

На правах рукописи



Морозова Виктория Владимировна

**Применение волоконного лазера с длиной волны 1,94 мкм
при хирургическом лечении иммунокомпromетированных пациентов
с гиперкератозами слизистой оболочки рта**

3.1.7. Стоматология

3.2.7. Иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Тарасенко Светлана Викторовна

доктор медицинских наук, профессор РАН,
академик РАН

Свитич Оксана Анатольевна

Официальные оппоненты:

Горбатова Екатерина Александровна – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, кафедра стоматологии, профессор кафедры

Зурочка Александр Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, лаборатория иммунопатофизиологии, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «16» апреля 2026 г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.36 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37, стр. 1 и на сайте организации www.sechenov.ru

Автореферат разослан « » _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент



Дикопова Наталья Жоржевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

По данным ВОЗ патологиями слизистой оболочки рта и страдают более 90 % населения Земли. Из них одну из самых крупных групп составляют факультативные и облигатные предраки, сопровождающиеся гипер- и дискератозами: красный плоский лишай и лейкоплакия, заболеваемость которыми превышала 11% среди обследуемых пациентов, а частота их озлокачествления достигает 17,5% (Amagasa Т. и соавт., 2006, Серикова О.В., 2021). Рак слизистой оболочки рта (СОР) занимает высокое место по распространенности с ежегодным приростом более 380 000 пациентов по всему миру, в Российской Федерации оценочное число новых случаев составляло около 9,7 тыс., а 5-летняя распространённость — около 30,7 тыс. (Global Cancer Observatory, IARC, 2022). Согласно данным международных исследований, проведённых группой учёных во главе с Tony Axell (Швеция), опубликованным еще в 1987 г. в Community Dentistry and Oral Epidemiology, распространённость белых поражений слизистой оболочки рта в общей популяции составляет около 24,8%, при этом частота развития лейкоплакии колеблется в диапазоне от 0,2 до 3,6% по данным команды во главе с профессором Scherpan и описанным в 1996 г. в European Journal of Cancer.

Патогенез лейкоплакии СОР характеризуется длительным процессом хронического воспаления с преобладанием фазы пролиферации, вызывающее нарушение созревания эпителия СОР. Ведущая теория возникновения красного плоского лишая – иммунологическая, согласно этой теории, на фоне увеличения количества Т-лимфоцитов при многолетнем течении заболевания активируется апоптоз базальных клеток эпителия. К эндогенным аспектам этиологии гиперкератозов СОР относятся генетические факторы. С риском развития лейкоплакии связывают экспрессию белков апоптоза p53 и Ki67, к настоящему времени проведено более 35 крупных клинических исследований, в разной степени подтверждающих данную гипотезу. Исследование Zhanget и соавт. (2012) показало, что присутствие LOH в 3p и/или 9p с дополнительным LOH в других локусах (например, в областях 17p или 4q) может привести к более высокому риску развития лейкоплакии СОР, а также одновременное присутствие генотипов GSTM 10 и GSTP0. Таким образом, вопрос о генетической теории возникновения гиперкератозов неоднозначен и требует дальнейшего исследования.

По данным литературы, ключевыми моментами, затрудняющими диагностику и лечение пациентов с гипер- и дискератозами являются: многофакторность природы данной группы заболеваний; несовершенство ранней диагностики; высокий риск озлокачествления; отсутствие

единых стандартов лечения (Al-Mutairi A. и соавт., 2018; Pinto A. и соавт., 2020; Kumari P. и соавт., 2022; Birkeland A. и соавт., 2023).

Хирургическое лечение данной нозологии приводится при неэффективности консервативной терапии, оно включает в себя как традиционное – применение скальпеля, так и современные методы - электрокоагуляция, криодеструкция, лазерные технологии. Традиционный метод хирургического иссечения пораженных фрагментов СОР режущими инструментами по сей день является ведущим, хотя характеризуется рядом недостатков: сниженная визуализация операционного поля из-за кровотечения, травматичность, риск развития интра- и послеоперационного кровотечения, выраженный коллатеральный отек и боль в послеоперационном периоде (Garg и соавт., 2015; Gundlapalle и соавт., 2022; Jeng и соавт., 2023).

Лазерная альтерация тканей все больше привлекает внимание хирургов-стоматологов ввиду ряда преимуществ перед скальпельной: оптимизация визуализации операционного поля во время операции из-за выраженного гемостаза и меньшей травматичности тканей при вмешательстве, снижение риска развития кровотечения, отсутствие или снижение болевого синдрома, уменьшение сроков эпителизации ткани, отсутствие грубых рубцов в послеоперационном периоде (Тарасенко С. В. и соавт., 2020, А.Meisgeier и соавт., 2023; М. Р. Paglioni и соавт., 2025).

Гиперкератотические поражения слизистой оболочки рта характеризуются выраженной клинико-морфологической гетерогенностью, что стимулирует поиск молекулярных маркеров ранней прогностической оценке риска. В патогенезе нарушений кератинизации и развитии гиперкератозов существенную роль играет дисбаланс врожденного иммунитета эпителия, включая цитокиновую регуляцию барьерных поверхностей: интерфероны III типа действуют преимущественно на эпителиальные клетки и модулируют противоиные и иммунорегуляторные механизмы, потенциально влияющие на опухолевую трансформацию. Одновременно DEFB-1 рассматривается как компонент врожденной защиты с противоопухолевыми свойствами в тканях слизистой оболочки рта, изменения его экспрессии описаны в контексте канцерогенеза. В свою очередь, индивидуальная предрасположенность к гиперкератозам слизистой оболочки рта может определяться вариациями генов врожденного иммунитета: TLR9 вовлечен в механизмы канцерогенеза, кроме того, генетические варианты TLR (включая TLR9) связывают с предраковыми состояниями слизистой оболочки рта (Qi Han и соавт., 2014; H. Lazear. и соавт., 2015; Sharma и соавт., 2019; González-Arriagada и соавт.).

Таким образом, представляет интерес повысить эффективность хирургического лечения иммунокомпromетированных пациентов с гиперкератозами СОР путем применения излучения волоконного лазера и иммуногенетического обоснования его применения.

Степень разработанности темы исследования

Гиперкератозы СОР требуют особого внимания в стоматологии, так как в структуре поражений, связанных с нарушением ороговения, они занимают особое место. Существует ряд теорий возникновения гиперкератозов СОР, что представляет интерес в детальном изучении этиологических факторов заболевания и повышении эффективности существующих методов диагностики и лечения. При недостаточной эффективности консервативной терапии целесообразно применять хирургические методы лечения, среди которых особое место в последние годы занимает метод лазерного иссечения пораженной слизистой оболочки, демонстрирующий высокую перспективность при лечении различных стоматологических заболеваний (Тарасенко С. В., Морозова В. В., Степанов М. А. и соавт., 2021).

