клетки [39].

Исследование, проведенное Nasreen Vano et al. (2018), указывает, что использование раковых стволовых клеток плоскоклеточной карциномы ПР демонстрирует роль онкогенов ВПЧ в модулировании функции NF-κB и miRNAs при плоскоклеточном раке ПР, способствуя его прогрессированию, метастазированию и исходу лечения [41]. ВПЧ 16 типа увеличивает популяцию стволовых клеток, их стволовые свойства, этот же вирус активирует p65, который индуцирует дифференцировку клеток опухоли. ВПЧ также делает это посредством функционального взаимодействия с белками NF-κB, изменяя состав гомодимера NF-κB p50 / 50 в пользу гетеродимера p50 / p65. Избирательное участие p65 и сверхэкспрессия c-Rel в ВПЧ-положительных плоскоклеточных карциномах ПР способствовали высокой дифференцировке опухоли. С другой стороны, в



отсутствие ВПЧ не происходит вовлечения р65 в функциональный комплекс NF-κB и не происходит чрезмерной экспрессии c-Rel, что в итоге приводит к формированию низкодифференцированной, инвазивной и метастатической опухоли, которая имеет неблагоприятный прогноз. Взаимодействие между активированным белком NF-κB, его трансактивацией, онкобелками ВПЧ, сверхэкспрессией miR-155 / miR-21 и подавлением miR-34a, способствует дифференцировке опухоли. Таким образом, ВПЧ 16 типа играет решающую роль в поддержании свойств стволовых клеток плоскоклеточного рака ПР благодаря усиленной экспрессии вирусных онкогенов (E6 / E7), а его функциональное взаимодействие с белками NF-κB и специфическими miRNA приводит к высокой дифференцировке опухоли и лучшему прогнозу [41].

### *1.8 Эпидемиология и факторы риска развития инфекции вируса папилломы человека слизистой оболочки рта*

В последние 30 лет многие исследования демонстрируют значительный вклад онкогенных типов вируса папилломы человека (ВПЧ) в патогенез предопухолевых заболеваний и злокачественных новообразований (ЗНО) СОР. Во всем мире распространенность ВПЧ при раке области головы и шеи составляет от 25% до 31% [127]. Наиболее распространенными генотипами при ВПЧ-положительном плоскоклеточном раке СОР являются ВПЧ 6 и 11 типов низкого онкологического риска, а также ВПЧ 16 и 18 типов высокого онкологического риска [140].

Распространенность ВПЧ при ПЗЗ ПР составляет 22,5%. При стратификации ПЗЗ ПР по отдельным нозологическим формам распространенность ВПЧ при лейкоплакии составила 20,2%, красном плоском лишае 23,0%, пролиферативной веррукозной лейкоплакии 24,7%, неуточненных ПЗЗ ПР - 25,4% и подслизистом фиброзе ПР - 28,6%. Однако значимых различий между образцами с явлениями дисплазии и без признаков дисплазии не было выявлено. Среди ВПЧ-положительных случаев ПЗЗ ПР ВПЧ 16 типа был преобладающим генотипом (48,2%), ВПЧ 18 типа встречался в 36,2% случаях, ВПЧ 11 в 26,1% и ВПЧ 6 в 18,1%.

В ВПЧ-положительных образцах лейкоплакии ВПЧ 11, 16, 18 типов составляли 32,3%, 40,8%, и 26,5% соответственно [59].

Выделяют местные и общие факторы риска развития инфекции ВПЧ. К местным факторам риска относится плохая гигиена ПР, использование полных зубных протезов, в сочетании с пожилым возрастом. Количественный и качественный состав бактерий в ротовой полости в образцах с языка достоверно связаны с увеличением числа копий ВПЧ [198]. Подтверждена значительная корреляция между гигиеной ПР и вирусной нагрузкой. Улучшение уровня гигиены ПР может значительно снизить частоту инфицирования ВПЧ [58, 140].

Обнаружена связь между индексом аппроксимального налета (API) и присутствием ВПЧ в ПР. Для пациентов с API от 20 до 40% было определено отношение шансов (ОШ) 2,80, а в случаях с API более 40% вероятность инфицирования ВПЧ увеличивалась до 7,78. Результаты в отношении индекса кровоточивости десен (GBI) были аналогичными с ОШ 3,01 в случаях с GBI от 20 до 40% и ОШ 6,01 для GBI > 40%. Установлена связь между потерей от одного до трех зубов и наличием ВПЧ (ОШ 2,98), а также более трех удаленных зубов (ОШ 8,24) [58].

Известно, что дефекты эпителиального пласта СОР являются местом проникновения ВПЧ. Таким образом, ВПЧ проникает в базальный слой эпителия СОР. Накопление зубного налета вследствие плохой гигиены ПР неизбежно приводит к воспалению десен, что способствует проникновению ВПЧ через поверхностные слои эпителия с последующим внедрением в базальные клетки [56].

Аналогичные результаты можно было увидеть в отношении связи между потерей зубов на протяжении всей жизни и наличием ВПЧ в ПР у пациентов. Потеря зуба, несвязанная с травмой, может служить альтернативным маркером долгосрочного качества гигиены ПР. Вui et al. (2015) обнаружили значительную распространенность ВПЧ ПР у пациентов, которым были удалены зубы по причинам, несвязанным с травмой [49].

Среди общих факторов, способствующих развитию инфекции ВПЧ, выделяют большое количество сексуальных партнеров, раннее начало половой жизни и более старший возраст полового партнера [62]. Наличие типов ВПЧ высокого онкологического риска в ПР среди мужчин и женщин связано с сексуальным поведением. Однако, среди мужчин процент распространенности высокоонкогенных типов ВПЧ выше, частично данный факт объясняется большим количеством половых партнеров на протяжении всей жизни. Исследование, проведенное Thanh Cong Vui и др. (2017) показало, что взвешенная распространенность многотипного (от 2 до 6 типов) ВПЧ ПР составила 1,5% (2,5% для мужчин, 0,4% для женщин) во всей выборке и 19,7% (22,0% для мужчин, 12,1% для женщин) в группах, в которых был выявлен один положительной тип ВПЧ. При построении математической модели критериями повышенного риска развития многотипной ВПЧ-инфекции полости по сравнению с одностипной ВПЧ-инфекцией были мужской пол, курение, а также наличие нового полового партнера в прошлом году [48].

ВИЧ-положительный статус - отдельный фактор риска повышенной распространенности ВПЧ ПР. Иммуносупрессия может быть связана с повышенной восприимчивостью к вирусной инфекции или репликации [151].

Таким образом, использование показателей УПС и ВПЧ статуса пациентов с лейкоплакией СОР способно улучшить качество дифференциальной диагностики лейкоплакии с плоскоклеточным раком ПР и оценить риск малигнизации преканцероза.

Материалы данной главы опубликованы в журналах: «Российский стоматологический журнал» и «Бюллетень сибирской медицины».

Михалев Д.Е. Роль убиквитин-протеасомной системы в развитии плоскоклеточного рака полости рта. / Д.Е. Михалев, О.Д. Байдик, И.В. Кондакова, Е.А. Сиденко, М.Р. Мухамедов, П.Г. Сысолятин // Бюллетень сибирской медицины. – 2021. – Т. 20. - № 2. – С.160–167.

Михалев Д.Е. Роль вируса папилломы человека в развитии потенциально злокачественных заболеваний и плоскоклеточных карцином слизистой оболочки полости рта / Д.Е. Михалев, О.Д. Байдик, М.Р. Мухамедов, Г.О. Александров // Российский стоматологический журнал. - 2022. - Т. 26. - № 2. - С. 267–276.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *2.1 Общая характеристика групп и дизайн исследования*

За период с 2017 по 2021 гг. на базе кафедры стоматологии (зав. кафедрой - д.м.н., доцент О. Д. Байдик), отделения опухолей головы и шеи НИИ онкологии Томского НИМЦ (заведующий отделением - д.м.н., ведущий научный сотрудник М. Р. Мухамедов), лаборатории биохимии опухолей НИИ онкологии Томского НИМЦ (зав. лабораторией – д.м.н., профессор И.В. Кондакова), а также лаборатории онковирусологии НИИ онкологии Томского НИМЦ (зав. лабораторией – д.б.н., профессор РАН Н.В. Литвяков) выполнено комплексное обследование и диспансерное наблюдение за пациентами с проявлениями лейкоплакии в СОР.

Дизайн исследования – одноцентровое открытое когортное проспективное с элементами ретроспективного анализа клиническое исследование, включающее следующие этапы (Рисунок 2):

Этап I – ретроспективный анализ данных медицинской документации пациентов с заболеваниями СОР, анализ диагностической и лечебной помощи при лейкоплакии и плоскоклеточном раке ПР.

Этап II – проспективное клиническое исследование, формирование групп наблюдения и сравнения стоматологических пациентов по результатам общеклинического обследования.

Этап III – разработка методов и способа лабораторной диагностики с адаптацией для исследования лейкоплакии СОР и плоскоклеточного рака ПР (T1-3N0-1M0) и внедрение в практическое здравоохранение.

IV этап – разработка логит-модели для оценки риска малигнизации лейкоплакии СОР (определение активности внутриклеточных и циркулирующих протеасом, биопсия) у пациентов с лейкоплакией без атипии и с явлениями

плоскоклеточной интраэпителиальной неоплазии (SIN) различной степени, плоскоклеточного рака СОР (T1-3N0-1M0)

V этап – апробация и применение разработанной логистической модели на клинических случаях

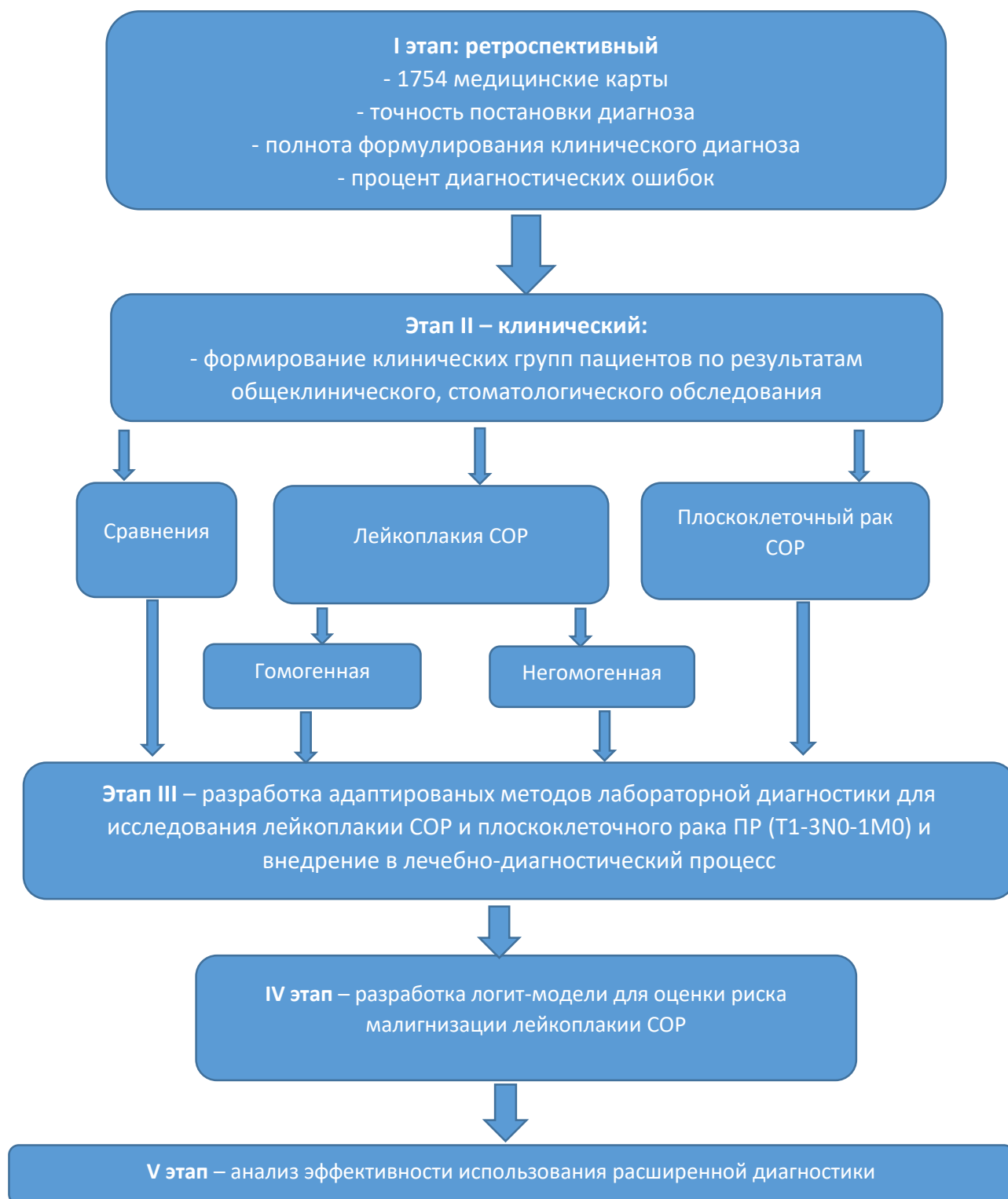


Рисунок 2 - Дизайн исследования

В исследование включен 61 пациент (28 мужчин, 33 женщины в возрасте от 20 до 80 лет). В группу лейкоплакии СОР вошли 20 пациентов (11 женщин и 9 мужчин) в возрасте от 28 до 74 лет (средний возраст составил  $51,8 \pm 11,9$  лет). В группу плоскоклеточного рака СОР - 19 пациентов (10 женщин и 9 мужчин) в возрасте от 21 до 75 лет (средний возраст –  $54,7 \pm 14,7$  лет). Группа сравнения представлена 22 здоровыми добровольцами (12 женщин и 10 мужчин в возрасте от 28 до 75 лет (средний возраст -  $53 \pm 13,2$  лет), имеющих клинически здоровую СОР (Рисунок 3). В проспективной части работы описаны и проанализированы результаты адаптированной лабораторной диагностики лейкоплакии СОР (определение активности внутриклеточных и циркулирующих протеасом, наличие вируса ВПЧ, разработана логистическая модель для оценки риска малигнизации).

Субъект исследования – пациенты с проявлениями лейкоплакии и плоскоклеточного рака в ПР.

Предмет исследования – клинические особенности, методы и способ клиничко-лабораторной и морфологической диагностики и оценка риска малигнизации лейкоплакии СОР.

*Критерии включения пациентов в исследование:*

- Пациенты с лейкоплакией или плоскоклеточным раком ПР, диагноз которого верифицирован морфологически.
- Возраст от 20 до 80 лет.
- Отсутствие у пациентов декомпенсированных форм сочетанной системной патологии, ограничивающей его активность и составляющей угрозу жизни (ASA I-II).
- Подписанное информированное согласие на участие в клиническом исследовании и использование персональных данных в научных целях.

*Критерии исключения пациентов из исследования:*

- Возраст меньше 20 и больше 80 лет.

- Отсутствие подписанного информированного согласия на участие в клиническом исследовании.

-Наличие тяжелой системной патологии, ограничивающей активность и составляющей угрозу жизни (ASA III-V).

- Кормящие или беременные женщины.

-Пациенты с алкогольной и/или наркотической зависимостью.

- Пациенты с острыми воспалительными заболеваниями ПР.

- Пациенты, принимающие иммуносупрессивные препараты.

- Пациенты с социально-значимыми инфекционными заболеваниями: ВИЧ-инфекция, инфекционным гепатитами, а также наличие любых других активных воспалительных заболеваний.

В работе были определены следующие этапы исследования, соответствующие визитам пациентов:

Во время визита 0 (первичное обращение пациента на кафедру стоматологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России или отделения опухолей головы и шеи клиники НИИ онкологии Томского НИМЦ) получены следующие данные и проведены следующие процедуры:

1.Оценка соответствия пациента критериям включения/исключения в исследование;

2. Подписание информированного согласия пациентами;

3.Сбор анамнеза жизни и заболевания пациентов;

4 Осмотр ПР (регистрация стоматологического статуса и состояния здоровья пародонта);

5.Взятие биопсии СОР для проведения гистологического исследования и флуориметрия химотрипсиноподобной (ХТП) и каспазоподобной (КП) активностей внутриклеточных протеасом;

6.Забор крови для исследования ХТП и КП активностей циркулирующих протеасом;



7. Назначение консультаций узких специалистов (при необходимости);
8. Назначение необходимых лабораторных исследований;
9. Планирование даты и времени Визита 1.

Во время Визита 1 (изучение результатов лабораторных методов исследования и консультаций узких специалистов, назначение терапии) получены данные и проведены процедуры:

1. Осмотр ПР (оценка состояния стоматологического статуса, СОР и пародонта);
2. Причина досрочного выбывания.

Незапланированный визит – это посещение, не совпадающее по времени с визитами 0, 1. В рамках данного исследования пациент может совершать любое количество посещений. Данные визиты могут быть запланированы врачом-исследователем, лечащим врачом или быть инициированы самим пациентом.

