

На правах рукописи

МИХАЛЕВ ДМИТРИЙ ЕВГЕНЬЕВИЧ

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

3.1.7. Стоматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Пермь - 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ректор – доктор медицинских наук Куликов Евгений Сергеевич)

Научный руководитель: доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой стоматологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск)

**Байдик
Ольга Дмитриевна**

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России (г. Нижний Новгород)

**Успенская
Ольга Александровна**

доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Барнаул)

**Токмакова
Светлана Ивановна**

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, 124473, г. Москва, ул. Делегатская, д.20, стр.1 Российская Федерация)

Защита диссертации состоится «___» _____ 2023 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.052.01 при ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26)

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26) и на сайте www.pdma.ru, с авторефератом на сайте www.pdma.ru и vak.minobrnauki.gov.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, доцент

Шулятникова Оксана Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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-Albuquerque 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. Vrouns 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%) в качестве наиболее частых зон поражения (Рабинович О.Ф. и соавт., 2014).

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 исследуется возможность использования показателей внутриклеточных протеолитических систем для оценки риска малигнизации и прогнозирования исхода онкологических заболеваний (Чойнзонов Е.Л. и соавт., 2014; Юнусова Н.В. и соавт., 2014). Таким образом, перспективным направлением для изучения особенностей внутриклеточных протеолитических систем является злокачественная трансформация лейкоплакии СОР, характеризующейся высокой гетерогенностью как в патогенетическом, так и в прогностическом плане. Несмотря на значительное количество фундаментальных и клинических работ по исследованию протеолитических систем, потенциал использования показателей УПС в качестве диагностических и прогностических факторов малигнизации ПЗЗ СОР и, частности, лейкоплакии остается не изученным.

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 функционирования 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. Изучена частота выявления, особенности клинической картины лейкоплакии в общей структуре заболеваний слизистой оболочки рта на территории Томской области.

Изложены положения, существенно расширяющие имеющиеся представления о клинико-молекулярных признаках риска озлокачествления лейкоплакии СОР (площадь очага поражения, локализация, удельная химотрипсин-подобная активность циркулирующих протеасом и удельная каспазоподобная активность протеасом).

Доказана взаимосвязь между убиквитин-протеасомной системой и клинико-морфологическими проявлениями озлокачествившейся лейкоплакии у пациентов возраст от 20 до 80 лет. Доказано отсутствие статистически значимой связи между вирусом папилломы человека и лейкоплакией слизистой оболочки рта.

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. Научные положения диссертации соответствуют шифру паспорта специальности 3.1.7. Стоматология; соответствуют п. 5 – Изучение этиологии, патогенеза, эпидемиологии, методов профилактики, диагностики и лечения заболеваний слизистой оболочки рта; отрасли наук: медицинские науки.

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 исследования. 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).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры стоматологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России «11» января 2023г. (протокол № 10) и научного координационного совета по стоматологии ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России «30» ноября 2022 г. (протокол № 22).

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). Личный вклад автора составляет более 85%.

Публикации. Автор имеет 9 опубликованных работ по теме диссертации, из них 2 статьи из перечня ВАК Минобрнауки РФ (К1); 3 статьи, входящие в базу Scopus, Web of Science (К1, К2). Получен патент РФ на изобретение № 2770354 «Способ дифференциальной диагностики лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой полости рта на дооперационном этапе».

Внедрение результатов исследования в практику. Полученные в процессе выполнения диссертационной работы результаты исследования внедрены в практическую деятельность областного государственного автономного учреждения здравоохранения (ОГАУЗ) «Стоматологическая поликлиника №1» г. Томск (гл. врач - Фёдоров Алексей Геннадьевич), ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» и клиники НИИ онкологии Томского НИМЦ (гл. врач - Грищенко Максим Юрьевич), используются в учебном процессе на кафедре стоматологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (зав. кафедрой – д-р мед. наук, доцент Байдик Ольга Дмитриевна).