Обоснованием выполнения практической научной работы является необходимость проведения генетического исследования для выявления связи носительства полиморфизмов генов TLR9, TLR2, IFNGR1 в развитии гиперкератозов СОР и объективная клиническая и иммунологическая оценка сроков и характера сокращения площади и эпителизации послеоперационных ран у пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта, подвергшихся хирургическому лечению с применением волоконного лазера с длиной волны 1940 нм.

Цель и задачи исследования

Цель исследования:

Повышение эффективности хирургического лечения иммунокомпрометированных пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта путем применения излучения волоконного лазера с длиной волны 1940 нм и иммуногенетическое обоснование его применения.

Задачи исследования:

1. Оценить эффективность лечения гиперкератозов слизистой оболочки рта у иммунокомпрометированных пациентов при помощи волоконного лазера с длиной волны 1940 нм в сравнении с группой пациентов, при лечении которых был использован скальпель, путем оценки скорости заживления раневой поверхности, оценки боли и коллатерального отека.

2. Оценить изменения показателей гуморального мукозального иммунитета (дефензинов и цитокинов) у иммунокомпрометированных пациентов в зависимости от метода хирургического лечения.

3. Исследовать ассоциацию полиморфных маркеров rs352140 и rs5743836 в гене *TLR9*, rs5743708 в гене *TLR2* и rs1327474 в гене *IFNGR1* с риском развития гиперкератозов слизистой оболочки рта.

4. Разработать алгоритм применения волоконного лазера с длиной волны 1940 нм при хирургическом лечении гиперкератозов слизистой оболочки рта у иммунокомпрометированных пациентов.

Научная новизна

Впервые разработан метод хирургического лечения пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта с использованием волоконного лазера с длиной волны 1940 нм с иммуногенетическим обоснованием.

Впервые получены и проанализированы данные генетических исследований в целях выявления ассоциации полиморфизма гена *TLR9* с вероятностью развития гиперкератозов слизистой оболочки рта.

Впервые получены данные экспрессии генов *IL-28* и *DEFB1* в динамике после оперативного лечения позволяющие сравнить эффективность лечения.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты диссертационного исследования демонстрируют высокую эффективность применения у пациентов с гиперкератотическими поражениями СОР в качестве инструмента альтерации лазерное излучение волоконного лазера длиной волны 1940 нм как для иссечения образования, так и для формирования коагуляционной пленки на раневой поверхности. Обосновано данными клинических и иммуногенетических исследований в сравнении с использованием скальпеля. Практической стоматологии предложен эффективный научно обоснованный метод хирургического лечения пациентов с гиперкератозами СОР.

В копилку научных достижений добавлены данные иммуногенетических исследований, которые демонстрируют целесообразность определения уровня экспрессии гена *IL-28B* в качестве биомаркера для оценки эффективности хирургического лечения гиперкератозов СОР.

Анализ результатов генетического исследования продемонстрировал, что в качестве подхода к персонализированной комплексной диагностике пациентов необходимо прибегать к генетическому исследованию однонуклеотидных полиморфных маркеров, ассоциированных при гиперкератозах слизистой оболочки рта. Установлено, что генотип ТТ полиморфного маркера

rs352140 гена *TLR9* статистически значимо связан с увеличением риска развития данных патологий.

Методология и методы исследования

В работе использованы современные методики сбора и обработки первичной информации с использованием современных программ статистической обработки данных.

Методология состояла из методов эмпирического, теоретического и обще логического исследования.

Оценка эффективности применения волоконного лазера с длиной волны 1940 нм в лечении пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта базируется на принципах доказательной медицины.

Положения, выносимые на защиту

1) Использование волоконного лазера с длиной волны 1940 нм в сравнении с режущими инструментами способствует повышению эффективности хирургического лечения пациентов с гиперкератотическими поражениями слизистой оболочки рта. Из-за малотравматичного воздействия его применение способствует более благоприятному течению послеоперационного периода, а именно, не вызывает интенсивной боли и выраженного коллатерального отека, при этом сокращаются сроки эпителизации раневой поверхности.

2) Данные экспрессионного исследования гена *IL-28B* у пациентов после проведения хирургического лечения гиперкератозов слизистой оболочки рта показывают, что применение волоконного лазера с длиной волны 1940 нм способствует сокращению сроков течения воспалительного процесса и свидетельствует о менее выраженном воспалении на основании достоверного снижения экспрессии гена *IL-28B* в группе исследования. По результатам проведенного исследования, в качестве биомаркера при оценке метода хирургического лечения гиперкератозов слизистой оболочки рта целесообразно определять экспрессию гена *IL-28B*.

3) Обнаружена взаимосвязь между носительством полиморфизма гена *TLR9* и вероятностью развития гиперкератозов слизистой оболочки рта, что может служить одним из методов скрининга предраковых заболеваний слизистой оболочки рта.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности определяется достаточным количеством клинического и лабораторного материала. Обследовано и пролечено 82 пациента, включенных в исследование по критериям включения, проведены клинические, иммунологические и генетические исследования. Клинические исследования проводили на сертифицированном оборудовании, инструкции к которым описаны во II главе диссертации. Теоретическая основа исследования сформирована на анализе значительного списка отечественных и зарубежных источников. Полученные данные исследований подвергали адекватной статистической обработке с помощью Microsoft Excel пакета Microsoft Office и пакета программ профессионального статистического анализа данных. Полученные результаты проанализированы с применением достаточного статистического анализа, необходимого для получения представлений, отображены в выводах и практических рекомендациях.

Основные положения диссертации изложены и обсуждены на 154 страницах.

Апробация диссертационной работы проведена на основании решения совместного заседания кафедры хирургической стоматологии, кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний, кафедры терапевтической стоматологии, кафедры ортопедической стоматологии Института стоматологии имени Е. В. Боровского и кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика А. А. Воробьева Института общественного здоровья им. Ф. Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Протокол № 3 от 15.09.2025 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практику кафедры хирургической стоматологии Института стоматологии им. Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), включены в лекционный курс и практические занятия обучающихся Института стоматологии им. Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), включены в цикл тематического усовершенствования «Лазерные технологии в хирургической стоматологии» на кафедре хирургической стоматологии Института стоматологии им. Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Личный вклад автора

Научные результаты, обобщенные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно на базе кафедры хирургической стоматологии Института стоматологии имени Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Автор принимал непосредственное участие в обследовании и лечении (n=82) пациентов, из которых 60 вошли в исследование по критериям включения. Автором была проведена сравнительная оценка болевого синдрома и коллатерального отека в динамике на 1, 3, 5, 7 сутки после оперативного вмешательства традиционным методом и методом, предусматривающим применение лазерного излучения волоконным лазером с длиной волны 1940 нм; регистрация сокращения площади раневой поверхности в послеоперационном периоде в динамике на 1, 3, 5, 7, 10, 15 сутки; регистрация сроков эпителизации раневой поверхности в динамике на 3, 5, 7, 10, 15 сутки после проведения оперативного вмешательства традиционным методом и с использованием волоконного лазера; исследование ассоциации полиморфных маркеров rs352140 и rs5743836 в гене *TLR9*, rs5743708 в гене *TLR2* и rs1327474 в гене *IFNGR1* с риском развития гиперкератозов слизистой оболочки рта; исследование экспрессии генов *IL-28B* и *DEFB1* после проведенного оперативного вмешательства. Статистическая обработка данных проведена автором лично.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 8 работ, в том числе 3 научных статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 1 иная публикация по результатам исследования, 4 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежная конференция).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует специальности 3.1.7. Стоматология, области исследований согласно пунктам 3, 5 отрасли наук – медицинские науки.