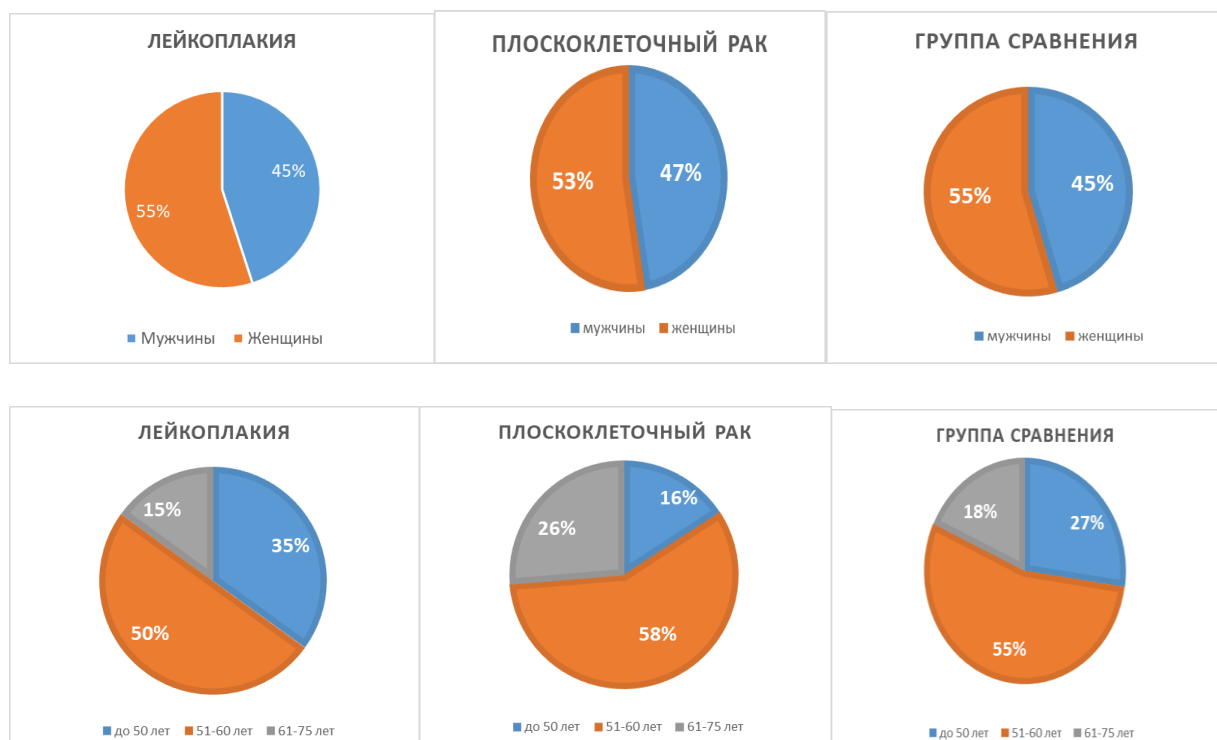


Рисунок 3 - Гендерно-возрастная характеристика исследовательских групп пациентов

## *2.2 Анализ распространенности и качества диагностики лейкоплакии слизистой оболочки рта*

Анализ качества первичной диагностики лейкоплакии СОР в структуре заболеваний СОР по данным консультативного и лечебного стоматологического приёма проводили по цифровым копиям 1754 медицинских карт стоматологического больного, направлениям врачей-стоматологов, данным анамнеза. Определяли точность постановки диагноза, полноту формулирования клинического диагноза, рассчитывали долю недообследованных пациентов, процент гиподиагностики.

## *2.3 Методы стоматологического обследования*

Клиническое обследование пациентов с патологией СОР проводилось врачом-исследователем.

Клиническую оценку состояния лицевой области и ротовой полости осуществляли, последовательно выполняя этапы осмотра – экстраоральный и интрооральный. Проведение экстраорального осмотра – обследование кожных покровов лица, СО, губ, пальпация региональных лимфоузлов.

На основании полученных данных жалоб, анамнеза, клинической картины, результатов цито- и гистологического исследования СОР формулировали диагноз лейкоплакии СОР, согласно классификации МКБ-10 и классификации ВОЗ 10-го пересмотра (1999).

Для оценки состояния зубов устанавливали индекс интенсивности кариеса (КПУ). У всех пациентов определяли наличие и качество пломб. Для оценки состояния гигиены ПР проводили и вычисляли индекс гигиены ПР ОНИ-S (S.Green, J.Vermillion, 1964), индекс зубного налёта (Silness-Loe, 1962). Для выявления воспалительных процессов тканей пародонта проводили индекс гингивита РМА (Parma, 1960). Вся индексная оценка осуществлялась по общепринятым методикам [49, 58].

### *Топографирование*

Для регистрации очагов лейкоплакии СОР и плоскоклеточного рака ПР использовали схему-топограмму СОР (Roed-Petersen & Renstrup) для топографирования зон локализации элементов поражения в модификации Гилевой О.С. и соавт. (1969) (Рисунок 4) [115].

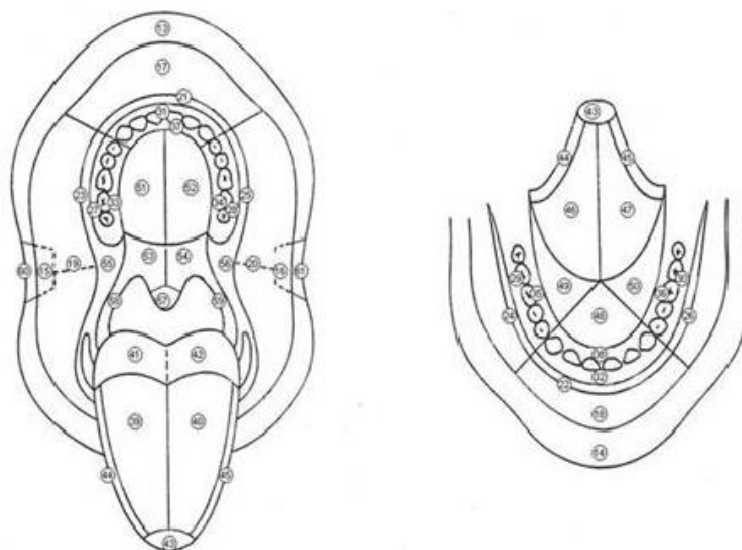


Рисунок 4 - Схема-топограмма СОР (Roed-Petersen & Renstrup, 1969) для топографирования зон локализации элементов поражения в модификации Гилевой О.С. и соавт. (1969)

### *Контактная планиметрия*

Для контактной планиметрической оценки очага лейкоплакии СОР использовали миллиметровую бумагу, химический карандаш и белый ластик. Очаг лейкоплакии контурировали химическим карандашом, затем получали отпечаток очага на стерильном ластике и переносили его на миллиметровую бумагу. После чего осуществляли подсчет площади лейкоплакии СОР в мм<sup>2</sup> (Рисунок 5).

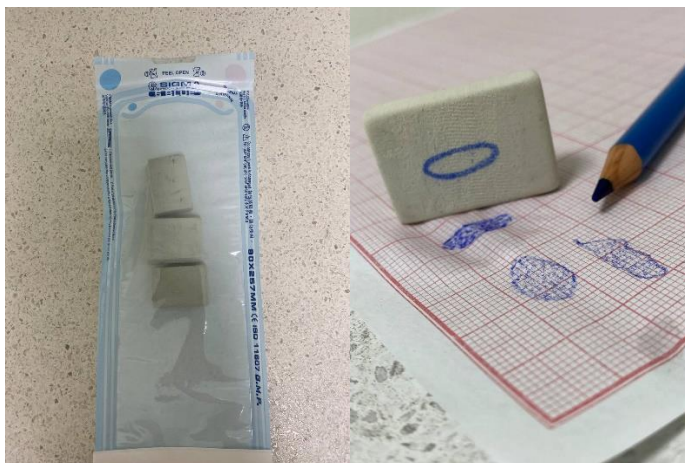


Рисунок 5 - Контактная планиметрия очага лейкоплакии СОР

#### 2.4 Флуориметрия циркулирующих протеасом

У всех испытуемых (61 человек) проводили забор крови из вены в две пробирки по 6 мл однократно, спустя час после взятие крови её центрифугировали при 3000 об./мин в течение 15 минут (Рисунок 6). Полученную в результате центрифугирования сыворотку активировали 10% SDS согласно методике (UltraPure™). ХТП активность протеасом определяли по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-LLVY-AMC (Sigma), утилизирующегося ХТП центрами протеасом. Для оценки активности примесных протеаз применяли специфический ингибитор протеасом – MG132 (Sigma) (реакционная смесь для определения активности протеасом содержит 20 мМ Tris-HCl с рН 7,5, 1 мМ дитиотрейтола, 30 мкМ флуорогенного субстрата, 5 мМ MgCl<sub>2</sub> и 1мМ АТФ). Реакцию проводили при 37 °С в течение 20 минут. Активированную сыворотку регистрировали на многорежимном микропланшетном ридере-имиджере «Cytation1» (BioTek) при длине волны возбуждения 360 нм и эмиссии 460 нм. Удельную активность протеасом вычисляли в единицах активности на 1 мл сыворотки крови.



Рисунок 6 - Вакутейнер с венозной кровью для определения активности циркулирующих протеасом методом флуориметрии

### *2.5 Флуориметрия внутриклеточных протеасом*

В группах лейкоплакии СОР и плоскоклеточного рака ПР производили забор участка слизистой в объеме 1 мм<sup>3</sup>: два фрагмента СО с патологического очага и два фрагмента с визуально нормальной СОР для определения ХТП и КП активностей внутриклеточных протеасом однократно. В группе сравнения производили забор двух фрагментов с относительно нормальной СОР однократно.

#### *Получение осветленных гомогенатов*

Для получения осветленных гомогенатов замороженные фрагменты ткани (1 мм<sup>3</sup>) гомогенизировали, затем ресуспендировали в 300 мкл 50 мМ трис-НСl буфере (рН=7,5), содержащем 2 мМ АТФ, 5 мМ хлорид магния, 1 мМ дитиотреитол, 1мМ ЭДТА и 100 мМ хлорид натрия. Гомогенат центрифугировали 60 минут при 10000g и температуре 4°C (Рисунок 7).

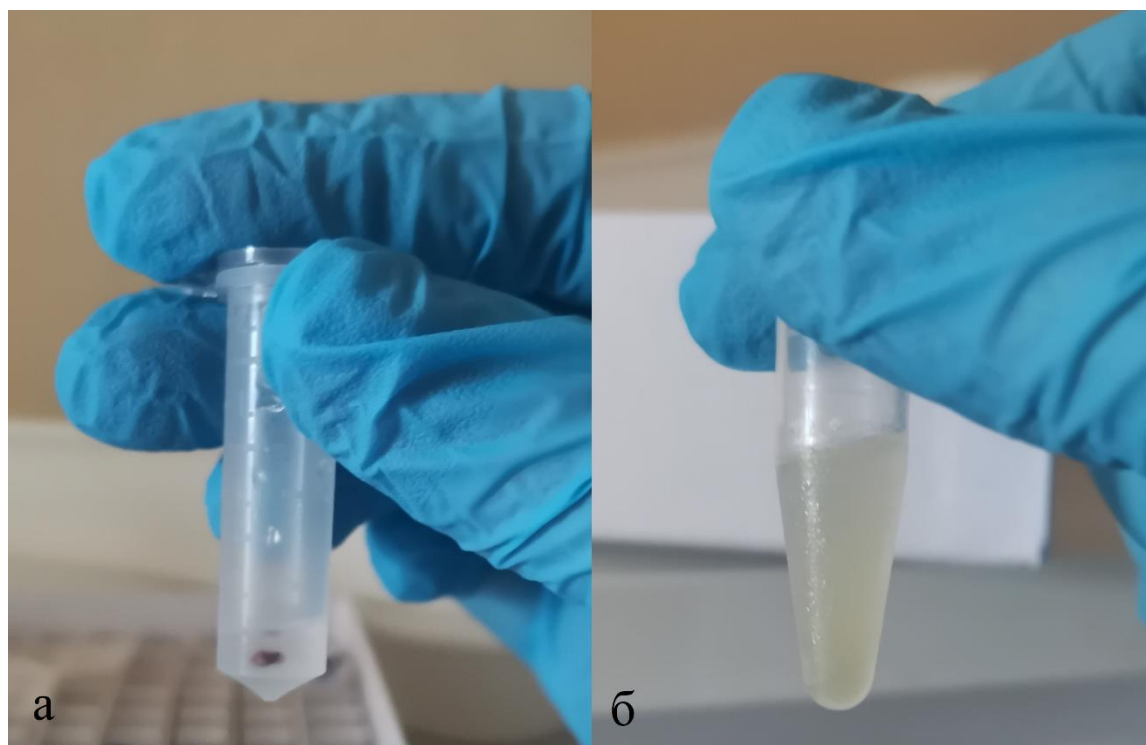


Рисунок 7 - Фрагмент СО для исследования (а) и осветленные гомогенаты тканей (б), помещенные в лабораторную пробирку с крышкой

#### *Определение активности внутриклеточных протеасом*

ХТП активность протеасом определяли в осветленных гомогенатах по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-LLVY-AMC (Sigma), утилизирующегося ХТП центрами протеасом. КП активность - по гидролизу Z-leu-leu-glu-amido-4-methylcoumarin (Sigma), субстрат, утилизирующийся КП центрами протеасом. Для оценки активности примесных протеаз применяли специфический ингибитор протеасом – MG132 (Sigma). Реакционная смесь содержала 20 мМ Tris-HCl (pH 7,5), 1 мМ дитиотрейтола, 30 мкМ Suc-LLVY-AMC, 5 мМ MgCl<sub>2</sub> и 1 мМ АТФ. Реакцию проводили при 37 °С в течение 20 мин. Образовавшийся продукт регистрировали на микропланшетном ридере «Cytation 1» (Bio Teck) (Рисунок 8) при длине волны возбуждения 380 нм и эмиссии 440 нм. За единицу активности протеасом принимали количество фермента, при котором гидролизуется 1 нмоль Suc-LLVY-AMC в течение 1 мин. Удельную активность протеасом выражали в единицах активности на 1мг белка. Содержание белка определяли по методу

Лоури. Результат регистрации флуориметрии внутриклеточных протеасом представлен на рисунке 9.



Рисунок 8 - Микропланшетный ридер «Cytation 1» (Bio Teck)

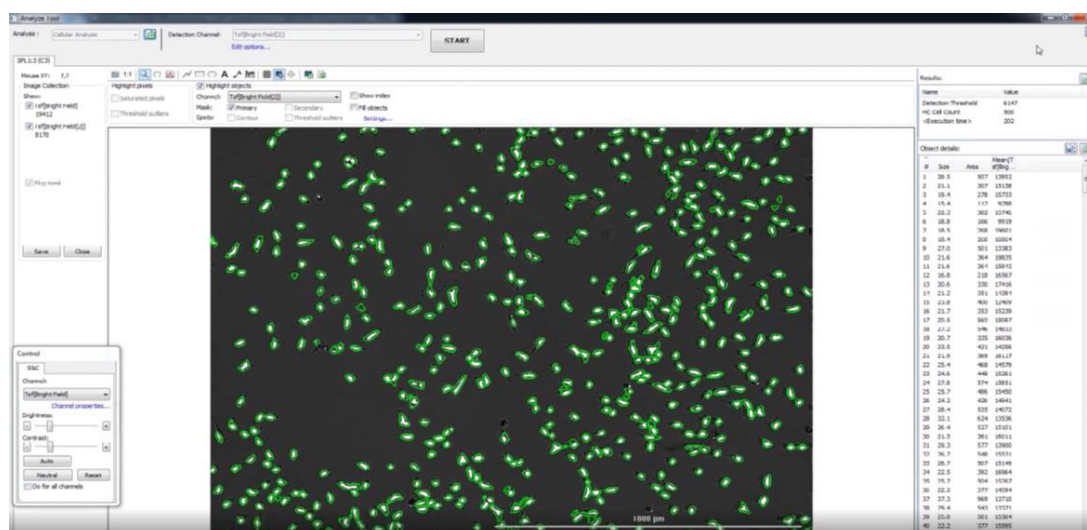


Рисунок 9 - Пример программного обеспечения для регистрации флуориметрии

*Полимеразная цепная реакция с гибридационно-флуоресцентной детекцией для определения вируса папилломы человека слизистой оболочки рта*

В группах лейкоплакии СОР и плоскоклеточного рака ПР производили забор одного фрагмента участка слизистой в объеме 1 мм<sup>3</sup> с патологического очага. В группе сравнения производили забор одного фрагмента участка слизистой в объеме 1 мм<sup>3</sup> с визуально нормальной СОР однократно.

Выявление и количественное определение ДНК ВПЧ проводили в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL» для ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов и АмплиСенс ВПЧ 6/11-FL для ВПЧ 6 и 11 типов. Согласно техническим характеристикам, наборы имеют специфичность 98,5%, чувствительность 98,3%.

Метод основан на одновременной амплификации (мультиплекс-ПЦР) и определении в режиме «реального времени» участков ДНК E1-E2 генов ВПЧ и участка ДНК  $\beta$ -глобинового гена, используемого в качестве эндогенного внутреннего контроля. При использовании четырехканальных приборов результат амплификации ДНК ВПЧ каждой филогенетической группы записывается по отдельному каналу флуоресценции A9 – JOE/Yellow (6, 11, 16, 31, 33, 35, 52, 58 типы), A7 – ROX/Orange (18, 39, 45, 59 типы), и A5/6 – Cy5/Red (51 и 56 типы). Результат амплификации внутреннего контроля регистрировался по каналу FAM/Green (Рисунок 10).

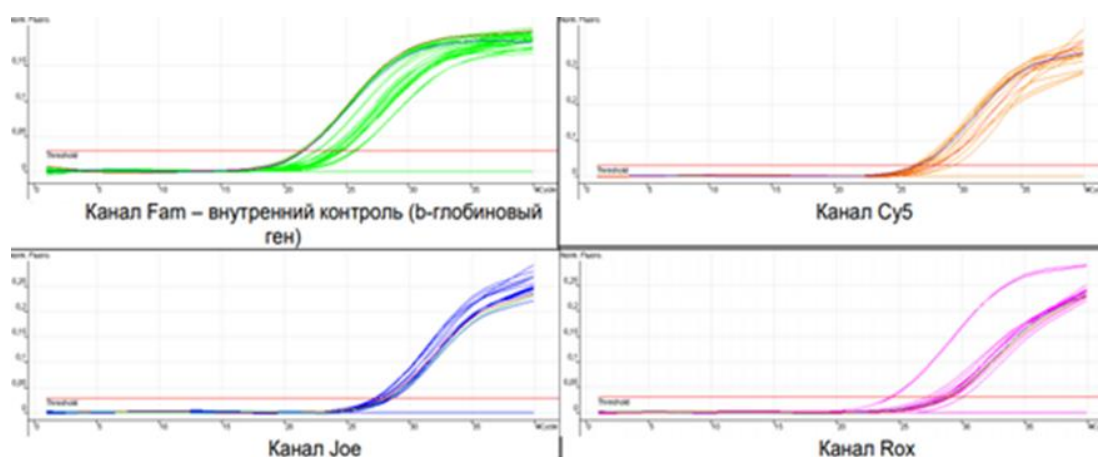


Рисунок 10 - Кривые амплификации ДНК ВПЧ

Количественное определение ДНК ВПЧ основывается на существовании линейной зависимости между циклом начала увеличения флуоресценции образца



(пороговый цикл, Cycle threshold, Ct) и исходной концентрации ДНК-мишени. Для реализации количественного определения в реакцию амплификации параллельно берутся ДНК-калибраторы – образцы с известной концентрацией ДНК ВПЧ. По результатам амплификации ДНК-калибраторов выстраивается калибровочная прямая, по которой происходит определение концентрации ДНК ВПЧ в образцах. В данном наборе реагентов так же используется принцип нормализации количественного результата – соотнесение полученной концентрации ДНК ВПЧ на количество геномной ДНК – с целью нивелировать эффект вариации при взятии материала.