Структура и объём диссертационной работы. Диссертация написана на 122 страницах 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы 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., вед. науч. сотр. 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 одноцентровое открытое когортное проспективное с элементами ретроспективного анализа клиническое исследование.

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 ПР - 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.

Критерии включения пациентов в исследование:

- пациент с лейкоплакией или плоскоклеточным раком ПР, диагноз которого верифицирован морфологически;
- возраст от 20 до 80 лет;
- отсутствие у пациента 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-инфекцией, инфекционным гепатитами, а также наличие любых других активных воспалительных заболеваний.

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.

Клиническое обследование пациентов с патологией СОР проводилось врачом-исследователем. Клиническую оценку состояния лица и ПР осуществляли, последовательно выполняя этапы осмотра – экстраоральный и интраоральный. 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). Для оценки состояния гигиены ПР проводили и вычисляли индекс гигиены ПР ОНІ-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 (Oral health surveys: basic methods (2013)).

Регистрация очагов лейкоплакии СОР и плоскоклеточного рака ПР осуществлялась с помощью схемы-топограммы СОР (Roed-Petersen & Renstrup, 1969) для топографирования зон локализации элементов поражения в модификации Гилевой О.С. и соавт. (2008). Для контактной планиметрической оценки очага лейкоплакии СОР использовали миллиметровую бумагу, химический карандаш и белый ластик.

У всех испытуемых (61 человек) проводили забор крови из промежуточной вены локтя утром натощак в две пробирки по 6 мл однократно. ХТП активность циркулирующих протеасом определяют по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-

LLVY-AMC (Sigma), утилизирующегося химотрипсинподобными центрами протеасом. Активированную сыворотку регистрировали на многорежимном микропланшетном ридере-имиджере «Cytation1» (BioTek). Удельную активность протеасом вычисляли в единицах активности на 1 мл сыворотки крови.

В группах лейкоплакии СОР и плоскоклеточного рака ПР однократно производили забор участков слизистой: два фрагмента измененной СО с патологического очага и два фрагмента с видимо здоровой СОР для определения ХТП и КП активностей внутриклеточных протеасом. В группе сравнения также однократно производили забор двух фрагментов клинически здоровой СОР.

ХТП активность протеасом определяли в осветленных гомогенатах участков СО по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-LLVY-AMC (Sigma), утилизирующегося химотрипсинподобными 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). Образовавшийся продукт регистрировали на микропланшетном ридере «Cytation 1» (Bio Teck). Удельную активность протеасом выражали в единицах активности на 1 мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури.

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%.

Все количественные показатели проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Для оценки межгрупповых различий использовали параметрический t-критерия Стьюдента. Для попарного анализа количественных признаков в независимых выборках 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. Для изучения факторов риска и построения прогностических моделей применяли бинарную логистическую регрессию. ROC-анализ использовали и для оценки прогностической способности регрессионной модели.

Статистические расчеты и построение математической модели проводили с использованием пакета прикладных программ SPSS 28.0.1.

Результаты исследования и их обсуждение

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. 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.

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 человек, IV – 21 человека. Среди 66 женщин I стадию диагностировали у 11 пациентов, II степень – у 26, III степень – у 19, IV степень – у 10 пациентов. Таким образом, у мужчин регистрировались обширные 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. наблюдалось увеличение случаев лейкоплакии в 2,4 раза, красного плоского лишая – в 4 раза. Число лиц с диагностированными ЗНО ПР остается относительно постоянным.

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%.

При ретроспективном анализе ошибок было выявлено, что при лейкоплакие, 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.

Выявленная высокая распространенность лейкоплакии в структуре заболеваний СОР, наличие гиподиагностики, факторов риска, а также вероятность малигнизации определяют интерес дальнейших исследований данной нозологии. 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 (Aggarwal N. et al., 2018). 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 исследователей (Aggarwal N. et al., 2018). За проанализированные 6 лет – с 2014 по 2019гг - тревожным фактором является рост ПЗЗ. 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. 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* (Ranganathan K. et al., 2019). 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 (Shirani S. et al., 2014).