Диссертация соответствует специальности 3.2.7. Иммунология, области исследований согласно пунктам 2, 3, 5, 6 отрасли наук – медицинские науки.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 3 глав собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы. Диссертация содержит 154 машинописные страницы, 37 таблиц и 44 рисунка. Список литературы включает 168 наименований работ, из них 73 – отечественных и 95 – зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Обследование и хирургическое лечение иммунокомпрометированных пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки полости рта было проведено на базе кафедры хирургической стоматологии Института стоматологии им. Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Все пациенты, включенные в исследование, до начала лечебно-диагностических мероприятий, подписывали добровольное информированное согласие. Проведение настоящего исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), протокол № 01-21 от 22.01.2021.

Проведено обследование 82 пациентов: 52 иммунокомпрометированных пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта и 30 пациентов без признаков гиперкератозов СОР. Из них, по критериям исключения, из исследования выбыло 22 пациента.

По критериям включения в группу исследования вошло 60 пациентов, среди которых 30 пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта, которым было показано хирургическое лечение, и 30 относительно здоровых добровольцев. Возраст пациентов варьируется в пределах $55,3 \pm 6,68$ лет.

Для проведения *клинических* методов исследования путем формирования случайной выборки сформированы две группы: в 1 группу (исследования) вошло 15 пациентов, лечение которых происходило с применением волоконного лазера с длиной волны 1940 нм; во 2 группу (сравнения) вошло 15 пациентов, лечение которых происходило с использованием скальпеля. Пациенты имели одинаковую возможность получить лечение с использованием лазерных технологий и с помощью скальпеля.

Иммунологические исследования проводили аналогично по тем же группам исследования.

Для выявления *иммуногенетических* маркеров гиперкератозов слизистой оболочки рта исследования проводили по двум группам: в 3 группу (исследования) вошло 30 пациентов с клиническим диагнозом МКБ 10 К 13.2 «Лейкоплакия и другие изменения эпителия полости рта» и L 43.0 «Лишай красный плоский»; в 4 группу (контрольную) группу вошло 30 относительно здоровых добровольцев.

Все пациенты группы исследования с гиперкератозами слизистой оболочки рта, подписавшие согласие на проведение хирургического вмешательства, были распределены на две группы методом случайной выборки. Данные о распределении пациентов по полу в группах представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Распределение пациентов по группам исследования по полу

<i>Группа исследования</i>	<i>Мужчин (n,%)</i>	<i>Женщин (n,%)</i>	<i>Всего пациентов</i>
1 группа (исследования)	2 (13,3%)	13 (86,7%)	15 пациентов (25%)
2 группа (сравнения)	11 (73,3%)	9 (16,7%)	15 пациентов (25%)
3 группа (исследования)	8 (26,7%)	22 (73,3%)	30 пациентов (50%)
4 группа (контрольная)	16 (53,5%)	14 (46,7%)	30 пациентов (50%)

Метод хирургического лечения пациентов группы исследования с использованием волоконного лазера с длиной волны 1940 нм. После проведения антисептической обработки полости рта и инфильтрационной анестезии (Рисунок 1А) выполняли иссечение пораженной слизистой оболочки в пределах здоровых тканей сфокусированным лучом волоконного лазера с длиной волны 1940 нм, мощностью 5 Вт в режиме абляции при легком контакте световода со слизистой оболочкой (Рисунок 1Б). Затем раневую поверхность обрабатывали расфокусированным лазерным излучением круговыми движениями световода в режиме коагуляции на расстоянии 1-1,5 см от раны в импульсном режиме мощностью 5 Вт, длительностью импульса 700 мкс, энергией 300 мДж, частотой 20 Гц, временем экспозиции по 15 секунд на каждый 1 см² до момента формирования коагуляционной пленки на поверхности раны и полного гемостаза (Рисунок 1В). Иссеченные участки пораженной слизистой оболочки отправляли на патогистологическое исследование (Рисунок 1).

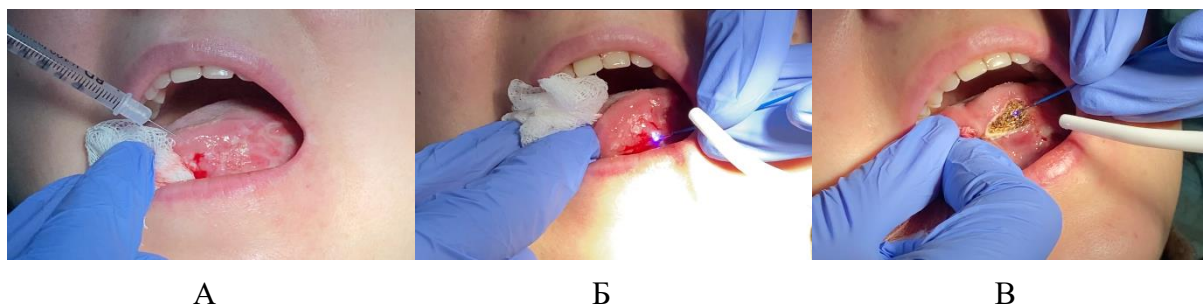


Рисунок 1 – Операция иссечения участка лейкоплакии излучением волоконного лазера:
 А – Проведение инфильтрационной анестезии перед операцией
 Б – Операция иссечения участка лейкоплакии излучением волоконного лазера с длиной волны 1940 нм
 В – Формирование «лазерной повязки» при помощи излучения волоконного лазера

При традиционном методе хирургического лечения пациентов с гиперкератозами СОР иссечение пораженной СОР проводили двумя окаймляющими полулунными разрезами в пределах здоровых тканей скальпелем. раневую поверхность закрывали йодоформным тампоном, фиксированным к тканям послеоперационной области швами. Под йодоформным тампоном заживление проходило вторичным натяжением. Иссеченные участки слизистой оболочки отправляли на патогистологическое исследование.

Первичной конечной точкой исследования являлась оценка сокращения площади раневой поверхности на 3 сутки после операции. Внимание было уделено наличию или отсутствию признаков воспалительного процесса в послеоперационном периоде.

Площадь поражения СОР определяли согласно изменению площади поля по стереометрической формуле площади ортогональной проекции многоугольника на плоскость: $S_{пр} = S_{мн} \cdot \cos \varphi$. Площадь поражения оценивали как круг или эллипс. Размер площади поражения измеряли при помощи штангенциркуля.