### *2.7 Статистический анализ результатов исследования*

Анализ первичных данных проводили с применением методов статистического описания и проверки статистических гипотез. Все количественные показатели проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении количественных признаков, результаты представляли в виде средней и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ). Для оценки межгрупповых различий использовали параметрический t-критерия Стьюдента. При отсутствии нормального распределения количественных признаков - рассчитывали медиану ( $Me$ ), интерквартильный интервал (interquartile) использовали критерий Манна–Уитни. Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное число и относительную величину в процентах. Для проверки равенства медиан нескольких выборок использовали критерий Краскела — Уоллиса.

Для оценки корреляционных парных связей между количественными показателями применяли коэффициент корреляции Спирмена. Полученные значения коэффициента  $\leq 0,3$  свидетельствовали о слабой связи;  $0,4-0,69$  – об умеренной силе;  $\geq 0,7$  – указывали на сильную связь.

Для изучения факторов риска и построения прогностической модели применяли бинарную логистическую регрессию. При проведении логистического регрессионного анализа использовали методики с принудительным включением изучаемых признаков (метод Enter). Показатели уравнений логистической регрессии представлены величиной статистики Вальда, коэффициентами регрессии, уровнями статистической значимости для каждого коэффициента, отношением шансов (ОШ)/ Exp(B) с 95 % доверительным интервалом.

ROC-анализ использовали для оценки прогностической способности регрессионной модели. Вычисляли пороговое значение (cut-off value), характеризующееся оптимальным (максимальным для данной точки) соотношением значений чувствительности и специфичности, а также значение площади под ROC-кривой и 95 % доверительный интервал.

Для статистических расчетов и построения математической модели использовали пакет прикладных программ SPSS 28.0.1.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### *Анализ частоты выявления лейкоплакии в структуре заболеваний слизистой оболочки рта в Томской области*

В общей популяции пациентов установлено, что женщин было больше, чем мужчин (66,6% и 33,4% соответственно). Возраст больных варьировал от 18 до 93 лет, средний возраст составил  $59,8 \pm 7,2$  ( $59,5 \pm 10,8$  – у женщин,  $60,5 \pm 3,6$  – у мужчин). Из них жителями г. Томска были 53,1%, Томской области - 46,9% пациентов.

В общей структуре патологии СОР почти у 2/3 пациентов (59,1%) выявлены кандидоз, стоматит. Больше чем у четверти пациентов (25,7%) диагностированы ПЗЗ СОР - лейкоплакия (12,5%), красный плоский лишай (10,8%), вирусные папилломы (2,0%) и хейлит Манганотти (0,4%). ЗНО ПР на разной стадии установлены в 8,3% случаев (Таблица 5).

Таблица 5 - Общая структура и частота выявления заболеваний СОР в Томской области\* (2014-2019гг)

Код МКБ-10	Заболевания слизистой оболочки рта *	Абсолютное значение	Относительное значение (%)
<b>I. Травматические поражения</b>			
K12.3	Травматическая язва	35	2,0
K12.3	Радиомукозит	12	0,7
<b>II. Инфекционные заболевания</b>			
B37.0	Кандидоз	397	22,6
A51.3	Сифилис	2	0,1
K12.0	Стоматит	512	29,2
K14.0	Глоссит	56	3,2
<b>III. Аллергические заболевания</b>			
L51.0	Многоформная экссудативная эритема	2	0,1
K12.0	Стоматит	129	7,3

Продолжение Таблицы 5 - Общая структура и частота выявления заболеваний СОР в Томской области\* (2014-2019гг)

Код МКБ-10	Заболевания слизистой оболочки рта *	Абсолютное значение	Относительное значение (%)
K14.0	Глоссит	12	0,7
VI. Изменения слизистой оболочки рта при дерматозах			
L10.0- L10.5	Пузырчатка	1	0,1
IX. Потенциально злокачественные и доброкачественные новообразования:			
D10.0- D10.3	Папиллома	36	2,0
K13.2, K13.3	Лейкоплакия	223	12,7
L43.0, L43.1	Красный плоский лишай	191	11
C04.0, C04.1, C04.8 C04.9	Злокачественное новообразование ПР	146	8,3
	I стадия	19	
	II стадия	49	
	III стадия	46	
	IV стадия	32	
	Всего	1754	100

*Примечание: \* использована классификация МГМСУ (1989г).*

Из 596 больных с ПЗЗ и ЗНО ПР лица мужского пола составили 266, женского – 330. По возрасту они распределились: до 30 лет – 39, от 31 года до 40 лет – 51, от 41 года до 50 лет – 92, от 51 года до 60 лет – 188, от 61 года до 70 лет – 158, свыше 70 лет – 68. Таким образом, соотношение мужчин и женщин составило 1: 1,2, преобладающий возрастной контингент – 84,8% - от 41 года до 70 лет.

При анализе распространенности из 146 пациентов с ЗНО ПР по стадиям развития процесса в зависимости от пола среди 80 мужчин I стадия выявлена у 8

человек, II стадия - у 23 человек, III стадия – 28, IV – 21; среди 66 женщин I - у 11, II – у 26, III – у 19, IV – у 10 человек. Таким образом, у мужчин регистрировались распространенные ЗНО, соответственно они обращались за медицинской помощью на более поздних стадиях заболевания, чем женщины.

При анализе динамики заболеваемости ПЗЗ и ЗНО СОР за период с 2014 по 2019 гг. наблюдается увеличение случаев лейкоплакии в 2,4 раза, красного плоского лишая – в 4 раза (Таблица 6). Число лиц с диагностированными злокачественными новообразованиями ПР остается относительно постоянным. Распределение количества наблюдений ПЗЗ и ЗНО по локализации элементов поражения представлено в таблице 6.

Таблица 6 - Динамика ПЗЗ СОР и ЗНО в Томской области (2014-2019 гг)

Нозология	Год					
	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Красный плоский лишай n=48	4	5	7	11	5	16
Лейкоплакия n=219	22	32	37	46	30	52
Папилломы n=36	4	6	5	6	7	8
Хейлит Манганотти n=7	1	0	1	1	2	2
Злокачественное новообразование ПР n=146	31	17	25	22	25	26

Очаги лейкоплакии преимущественно располагались на языке (30,6%), нижней губе (23,7%) дне ПР (18,0%), на десне (15,5%). Реже лейкоплакия встречалась на небе (8,2%) и щеках (4,0%). Простая (плоская) лейкоплакия встречалась в 55,5% случаев, веррукозная – в 24,3%, эрозивно-язвенная – в 16,2%, лейкоплакия Таппейнера – в 4% (Таблица 7).

Таблица 7 - Локализация заболеваний СОР

Нозология	Локализация					
	Нижняя губа, абс (%)	Язык, абс (%)	Дно ПР, абс (%)	Щеки, абс (%)	Небо, абс (%)	Альвеолярный отросток и десна, абс (%)
Красный плоский лишай n=188	0 (0)	45 (23,6)	0 (0)	105 (55,9)	15 (8,2)	23 (12,3)
Лейкоплакия n=219	52 (23,7)	67 (30,6)	39 (18,0)	9 (4,0)	18 (8,2)	34 (15,5)
Папиллома n=36	0 (0)	30 (83,3)	0 (0)	0 (0)	1 (2,8)	2 (5,6)
Злокачественное новообразование ПР n=146	38 (26,0)	46 (31,5)	28 (19,2)	7 (4,8)	15 (10,3)	12 (8,2)
I стадия n=19	3	4	4	0	5	3
II стадия n=49	15	16	7	1	6	4
III стадия n=46	13	15	9	3	5	1
IV стадия n=32	7	11	8	2	0	4

ЗНО ПР главным образом, выявлены на языке (31,5%), дне ПР (19,2%), десне (8,2%). По локализации опухолевого процесса больные распределились следующим образом: у 2 пациентов злокачественное новообразование диагностировалось в передней трети языка и переднем отделе ПР и у 2 больных отмечалось поражение задней трети языка и задних отделов. При II - IV стадиях заболевания новообразования преимущественно располагались на языке и СО дна ПР у 48 больных, что составило 64%. Дно ПР и альвеолярный отросток зарегистрирован у 17 больных, и поражение захватывающие три области – язык,

дно ПР, альвеолярный отросток – у 10 больных. Изолированное поражение одной анатомической области ЗНО наблюдалось лишь у 25% больных, у 50% пациентов выявлено поражения двух и более анатомических областей. У 35 (92%) пациентов с ЗНО губы выявлена II-IV стадия заболевания.

Основными жалобами у пациентов с ПЗЗ ПР были чувство жжения, стянутости, шероховатости и необычный вид СОР. В частности, пациенты с лейкоплакией СОР в основном предъявляли жалобы на чувство стянутости и шероховатости в месте образования патологического элемента, жжение в ПР и боль при приеме пищи. Основными жалобами у пациентов с красным плоским лишаем были боль и жжение СОР при приеме острой и грубой пищи. При ЗНО ПР жалобы различались в зависимости от стадии, при I-II стадиях пациенты отмечали безболезненный быстро увеличивающийся в размере первичный очаг плоскоклеточного рака СОР, при III-IV стадии появлялись боль, затруднения при приеме пищи, неприятный запах и, порой, кровоточивость.

При ретроспективном анализе ошибок было выявлено, что при лейкоплакии, красном плоском лишае, кандидозе и стоматите в 100% случаев не была указана форма заболевания. В 22% случаев из общего количества пациентов с лейкоплакией СОР диагноз был выставлен ошибочно. В 12% случаях гиподиагностики ЗНО ПР был выставлен диагноз красный плоский лишай и кандидоз СОР. Настораживает тот факт, что в половине случаев ошибочно поставленного диагноза лейкоплакии (10,2%) выявлялся плоскоклеточный рак СОР.

### *3.2 Клиническая характеристика пациентов в группах наблюдения*

Группа лейкоплакии СОР представлена гомогенной (Рисунок 12) и негомогенной (Рисунок 13) лейкоплакией. Простая (плоская) лейкоплакия встречалась в 14 случаях (70 %), бляшечная форма веррукозной лейкоплакии – в 6 случаях (30%). В основном поражение при лейкоплакии располагались на языке - у 8 (40%) человек, дне ПР - у 5 человек (25%) и на СО альвеолярной части нижней

челюсти - у 4 человек (20%), СО щек – у 3 человек (15%). В 25% процентах случаях поражения затрагивали 2 и более анатомические области. Из 19 человек группы плоскоклеточного рака СОР I стадия выявлена у 1 пациента (5,3%), II стадия – 10 (52,6%) пациентов, III – 8 (42,1%) пациентов. Наиболее частым местом локализации плоскоклеточного рака был язык – у 9 больных (47,3%) (Рисунок 14), дно ПР – 4 больных (21%) (Рисунок 15), альвеолярный отросток и десна - у 3 больных (15,7%) (Рисунок 16), затем небо - у 2 больных (10,5%) (Рисунок 17) и нижняя губа – у 1 больного (5,5%) (Рисунок 11, 18). По стадии дифференцировки чаще всего встречались умеренно-дифференцированные 10 (52,6%) и высокодифференцированные - у 7 человек (36,8%) опухоли. Низкодифференцированные опухоли встречались в 2 случаях (10,5%) (Рисунок 18).

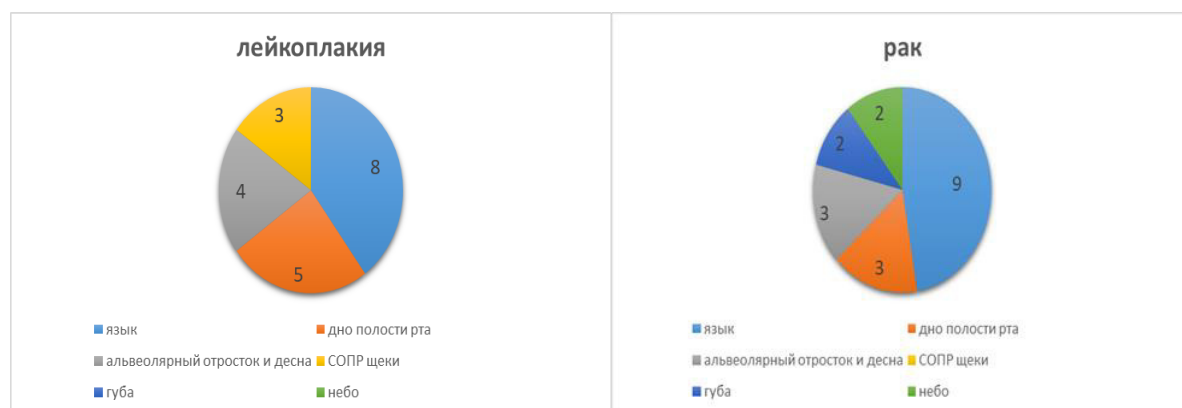


Рисунок 11 - Частота встречаемости очагов по местоположению





Рисунок 12 - Гомогенная лейкоплакия СОР (плоская форма) языка. К13.2, стадия I (L1C1) пациентка Л., 59 лет. Группа – гомогенная лейкоплакия



Рисунок 13 - Негомогенная лейкоплакия СОР (бляшечная форма) боковой поверхности языка слева. К13.2, стадия III (L3C1), пациентка А., 50 лет. Группа – негомогенная лейкоплакия



Рисунок 14 - Высокодифференцированная плоскоклеточная карцинома боковой поверхности языка справа: (C02.1). Ст. T2NxMx, пациентка В., 53 года.

Группа – плоскоклеточный рак



Рисунок 15 - Умеренно-дифференцированная плоскоклеточная карцинома дна ПР с переход на нижнюю поверхность языка (C04.0) T2N0M0, пациент С., 51 год. Группа – плоскоклеточный рак



Рисунок 16 - Умеренно-дифференцированная плоскоклеточная карцинома альвеолярной части отростка нижней челюсти слева (C03.1) Ст. T1N0M0, пациентка П., 64 года. Группа – плоскоклеточный рак



Рисунок 17 - Высокодифференцированная плоскоклеточная карцинома твердого неба с переходом на альвеолярный отросток верхней челюсти справа. (C05.0) Ст. T3NxM0, пациента С., 65 лет. Группа – плоскоклеточный рак

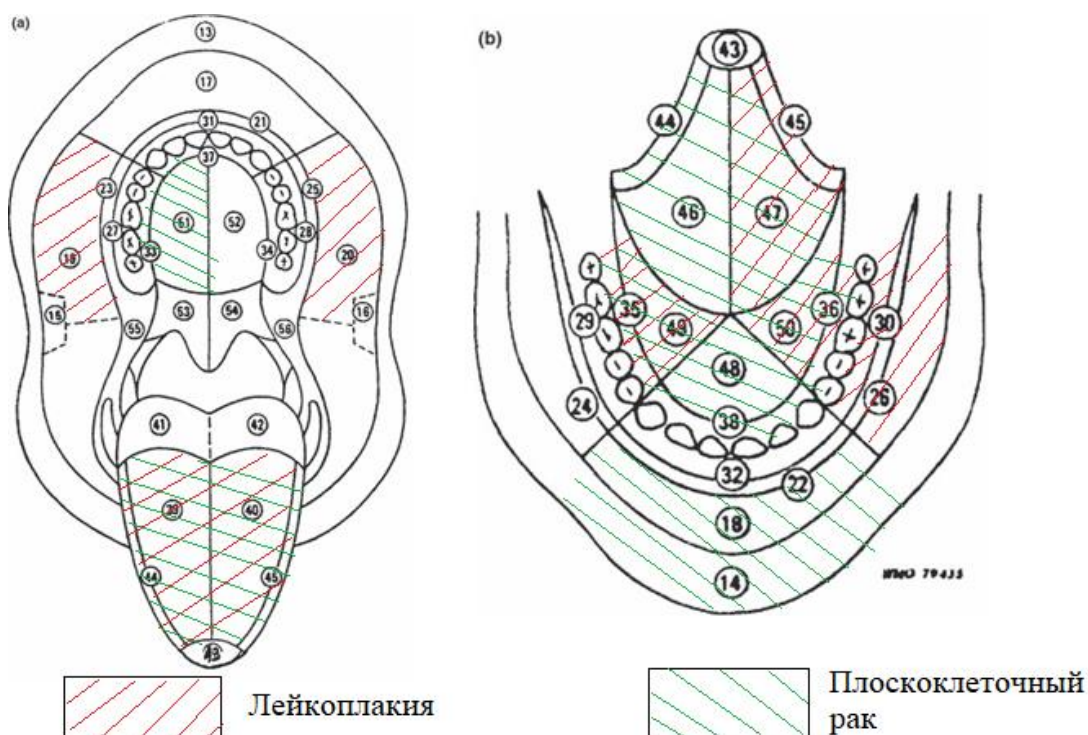


Рисунок 18 - Схема-топограмма СОР локализации нозологий в исследуемых группах

Оценка стоматологического статуса пациентов с лейкоплакией СОР показала высокий уровень интенсивности кариеса удовлетворительную гигиену ПР, незначительные отложения зубного налёта и легкой степенью интенсивности воспалительных заболеваний пародонта. Подобные условия выявлены в группе сравнения (Таблица 8).

Стоматологический статус у пациентов с плоскоклеточным раком ПР также определяет высокий уровень интенсивности кариеса, значительные отложения зубного налёта, что сопутствует неудовлетворительной гигиене ПР и средней степени интенсивности воспалительных заболеваний пародонта (Таблица 8).