Группа лейкоплакии СОР в проспективной части исследования представлена гомогенной и негомогенной лейкоплакией. Среди гомогенной формы преобладала простая (плоская) лейкоплакия - 14 случаев (70 %), негомогенная форма представлена бляшечной формой веррукозной лейкоплакии – 6 случаев (30%). В основном поражения при лейкоплакии располагались на языке - у 8 человек (40%), 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 ПР 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 – 9 человек (47,3%), дно ПР – 4 человека (21%), альвеолярный отросток и десна 3 - человек (15,7%), затем небо - 2 человек (10,5%) и нижняя губа – у 1 человека (5,5%). По стадии дифференцировки чаще всего встречались умеренно-дифференцированные - у 10 человек (52,6%) и высокодифференцированные – у 7 человек (36,8%) опухоли. Низкодифференцированные опухоли встречались в 2 случаях (10,5%).

Оценка стоматологического статуса пациентов с лейкоплакией СОР показала высокий уровень интенсивности кариеса (индекс КПУ 22,0 [18,5; 26,0]) удовлетворительную гигиену ПР (индекс ОНІ-S 1,2 [1,0; 1,5]), незначительные отложения зубного налёта (индекс Silness-Loe 1,5 [1,2; 1,8]) и легкой степенью интенсивности воспалительных заболеваний пародонта (индекс РМА 10,2 [6,9; 16,4]).

Стоматологический статус у пациентов с плоскоклеточным раком ПР также определял высокий уровень интенсивности кариеса (индекс КПУ 24,0 [19; 28,8]), значительные отложения зубного налёта (индекс Silness-Loe 2,2 [2,0; 2,9]), что сопутствует неудовлетворительной гигиене ПР (индекс ОНІ-S 2,0 [1,5; 2,0]) и средней степени интенсивности воспалительных заболеваний пародонта (индекс РМА 44,9 [26,7; 69,1]).

У пациентов в группе сравнения стоматологический статус характеризовался высоким уровнем интенсивности кариеса, (индекс КПУ 21,0 [17,5; 25,0]) удовлетворительной гигиеной ПР (индекс ОНІ-S 1,0 [1,0; 1,5]), незначительными отложениями зубного налёта (индекс Silness-Loe 1,3 [1,0; 1,6]) и легкой степенью интенсивности воспалительных заболеваний пародонта (индекс РМА 6,8 [3,2; 11,5]).

В проведенном исследовании доля ВПЧ-ассоциированного плоскоклеточного рака ПР 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 другими авторами (Saghravarian N. et al., 2015).

В настоящем исследовании не было обнаружено ВПЧ ни высокого ни низкого онкологического риска в группе лейкоплакии и нормальной СОР. Полученные результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями (Westrich J.A. et al., 2017; Rupp A.K. et al., 2011). Более того, установлена связь между ВПЧ-инфекцией и ПЗЗ и ЗНО ПР.

Поскольку онкобелки E6 и E7 ВПЧ высокого онкологического риска обладают способностью опосредовать карциноматозную трансформацию инфицированных кератиноцитов путем инактивации клеточных путей супрессоров опухолей p53 и Rb (Santacrose L. et al., 2021), ВПЧ может играть ключевую роль в иницировании опухолевого процесса.

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 контрольной группой ($p=0,09$).

В настоящее время 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 (Jang H.H. 2018). Два внутренних β -кольца содержат шесть протеолитических центров, где субстраты расщепляются; каждое кольцо обладает каспазоподобной ($\beta 1$), трипсиноподобной ($\beta 2$) и химотрипсиноподобной ($\beta 5$) активностями (Сорокин А.В. и соавт., 2009). Существует целый ряд исследований, показывающих участие протеасом в малигнизации ПЗЗ и в прогрессировании опухолей орофациальной области (Voutsadakis I.A., 2013; Harshbarger W. et al., 2015; Lub S. et al., 2016; Park J. et al., 2016; Morozov A.V. et al., 2019).