Вторичными конечными точками исследования являлись:

- Оценка сокращения площади раневой поверхности в послеоперационном периоде в динамике на 1, 5, 7, 10, 15 сутки. Оценка сроков эпителизации послеоперационной раны в послеоперационном периоде в динамике на 3, 5, 7, 10, 15 сутки;
- Оценка показателей послеоперационной боли в динамике на 1, 3, 5, 7 сутки;
- Оценка показателей коллатерального отека в динамике на 1, 3, 5, 7 сутки;
- Оценка экспрессии генов *IL-28* и *DEFB1* после проведения оперативного вмешательства;
- Оценка генотипирования *TLR2*, *TLR9* и *IFNGR1* по полиморфным маркерам.

После хирургического вмешательства, на 1, 3, 5 и 7 сутки проводили оценку послеоперационной боли при помощи визуально-аналоговой шкалы (ВАШ) – на Рисунке 2, учитывающей субъективные болевые ощущения пациента. Шкала состояла из 11 пунктов,

позволяющих определить интенсивность боли: 0 - отсутствие боли; 1, 2, 3 - слабая боль; 4, 5 - умеренная боль; 6, 7 - сильная боль; 8, 9 - очень сильная боль; 10 - невыносимая боль. Также, отмечали количество принимаемых пациентами обезболивающих препаратов.

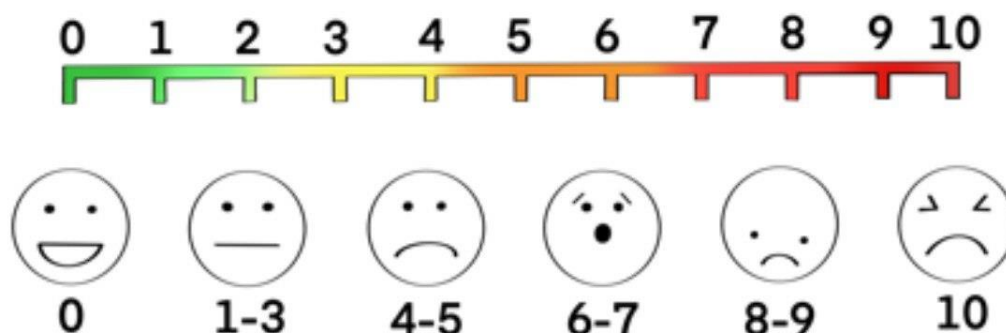


Рисунок 2 – Визуально-аналоговая шкала боли (ВАШ)

Интенсивность *коллатерального отека мягких тканей* оценивали визуально на 1, 3, 5 и 7 сутки после хирургического вмешательства по балльной системе.

В целях проведения лабораторных методов в рамках иммунологической и генетической компоненты исследования, у всех пациентов проводили забор клеток буккального эпителия путём соскоба стерильными разовыми зондами типа D2 с синтетическим ворсом. Образцы для генетического исследования собирали до оперативного вмешательства, независимо от приема пищи. Образцы для иммунологического исследования собирали сразу после проведения оперативного вмешательства.

Метод экспрессионного исследования IL-28 и DEFBI. Алгоритм исследования подразумевает три этапа: выделение РНК, реакция обратной транскрипции и проведение ПЦР в режиме реального времени (Рисунок 3).



Рисунок 3 – Методы исследования экспрессии генов

Исследования однонуклеотидных полиморфных маркеров *rs352140* и *rs5743836* в гене *TLR9*, *rs5743708* в гене *TLR2* и *rs1327474* в гене *IFNGR1* проводился следующим образом: первый этап – выделение ДНК, второй этап – ПЦР-РВ. Наборы и реагенты для оценки полиморфных маркеров были предоставлены фирмой «Синтол», РФ. Алгоритм проведения исследования реализовывался в соответствии с инструкциями фирмы-производителя.

Все полученные в ходе исследования данные подверглись статистической обработке, включающей в себя: контроль и группировку собранных данных, организация данных путем формирования таблиц, расчет и интерпретация статистических показателей. Сведение и анализ всех полученных данных производили в программах Excel (Microsoft, США) в несколько этапов. Статистически значимыми были приняты результаты с $p < 0,05$. Также для количественной оценки связи между возникновением гиперкератоза и носительством неблагоприятного полиморфного маркера было рассчитано отношение шансов и 95% доверительный интервал.

Результаты собственного исследования и их обсуждение

По критериям включения в исследование вошли 60 пациентов, среди которых: 30 пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта (с верифицированными после операции диагнозами «Лейкоплакия веррукозная» (МКБ 10 К 13.2 «Лейкоплакия и другие изменения эпителия полости рта») — 25 человек (83,3%) и «Красный плоский лишай (гиперкератотическая форма)» (L 43.0 «Лишай красный плоский») — 5 человек (16,7%)), которым было показано хирургическое лечение, и 30 относительно здоровых добровольцев. Возраст пациентов варьируется в пределах $55,3 \pm 6,68$ лет.

Для проведения *клинических* методов исследования путем формирования случайной выборки сформированы две группы: в группу исследования вошло 15 пациентов, лечение которых проходило с применением волоконного лазера с длиной волны 1940 нм; в группу сравнения вошло 15 пациентов, лечение которых проходило с использованием скальпеля. По данным обследования, у всех пациентов было выявлено наличие очагов гиперкератоза, площадь поражения слизистой оболочки варьировалась от 1 до 5 см², длительность заболевания составляла от 2 до 5 лет.

Иммунологические исследования проводили аналогично по тем же группам исследования. Для выявления *иммуногенетических* маркеров гиперкератозов СОР исследования проводили по двум группам исследования: в 3 группу (исследования) вошло 30 пациентов с клиническим диагнозом МКБ 10 К 13.2 «Лейкоплакия и другие изменения эпителия полости рта» и L 43.0 «Лишай красный плоский» (после операции верифицированы патогистологически); в 4 группу (контрольную) группу вошло 30 относительно здоровых добровольцев.

Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка. У количественных показателей болевого синдрома и коллатерального отека отсутствовало нормальное распределение, поэтому использовали непараметрические методы сравнения показателей — производили подсчет медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Показатели площади раневой поверхности имели нормальное распределение и были описаны с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ).

Сравнение двух групп по количественному показателю выполняли с помощью U-критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для оценки релевантности количественных показателей и построений произвели подсчет дисперсии (D2) полученных результатов.

Оценку *сокращения площади раневой поверхности* СОР проводили в динамике на 1, 3, 5, 7, 10 и 15-е сутки согласно изменению площади поля по стереометрической формуле площади ортогональной проекции многоугольника на плоскость: $S = S_{пр} \cdot \cos \varphi$. Площадь поражения оценивали как круг или эллипс. Площадь круга рассчитывали по формуле $S = \pi r^2$, где r — радиус круга, $\pi \approx 3,1415$. Площадь эллипса рассчитывали по формуле $S = \pi * a * b$, где a — большая полуось эллипса, b — малая полуось эллипса, $\pi \approx 3,1415$ и выражали в см².