Таблица 8 - Стоматологический статус пациентов в исследуемых группах

Индекс	Группа сравнения n=22	Лейкоплакия СОР n=20	Плоскоклеточный рак СОР n=19
КПУ	21,0 [17,5; 25,0] $p^1 > 0,05$	22,0 [18,5; 26,0] $p^2 > 0,05$	24,0 [19,0; 28,8] $p^3 > 0,05$
ОHI-S	1,0 [1,0; 1,5] $p^1 > 0,05$	1,2 [1,0; 1,5] <b><math>p^2 &lt; 0,05</math></b>	2,0 [1,5; 2,5] <b><math>p^3 &lt; 0,05</math></b>
Silness-Loe	1,3 [1,0; 1,6] $p^1 > 0,05$	1,4 [1,2; 1,8] <b><math>p^2 &lt; 0,05</math></b>	2,2 [2,0; 2,9] <b><math>p^3 &lt; 0,05</math></b>
PMA	6,8 [3,2; 11,5] $p^1 > 0,05$	10,2 [6,9; 16,4] <b><math>p^3 &lt; 0,05</math></b>	44,9 [26,7; 69,1] <b><math>p^3 &lt; 0,05</math></b>

*Примечание: значения в формате Me [Q1; Q3].  $p^1$  - уровень значимости показателей между группой лейкоплакии СОР и группой сравнения;  $p^2$  - уровень значимости показателей между группой лейкоплакии СОР и плоскоклеточным раком ПР;  $p^3$  - уровень значимости показателей между группой плоскоклеточного рака ПР и группой сравнения; n – число наблюдений.*

### *3.3 Полимеразная цепная реакция с гибридизационно-флуоресцентной детекцией для определения вируса папилломы человека слизистой оболочки рта в исследуемых группах*

Из 19 образцов, взятых у пациентов с плоскоклеточным раком, в 3 случаях были выделены ДНК ВПЧ 6 и 11 типа с малозначимой клинической нагрузкой. ВПЧ положительные образцы 6 и 11 типа обнаружены по 1 случаю на каждую степень дифференцировки опухоли. В группах лейкоплакии и здоровых добровольцев ВПЧ ни высокого, ни низкого онкологического риска не было выявлено. Несмотря на положительную экспрессию ВПЧ в образцах плоскоклеточного рака, не было статистически значимой разницы между плоскоклеточным раком и группой сравнения ( $p=0,09$ ) (Рисунок 19).

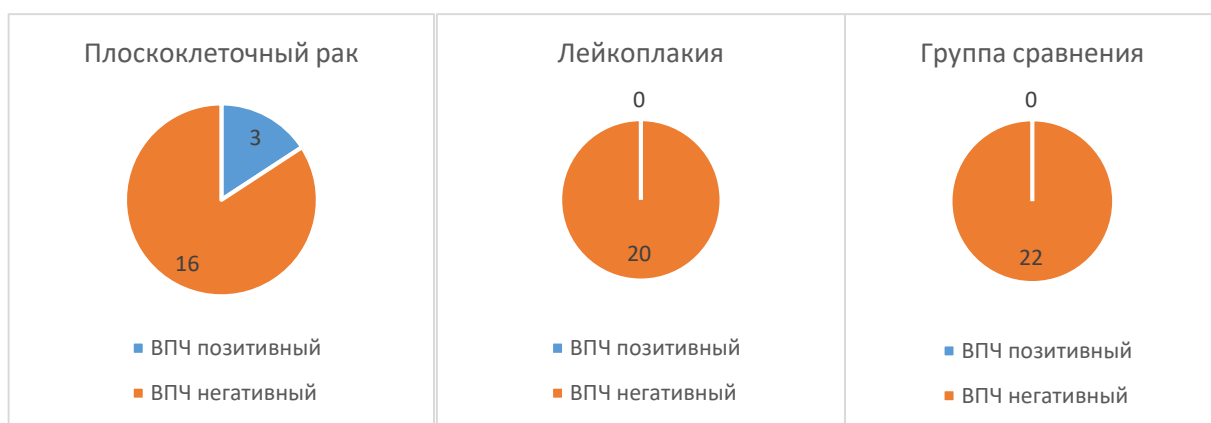


Рисунок 19 - Распределение вируса ВПЧ в исследуемых группах

### 3.4 Флуориметрия циркулирующих и внутриклеточных протеасом в исследуемых группах

Значение удельной ХТПА циркулирующих протеасом при негетерогенной лейкоплакии и плоскоклеточном раке ПР были в 1,76 раза и в 2,27 раза выше относительно группы сравнения. При попарном сравнении признаков наблюдалась статистически значимая разница ХТПА между группами негетерогенной ( $p < 0,001$ ) и гетерогенной лейкоплакии; негетерогенной лейкоплакией и плоскоклеточным раком СОР ( $p = 0,04$ ) (Таблица 9). Однако при анализе удельной КПА циркулирующих протеасом не было выявлено статистически значимых различий при сравнении исследуемых групп, кроме сопоставления группы плоскоклеточного рака ПР и группы сравнения ( $p = 0,04$ ) (Таблица 9).

Таблица 9 - Флуориметрия циркулирующих протеасом в исследуемых группах

Активность циркулирующих протеасом	Группа сравнения n=22	Лейкоплакия СОР n=20		Плоскоклеточный рак ПР n=19
		Гомогенная n = 12	Негетерогенная n = 8	
ХТП	40,05 [30,73; 49;32]	47,22 [39,72; 53,57] $p^1=0,08$	70,75 [64,52; 74,27] $p^2 < 0,001$ $p^3 < 0,001$	90,96 [72,10; 108,87] $p^4 = 0,02$ $p^5 < 0,001$
КП	109,8 [80,77; 137,50]	124,17 [106,05; 146,34] $p^1=0,2$	133,25 [124,44; 147,9] $p^2=0,5$ $p^3 = 0,13$	148,60 [100,65; 193,09] $p^4=0,4$ $p^5=0,04$

*Примечание: значения в формате Me [Q1; Q3].  $p^1$  – уровень значимости различий между группой гомогенной лейкоплакии и группой сравнения;  $p^2$  - уровень значимости различий между группами гомогенной и негомогенной лейкоплакии;  $p^3$  - уровень значимости различий между группой гомогенной лейкоплакии и группой сравнения;  $p^4$  - уровень значимости различий между группой плоскоклеточного рака и негомогенной лейкоплакии;  $p^5$  - уровень значимости различий между группой плоскоклеточного рака и группой сравнения;  $n$  – число наблюдений*

Значения удельной ХТПА внутриклеточных протеасом в биоптатах взятых с патологического очага в группах гомогенной, негомогенной лейкоплакии и плоскоклеточного рака ПР была в 1,6, 2,38 и 3 раз выше по сравнению с группой сравнения ( $p^2=0,002$ ,  $p^4=0,004$ ,  $p^6 = 0,03$ ) (Таблица 10). При этом наблюдалась статистически значимые различия ХТПА внутриклеточных протеасом между неизменной тканью и патологическим очагом в группах гомогенной и негомогенной лейкоплакии СОР ( $p^7<0,001$ ). Удельная КПА внутриклеточных протеасом в биоптатах, взятых с патологического очага в группах гомогенной, негомогенной лейкоплакии и плоскоклеточного рака СОР в 1,5, 2,8 и 3,3 раза выше по сравнению с группой сравнения ( $p^2=0,003$   $p^4=0,012$   $p^8 <0,001$ ). При этом наблюдались статистически значимые различия КПА внутриклеточных протеасом между неизменной тканью и патологическим очагом в группах гомогенной и негомогенной лейкоплакии СОР ( $p^7<0,001$ ). Однако не было установлено статистически значимых различий в патологическом очаге в группах негомогенной лейкоплакии и плоскоклеточного рака ПР ( $p^6 = 0,19$ ) (Таблица 10).



Таблица 10 - Флуориметрия внутриклеточных протеасом в исследуемых группах

Активность внутриклеточных протеасом	Группа сравнения n=22	Лейкоплакия СОР n = 20				Плоскоклеточный рак ПР n= 19	
		Гомогенная n=12		Негомогенная n=8		Неизменная ткань	Патологический очаг
		Неизменная ткань	Патологический очаг	Неизменная ткань	Патологический очаг		
ХТПА	14,04 [11,01; 17,90]	11,06 [9,13; 14,38] $p^1 = 0,1$	22,51 [17,43; 27,2] $p^2=0,002$ $p^7<0,001$	21,32 [18,93; 25,17] $p^3<0,001$	33,34 [30,82; 38,3] $p^4=0,004$ $p^7<0,001$	17,78 [15,23; 24,72] $p^5=0,13$	42,82 [34,57; 52,68] $p^6 = 0,03$
КПА	18,64 [12,95; 22,92]	14,19 [11,41; 23,28] $p^1 = 0,4$	27,79 [23,29; 37,93] $p^2=0,003$ $p^7<0,001$	22,62 [16,13;2 9,82] $p^3=0,09$	51,38 [31,75; 54,63] $p^4=0,012$ $p^7<0,001$	22,54 [14,64; 29,57] $p^5=0,8$	60,03 [42,52; 103,78] $p^6 = 0,19$

Примечание: значения в формате  $Me [Q1; Q3]$ ; Различия между группами определяли с применением критерия Манна-Уитни.  $p^1$  – уровень значимости различий между неизменной тканью в группе гомогенной лейкоплакии и группой сравнения;  $p^2$  – уровень значимости различий между патологическим очагом в группе гомогенной лейкоплакии и группой сравнения;  $p^3$  – уровень значимости различий между неизменной тканью в группах гомогенной и негомогенной лейкоплакии;  $p^4$  – уровень значимости различий между патологическим очагом в группах гомогенной и негомогенной лейкоплакии;  $p^5$  – уровень значимости различий между неизменной тканью в группах плоскоклеточного рака и негомогенной лейкоплакии;  $p^6$  – уровень значимости различий между патологическим очагом в группах плоскоклеточного рака и негомогенной лейкоплакии;  $p^7$  – уровень значимости различий между неизменной тканью и патологическим очагом в группах гомогенной и негомогенной лейкоплакии ПР;  $p^8$  – уровень значимости различий между патологическим очагом в группе плоскоклеточного рака и группе сравнения;  $n$  – число наблюдений.

Плоскоклеточный рак ПР статистически значимо ( $p<0,01$ ) связан с более высокими значениями удельной ХТПА циркулирующих и внутриклеточных протеасом, КПА внутриклеточных протеасом и большим размером очага поражения (более 500 мм<sup>2</sup>) (Таблица 11).

Таблица 11 - Клинико-молекулярная характеристика лейкоплакии СОР

Группа		S мм <sup>2</sup>	ХТП циркулирующих протеасом	ХТП внутриклеточных протеасом	КП внутриклеточных протеасом
Сравнения n = 22		-	40,05 [30,73; 49;32]	14,04 [11,01; 17,90]	18,64 [12,95; 22,92]
Лейкоплакия СОР	Гомогенная n = 12 Стадия I L1C1 Стадия II L2C1	350 [150; 450]	47,22 [39,72; 53,57]	22,51 [17,43; 27,2]	27,79 [23,29; 37,93]
	Негомогенная n = 8 Стадия III L3C1 или L1L2C2 Стадия IV L3C2	500 [300; 750]	70,75 [64,52; 74,27]	33,34 [30,82; 38,3]	51,38 [31,75; 54,63]
Плоскоклеточный рак ПР n = 19		800 [550; 1300] <b>p&lt;0,001</b>	90,96 [72,10; 108,87] <b>p&lt;0,001</b>	42,82 [34,57; 52,68] <b>p&lt;0,001</b>	60,03 [42,52; 103,78] <b>p&lt;0,001</b>

*Примечание: значения в формате Me [Q1; Q3]; Статистически значимые различия между группами определяли с применением критерия Краскела — Уоллиса; n – число наблюдений.*

### 3.5 Оценка риска малигнизации лейкоплакии слизистой оболочки рта

При анализе корреляционной матрицы, выявлены значимые корреляция между исследуемыми признаками (Таблица 12), поэтому для дальнейшего анализа выбраны следующие переменные: ХТПА циркулирующих протеасом в сыворотке крови и КПА внутриклеточных протеасом в измененной ткани СОР. Такие показатели как КПА циркулирующих протеасом в сыворотке крови, ХТПА внутриклеточных протеасом в неизменной ткани СОР, КПА внутриклеточных протеасом в неизменной ткани СОР, ХТПА внутриклеточных протеасом в измененной ткани СОР и площадь очага показали значительную корреляцию между собой (Таблица 12).

Таблица 12 - Корреляционная матрица по Спирмену

	ХТП(н)	КП(н)	ХТП(п)	КП(п)	ХТП(к)	КП(к)	S мм <sup>2</sup>
ХТП(н)	1	0,723**	0,771**	0,703**	0,297*	0,085	0,698**
КП(н)	0,723**	1	0,513**	0,869**	0,087	0,094	0,414**
ХТП(п)	0,771**	0,513**	1	0,721**	0,473**	0,039	0,162
КП(п)	0,703**	0,869**	0,721**	1	0,243	0,189	0,112
ХТП(к)	0,297*	0,087	0,473**	0,243	1	0,354**	0,951**
КП(к)	0,085	0,094	0,039	0,189	0,354**	1	0,512**
S мм <sup>2</sup>	0,698**	0,414**	0,162	0,112	0,951**	0,512**	1

Примечания: ХТП(н) - ХТП активность внутриклеточных протеасом в неизменной ткани СОР, КП(н) – КП активность внутриклеточных протеасом в неизменной ткани СОР, ХТП(п) - ХТП активность внутриклеточных протеасом в измененной ткани СОР, КП(п) – КП активность внутриклеточных протеасом в измененной ткани СОР, ХТП(к) - ХТП активность циркулирующих протеасом в сыворотке крови, КП(к) - активность циркулирующих протеасом в сыворотке крови. \*\* Корреляция значима на уровне 0,01 (двухсторонняя). \* Корреляция значима на уровне 0,05 (двухсторонняя).

Для построения прогностической модели риска малигнизации лейкоплакии СОР использовали логистическую регрессию с расчетом экспоненциальной беты  $\text{Exp}(B)$  с 95% доверительным интервалом. Для определения оптимальной точки отсечения применяли ROC-анализ.

Логистическая регрессия строилась с целью выделения наиболее значимых молекулярных признаков для лейкоплакии и плоскоклеточного рака ПР и незначимой корреляции между признаками для обеспечения высокого уровня дополнительной лабораторной диагностики. Параметры индексной оценки стоматологического статуса не учитывались в статистическом анализе. Все изучаемые признаки были количественными и характеризовались соответствующим числом.

Для построения модели использовалась обучающая выборка, включающая в себя 39 пациентов с диагнозом «лейкоплакия» и «плоскоклеточный рак ПР» (20 пациентов с лейкоплакией СОР и 19 пациентов с плоскоклеточным раком СОР).

Для логистического регрессионного анализа (использован метод Enter) в качестве независимых переменных были выбраны уровень ХТПА циркулирующих протеасом в сыворотке крови и КПА внутриклеточных протеасом в изменённой ткани СОР. Согласно полученным параметрам наиболее значимое влияние на риск малигнизации лейкоплакии ПР оказывает ХТПА циркулирующих протеасом, о чем свидетельствует наибольший коэффициент Вальда для этой переменной - 7,348 ( $p=0,007$ ). Менее выраженное влияние на риск малигнизации оказывает КПА внутриклеточных протеасом в изменённой ткани СОР - 4,028 ( $p=0,045$ ). При проведении логистической регрессии рассчитывали экспонированное значение шансов ( $\text{Exp}(B)$ ), которое показывает во сколько раз изменится шанс возникновения изучаемого события, если значение предиктора изменится на единицу и представляет с собой отношение шансов (ОШ) (Таблица 13).

Экспонированное значение шансов ( $\text{Exp}(B)$ ) показывает во сколько раз изменится шанс возникновения изучаемого события, если значение предиктора изменится на единицу. Доверительный интервал не включает 1, делаем вывод о статистической значимости выявленной связи между фактором и исходом при уровне значимости  $p<0,05$ .

Согласно полученным результатам  $\text{Exp}(B)$  для ХТП активности циркулирующих протеасом составила 1,081 (95% ДИ 1,022 - 1,144), для КП активности внутриклеточных протеасом в изменённой ткани СОР - 1,076 (95% ДИ 1,002 - 1,156) (Таблица 13).

Для установления вероятности малигнизации лейкоплакии СОР (p), которая находится в диапазоне от 0 до 1, установленное для каждого признака число умножали на соответствующий коэффициент логистической регрессии. Полученные произведения суммировались поочередно с прибавлением рассчитанной константы (Таблица 13). Полученное уравнение линейной функции (y) является степенью для основания натурального логарифма (e)

$$p = \frac{1}{1 + e^{-y}}$$

$y = -9,283 + 0,078 * \text{ХТП активность циркулирующих протеасом} + 0,073 * \text{КП активность внутриклеточных протеасом}$

p – вероятность малигнизации лейкоплакии СОР [0;1]

e - основание натуральных логарифмов 2,71

Таблица 13 - Параметры уравнения логистической регрессии с рассчитанной  $\text{Exp}(B)$ .

Предикторы	B	Вальд	p	Exp (B)\ ОШ	95%ДИ	
					Нижняя	Верхняя
ХТП активность циркулирующих протеасом	0,078	7,348	0,007	1,081	1,022	1,144
КП активность внутриклеточных протеасом в изменённой ткани СОР	0,073	4,028	0,045	1,076	1,002	1,156
Константа	-9,283	10,040	0,002	-	-	-

R-квадрат Нэйджелкерка равен 0,737 (Таблица 14), что свидетельствует о том, что часть дисперсии, объясненная включенными в модель независимыми переменными, объясняет более 70 процентов всей дисперсии изучаемого процесса.

Таблица 14 - Качество полученной модели

Шаг	2-Log- правдоподобие	R-квадрат Кокса- Снелла	R-квадрат Нэйджелкерка
1	20,868	0,552	0,737

Доля правильных решений для группы пациентов с лейкоплакией СОР составил 94,7 %, для группы с плоскоклеточным раком СОР – 82,4 %. При этом точность диагностики по предложенной математической модели составила 88,9% (Таблица 15).

Таблица 15 - Результаты классификации, полученные по обучающей выборке

Группа	Прогнозируемый диагноз		Процент правильных
	Лейкоплакия	Плоскоклеточный рак	
Лейкоплакия	18	1	94,7
Плоскоклеточный рак	3	14	82,4
Общая процентная доля			88,9

Установлена отличная предсказательная способность полученной логистической модели для оценки риска малигнизации лейкоплакии СОР площадь под ROC-кривой составила 0,941 (95% ДИ 0,853 – 1,0), точка cut-off 0,41, чувствительность – 94,1 %, специфичность - 89,5 % (Рисунок 20).