Значение удельной ХТП активности 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 ХТП активности между группами негомогенной ($p<0,001$) и гомогенной лейкоплакии и негомогенной лейкоплакией и плоскоклеточным раком СОР ($p=0,04$) (таблица 1). Однако при анализе удельной КП активности циркулирующих протеасом не было выявлено статистически значимых различий при

сравнении исследуемых групп, кроме сравнения группы плоскоклеточного рака ПР и группы сравнения ($p=0,04$).

Таблица 1 - 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	Негомогенная 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], n – число наблюдений

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 (van Zijl F. et al. 2011). 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 (Tanaka K., 2009; Yuan A. et al., 2009).

Значения удельной ХТП активности 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 ($p^2=0,002$, $p^4=0,004$, $p^6 = 0,03$). При этом наблюдалась статистически значимые различия ХТП активность внутриклеточных протеасом между неизменной тканью и патологическим очагом в группах гомогенной и негомогенной лейкоплакии СОР ($p^7<0,001$). Удельная КП активность внутриклеточных протеасом в биоптатах, взятых с патологического очага в группах гомогенной, негомогенной лейкоплакии и плоскоклеточного рака ПР 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 КП активности 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 показателей КП активности в патологических очагах в группах неомогенной лейкоплакии и плоскоклеточного рака ПР ($p^6 = 0,19$) (таблица 2).

Таблица 2 - Флуориметрия внутриклеточных протеасом в исследуемых группах

Активность внутриклеточных протеасом	Группа сравнения n=22	Лейкоплакия СОР n = 20				Плоскоклеточный рак ПР n= 19	
		Омогенная n=12		Неомогенная n=8		Неизменная ткань	Патологический очаг
		Неизменная ткань	Патологический очаг	Неизменная ткань	Патологический очаг		
ХТП активность	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] $p^6 = 0,03$
КП активность	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;29, 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], n – число наблюдений.

Плоскоклеточный рак ПР статистически значимо ($p < 0,01$) связан с более высокими значениями удельной ХТП активности циркулирующих и внутриклеточных протеасом, КП активностью внутриклеточных протеасом и большим размером очага поражения (более 500 мм²) (таблица 3).

Таблица 3 - Клинико-молекулярная характеристика лейкоплакии СОР

Группа		S мм ²	ХТП активность циркулирующих протеасом	ХТП активность внутриклеточных протеасом	КП активность 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	Омогенная 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]
	Неомогенная 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]	90,96 [72,10; 108,87]	42,82 [34,57; 52,68] $p < 0,001$	60,03 [42,52; 103,78] $p < 0,001$

	p<0,001	p<0,001		
--	-------------------	-------------------	--	--

Примечание: значения в формате Me [Q1; Q3]; n – число наблюдений.

Выявлена значимая корреляция между исследуемыми признаками, поэтому для дальнейшего анализа выбраны следующие переменные: ХТП активность циркулирующих протеасом в сыворотке крови и КП активность внутриклеточных протеасом в измененной ткани СОР. Такие показатели как КП активность циркулирующих протеасом в сыворотке крови, ХТП активность внутриклеточных протеасом в неизменной ткани СОР, КП активность внутриклеточных протеасом в неизменной ткани СОР, ХТП активность внутриклеточных протеасом в измененной ткани СОР и площадь очага оказались значительно статистически связаны между собой.

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 отсечение применяли ROC-анализ. Параметры индексной оценки стоматологического статуса не учитывались в статистическом анализе.

Согласно полученным параметрам, наиболее значимое влияние на риск малигнизации лейкоплакии ПР оказывает ХТП активность циркулирующих протеасом, о чем свидетельствует наибольший коэффициент Вальда для этой переменной - 7,348 ($p=0,007$). Менее выраженное влияние на риск малигнизации оказывает КП активность внутриклеточных протеасом в изменённой ткани СОР - 4,028 ($p=0,045$) (Таблица 4).