Отмечено достоверное различие в динамике изменения площади раневой поверхности в зависимости от вида оперативного вмешательства: у пациентов группы исследования, уже на 3 сутки определяли уменьшение площади раневой поверхности в 1,6 раз по сравнению с показателями, полученными на 1 сутки (Рисунок 3).

На 5 сутки площадь раневой поверхности по сравнению с 3 сутками была меньше в 2,23 раза и приближена к 0 у большинства пациентов. Полное очищение раны от фибринозного налета и коагуляционной пленки наблюдали уже на 7 сутки (Рисунок 4).

У пациентов группы сравнения площадь раневой поверхности с 1 по 3 сутки сократилась в 1,31 раза, с 3 на 5 сократилась в 1,44 раза, а с 5 на 7 сутки - в 1,88 раза (Рисунок 4).

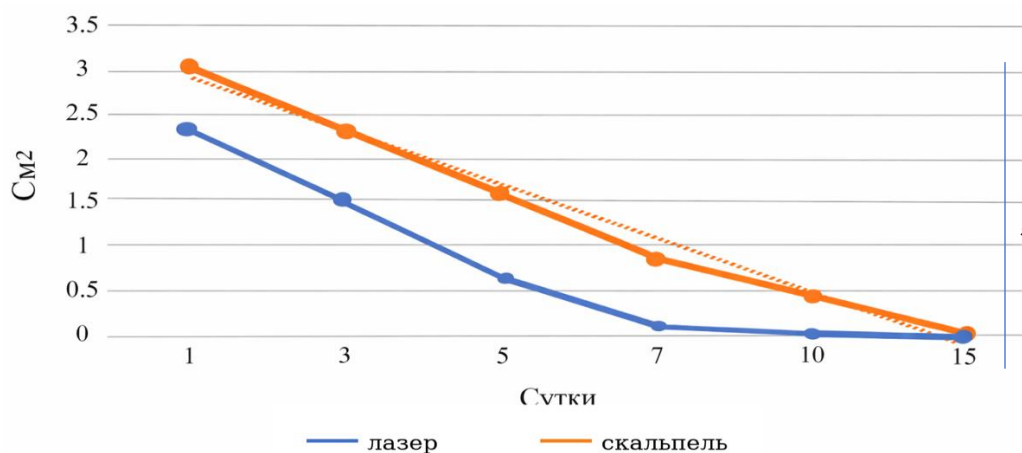


Рисунок 4 – Сокращение площади раневой поверхности в зависимости от метода лечения в динамике (см²) (* $p < 0,05$) над синим до 7 суток (график среднего арифметического)

Отмечено достоверное различие в *сроках эпителизации раневой поверхности* в зависимости от метода оперативного вмешательства (Таблица 2).

Таблица 2 – Сроки эпителизации в зависимости от площади поверхности у двух групп пациентов

Площадь поверхности	Сроки эпителизации послеоперационной раны		p
	Группа сравнения 15 пациентов (25%) - Скальпель	Группа исследования 15 пациентов (25%) - Лазер	
от 1 до 2 см ²	7 ± 0,5 сут.	5 ± 0,5 сут.	0,05
от 2 до 3 см ²	10 ± 0,5 сут.	5 ± 0,5 сут.	0,05
от 3 до 5 см ²	15 ± 0,5 сут.	7 ± 0,5 сут.	0,05
P	0,05	0,05	

У пациентов группы исследования полную эпителизацию наблюдали на $5 \pm 0,5$ сутки, если площадь послеоперационной раны была от 1 до 2 см², $p < 0,05$; при площади раны от 2 до 3 см² – на $5 \pm 0,5$ сутки и на $7 \pm 0,5$ сутки, если площадь раны была от 3 до 5 см², $p < 0,05$. При операциях, выполняемых с использованием скальпеля, полную эпителизацию раны наблюдали на $7 \pm 0,5$ сутки при площади послеоперационной раны от 1 до 2 см², $p < 0,05$; на $10 \pm 0,5$ сутки при площади раны от 2 до 3 см² и на $15 \pm 0,5$ сутки, если площадь раны была от 3 до 5 см², $p < 0,05$. (Таблица 2).

Показателей интенсивности послеоперационной боли имели достоверные различия в зависимости от метода лечения. Так, в группе исследования, 15 пациентов на 1, 3, 5 и 7 сутки после проведения хирургического лечения определяли незначительную боль — медиана баллов

по ВАШ соответственно 3, 2, 0, 0 (Рисунок 5). Уже на 5 сутки большинство пациентов группы исследования боли не отмечали: 0 баллов — у 13 пациентов (86,7%) и 1 балл у 2 пациентов (13,3%). На 7 сутки у всех пациентов отсутствовал болевой синдром (Рисунок 5). В то время как при подсчете медианы баллов у пациентов группы сравнения, в послеоперационном периоде определяли значительный болевой синдром — медиана баллов по ВАШ составила 4, 4, 4 и 3 балла— на 1, 3, 5 и 7 сутки *после* операции соответственно (Рисунок 5). На 7 сутки 4 балла поставили 3 пациента (20%), 3 балла — 6 пациентов (40%), 2 балла — 5 пациентов (33,3%) и 1 балла — 1 пациент (6,7%).

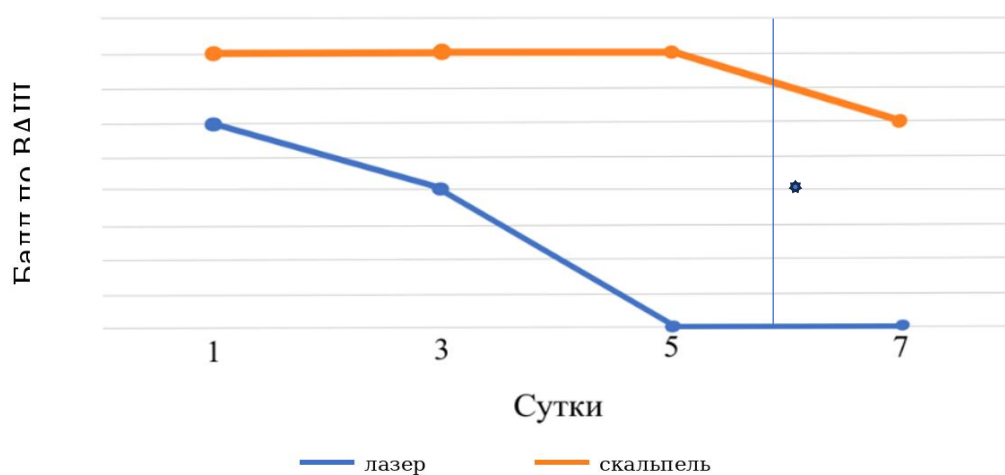


Рисунок 5 – Медиана (Me) баллов по ВАШ при оценке боли у пациентов группы исследования и сравнения в динамике (* $p < 0,05$) (график медианы)

Коллатеральный отек в послеоперационной области у пациентов группы исследования, лечение которых проводили с использованием лазера, был выражен слабо и достигал своего пика ко 2 суткам после операции, в то время как у пациентов группы сравнения, которых оперировали скальпелем, отек достигал пика к 3 суткам – 4-5 баллов - и был сохранен до 5 суток (Рисунок 6).