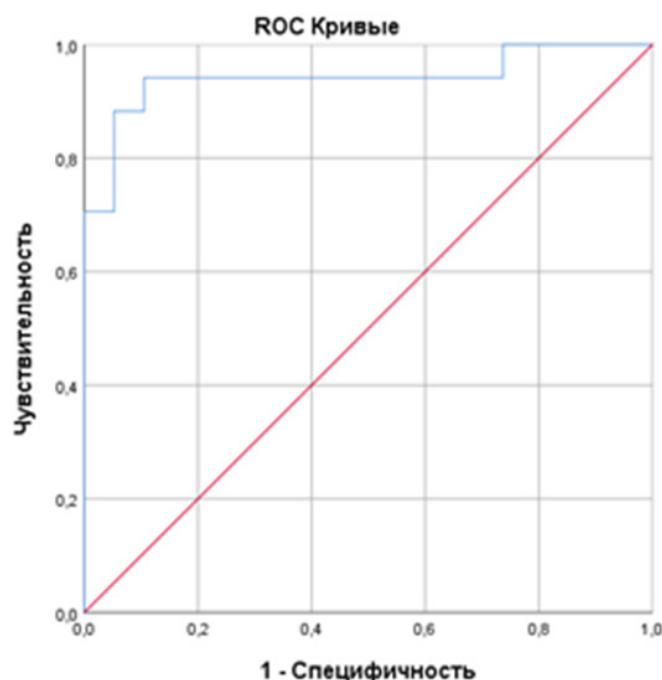


Рисунок 20 - ROC-кривая для логистической модели прогнозирования риска малигнизации лейкоплакии СОР, AUC = 0,941

Применение полученной статистической модели при изучении клинических данных позволяет провести дифференциальную диагностику пациентов с лейкоплакией СОР. Выявленные наиболее значимые клинические признаки указывают, что ХТПА циркулирующих и КПА внутриклеточных протеасом в измененной ткани СОР могут служить диагностическим критерием малигнизации лейкоплакии СОР (Рисунок 21). Данная логистическая модель доступна для применения в клинической практике и может использоваться с учетом рассчитанных коэффициентов.

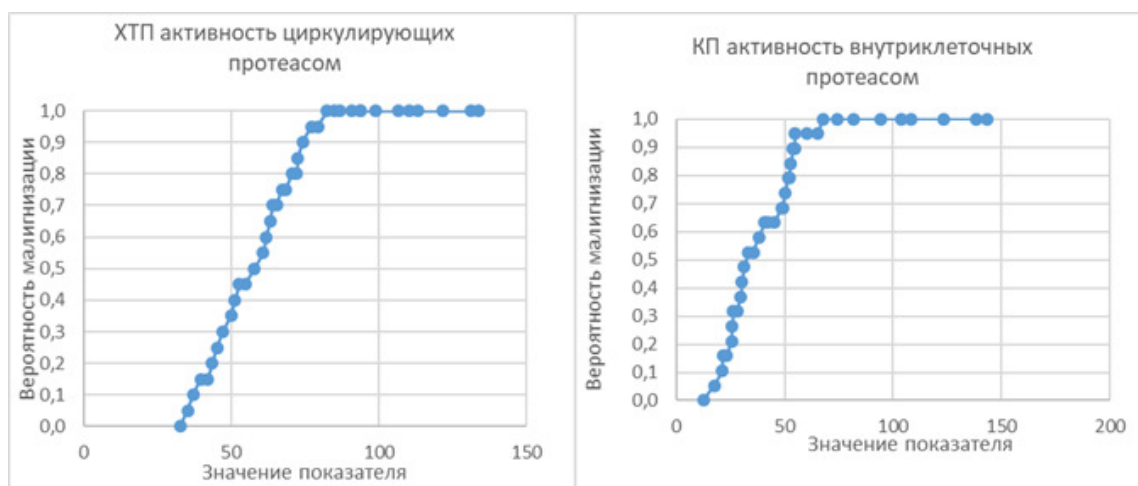


Рисунок 21 - Предсказанные вероятности малигнизации лейкоплакии СОР в зависимости от значений параметров модели  $\ln(p/(1-p)) = -9,283 + 0,078 * \text{ХТПА}$  циркулирующих протеасом  $+ 0,073 * \text{КПА}$  внутриклеточных протеасом

### *Применение логистической регрессии*

Для иллюстрации предлагаемого использования логистической регрессии и для оценки риска малигнизации лейкоплакии СОР приводим следующие клинические примеры.

#### Клинический пример 1.

Пациентка Д., 56 лет обратилась на кафедру стоматологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России с жалобами на чувство жжения в области переходной складки щеки слева внизу. В анамнезе: работает учителем музыки в школе, наличие вредных привычек отрицает, со слов пациента.

Status localis: Внешний осмотр без особенностей, кожные покровы телесного цвета без патологических элементов, трети лица пропорциональны. Региональные лимфатические узлы не пальпируются. На СО щеки слева и альвеолярном отростке нижней челюсти определяются молочно-белые, округлые образования с четкими контурами, возвышающиеся над окружающей СО, не снимающиеся при поскабливании. Пальпация по переходной складке безболезненная (Рисунок 22).



## Зубная формула

О	К	П	К					П		К	К	И	К	К	О
8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
О	П	К	П									К	И	К	О

Индекс КПУ=19. Гигиенический индекс ОHI-S по Green-Vermillion составляет 1,0 балл. Индекс зубного налёта по Silness-Loe 1,8 балла. Индекс тяжести гингивита РМА в модификации Parma 15,2 %.

ХТПА в сыворотке крови – 75,61 у.е., КПА в сыворотке крови – 144 у.е. ХТПА неизменной ткани СОР – 11,07 у.е., ХТПА измененной ткани СОР -25, 56 у.е., КПА неизменной ткани СОР – 26,73 у.е., КПА измененной ткани СОР – 39,73 у.е.

Уравнение логистической регрессии:

$$\frac{1}{1 + 2,71^{-( -9,283 + 0,078 * 75,61 + 0,073 * 39,73 )}} = 0,38$$

$p=0,38 < 0,41$  – лейкоплакия СОР

Вероятность (p) отнесения данного случая к группе «плоскоклеточный рак» равняется 0,38, при пороге отсечения в 0,41.

Таким образом, результат логистической регрессии позволяет прогнозировать риск малигнизации лейкоплакии СОР.



Рисунок 22 - Пациентка Л. 55 лет, с проявлениями негетомогенной лейкоплакии на СО щеки и альвеолярном отростке нижней челюсти слева; бляшечная форма веррукозной лейкоплакии, очаг 3,5×1,5 см. (K13.2), стадия III (L2C2)

#### Клинический пример 2.

Пациент Е. 50 лет обратился на кафедру стоматологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России с жалобами на образование в области дна ПР, боль при движении языком, кровоточивость. В анамнезе: работает электромонтёром на предприятии по добычи угля. Стаж курения более 30 лет, периодически употребляет крепкие спиртные напитки.

Status localis: Внешний осмотр без особенностей, кожные покровы телесного цвета. Региональные лимфатические узлы не пальпируются. При ороскопии в

передних отделах дна ПР с переходом на прилежащие ткани определяется опухоль инфильтративно – язвенной формы роста в виде щелевидной язвы (Рисунок 23).

### Зубная формула

П	П	К	И	И	К	К					П	О	П	П	К
8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
О	П	О	П									К	П	П	О

Индекс КПУ=20. Гигиенический индекс ОНI-S по Green-Vermillion составляет 2,0 балл. Индекс зубного налёта по Silness-Loe 1,8 балла. Индекс тяжести гингивита РМА в модификации Parma 42,6 %.

ХТПА в сыворотке крови -78,7 у.е., КПА в сыворотке крови – 140,2 у.е., ХТПА неизменной ткани СОР - 19,43 у.е., ХТПА измененной ткани СОР – 41,44у.е., КПА неизменной ткани СОР – 22,96 у.е., КПА измененной ткани СОР – 78,22 у.е.

Уравнение логистической регрессии:

$$\frac{1}{1 + 2,71^{-(-9,283+0,078*78,7+0,073*78,22)}} = 0,92$$

$p=0,92 > 0,41$  – плоскоклеточный рак ПР

Вероятность (p) отнесения данного случая к группе «плоскоклеточный рак» равняется 0,92, при пороге отсечения в 0,41.



Рисунок 23 - Пациент Ш. 50 лет, с проявлениями плоскоклеточного рака  
 ПР, очаг 25×25 мм; высокодифференцированная плоскоклеточная карцинома дна  
 ПР: (C04.0) T2N0M0

форма веррукозной лейкоплакии, очаг 3,5×1,5 см. (K13.2)

Клинический пример 3.

Пациентка Ю. 35 лет обратилась на кафедру стоматологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России с жалобами на белый налет в области слизистой щеки справа. В анамнезе: работает воспитателем в детском саду, наличие вредных привычек отрицает (со слов пациентки).

Status localis: При внешнем осмотре конфигурация лица не нарушена, кожный покров физиологической окраски без патологических элементов, трети лица пропорциональны. Региональные лимфатические узлы не пальпируются. На СО щеки справа определяется образование однородного белого цвета с плоской поверхностью, не удаляющееся при соскабливании. Пальпация по переходной складке безболезненная (Рисунок 24).

## Зубная формула

	П												П		
8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
П	К													П	П

Индекс КПУ=5. Гигиенический индекс ОНI-S по Green-Vermillion составляет 1,0 балл. Индекс зубного налёта по Silness-Loe 1,8 балла. Индекс тяжести гингивита РМА в модификации Parma 10,2 %.

ХТПА в сыворотке крови – 59,54 у.е., КПА в сыворотке крови - 125,78 у.е. ХТПА неизменной ткани СОР – 17,74 у.е., ХТПА измененной ткани СОР -31,39 у.е., КПА неизменной ткани СОР – 23,88 у.е., КПА измененной ткани СОР – 49,3 у.е.

Уравнение логистической регрессии:

$$\frac{1}{1 + 2,71^{-( -9,283 + 0,078 * 59,54 + 0,073 * 49,3)}} = 0,25$$

$p=0,25 < 0,41$  – лейкоплакия СОР

Вероятность (р) отнесения данного случая к группе «плоскоклеточный рак» равняется 0,25, при пороге отсечения в 0,41.



Рисунок 24 - Пациентка Ю. 35 лет, с проявлениями гомогенной лейкоплакии на СО щеки справа, очаг 4×2 см. (K13.2), стадия III (L3C1)

Материалы данной главы опубликованы в журналах: «Российский стоматологический журнал», «Сибирский онкологический журнал», «Опухоли головы и шеи».

Михалев Д.Е. Роль папилломавирусной инфекции в развитии лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта / Д.Е. Михалев, О.Д. Байдик, М.Р. Мухамедов, М.В. Чебакова, М.К. Ибрагимова // Российский стоматологический журнал. - 2022. - Т. 26. - № 2. - С. 131–136.

Михалев Д.Е. Распространенность и проблемы организации медицинской помощи пациентам с предраковыми заболеваниями слизистой оболочки полости рта (на примере Томской области). / Д. Е. Михалев., О. Д. Байдик., М. Р.Мухамедов, П. Г. Сысолятин // Опухоли головы и шеи. – 2022. – Т.12. - №1. – С. 79–85.

Сиденко Е.А. Активность циркулирующих протеасом при опухолевых и предопухолевых заболеваниях органов головы и шеи. / Сиденко Е.А., Михалев Д.Е., Какурина Г.В., Черемисина О.В., Байдик О.Д., Чойнзонов Е.Л., Кондакова И.В. // Сибирский онкологический журнал. – 2021. – Т.20. - №2. – С.46–52.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из актуальных направлений современной медицины является разработка методов раннего выявления малигнизации ПЗЗ СОР, в связи с сохраняющимся высоким уровнем распространенности, низким уровнем диагностики, сменой типичных клинических паттернов с появлением нетипичных форм поражения.

По данным зарубежных и отечественных исследователей распространенность лейкоплакии СОР среди населения составляет от 0,5% до 3,46%, большинство поражений наблюдается в возрасте старше 50 лет. В структуре заболеваний СОР лейкоплакия составляет 13,2% [24, 97]. Настораживает тот факт, что от 16% до 62% плоскоклеточного рака ПР связаны с уже существующей лейкоплакией, а риск ее малигнизации составляет до 10% [47].

Как показало настоящее исследование, злокачественные заболевания СОР составили 25,7%, доля лейкоплакии составила 12,5%. Суммарная доля ЗНО ПР и ПЗЗ СОР, по результатам проведенного исследования, достигает 34,0%, т.е. треть пациентов с заболеванием СОР имеет риск развития рака или уже развившийся плоскоклеточный рак.

Выявленная высокая распространенность лейкоплакии в структуре заболеваний СОР, наличие гиподиагностики, факторов риска, а также вероятность малигнизации определяют интерес дальнейших исследований данной нозологий. Распространенность в структуре заболеваний СОР и процент распределения по локализации лейкоплакии и ЗНО практически совпадает, что косвенным образом может указывать на связь между данными нозологиями. Стоит отметить, что резкое увеличение случаев лейкоплакии СОР происходит после 45 лет [35]. Данный факт может быть связан наличием большого числа факторов риска у пациентов – употребление жевательного табака, курением в сочетании с патологией желудочно-кишечного тракта и эндокринной систем, что соответствует данным других исследований [35, 124]. Высокий процент диагностических ошибок,



выявление плоскоклеточного рака в половине случаев гиподиагностики актуализируют необходимость формирования более качественного подхода к диагностике лейкоплакии СОР особенно в профессиональной среде врачей-стоматологов. Особое внимание заслуживает недостаточная онконастороженность врачей-стоматологов. Как показывает настоящая работа, к сожалению, онконастороженность в большой степени проявляют сами пациенты.

За проанализированные 5 лет – с 2014 по 2019гг - тревожным фактором является рост ПЗЗ. Несмотря на существование сигнального извещения при подозрении на ЗНО, средний срок ожидания приема врача-онколога пациентами с данной патологией СОР составил  $44,3 \pm 10,0$  дня. Очаги лейкоплакии длительное время не вызывают у пациентов жалоб, в связи с чем продолжительность заболевания до обращения в медицинское учреждение в среднем составила  $14,0 \pm 1,2$  месяцев. Возникают трудности при дифференциации лейкоплакии с началом малигнизации. Таким образом, пациенты обращаются в специализированные учреждения на поздних стадиях, что негативным образом сказывается на результатах лечения и качестве жизни больных. В 2005 г. ВОЗ приняла классификацию заболеваний головы и шеи, в которой появляется понятие «эпителиальный предрак». Заслуживает внимания тот факт, что ПЗЗ СОР, сочетающиеся с диспластическими процессами, имеют очень высокий уровень злокачественной трансформации в рак *in situ* [112]. Вероятность появления ЗНО при легкой или умеренной степени диспластического поражения составляет от 4 до 11% и от 2 до 35% при тяжелых диспластических изменениях. Для малигнизации ПЗЗ с дисплазией СОР необходимо около 3 лет [130].

В связи со сложившейся ситуацией становится актуальным поиск маркеров диагностики и малигнизации лейкоплакии СОР. Одним их подходящих претендентов может быть рассмотрена УПС, функциональной единицей которой является протеасома.

Протеасомы выполняют избирательный протеолиз белков в клетке и играют ключевую роль в таких клеточных процессах, как регуляция клеточного цикла,

пролиферации, неоангиогенеза, апоптоза, развития и метастазирования опухоли. Эти структуры представляют собой мультикаталитические комплексы, содержащие цилиндрическое ядро 20S, которое состоит из четырех гетерогептамерных колец [77]. Два внутренних  $\beta$ -кольца содержат шесть протеолитических центров, где субстраты расщепляются; каждое кольцо обладает каспазоподобной ( $\beta 1$ ), трипсиноподобной ( $\beta 2$ ) и химотрипсиноподобной ( $\beta 5$ ) активностями [20]. Существует целый ряд исследований, показывающих участие протеасом в малигнизации ПЗЖ и в прогрессировании опухолей орорациальной области [71, 87, 98, 106, 155].

Согласно данным проведенного исследования, значение удельной ХТПА циркулирующих протеасом при негомогенной лейкоплакии и плоскоклеточном раке ПР были в 1,76 раза и в 2,27 раза выше относительно группы сравнения. При попарном сравнении признаков наблюдалась статистически значимая разница ХТПА между группами негомогенной ( $p < 0,001$ ) и гомогенной лейкоплакии, негомогенной лейкоплакией и плоскоклеточным раком СОР ( $p = 0,04$ ). Однако при анализе удельной КПА циркулирующих протеасом статистически значимых различий не было выявлено при сравнении исследуемых групп, кроме сравнения группы полоскоклеточного рака СОР и группы сравнения ( $p = 0,04$ ).

Принимая во внимание важную роль протеасомной системы в патогенезе ЗНО, можно допустить, что при опухолевых процессах протеасомы способны секретироваться раковыми клетками во внеклеточное пространство или выходить в циркуляцию при распаде опухолевых клеток [149]. Более того, внеклеточные протеасомы могут появляться при разрушении микрочастиц, образованных в результате мембранного блеббинга. Данный процесс, характеризуется попаданием содержимого цитоплазматической мембраны в мембранные выступы и последующим формированием из активированных клеток везикул, который представляют собой микрочастицы гетерогенного размера от 0,1 мкм до 1 мкм с соответствующим содержимым. Вышеупомянутые структуры, транспортируя различные молекулы, могут выполнять роль мессенджеров между клетками [143,

165]. Циркулирующие протеасомы могут существовать в свободной невезикулярной форме. Протеасомы способны существовать во внеклеточном пространстве, выходя из экзосом. Экзосомами являются микроскопические внеклеточные везикулы диаметром 30–100 нм, секретируемые различными клетками и способные нести генетическую информацию и белковые маркеры, таким образом, они принимают участие в межклеточной коммуникации [32]. Считается, что экзосомы участвуют в презентации антигенов и неклассической секреции белков, в патогенезе болезней, связанных с расстройствами метаболизма, в горизонтальном переносе РНК и белков, транспорте лекарств, облегчают иммунный ответ и играют принципиальную роль в развитии злокачественных опухолей [31, 79, 115]. Этим может быть обусловлено более высокое значение удельной активности циркулирующих протеасом по сравнению с внутриклеточными.