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 4). Полученное уравнение линейной функции (y) является степенью для основания натурального логарифма (e)

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

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

Таблица 4 - 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	-	-	-

Доля правильных решений для группы пациентов с лейкоплакией СОР составила 94,7 %, для группы с плоскоклеточным раком ПР – 82,4 %. При этом точность диагностики по предложенной математической модели составила 88,9% (Таблица 5).

Таблица 5 - Результаты классификации, полученные по обучающей выборке

Группа	Прогнозируемый диагноз		Процент правильных решений
	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 %.

Предложенная логит-модель 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.

Таким образом, выявленные диагностические ошибки, клинико-молекулярные особенности, применение расширенной диагностики на стоматологическом приёме и прогнозирование рисков малигнизации лейкоплакии СОР обеспечили повышение качества и усовершенствование диагностики пациентов с лейкоплакией СОР.

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 статистической 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 мм²) 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 мм² 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 научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. 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. (Scopus, WoS(ESCI), K1)

2. Михалев Д.Е. Роль папилломовирусной 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. (из перечня ВАК, K1)

3. 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. (Scopus, K1)

4. 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. - №. 3. – С. 267-276. (из перечня ВАК, K1)

5. Сиденко Е.А. Активность циркулирующих протеасом при опухолевых и предопухолевых заболеваниях органов головы и шеи / Е.А. Сиденко, Д.Е. Михалев,

Г.В. Какурина, О.В. Черемисина, О.Д. Байдик, Е.Л. Чойнзонов, И.В. Кондакова // Сибирский онкологический журнал. -2021. - Т. 20. - №. 2. – С. 46–52. (Scopus, K2)

6. Связь вируса папилломы человека с развитием лейкоплакии слизистой оболочки полости рта / Д.Е. Михалев // Сборник материалов конференция с международным участием «По итогам НИР: наука и практика в стоматологии». – Барнаул. – 2022. – Т. 22. - №. 4. – С. 102-105

7. Михалев Д.Е., Байдик О.Д. Распространенность лейкоплакии в структуре заболеваний слизистой оболочки полости рта. / Д.Е. Михалев, О.Д. Байдик // Актуальные проблемы стоматологии: сборник научных трудов по материалам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием под. ред. проф. О.Р. Курбанова. – Махачкала: ИПЦ ДГМУ, 2021. – С. 566-570.

8. Михалев Д.Е. Анализ активностей протеасом в сыворотке крови пациентов с лейкоплакией и плоскоклеточной карциномой полости рта / Д.Е. Михалев, Г.О. Александров // Сборник материалов Всероссийской итоговой 80-ой студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова. – Томск, 2021. - С. 342 -343.

9. Михалев Д.Е. Связь вируса папилломы человека с развитием плоскоклеточной карциномы слизистой оболочки полости рта / Д.Е. Михалев // Сборник материалов Всероссийской итоговой 81-ой студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова. – Томск, 2022. - С. 272 -273.

Сведения об имеющихся изобретениях, патентах

1. Патент РФ № 2770354 на изобретение Способ дифференциальной диагностики лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой полости рта / Михалев Д.Е., Байдик О.Д., Мухамедов М.Р., Чойнзонов Е.Л., Кондакова И.В. - опубл. 15.04.2022. (Заявка №2021115024 от 25.05.2021г.).

Список сокращений и условных обозначений

ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения	СО – слизистая оболочка
ВПЧ – вирус папилломы человека	СОР – слизистая оболочка рта
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота	УПС – убиквитин-протеасомная система
ЗНО – злокачественное новообразование	ХТП – химоотрипсинподобная
КП – каспазоподобная	
МКБ - международная классификация болезней	
НИМЦ - национальный исследовательский медицинский центр	

ПЗЗ – потенциально злокачественные заболевания

ПР – полость рта

Михалев, Д.Е. Совершенствование методов диагностики и прогнозирования онкогенного риска лейкоплакии слизистой оболочки рта [Текст]: автореф... дис. кан. наук / Михалев Дмитрий Евгеньевич; СибГМУ - Томск., 2023. - 23 с : усл. печ. листов 1.