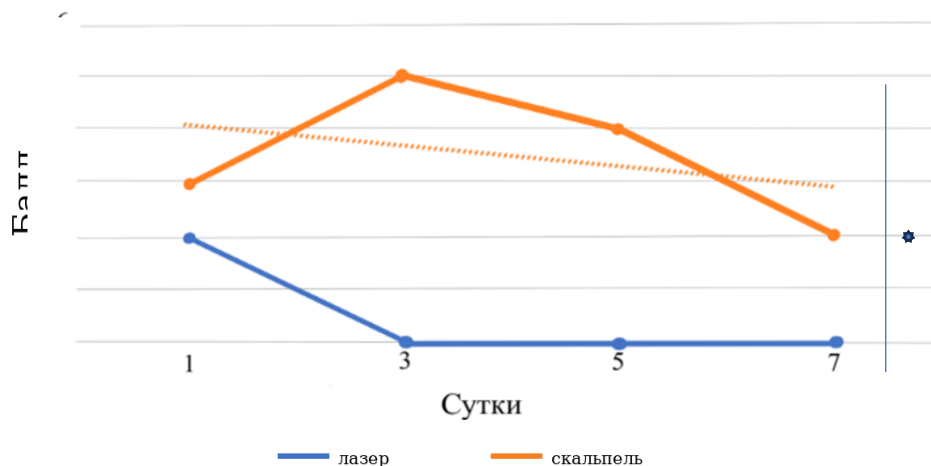


Рисунок 6 – Медиана (Me) баллов при оценке коллатерального отека у пациентов группы исследования и сравнения в динамике (* $p < 0,05$) (график медианы)

Результаты оценки экспрессии генов *IL-28* и *DEFB1*. У пациентов группы исследования (1 группа) экспрессия гена *IL-28B* составила 0,621, что в два раза меньше по сравнению с результатами экспрессии этого же гена в группе сравнения (2 группа) — 1,371 ($p < 0,05$) (Рисунок 7).

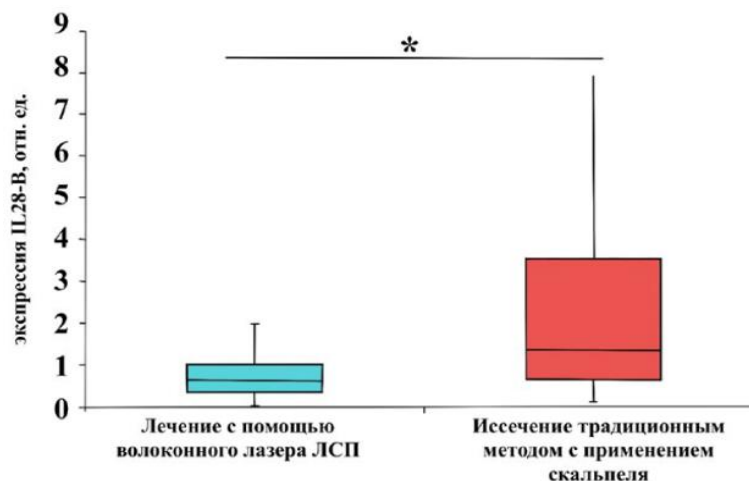


Рисунок 7 – График экспрессии гена *IL-28B* у пациентов в зависимости от метода хирургического лечения

* – Статистически значимое различие между группами, $p < 0,05$

При использовании лазера происходит достоверное снижение провоспалительного цитокина *IL-28B*, а при оперативном вмешательстве проводимым скальпелем, на 1 сутки определяли высокие значения *IL-28B*. При изучении экспрессии гена *DEFB1* в исследуемых выборках достоверных различий обнаружено не было: у пациентов группы исследования (1 группа) экспрессия гена *DEFB1* составила 1,207, у пациентов группы сравнения (2 группа) — 1,231, что говорит о его неприменимости в качестве биомаркера для оценки эффективности метода лечения (Рисунок 8).

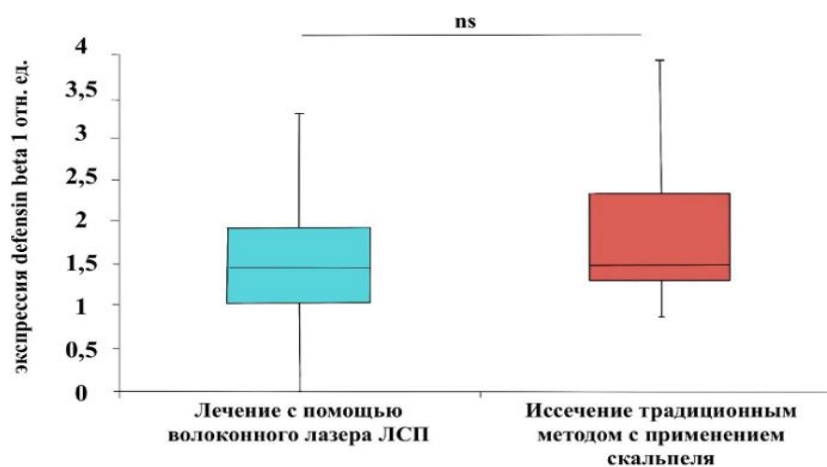


Рисунок 8 – График экспрессии гена *DEFB1* у пациентов в зависимости от метода

ns – Статистически значимых различий между сравниваемыми группами не выявлено, $p \geq 0,05$

По результатам *генотипирования TLR9 по полиморфному маркеру rs352140* среди пациентов с гиперкератозом СОР частота встречаемости пациентов, являющихся гомозиготными носителями генотипа ТТ гена *TLR9* (rs352140), составила 0,50, частота встречаемости пациентов, являющихся гомозиготными носителями генотипа СС гена *TLR9* (rs352140), составила 0,42 и частота встречаемости пациентов, являющихся гетерозиготными носителями полиморфизма rs352140 гена *TLR9* (генотип СТ), составило 0,08 (Рисунок 9).

По результатам *генотипирования TLR9 по полиморфному маркеру rs5743836* среди пациентов с гиперкератозом СОР частота встречаемости пациентов, являющихся гомозиготными носителями генотипа ТТ гена *TLR9* (rs5743836), составила 0,64, частота встречаемости пациентов, являющихся гомозиготными носителями генотипа СС гена *TLR9* (rs5743836), составила 0,14 и частота встречаемости пациентов, являющихся гетерозиготными носителями полиморфизма rs5743836 гена *TLR9* (генотип СТ), составила 0,21.