Согласно результатам настоящего исследования, значения удельной ХТПА внутриклеточных протеасом в биоптатах, взятых с патологического очага, в группах гомогенной, негомогенной лейкоплакии и плоскоклеточного рака ПР была в 1,6, 2,38 и 3 раз выше по сравнению с группой сравнения ( $p^2=0,002$ ,  $p^4=0,004$ ,  $p^6 = 0,03$ , соответственно). При этом наблюдались статистически значимые различия ХТПА внутриклеточных протеасом между неизменной тканью и патологическим очагом в группах гомогенной и негомогенной лейкоплакии СОР ( $p^7 < 0,001$ ). Удельная КПА внутриклеточных протеасом в биоптатах взятых с патологического очага в группах гомогенной, негомогенной лейкоплакии и плоскоклеточного рака СОР в 1,5, 2,8 и 3,3 раза выше по сравнению с группой сравнения ( $p^2=0,003$ ,  $p^4=0,012$ ,  $p^8 < 0,001$ , соответственно). При этом наблюдались статистически значимые различия КПА внутриклеточных протеасом между неизменной тканью и патологическим очагом в группах гомогенной и негомогенной лейкоплакии СОР ( $p < 0,001$ ). Однако не было установлено статистически значимых различий в патологическом очаге в группах негомогенной лейкоплакии и плоскоклеточного рака ПР ( $p = 0,19$ ).

Кроме этого, для ХТП и КП активностей было зарегистрировано статистически значимое увеличение в ряду: нормальная СОР – гомогенная лейкоплакия – негомогенная лейкоплакия – плоскоклеточный рак. Продемонстрировано, что при лейкоплакии и плоскоклеточной карциноме ПР медианные значения ХТП, КП активности протеасом выше по сравнению с неизменной тканью внутри исследуемых групп ( $p < 0,001$ ). Кроме этого, при плоскоклеточном раке ПР регистрировался патологический очаг больше 500 мм<sup>2</sup> ( $p < 0,001$ ).

В ряде исследований продемонстрировано, что активность протеасом и ассоциированных с ними протеаз и активаторов была достоверно выше в тканях ПЗЗ и опухолях по сравнению с неизменными тканями [87, 98, 153, 155]. Установлено, что раковые клетки обладают высоким уровнем метаболизма, в сочетании с выраженной пролиферацией и дисрегуляцией большинства клеточных процессов. Протеолитические системы осуществляют деградацию внутриклеточных белков, играющих ключевую роль в поддержании сохранности клеточного протеома [128]. Согласно данным проведенных исследований, в тканях первичных опухолей и в метастазах, поддерживается высокая протеолитическая активность. Вдобавок, при опухолях других локализации: толстая кишка, щитовидная железа, мочевого пузыря, эндометрий, легкие, молочная железа, было зафиксировано значимое увеличение активности протеасом в опухолевой ткани по сравнению с соответствующими неизменными тканями [10, 12, 17, 22]. Однако, при исследовании светлоклеточного рака почки зарегистрировано уменьшение ХТПА активности протеасом. Этот факт исследователи ассоциируют с дефектом убиквитинирования и утратой функциональной активности клеток, которая имеет место при синдроме фон Хиппель-Линдау [23].

Вероятно, увеличение активности протеасом в опухоли по сравнению с неизменными тканями связано с тем, что при опухолевом росте все процессы, происходящие в клетке, очень интенсивны. Опухолевый рост сопровождается нарушением клеточного цикла, усилением пролиферации, ингибированием

апоптоза. Несомненно, чтобы клетке продолжать свое существование, необходимо усилить систему, занимающуюся деградацией выполнившего свою функцию белкового и пептидного материала. При этом может происходить увеличение синтеза протеасомных субъединиц путем регуляции транскрипции генов, изменение на этапе их сборки или изменение качества и количества белков, принимающих участие в контроле протеасом-зависимого протеолиза [64, 107].

Вместе с тем, УПС и протеасомы в частности, участвуют в регуляции апоптоза. Многие ядерные белки, осуществляющие программируемую клеточную гибель, являются субстратами для протеасом: опухолевый супрессор p53, транскрипционные факторы (c-Fos, c-Myc, AP-1), ингибитор NFkB IкB, белки, контролирующие клеточный цикл, белки, контролирующие активность каспаз (IAPs) и участвующие в проведении проапoptического сигнала (cFLIP) белки семейства Bcl-2 [27]. Дальнейшее изучение УПС может способствовать внедрению в клиническую практику прогностических молекулярных маркеров малигнизации ПЗЗ и разработке новых терапевтических мишеней для лечения плоскоклеточного рака ПР.

Таким образом, предложенная логит-модели для оценки риска малигнизации лейкоплакии СОР на основе показателей УПС опирается на обширную научно-доказательную базу и позволяет повысить качество диагностики пациентов с лейкоплакией СОР. Чувствительность предложенного метода составила 94,7 %, специфичность – 82,4 %, безошибочность – 88,9 %. Высокий процент правильно классифицированных случаев показывает, что предложенная модель достоверно характеризует анализируемую выборку.

В последнее время активно изучаются факторы малигнизации ПЗЗ ПР и в частности лейкоплакии. На сегодняшний день существует ряд факторов таких как курение, употребления алкоголя и острой пищи, хроническая травматизация СОР, неудовлетворительное состояние состояние ПР, чья роль в участии в процессах озлокачествления СОР доказана.

В настоящем исследовании было установлено, что стоматологический статус пациентов с лейкоплакией СОР характеризует высокий уровень интенсивности кариеса (индекс КПУ 22,0 [18,5; 26,0]). Возможно данный факт связан с возрастом исследуемой группы и проживанием в регионе с недостаточным количеством фтора в питьевой воде. Удовлетворительная гигиеной ПР (индекс ОНI-S 1,2 [1,0; 1,5]), незначительные отложения зубного налёта (индекс Silness-Loe 1,5 [1,2; 1,8]) и легкая степень интенсивности воспалительных заболеваний пародонта (индекс 10,2 [6,9; 16,4]) свидетельствуют о высокой мотивации пациентов к поддержанию гигиены ПР.

Напротив, стоматологический статус пациентов с плоскоклеточным раком ПР характеризуется высоким уровнем интенсивности кариеса (индекс КПУ 24,0 [19; 28,8]), значительными отложениями зубного налёта (индекс Silness-Loe 2,2 [2,0; 2,9]), что сопровождается неудовлетворительной гигиеной ПР (индекс ОНI-S 2,0 [1,5; 2,0]) и средней интенсивностью воспалительных заболеваний пародонта (индекс РМА 44,9 [26,7; 69,1]). Вероятно, полученные результаты в некоторой степени обусловлены дискомфортом или болью из-за злокачественного процесса при проведении ежедневной гигиены ПР. Скорей всего эти пациенты изначально имели низкую мотивацию к поддержанию приемлемого уровня гигиены ПР.

Согласно проведенным исследованиям, заболевания пародонта являются риском развития рака головы и шеи, у данных пациентов риск возникновения карцином данной области в 2,6 раза выше и на 60% выше у людей, которые по различным причинам теряют более 6 зубов [165, 166]. Риск развития плоскоклеточной карциномы ПР на 42% выше у людей, пользующихся зубными протезами и в 4 раза выше у пациентов с неподходящими протезами [89].

В последние годы большое внимание уделяется изучению роли ВПЧ ПР в инициировании злокачественных процессов. Целый ряд исследований показали присутствие ДНК ВПЧ в плоскоклеточном раке и ПЗЗ СОР [36, 70, 95, 105, 126, 127, 141]. Однако эти работы имеют большую изменчивость в распространенности вируса от 0% до 100%, что может быть оправдано несколькими факторами:

методами сбора и сохранения образцов; чувствительность метода обнаружения вируса, риск повторного заражения ранее амплифицированным материалом, демографические и культурные особенности популяции, регион проведения, различиями в этнической принадлежности, размере выборки обследованных субъектов, а также в неправильном группировании вместе различных поражений из разных анатомических локализаций СО [70, 111].

В настоящее время многие исследователи выделяют ВПЧ-ассоциированные опухоли в отдельную нозологическую единицу ввиду того, что они обладают характерными морфологическими признаками: дольчатая форма клеточного роста, инфильтрирующие лимфоциты, гиперхроматиновое ядро, скудная цитоплазма и высокая митотическая активность опухолевых клеток. С точки зрения прогноза, пациенты с ВПЧ-позитивным плоскоклеточным раком ПР имеют лучшую общую двухлетнюю выживаемость и более низкий риск прогрессирования заболевания, чем при ВПЧ негативных опухолях. Несмотря на большие разногласия в прогнозах, большинство исследований, как правило, указывают на то, что ВПЧ ассоциированный рак имеет повышенную выживаемость, лучшие показатели ответа на лечение, более низкий риск смерти и более низкий риск рецидива [4].

В проведенном исследовании доля ВПЧ-ассоциированного плоскоклеточного рака СОР составила 15,7% ( $p = 0,09$ ) с преимущественной локализацией на языке, при этом были обнаружены ВПЧ 6 и 11 типов низкого онкологического риска с малозначимой клинической нагрузкой. Однако, несмотря на это, статистически значимой связи между ВПЧ и плоскоклеточным раком СОР не было обнаружено. Подобные результаты были получены в исследовании [117], проведенным 2015 году. В отдельных работах сообщалось о более высокой экспрессии ВПЧ при плоскоклеточном раке СОР и возможной связи между ними [36, 95, 105, 140].

Согласно исследованиям ВПЧ способствует трансформации опухоли в высокую степень дифференцировки, но в проведенном исследовании ВПЧ

регистрировался еще и в опухолях средней и низкой степени дифференцировки [41].

В настоящем исследовании не было обнаружено ВПЧ ни высокого, ни низкого онкологического риска в группе лейкоплакии и нормальной СОР. Полученные результаты согласуются с другими проведенными исследованиями [116, 162], однако существуют работы, показывающие наличие ВПЧ при ПЗЗ СОР [180]. Более того, установлена связь между ВПЧ-инфекцией и ПЗЗ и ЗНО ПР. Поскольку онкобелки Е6 и Е7 ВПЧ высокого онкологического риска обладают способностью опосредовать карциноматозную трансформацию инфицированных кератиноцитов путем инактивации клеточных путей супрессоров опухолей p53 и Rb [121], ВПЧ может играть ключевую роль в иницировании опухолевого процесса.

Таким образом, выявленные диагностические ошибки, клинимолекулярные особенности, применение расширенной диагностики на стоматологическом приёме и прогнозирование рисков малигнизации лейкоплакии СОР обеспечили повышение качества и усовершенствование диагностики пациентов с проявлениями лейкоплакии СОР. Полученные результаты исследования позволили считать, что поставленная в работе цель была достигнута.



## ВЫВОДЫ

1. Доля лейкоплакии в структуре заболеваний слизистой оболочки рта составляет 12,5%. Очаги лейкоплакии преимущественно располагались на языке (30,6%), нижней губе (23,7%), дне полости рта (18,0%), на десне (15,5%). Реже лейкоплакия встречалась на небе (8,2%) и щеках (4,0%). Гомогенная лейкоплакия встречалась в 66% случаев, негомогенная лейкоплакия – в 34%. Среднегодовой темп прироста данной патологии составил 23,54%. В 22% случаев из общего количества пациентов с лейкоплакией слизистой оболочки рта диагноз был выставлен ошибочно. В половине случаев ошибочно поставленного диагноза лейкоплакии (10,2%) выявлялся плоскоклеточный рак полости рта.
2. Химотрипсинподобная активность циркулирующих и внутриклеточных протеасом и каспазоподобная активность внутриклеточных протеасом при лейкоплакии слизистой оболочки рта была выше, чем в группе добровольцев с клинически здоровой слизистой оболочкой рта ( $p < 0,001$ ), но ниже, чем при плоскоклеточном раке полости рта ( $p < 0,001$ ). При исследовании каспазоподобной активности циркулирующих протеасом статистически значимости между группами не было обнаружено ( $p = 0,26$ ).
3. Гомогенная лейкоплакия слизистой оболочки рта связана с более низкими значениями удельной химотрипсинподобной активности циркулирующих и внутриклеточных протеасом и меньшим размером очага поражения (менее  $500 \text{ мм}^2$ ) по сравнению с негомогенной лейкоплакией и плоскоклеточным раком.
4. В результате проведенного исследования не было выявлено статистически значимой связи между наличием вирусом папилломы человека и лейкоплакией слизистой оболочки рта.
5. Логистическая модель прогнозирования риска малигнизации лейкоплакии слизистой оболочки рта на основе удельной химотрипсинподобной активности циркулирующих протеасом и каспазоподобной активности

внутриклеточных протеасом позволяет с высокой долей вероятности прогнозировать риск развития плоскоклеточного рака полости рта AUC = 94,7 (чувствительность – 94,1 %, специфичность - 89,5 %).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные данные об особенностях клинической картины и качестве лечебно-диагностической помощи пациентам с лейкоплакией слизистой оболочки рта могут быть приняты во внимание при планировании диагностической и лечебной работы органами управления здравоохранения.
2. Высокий уровень интенсивности кариеса, значительные отложения зубного налёта с неудовлетворительной гигиеной полости рта и формирование очага лейкоплакии более 500 мм<sup>2</sup> должны рассматриваться как критерии высокого риска малигнизации практикующими врачами.
3. Продемонстрированная в ходе исследования хорошая диагностическая информативность химотрипсинподобной активности циркулирующих и каспазоподобной активности внутриклеточных протеасом в качестве молекулярных признаков малигнизации лейкоплакии позволяет рекомендовать эти маркеры для использования стоматологами в качестве критериев оценки риска озлокачествления.
4. Разработанная логит-модель прогнозирования риска малигнизации лейкоплакии слизистой оболочки рта может быть использована практикующими врачами для оценки вероятности озлокачествления и своевременного диагностирования плоскоклеточного рака полости рта на ранних стадиях.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения

ВПЧ – вирус папилломы человека

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДИ – доверительный интервал

ЗНО – злокачественное новообразование

Индекс ОНІ-S – индекс гигиены ПР

Индекс РМА – папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс

КПА – каспазоподобная активность

КП - каспазоподобная

МКБ - международная классификация болезней

НИИ - научно-исследовательский институт

НИМЦ - национальный исследовательский медицинский центр

ОГАУЗ - областное государственное автономное учреждение здравоохранения

ОКТ - оптическая когерентная томография

ПЗЗ – потенциально злокачественные заболевания

ПКПР - плоскоклеточный рак ПР

ПР – полость рта

РНК - рибонуклеиновая кислота

СО – слизистая оболочка

СОР – слизистая оболочка рта

ТГ - толуидиновый голубой

УПС – убиквитин-протеасомная система

ХРАС – хронический рецидивирующий афтозный стоматит

ХТПА – химотрипсин-подобная активность

ХТП – химотрипсин-подобная

APC- anaphase-promoting complex, (комплекс стимуляции анафазы)

API - индексом аппроксимального налета

CDK - cyclin-dependent kinases (циклинзависимые киназы)

CIS – cancer in situ

GBI - индекс кровоточивости десен

LOH - loss of heterozygosity (потеря гетерозиготности)

m – ошибка среднего

M – среднее значение

Me – медиана

MHC - major histocompatibility complex (главный комплекс гистосовместимости)

MMP - matrix metalloproteinase (матриксные металлопротеиназы)

n – число наблюдений

p – уровень статистической значимости

Q1 и Q3 – первый и третий квартили

SD – стандартное отклонение

SIN - squamous intraepithelial neoplasia (плоскоклеточная интраэпителиальная неоплазия)

TIMP - tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гажва С.И. Повышение эффективности ранней диагностики заболеваний слизистой оболочки рта / С. И. Гажва, Н. А. Котунова // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – №5. – С. 110-110.
2. Гилева О.С. Консервативно-профилактическая стоматология: современные тренды развития // Пермский медицинский журнал. – 2018. – Т.35, №6. – С.61-71.
3. Гилева О.С. Предраковые заболевания в структуре патологии слизистой оболочки полости рта / О.С. Гилева, Т.В. Либик, А.А. Позднякова, Л.Я. Сатюкова // Проблемы стоматологии. – 2013. – №2. – С.3-9.
4. Дворянинова О.Ю. Клинические аспекты ВПЧ-позитивного рака полости рта и ротоглотки / О.Ю. Дворянинова, Е.Л. Чойнзонов, Н.В. Литвяков // Вестник оториноларингологии. – 2016. – Т.81, №1. С.72–77.
5. Зайкова Ю.Я. Сравнительный анализ вне- и внутриклеточных протеасом клеток человека линии K562 / Ю.Я. Зайкова, В.А. Куличкова, Ю.Б. Ермолаева, Л.Н. Гаузе, А.С. Цимоха // Цитология. – 2011. – №6. – С.459–465.
6. Зайкова Ю.Я. Характеристика внеклеточных протеасом и ассоциированных с ними белков методом iTRAQ-масс-спектрометрии / Ю.Я. Зайкова, В.А. Куличкова, Ю.Б. Ермолаева, А. Боттрилл, Н.А. Барлев, А.С. Цимоха // Цитология. – 2013. – №2. – С.111–122.
7. Заркумова А.Е. Структура заболеваемости слизистой оболочки полости рта // Вестник КазНМУ. – 2017. – №3. – С. 166-173.
8. Золотарева О.В. Анализ диагностики гиперплазий слизистой оболочки полости рта в современных условиях / О.В. Золотарева, И.В. Духанина // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №.3. – С.185-185.

9. Иванова Э.В. Роль убиквитин-протеасомной системы в патогенезе рака желудка / Э.В. Иванова, И.В. Кондакова, О.В. Черемисина, С.Г. Афанасьев // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – №5. – С.64-71.
10. Иванова Э.В. Химотрипсинподобная активность протеасом и общая активность кальпаинов при раке желудка и толстой кишки / Э.В. Иванова, И.В. Кондакова, Л.В. Спирина [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т.157, №6. – С. 753-756.
11. Ивина А.А. Клинико-морфологические особенности лейкоплакии слизистой оболочки рта / А.А. Ивина, В.Э. Родионов, И.И. Бабиченко // Архив патологии. – 2020. – Т.82, №4. – С.79-83.
12. Колегова Е.С. Малые белки теплового шока и убиквитин-протеасомная система при злокачественных опухолях / Е.С. Колегова, И.В. Кондакова, А.А. Завьялов // Вопросы онкологии. – 2016. - №3. - С. 401-405.
13. Луцкая И.К. Структура заболеваний слизистой оболочки полости рта взрослого населения на стоматологическом приеме / И.К. Луцкая, О.Г. Зиновенко, И.В. Черноштан // Современная стоматология. – 2018. – №1. – С.43-46.
14. Межевикина Г.С. Современные методы диагностики предраковых и раковых изменений слизистой оболочки рта / Г.С. Межевикина, Е.А. Глухова // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2018. – Т.6, №4. – С.600-606.
15. Михальченко А.В. Особенности структуры заболеваний слизистой оболочки полости рта у жителей Волгограда и Волгоградской области / А.В. Михальченко, Е.А. Медведева, Д.В. Михальченко // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2016. – №1. С.3–7.
16. Рабинович О.Ф. Клиника, диагностика и лечение различных форм лейкоплакии / О.Ф. Рабинович, Е.С. Абрамовас, А.А. Тогонидзе // Стоматология. – 2014. – Т.93, №5. – С.75-81.