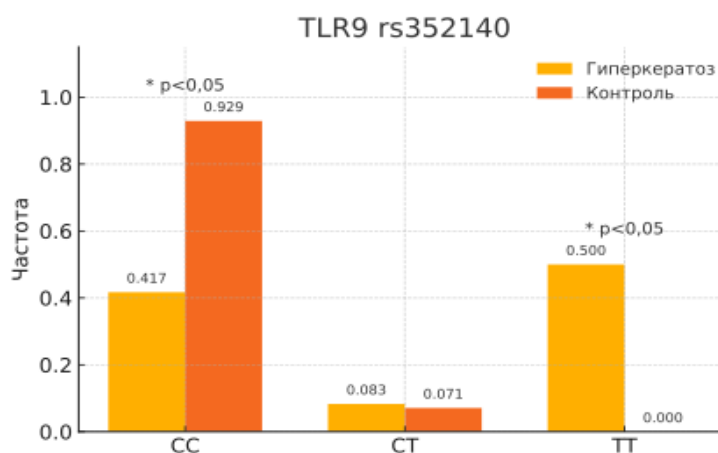


Рисунок 9 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs352140 у пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта ($p < 0,05$)

По результатам *генотипирования TLR2 по полиморфному маркеру rs5743708* среди пациентов с гиперкератозом СОР, частота встречаемости гомозиготных носителей с генотипом GG гена *TLR2* (rs5743708), составила 0,29, частота встречаемости пациентов, являющихся гомозиготными носителями генотипа AA гена *TLR2* (rs5743708), составила 0,00 и частота встречаемости пациентов, являющихся гетерозиготными носителями полиморфизма rs5743708 гена *TLR2* (генотип GA), составила 0,71.

По результатам *генотипирования IFNGR1 по полиморфному маркеру rs1327474* среди пациентов с гиперкератозом СОР, частота встречаемости гомозиготных носителей с генотипом TT гена *IFNGR1* (rs1327474), составила 0,00, частота встречаемости пациентов, являющихся гомозиготными носителями генотипа СС гена *IFNGR1* (rs1327474), составила 0,14,

соответственно частота встречаемости пациентов с гетерозиготным генотипом СТ полиморфизма rs1327474 гена *IFNGR1*, составила 0,86.

В исследовании ассоциации полиморфных маркеров rs352140 и rs5743836 в гене *TLR9*, rs5743708 в гене *TLR2* и rs1327474 в гене *IFNGR1* статистически значимым результатом является то, что среди всех пациентов с гиперкератозом СОР 0,43 пациентов были носителями генотипа ТТ гена *TLR9* rs352140 (Рисунок 9).

Разработан алгоритм применения волоконного лазера с длиной волны 1940 нм при хирургическом лечении гиперкератозов слизистой оболочки рта у иммунокомпрометированных пациентов, в рамках которого предложена стандартизированная последовательность этапов вмешательства: после антисептической обработки полости рта и инфильтрационной анестезии выполняют иссечение поражённой слизистой оболочки в пределах здоровых тканей сфокусированным лучом волоконного лазера мощностью 5 Вт в режиме абляции при лёгком контакте световода со слизистой оболочкой; далее раневую поверхность обрабатывают расфокусированным лазерным излучением круговыми движениями световода в режиме коагуляции на расстоянии 1–1,5 см от раны в импульсном режиме (мощность 5 Вт, длительность импульса 700 мкс, энергия 300 мДж, частота 20 Гц) с экспозицией по 15 секунд на каждый 1 см² до формирования коагуляционной плёнки («лазерной повязки») и достижения полного гемостаза; иссечённые фрагменты слизистой оболочки направляют на патогистологическое исследование в обязательном порядке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблемы диагностики и лечения гиперкератозов слизистой оболочки рта (СОР) сохраняют высокую актуальность из-за многофакторной этиологии, клинического полиморфизма и трудностей ранней диагностики. По данным ВОЗ, 3–5% населения имеют диагностированные заболевания СОР; наиболее распространённым потенциально озлокачивающимся образованием является лейкоплакия (0,2–3,6%), распространённость красного плоского лишая оценивается в 1,01% (в России у женщин встречается чаще). Этиологические факторы условно делят на эндогенные (гормональные изменения, генетическая предрасположенность, системные заболевания, нарушения экспрессии p53 и Ki67) и экзогенные (термические, химические и механические раздражители, стресс; нарушения обмена витаминов А, Е, В12; патологии ЖКТ), а также инфекционные агенты (ВПГ 1/2, ВЭБ, ВПЧ, *C. albicans*). В связи с перспективностью прогностического подхода выполнено генетическое исследование ассоциации полиморфизма *TLR9* rs352140 с риском гиперкератозов СОР.

В исследование включено 60 пациентов: 30 — с подтверждённым гиперкератозом СОР и 30 — группа сравнения; ДНК выделяли из клеток буккального эпителия с применением набора «РИБО-сорб». По маркеру rs352140 гена TLR9 среди пациентов с гиперкератозом СОР (n=30) частота генотипов составила: ТТ — 0,50, СС — 0,42, СТ — 0,08; выявлена статистически значимая взаимосвязь носительства TLR9 rs352140 с вероятностью развития гиперкератозов СОР. С учётом клинической сложности патологии требуется комплексный подход и междисциплинарное планирование лечения; при неэффективности консервативной терапии выполняют иссечение очагов с последующим патоморфогистологическим исследованием, при этом наряду со скальпелем применяются альтернативные методы (электрокоагуляция, криодеструкция, лазерная хирургия).

Проведено сравнение эффективности оперативного лечения у 30 пациентов с диагнозами K13.2 и L43.0: волоконный лазер ЛСП «ИРЭ-Полус» 1940 нм (15 пациентов) и скальпель (15 пациентов). Эффективность оценивали по ВАШ боли (1, 3, 5, 7 сутки), коллатеральному отёку, динамике сокращения площади раны и срокам эпителизации; после лечения выполнено экспрессионное исследование *IL-28* и *DEFB1*. После лазерного вмешательства отмечено более благоприятное течение послеоперационного периода: минимизация боли и слабовыраженный отёк к 3-м суткам, более быстрые темпы сокращения площади раны и более ранняя эпителизация ($7 \pm 0,5$ суток против 15 суток при традиционном методе, $p < 0,05$). По данным экспрессионного исследования в послеоперационном периоде выявлено достоверное повышение экспрессии *IL-28B* в 2,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой исследования. Полученные результаты подтверждают эффективность применения волоконного лазера 1940 нм и перспективность развития генетической диагностики для ранней диагностики и индивидуализированного подхода к лечению и прогнозированию.

ВЫВОДЫ

1. По данным клинических методов исследования применение волоконного лазера с длиной волны 1940 нм повышает эффективность хирургического лечения пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки полости рта, т.к. при этом на 5 сутки в 86,7% случаев (n=13) отсутствовал болевой синдром и коллатеральный отек в послеоперационной области. При использовании скальпеля все 15 пациентов (100 %) в этот же период отмечали боль и коллатеральный отек разной выраженности. Полную эпителизацию наблюдали на $7 \pm 0,5$ сутки у пациентов после лазерной операции, у пациентов при традиционном методе лечения - на 15-е сутки, $p < 0,05$.

2. При использовании волоконного лазера с длиной волны 1940 нм и скальпеля выявлены достоверные различия по скорости сокращения раневой поверхности в динамике: у пациентов группы исследования уже на 3 сутки определяли уменьшение площади раневой поверхности в 1,6 раз по сравнению с показателями, полученными на 1 сутки. На 5 сутки площадь раневой поверхности по сравнению с 3 сутками была меньше в 2,23 раза и приближена к 0 у большинства пациентов.

3. По данным экспрессионного исследования применение волоконного лазера с длиной волны 1940 нм повышает эффективность хирургического лечения пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки полости рта за счет снижения воспалительных маркеров в послеоперационном периоде. При этом у пациентов группы исследования экспрессия гена IL-28B составила 0,621, что в два раза меньше по сравнению с результатами экспрессии этого же гена в группе сравнения — 1,371 ($p < 0,05$).

4. По результатам генетического исследования на выявление ассоциации полиморфизма гена TLR9 с риском развития нарушения процесса ороговения СОР получены следующие результаты: частота обнаружения генотипа ТТ полиморфизма TLR9 rs352140 при развитии гиперкератоза СОР составляет 0,500 ($p < 0,05$). Носительство аллеля Т генотипа ТТ полиморфизма TLR9 (rs352140) связано с повышенным риском развития гиперкератоза. Полученные данные можно использовать в клинической практике: исследовать носительство гена и тем самым выделять группы пациентов с повышенным риском развития гиперкератоза слизистой оболочки рта.

5. Разработанный метод применения волоконного лазера с длиной волны 1940 нм с иммуногенетическим обоснованием при хирургическом лечении пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта у иммунокомпрометированных пациентов способствует повышению эффективности лечения в сравнении со скальпелем.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При оперативном лечении гиперкератотических поражений слизистой оболочки рта целесообразно применять метод лазерного иссечения пораженных участков с помощью волоконного лазера с длиной волны 1940 нм. С последующим формированием коагуляционной пленки на раневой поверхности расфокусированным лазерным лучом в режиме абляции при энергии 200 мДж, частоте 10 Гц на расстоянии 1,5 - 2 см от поверхности раны. Иссеченные фрагменты пораженной слизистой оболочки следует направлять на патогистологическое исследование.

2. В качестве биомаркера при оценке метода хирургического лечения гиперкератозов слизистой оболочки рта целесообразно определять экспрессию гена IL-28B. При экспрессионном исследовании наблюдается достоверное повышение этого маркера при традиционном методе оперативного вмешательства, по сравнению с методом лазерной альтерации.

3. В качестве подхода к персонализированному лечению пациентов необходимо прибегать к генетическому исследованию однонуклеотидных полиморфных маркеров, ассоциированных с гиперкератозом слизистой оболочки рта. Носительство генотипа ТТ полиморфизма TLR9 (rs352140) ассоциировано с повышенным риском развития гиперкератозов СОР.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Анализ эффективности различных методов лечения пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта / **В. В. Морозова**, С. В. Тарасенко, М. А. Степанов, С. А. Калинин, А. Г. Мальцева // **Российский стоматологический журнал**. – 2021.– Т. 25. – №. 4. – С. 351–357.

2. Применение лазерных технологий у пациентов с красным плоским лишаем слизистой оболочки рта / С. В. Тарасенко, М. А. Степанов, С. А. Калинин, **В. В. Морозова** // **Российский стоматологический журнал**. – 2021.– Т. 25. – №. 4. – С. 399–405.

3. Применение волоконного лазера с длиной волны 1,94 мкм при хирургическом лечении гиперкератозов слизистой оболочки рта / С.В. Тарасенко, М.А. Степанов, **В.В. Морозова**, С.А. Калинин — Текст: непосредственный // Международная научно-практическая конференция «Современные технологии в медицинском образовании», посвященная 100-летию Белорусского государственного медицинского университета. – Минск: 2021. – С. 1429–1431.

4. Сравнительный анализ эффективности применения хирургических лазеров при лечении пациентов с лейкоплакией слизистой оболочки рта / **В. В. Морозова**, С.А. Калинин, А.Г. Мальцева, М.А. Степанов – Текст: непосредственный // **Материалы Научно-практической конференции с международным участием «Лазеры в медицине 2021»**. — Лазерная медицина. – 2021. – Т. 25. – № 3S. – С. 75-76.

5. Сравнительный анализ хирургических лазеров при лечении лейкоплакии слизистой оболочки рта / **В. В. Морозова**, А.Г. Мальцева, С.А. Калинин, М.А. Степанов – Текст: непосредственный // **Всероссийская межвузовская научно-практическая конференция молодых ученых с международным участием**. – Актуальные вопросы стоматологии: тезисы докладов. – Москва: 2021. – С. 97–98.

6. Сравнительный анализ хирургических лазеров при лечении лейкоплакии слизистой оболочки рта / **В. В. Морозова**, С.А. Калинин, Мальцева А.Г., М.А. Степанов, С.В. Тарасенко –

Текст: непосредственный // Сборник тезисов II Международной научно-практической конференции молодых ученых «Ученики учителям». – М.: ООО «Буки Веди», 2021. – С. 91–93.

7. Ассоциация полиморфизма rs352140 гена TLR9 с развитием гиперкератоза слизистой оболочки рта / **В. В. Морозова**, С. В. Тарасенко, М. А. Степанов, С. И. Репина, П. Э. Козлова, Е. А. Меремьянина, О. А. Свитич // **Проблемы стоматологии**. – 2024. – Т. 20. – №. 2. – С. 122–126.

8. Клиническо-иммунологические аспекты при хирургическом лечении пациентов с гиперкератозами слизистой оболочки рта / С. В. Тарасенко, О. А. Свитич, **В. В. Морозова**, М. А. Степанов, С. И. Репина, Е. П. Быстрицкая, П. Э. Козлова, Е. А. Меремьянина // **Проблемы стоматологии**. – 2024. – Т. 20. – №. 3. – С. 117–123.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВПГ – Вирус простого герпеса

ВПЧ – Вирус папилломы человека

Вт – Ватт - единица измерения мощности излучения

Гц – Герц - единица измерения частоты импульсов

ДНК – Дезоксирибонуклеиновая кислота

ИЛ – Интерлейкин

КПЛ – Красный плоский лишай

мДж – милиДжоуль - единица измерения энергии излучения

мкм – микрометр - единица измерения длины волны

мкс – микросекунда

мл – миллилитр

мм – миллиметр

нм – нанометр - единица измерения длины волны

ПЦР – Полимеразная цепная реакция

РНК – Рибонуклеиновая кислота

СО – Слизистая оболочка

СОР – Слизистая оболочка рта

EBV – Epstein-Barr Virus (вирус Эпштейна-Барр)

HPV – Human Papillomavirus (вирус папилломы человека, ВПЧ)

HSV – Herpes Simplex Virus (вирус простого герпеса, ВПГ)

LOH – Loss of Heterozygosity (потеря гетерозиготности)