17. Родоман Г.В. Новый тест дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей щитовидной железы / Г.В. Родоман, И.Р. Сумеди, Т.И. Шалаева [и др.] // Лечебное дело. – 2015. – №3. – С.72–76.
18. Седова Т.Г. Клинические и морфологические особенности лейкоплакии в Пермском регионе / Т.Г. Седова, А.Н. Хлебникова // Альманах клинической медицины. – 2018. – №4. – С.347-354.
19. Семкин В.А. Лейкоплакия: клинический и патоморфологический диагноз / В.А. Семкин, О.Ф. Рабинович, И.И. Бабиченко, А.А. Безруков // Стоматология. – 2017. – Т.96, №1. – С.72-76.
20. Сорокин А.В. Протеасомная система деградации и процессинга белков / А.В. Сорокин, Е.Р. Ким, Л.П. Овчинников // Успехи биологической химии. – 2009. – №49. – С.3–76.
21. Сорокин А.В. Протеасомная система деградации и процессинга белков / А. В. Сорокин, Е.Р. Ким, Л.П. Овчинников // Успехи и процессинга биологической белков химии. – 2009. – Т.49. – С.3–76.
22. Спирина Л.В. Активность протеасом и их субъединичный состав при гиперпластических процессах и раке эндометрия / Л.В. Спирина, И.В. Кондакова, Л.А. Коломиец [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2011. – Т.4. – С.64-68.
23. Спирина Л.В. Влияние таргетной терапии на содержание транскрипционных, ростовых факторов, протеинкиназы mTOR и активности внутриклеточных протеиназ у больных диссеминированным раком почки / Л.В. Спирина, Е.А. Усынин, И.В. Кондакова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т.160, №12. – С.768-772.



24. Старикова И.В. Распространенность лейкоплакии в структуре заболеваний слизистой оболочки полости рта / И.В. Старикова, Т.С. Дибцева, О.В. Гордеева, А.И. Иваненко // *Colloquium-Journal*. – 2018. – Т.7, №18. – С.23-24.
25. Стрюк Р.И. Взаимосвязь соматической патологии с заболеваниями слизистой оболочки полости рта и зубочелюстной области // *Cathedra*. – 2008. – Т.7, №2. – С.52-55.
26. Тогонидзе А.А. Оптимизация диагностики и лечения лейкоплакии слизистой оболочки рта: Дис. ... канд. мед. наук. М. 2015. Ссылка активна на 15.09.16. Доступно по: [http://www.cniis.ru/downloads/dis/dis\\_Togonidze.pdf](http://www.cniis.ru/downloads/dis/dis_Togonidze.pdf)
27. Цимоха А.С. Протеасомы: участие в клеточных процессах // *Цитология*. – 2010. – Т.52, №4. – С.277–300.
28. Чойнзонов Е.Л. Прогностическая значимость определения активности протеасом в тканях плоскоклеточных карцином головы и шеи / Е.Л. Чойнзонов, Л.В. Спирина, И.В. Кондакова [и др.] // *Сибирский научный медицинский журнал*. – 2014. – Т.34, №4. – С.103-108.
29. Шарова Н.П. Множественные формы протеасом как объекты для разработки новых противоопухолевых лекарств / Н.П. Шарова, Т.М. Астахова, Я.Д. Карпова [и др.] // *Онкохирургия*. – 2011. – Т.3, №2. – С.37–42.
30. Шашова Е.Е. Протеасомная и кальпаиновая протеолитические системы при различных молекулярных подтипах рака молочной железы / Е.Е. Шашова, А.В. Дорошенко, Л.Н. Бондарь [и др.] // *Сибирский онкологический журнал*. – 2017. – №3. – С.33-39.
31. Штамм Т.А. Получение и анализ экзосом, секретируемых злокачественно трансформированными клетками человека в системах *in vitro* / Т.А. Штамм, С.Н. Нарыжный, С.Б. Ланда [и др.] // *Цитология*. – 2012. – Т.54, №5. – С.430–438.
32. Юнусова Н.В. Протеасомы и экзосомы при раке яичников: связь с особенностями клинического течения и прогнозом / Н.В. Юнусова, И.В.

Кондакова, Л.А. Коломиец, С.В. Молчанов // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – №4. – С.53–59.

33. Юнусова Н.В. Экспрессия и активность протеаз при метастазировании рака яичников / Н.В. Юнусова, Л.В. Спирина, И.В. Кондакова [и др.] // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2014. – №5. – С.448-455.

34. Abidullah M. Leukoplakia - review of a potentially malignant disorder / M. Abidullah, G. Kiran, K. Gaddikeri, S. Raghoji, T.S. Ravishankar // Journal of Clinical and Diagnostic Research. – 2014. – Т.8, №8. – С.1-4.

35. Aggarwal N. Leukoplakia - Potentially Malignant Disorder of Oral Cavity - a Review / N. Aggarwal, S. Bhateja // Biomedical Journal of Scientific and Technical Research. – 2018. – Т.4, №5. – С.4219- 4226.

36. Alahakoon P.K.D.P.P. Human papillomavirus (HPV) associated oral cavity and oropharyngeal cancers: Cross-sectional follow-up study in South Asian country, Sri Lanka / P.K.D.P.P. Alahakoon, K.A. Perera, W.S. Pannala // Annals of Oncology. – 2018. – Т.29.

37. Allison E.H. The Human Relationship with Our Ocean Planet. / E.H. Allison, J. Kurien, Y. Ota [et al.] // Washington, DC: World Resources Institute. - 2020. - <https://oceanpanel.org/blue-papers/HumanRelationshipwithOurOceanPlanet>

38. Vallecillo-Capilla M. Andalusian population sample (Spain) / M. Vallecillo-Capilla, M.N. Romero-Olid, M.V. Olmedo-Gaya [et al.] // Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal. – 2007. – Т.12, №7. – С.518-523.

39. Arians N. Overexpression of p16INK4a Serves as Prognostic Marker in Squamous Cell Vulvar Cancer Patients Treated With Radiotherapy Irrespective of HPV-Status / N. Arians, E.S. Prigge, T. Nachtigall [et al.] // Frontiers in Oncology. – 2019. – №9. – С.891.

40. Arizmendi-Izazaga A. Metabolic Reprogramming in Cancer: Role of HPV 16 Variants / A. Arizmendi-Izazaga, N. Navarro-Tito, H. Jiménez-Wences [et al.] // *Pathogens*. – 2021. – №10. – C.347-349.
41. Bano N. The role of NF- $\kappa$ B and miRNA in oral cancer and cancer stem cells with or without HPV16 infection / N. Bano, M. Yadav, D. Mohania, B.C. Das // *PLOS One*. – 2018. – T.13, №10. – C.e0205518.
42. Bassermann F. The ubiquitin proteasome system - implications for cell cycle control and the targeted treatment of cancer / F. Bassermann, R. Eichner, M. Pagano // *Biochimica et biophysica acta*. – 2014. – T.1843, №1. – C.150–162.
43. Bhoopathi V. Low positive predictive value of the oral brush biopsy in detecting dysplastic oral lesions / V. Bhoopathi, S. Kabani, A.K. Mascarenhas // *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. – 2009. – T.115, №5. – C.1036-1040.
44. Bochmann I. T lymphocytes export proteasomes by way of microparticles: a possible mechanism for generation of extracellular proteasomes / I. Bochmann, F. Ebstein, A. Lehmann [et al.] // *Journal of cellular and molecular medicine*. – 2014. – T.18, №1. – C.59–68.
45. Borg N.A. Ubiquitin in cell-cycle regulation and dysregulation in cancer / N.A. Borg, M.D. Vishva // *Annual Review of Cancer Biology*. – 2017. – №1. – C.59–77.
46. Brouns E.R. The relevance of uniform reporting in oral leukoplakia: definition, certainty factor and staging based on experience with 275 patients / E.R. Brouns, J.A. Baart, E. Bloemena [et al.] // *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*. – 2013. – T.18, №1. – C.19-26.
47. Bugshan A. Oral squamous cell carcinoma: metastasis, potentially associated malignant disorders, etiology and recent advancements in diagnosis. / A. Bugshan, I. Farooq // *F1000Res*. – 2020. - T.2, №9. – C.229-231.

48. Bui T.C. Prevalence of and risk factors for oral human papillomavirus infection with multiple genotypes in the United States / T.C. Bui, L.T. Tran, T.N. Thai [et al.] // *Sexually Transmitted Diseases*. – 2017. - T.201, №44(3). C.166–172.
49. Bui T.C. Self-reported oral health, oral hygiene, and oral HPV infection in at-risk women in Ho Chi Minh City, Vietnam / T.C. Bui, L.T. Tran, C.M. Markham [et al.] // *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. – 2015. – T.120, №1. – C.34-42.
50. Bzhalava Z. Transcription of human papillomavirus oncogenes in head and neck squamous cell carcinomas / Z. Bzhalava, L.S. Arroyo Mühr, J. Dillner // *Vaccine*. – 2020. – T.38, №25. – C.4066–4070.
51. Carrard V.C. A clinical diagnosis of oral leukoplakia; A guide for dentists / V.C. Carrard, I. van der Waal // *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*. – 2018. – T.23, №1. – C.59-64.
52. Cascio P. PA28 $\alpha\beta$ : the enigmatic magic ring of the proteasome? // *Biomolecules*. – 2014. – №4. – C.566–584.
53. Cerqueira J.M. Malignant transformation of oral leukoplakia: a multicentric retrospective study in Brazilian population. / J.M. Cerqueira, F.S. Pontes, A.R. Santos-Silva [et al.] // *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*. – 2021. – T.26, №3. - C.292-298.
54. Chaturvedi A.K. Oral Leukoplakia and Risk of Progression to Oral Cancer: A Population-Based Cohort Study / A.K. Chaturvedi, N. Udaltsova, E.A. Engels [et al.] // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2020. – T.112, №10. – C.1047-1054.
55. Chen S.H. New Insights Into Oral Squamous Cell Carcinoma: From Clinical Aspects to Molecular Tumorigenesis / S.H Chen., S.Y. Hsiao., K.Y. Chang., J.Y. Chang // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2021 T.22, №5. – C. 2252-2255.

56. Christensen N.D. HPV disease transmission protection and control // *Microbial Cell*. – 2016. – T.3, №9. – C.476–490.
57. Cowpe J.G. Quantitative cytology of oral smears. A comparison of two methods of measurement / J.G. Cowpe, M.W. Green, G.R. Ogden // *Analytical and quantitative cytology and histology*. – 1991. – T.13, №1. – C.11-15.
58. Dalla Torre D. The correlation between the quality of oral hygiene and oral HPV infection in adults: a prospective cross-sectional study / D. Dalla Torre, D. Burtscher, E. Sölder, M. Rasse, W. Puelacher // *Clinical Oral Investigations*. – 2019. – T.23, №1. – C.179-185.
59. de la Cour C.D. Human papillomavirus prevalence in oral potentially malignant disorders: Systematic review and meta-analysis / C.D. de la Cour, C.D. Sperling, F. Belmonte, S. Syrjänen, S.K. Kjaer // *Oral Diseases*. – 2021. – T.27, №3. – C.431-438.
60. Dhanuthai K. A multicenter study. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal* / K. Dhanuthai, S. Rojanawatsirivej, W. Thosaporn [et al.] // *Oral cancer*. – 2018. – T.23, №1. – C.23-29.
61. Dost F. A retrospective analysis of clinical features of oral malignant and potentially malignant disorders with and without oral epithelial dysplasia / F. Dost, K.A. Lê Cao, P.J. Ford, C.S. Farah // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology*. – 2013. – №116. – C.725-733.
62. D'Souza G. Understanding personal risk of oropharyngeal cancer: risk-groups for oncogenic oral HPV infection and oropharyngeal cancer / G. D'Souza, T.S. McNeel, C. Fakhry // *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2017 – T.28, №12. –C.3065-3069.
63. Ge S. Fan Prevalence of and related risk factors in oral mucosa diseases among residents in the Baoshan District of Shanghai, China / S. Ge, L. Liu, Q. Zhou, B. [et al.] // *PeerJ*. – 2020. – T.24, №8. – C.44-48.

64. Gileva O. Oral cancer awareness among aged patients with chronic oral mucosal diseases in Russian Federation / T. Libik, F. Daurova, O. Mudrova, R. Tatiana // BIO Web Conf. – 2020. - T.22, №01027. – C.7-9.
65. Gillenwater A. Oral premalignancy: new methods of detection and treatment / A. Gillenwater, V. Papadimitrakopoulou, R. Richards-Kortum // Current oncology reports. – 2006. – T.8, №2. – C.146-154.
66. Gillison M.L. Human papillomavirus and the landscape of secondary genetic alterations in oral cancers / M.L. Gillison, K. Akagi, W. Xiao [et al.] // Genome Research. – 2019. – T.29, №1. – C.1-17.
67. Glasgow E. Transforming growth factor-beta signaling and ubiquitinators in cancer / E. Glasgow, L. Mishra // Endocrine-Related Cancer. – 2008. – №15. – C.59–72.
68. Glick M. Burket's Oral Medicine. 12th ed. People's Medical Publishing House; Shelton, CT, USA: 2015
69. Guimaraes G. Immunoproteasome Subunits Are Required for CD8+ T Cell Function and Host Resistance to Brucella abortus Infection in Mice / G. Guimaraes, M. Gomes, P.C. Campos [et al.] // Infection and immunity. – 2018. – T.86, №3. – C.615-617.
70. Gupta S. Role of human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma and oral potentially malignant disorders: A review of the literature // Indian Journal of Dentistry. – 2015. – T.6, №2. – C.91–98.
71. Harshbarger W. Crystal structure of the human 20S proteasome in complex with carfilzomib / W. Harshbarger, C. Miller, C. Diedrich, J. Sacchettini // Structure. – 2015. – №23. – C.418–424.
72. Ho M.W. The clinical determinants of malignant transformation in oral epithelial dysplasia / M.W. Ho, J.M. Risk, J.A. Woolgar [et al.] // Oral Oncology. – 2012. – №48. – C.969-976.

73. Holmstrup P. Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions / P. Holmstrup, P. Vedtofte, J. Reibel, K. Stoltze // *Oral Oncology*. – 2006. – T.42, №5. – C.461-474.
74. Hu Y. Effects of Betel Quid, Smoking and Alcohol on Oral Cancer Risk: A Case-Control Study in Hunan Province / Y. Hu, R. Zhong, H. Li, Y. Zou // *China. Subst Use Misuse*. – 2020. – T.55, №9. – C.1501-1508.
75. Huang Q. Ubiquitin/proteasome pathway impairment in neurodegeneration: therapeutic implications / Q. Huang, M.E. Figueiredo-Pereira // *Apoptosis: an international journal on programmed cell death*. – 2010. – T.15, №11. – C.1292–1311.
76. Jaber M.A. Oral epithelial dysplasia: clinical characteristics of western European residents / M.A. Jaber, S.R. Porter, P.M. Speight [et al.] // *Oral Oncology*. – 2003. – №39. – C.589–596.
77. Jang H.H. Regulation of Protein Degradation by Proteasomes in Cancer // *Journal of cancer prevention*. – 2018. – T.23, №4. – C.153–161.
78. John P.A. The regulation of cyclin D1 degradation: roles in cancer development and the potential for therapeutic invention // *Molecular Cancer*. – 2007. – №6. – C.24-28.
79. Keller S. Systemic presence and tumor-growth promoting effect of ovarian carcinoma released exosomes / S. Keller, A.K. Konig, F. Marme [et al.] // *Cancer Letters*. – 2009. – T.278, №1. – C.73–81.
80. Khan Z. Detection of survivin and p53 in human oral cancer: correlation with clinicopathologic findings / Z. Khan, R.P. Tiwari, R. Mulherkar [et al.] // *Head and Neck*. – 2009. – T.31, №8. – C.1039-1048. (96)
81. Kollur S. Identification of potential binding pocket on viral oncoprotein HPV16 E6: a promising anti-cancer target for small molecule drug discovery / S. Kollur, R. Momoh, L. Lin [et al.] // *BMC Molecular and Cell Biology*. – 2019 – №.20. – C.30.

82. Kulaberoglu Y. The role of p53/p21/p16 in DNA-damage signaling and DNA repair / Y. Kulaberoglu, R. Gundogdu, A. Hergovich // *Genome Stability*. – 2016. – №243. – C.56-59
83. Kumar S. Oral mucosal disorder-A demographic study / S. Kumar, A. Suhag, A. Narwal [et al.] // *Journal of Family Medicine and Primary Care*. – 2020. – T.9, №2. – C.755-758.
84. Lingen M.W. Adjuncts for the evaluation of potentially malignant disorders in the oral cavity: Diagnostic test accuracy systematic review and meta-analysis-a report of the American Dental Association. / M.W. Lingen, M.P. Tampi, O. Urquhart [et al.] // *The Journal of the American Dental Association*. – 2017. – T.148, № 11. – C.797-813.
85. Lingen M.W. Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer / M.W. Lingen, J.R. Kalmar, T. Karrison, P.M. Speight // *Oral oncology*. – 2008. – T.44, №1. – C.10-22.
86. Liu C.W. Functions of the 19S complex in proteasomal degradation / C.W. Liu, A.D. Jacobson // *Trends in Biochemical Sciences*. – 2013. – №38. – C.103–110.
87. Lub S. Novel strategies to target the ubiquitin proteasome system in multiple myeloma / S. Lub, K. Maes, E. Menu, E. Bruyne, K. Vanderkerken, E. Valckenborgh // *Oncotarget*. – 2016. – T.7, №6. – C.6521–6537.
88. Lyu M.Y. Hospital-based epidemiological and clinical characterisation of the malignant transformation of oral leukoplakia in a Chinese population / M.Y. Lyu, Y.S. Guo, S. Li, D. Yang, H. Hua // *International Dental Journal*. – 2017. – T.67, №4. – C.252–259.
89. Manoharan S. Ill-fitting dentures and oral cancer: A meta-analysis / S. Manoharan, V. Nagaraja, G.D. Eslick // *Oral Oncology*. – 2014. – T.50, №11. – C.1058–1061.
90. Mao I. REGγ, a proteasome activator and beyond? / I. Mao, J. Liu, X. Li, H. Luo // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2008. – №65. – C.3971–3980. (104)



91. Mashberg A. A study of the appearance of early asymptomatic oral squamous cell carcinoma / A. Mashberg, J.B. Morrissey, L. Garfinkel // *Cancer*. – 1973. – T.32, №6. – C.1436-1445.
92. Mashberg A. Early detection, diagnosis, and management of oral and oropharyngeal cancer / A. Mashberg, A.M. Samit // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 1989. – T.39, №2. – C.67-88.
93. Masthan K.M. Leukoplakia: A short review on malignant potential / K.M. Masthan, N.A. Babu, S.L. Sankari, C.J Priyadharsini // *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. – 2015. – T.7, №1. – C.165-166.
94. Melo B.A.C. Human papillomavirus infection and oral squamous cell carcinoma - a systematic review / B.A.C. Melo, L.G. Vilar, N.R. Oliveira [et al.] // *Brazilian journal of otorhinolaryngology*. – 2021. – T.87, №3. – C.346-352.
95. Menezes F.D.S. The emerging risk of oropharyngeal and oral cavity cancer in HPV-related subsites in young people in Brazil / F.D.S. Menezes, M.D.R.D.O. Latorre, G.M.S. Conceição [et al.] // *PLOS One*. – 2020. – T.15, №5. – C.e0232871.
96. Messadi D.V. Diagnostic aids for detection of oral precancerous conditions // *International Journal of Oral Science*. – 2013. – T.5, №2. – C.59-65.
97. Mohammed F. Oral Leukoplakia / F. Mohammed, A. T. Fairozekhan // In: *StatPearls*. [Internet]. - 2022. - C.601-607.
98. Morozov A.V. Proteasomes and Several Aspects of Their Heterogeneity Relevant to Cancer / A.V. Morozov, V.L. Karpov // *Frontiers in Oncology*. – 2019. – T.13, №9. – C.761-765.
99. Mortazavi H. Oral potentially malignant disorders: an overview of more than 20 entities / H. Mortazavi, M. Baharvand, M. Mehdipour // *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*. – 2014. – T.8, №1. – C.6-14.

100. Mortazavi H. Oral White Lesions: An Updated Clinical Diagnostic Decision Tree / H. Mortazavi, Y. Safi, M. Baharvand [et al.] // *Dentistry Journal (Basel)*. – 2019. – T.7, №1. – C.15-19.
101. Mulla M. Impact of Oral Diseases and Conditions on Oral Health-Related Quality of Life: A Narrative Review of Studies Conducted in the Kingdom of Saudi Arabia. / M. Mulla // *Cureus*. – 2021. – T.13, №9. – C. 18358-18360.
102. Mutalik V.S. Oral leukoplakia - is biopsy at the initial appointment a must? / V.S. Mutalik, K.M. Pai, V.G. Naikmasur, K.S. Phaik // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. – 2014. – №8. – C.4-7.
103. Napier S.S. Potentially malignant lesions in Northern Ireland: size (extent) matters / S.S. Napier, C.G. Cowan, T.A. Gregg [et al.] // *Oral Diseases*. – 2003. – №9. – C.129-137.
104. Palaia G. Oral Proliferative Verrucous Leukoplakia: Progression to Malignancy and Clinical Implications. Systematic Review and Meta-Analysis. / G. Palaia, A. Bellisario, R. Pampena, R. Pippi, U. Romeo // *Cancers (Basel)*. – 2021. – T.13, №16. – C.4085.
105. Panneerselvam K. Detection of human papillomavirus 16 and 18 in patients with oral squamous cell carcinoma and potentially malignant oral disorders in South Indian population: A pilot study / K. Panneerselvam, A. Rameshkumar, K. Rajkumar, R. Ramadoss // *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. – 2019. – T.15, №3. C.571-575.
106. Park J. Oral proteasome inhibitor with strong preclinical efficacy in myeloma models / J. Park, E. Park, C.K. Jung [et al.] // *BMC Cancer*. – 2016. – T.24, №16. – C.247-251.
107. Peres M. Oral diseases: a global public health challenge / M. Peres, L. Macpherson, R. Weyant [et al.] // *The Lancet*. – 2019. – T.394, №10194. – C.249-260.

108. Pindborg J.J. Incidence of oral cancer among 30,000 villagers in India in a 7-year follow-up study of oral precancerous lesions / J.J. Pindborg, F.S. Mehta, D.K. Daftary // *Community Dentistry and Oral Epidemiology*. – 1975. – №3. – C.86-88.
109. Prigge E.S. Diagnostic accuracy of p16INK4a immunohistochemistry in oropharyngeal squamous cell carcinomas: a systematic review and meta-analysis / E.S. Prigge, M. Arbyn, M. von Knebel Doeberitz, Reuschenbach // *International journal of cancer*. – 2017. – T.140, №5. – C.1186–1198.
110. Rahimi N. The ubiquitin-proteasome system meets angiogenesis // *Molecular cancer therapeutics*. – 2012. – T.11, №3. – C.538–548.
111. Ramírez-Pérez F.A. The role of human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma // *Plastic and Aesthetic Research*. – 2019. – T.128, №3. – C.273–279.
112. Ranganathan K. Oral epithelial dysplasia: Classifications and clinical relevance in risk assessment of oral potentially malignant disorders / K. Ranganathan, L. Kavitha // *Journal of oral and maxillofacial pathology*. – 2019. – T.23, №1. – C.19-27.
113. Ray J.G. Clinico-epidemiological profile of oral potentially malignant and malignant conditions among areca nut, tobacco and alcohol users in Eastern India: A hospital based study / J.G. Ray, M. Ganguly, B.S. Rao, S. Mukherjee, B. Mahato, K. Chaudhuri // *Journal of Oral and Maxillofac Pathol*. – 2013. – T.17, №1. – C.45-50.
114. Ríordáin R.N. World Workshop on Oral Medicine VI: Patient-reported outcome measures and oral mucosal disease: current status and future direction / R.N. Ríordáin, P. Shirlaw, I. Alajbeg [et al.] // *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. – 2015. – T.120, №2. – C.152-160.
115. Roed-Petersen B. Renstrup G. A topographical classification of the oral mucosa suitable for electronic data processing. Its application to 560 leukoplakias. / B. Roed-Petersen, G. Renstrup // *Acta Odontol Scand*. - 1969. – T.27, №6. – C.681-695.

116. Rupp A.K. Loss of EpCAM expression in breast cancer derived serum exosomes: role of proteolytic cleavage / A.K. Rupp, C. Rupp, S. Keller [et al.] // *Gynecologic Oncology*. – 2011. – T.122, №2. – C.437–446.
117. Saghravanian N. Human Papillomavirus in Oral Leukoplakia, Verrucous Carcinoma, Squamous Cell Carcinoma, and Normal Mucous Membrane / N. Saghravanian, N. Ghazi, Z. Meshkat, N. Mohtasham // *Oman Medical Journal*. – 2015. – T.30, №6. – C.455-460.
118. Saldivia-Siracusa C. Difficulties in the Prognostic Study of Oral Leukoplakia: Standardisation Proposal of Follow-Up Parameters / C. Saldivia-Siracusa, W. A. González-Arriagada. // *Frontiers in Oral Health*. – 2021. - T.2.
119. Sameera A. Molecular detection of human papillomavirus DNA in oral lichen planus patients / A. Sameera, R. Kotikalpudi, R.K. Patel // *Journal of Clinical and Diagnostic Research for doctors*. – 2019. – №13. – C.20-24.
120. Sano D. The molecular mechanism of human papillomavirus-induced carcinogenesis in head and neck squamous cell carcinoma / D. Sano, N. Oridate // *International journal of clinical oncology*. – 2016. – T.21, №5. – C.819-826.
121. Santacroce L. Focus on HPV Infection and the Molecular Mechanisms of Oral Carcinogenesis / L. Santacroce, M. Di Cosola, L. Bottalico [et al.] // *Viruses*. – 2021. – T.13, №4. C.559-563.
122. Savulescu A.F. Proteasome activator 200: the heat is on / A.F. Savulescu, M.H. Glickman // *Molecular and Cellular Proteomics*. – 2011. – T. 10, №5. – C. 110.006890.
123. Schepman K.P. Malignant transformation of oral leukoplakia: a follow-up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia in the Netherlands / K.P. Schepman, E.H. van der Meij, L.E. Smeele, I. van der Waal // *Oral Oncology*. – 1998. №34. – C.270-275.

124. Schliessmann S.S. Acute smoke exposure decreases bronchial extracellular proteasome concentration / S.S. Schliessmann, S. Cicko, J. Thomassen [et al.] // *The European Respiratory Journal*. – 2011. – №38. – C.37-41
125. Seoane J. Artefacts in oral incisional biopsies in general dental practice: a pathology audit / J. Seoane, P.I. Varela-Centelles, J.R. Ramírez, J. Cameselle-Teijeiro, M.A. Romero // *Oral diseases*. – 2004. – T.10, №2. – C.113-117.
126. Serrano B. Epidemiology and burden of HPV-related disease / B. Serrano, M. Brotons, F. Xavier Bosch, L. Bruni // *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. – 2018. – №47. – C.14-26.
127. Shang Q. Association of Human Papillomavirus With Oral Lichen Planus and Oral Leukoplakia: A Meta-analysis / Q. Shang, J. Peng, Y. Zhou, Q. Chen, H. Xu // *The journal of evidence-based dental practice*. – 2020. – T.20, №4. – C.101485.
128. Sharova N. Multiple forms of proteasomes and their role in tumor fate / N. Sharova, L. Zakharova // *Recent Patents on Endocrine Metabolic Immune Drug Discovery*. – 2008. – №2. – C.152–161.
129. Shimizu S. Tumor budding is an independent prognostic marker in early stage oral squamous cell carcinoma: With special reference to the mode of invasion and worst pattern of invasion / S. Shimizu, A. Miyazaki, T. Sonoda [et al.] // *PLOS One*. – 2018. – T.13, №4. – C.0195451.
130. Shirani S. Epithelial dysplasia in oral cavity / S. Shirani, N. Kargahi, S.M. Razavi, S. Homayoni // *Iranian Journal of Medical Sciences*. – 2014. – T.39, №5. – C.406-417.
131. Sijts E.J. The role of the proteasome in the generation of MHC class I ligands and immune responses / E.J. Sijts, P.M. Kloetzel // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2011. – №68. – C.1491–1502.

132. Silverman S. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients / S. Silverman, M. Gorsky, F. Lozada // *Cancer*. – 1984. – №53. – C.563-568.
133. Sixt S.U. Extracellularproteasome in the human alveolar space: a new housekeeping enzyme? / S.U. Sixt, M. Beiderlinden, H.P. Jennissen, J. Peters // *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. – 2007. – T.292, №2. – C.1280–1288.
134. Skaar J.R. Control of cell growth by the SCF and APC/C ubiquitin ligases / J.R. Skaar, M. Pagano // *Current opinion in cell biology*. – 2009. – T.21, №6. – C.816–824.
135. Smith J. Biomarkers in dysplasia of the oral cavity: a systematic review / J. Smith, T. Rattay, C. McConkey, T. Helliwell, H. Mehanna // *Oral Oncology*. – 2009. – T.45, №8. – C.647-653.
136. Spirina L.V. Association of growth factors, HIF1 and NF-κB expression with proteasomes in endometrial cancer / L.V. Spirina, N.V. Yunusova, I.V. Kondakova, [et al.] // *Molecular Biology Reports*. – 2012. – №39. – C.8655–8662.
137. Spirina L.V. Expression of vascular endothelial growth factor and transcription factors HIF-1, NF-kB expression in squamous cell carcinoma of head and neck; Association with proteasome and calpain activities / L.V. Spirina, I.V. Kondakova, E.L. Choyznov [et al.] // *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. – 2013. – T.139, №4. – C.625-633.
138. Sri S. Prevalence of Human Papillomavirus (HPV) 16 and 18 in Oral Malignant and Potentially Malignant Disorders: A Polymerase Chain Reaction Analysis - A Comparative Study / S. Sri, P. Ramani, P. Premkumar [et al.] // *Annals of Maxillofacial Surgery*. – 2021. – T.11, №1. – C.6-11.

139. Sritippho T. Roles of Human Papillomaviruses and p16 in Oral Cancer / T. Sritippho, P. Chotjumlong, A. Iamaroon // *Asian Pacific journal of cancer prevention*. – 2015. – T.16, №15. – C.6193-6200.
140. Sun C.X. Pilot Study into the Association between Oral Health Status and Human Papillomavirus-16 Infection / C.X. Sun, N. Bennett, P. Tran [et al.] // *Diagnostics*. – 2017. – T.7, №1. – C.11-15.
141. Sushma C. Detection of HPV16 in tissues of oral leukoplakia by polymerase chain reaction and p16 immunohistochemistry: A prospective study / C. Sushma, N.P. Birur, A. Suresh [et al.] // *Translational Research in Oral Oncology*. – 2017.
142. Taberna M. Human papillomavirus-related oropharyngeal cancer / M. Taberna, M. Mena, M.A. Pavón [et al.] // *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology*. – 2017. – T.28, №10. – C.2386-2398.
143. Tanaka K. The proteasome: overview of structure and function // *The Proceedings of the Japan Academy, Series B*. – 2009. – №85. – C.12–36.
144. Tang K. Microparticles mediate enzyme transfer from platelets to mast cells: a new pathway for lipoxin A4 biosynthesis / K. Tang, J. Liu, Z. Yang [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2010. – T.400, №3. – C.432–436.
145. Thibaudeau A. A Practical Review of Proteasome Pharmacology / T. A. Thibaudeau, D. M. Smith // *Pharmacological Reviews*. 2019. – T.71, №2. – C.170–197.
146. Tu Y. The ubiquitin proteasome pathway (UPP) in the regulation of cell cycle control and DNA damage repair and its implication in tumorigenesis / Y. Tu, C. Chen, J. Pan [et al.] // *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. – 2012. – T.5, №8. – C.726–738.

147. van der Waal I. Oral leukoplakia; a proposal for simplification and consistency of the clinical classification and terminology / *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*. – 2019. – T.24, №6. – C.799-803.
148. van der Waal I. A modified classification and staging system for oral leukoplakia / I. Van der Waal, K. Schepman, E. van der Meij // *Oral Oncology*. – 2000.- T.36. №3 – C. 264-266.
149. van Zijl F. Initial steps of metastasis: cell invasion and endothelial transmigration / F. van Zijl, G. Krupitza, W. Mikulits // *Mutation research*. – 2011. – T.728, №1. – C.23–34.
150. Vats A. Human papillomavirus E6 and E7: What remains? / A. Vats, O. Trejo-Cerro, M. Thomas, L. Banks // *Tumour virus research*. – 2021. – №11 – C.200213.
151. Vergori A. Oral human Papillomavirus DNA detection in HIV-positive men: prevalence, predictors, and co-occurrence at anal site / A. Vergori, A.R. Garbuglia, P. Piselli [et al.] // *BMC infectious diseases*. – 2018. – T.18, №1. C.25-29.
152. Vieira G.V. Proteases and HPV-Induced Carcinogenesis / G.V. Vieira, F. Somera Dos Santos, A.P. Lepique [et al.] // *Cancers (Basel)*. – 2022 – T.14, №13. – C.3038-3045.
153. Villa A. Leukoplakia-A Diagnostic and Management Algorithm / A. Villa, S.B. Woo // *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. – 2017. – T.75, №4. – C.723-734.
154. Villa A. World Workshop on Oral Medicine VII: Prognostic biomarkers in oral leukoplakia: A systematic review of longitudinal studies / A. Villa, A. Celentano, I. Glurich [et al.] // *Oral Diseases*. – 2019. – №25. – C.64-78.
155. Voutsadakis I.A. Ubiquitination and the ubiquitin - proteasome system in the pathogenesis and treatment of squamous head and neck carcinoma // *Anticancer Research*. – 2013. – T.33, №9. – C.3527-3541.
156. Waldron C.A. Leukoplakia revisited. A clinicopathologic study of 3256 oral leukoplakias / C.A. Waldron, W.G. Shafer // *Cancer*. – 1975. – №36. – C.1386-1392.



157. Wang Z. Involvement of potential pathways in malignant transformation from Oral Leukoplakia to Oral Squamous Cell Carcinoma revealed by proteomic analysis / Z. Wang, X. Feng, X. Liu [et al.] // BMC Genomics. – 2009. – №10. – C.383-386
158. Warnakulasuriya S. Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer / S. Warnakulasuriya, O. Kujan, J.M. Aguirre-Urizar [et al.] // Oral Dis. – 2021. - T.27, № 8. – C. 1862-1880.
159. Warnakulasuriya S. Clinical features and presentation of oral potentially malignant disorders. // Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology. – 2018. – T.125, №6. – C.582-590.
160. Warnakulasuriya S. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa / S. Warnakulasuriya, N.W. Johnson, I. Van der Waal // Journal of Oral Pathology & Medicine. – 2007. – T.36, №10. – C.575-580.
161. Warnakulasuriya S. Malignant transformation of oral leukoplakia: a systematic review of observational studies / S. Warnakulasuriya, A. Ariyawardana // Journal Oral Pathology and Medicine. – 2016. – T.45, №3. – C.155-166.
162. Westrich J.A. Evasion of host immune defenses by human papillomavirus / J.A. Westrich, C.J. Warren, D. Pyeon // Virus Research. – 2017. – №231. – C.21-33.
163. Wu L. Candidal infection in oral leukoplakia: a clinicopathologic study of 396 patients from eastern China / L. Wu, J. Feng, L. Shi [et al.] // Annals of Diagnostic Pathology. – 2013. – T.17, №1. – C.37-40.
164. Yactayo-Alburquerque M.T. Impact of oral diseases on oral health-related quality of life: A systematic review of studies conducted in Latin America and the Caribbean. / M.T. Yactayo-Alburquerque, M.L. Alen-Méndez, D. Azañedo D., D. Comandé, A. Hernández-Vásquez // PLoS ONE. – 2021.- T.16, №.6. C.0252578.

165. Yuan A. Transfer of microRNAs by embryonic stem cell microvesicles / A. Yuan, E.L. Farber, A.L. Rapoport [et al.] // PLOS One. – 2009. – T.4, №3. – C.4722.
166. Zegarelli D.J. Common problems in biopsy procedure // Journal of oral surgery (American Dental Association: 1965). – 1978. – T.36, №8. – C.644-648.