

УДК 617.51/53-006.61-033.2:575.113

*Г.В. Какурина, И.В. Кондакова, Е.Л. Чойнзонов***ПОСТГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРОГНОЗЕ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ КАРЦИНОМ ГОЛОВЫ И ШЕИ***НИИ онкологии СО РАМН, Томск***Контактная информация***Какурина Гелена Валерьевна, старший научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей***Адрес:** 634050, Томск, пер. Кооперативный, д.5; **тел.** +7(3822)51-25-29**e-mail:** kakurinagv@oncology.tomsk.ru

Статья поступила 19.04.2011., подписана в печать 05.05.2011.

Резюме

Злокачественные опухоли головы и шеи в общей структуре онкологической заболеваемости составляют в среднем 18–20 % и занимают шестое ранговое место. В 90–98 % морфологическим вариантом опухолей головы и шеи является плоскоклеточный рак. Наиболее часто поражаются гортань, гортаноглотка, ротоглотка, носоглотка и полость рта. Многочисленные клинические данные убедительно свидетельствуют о том, что одной из главных непосредственных причин гибели больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи является локорегионарное метастазирование. Имеющиеся на сегодняшний день методы обнаружения метастазов на ранних этапах прогрессии опухоли до их клинического проявления недостаточно эффективны и надежны. Современное развитие постгеномных технологий привело к созданию новых методологий, позволяющих комплексно оценивать изменения, происходящие при злокачественной трансформации клеток и при приобретении опухолевыми клетками новых биологических свойств. С помощью транскриптомного и протеомного анализов тканей и биологических жидкостей ведется активный поиск диагностических маркеров, факторов прогноза метастазирования и рецидивирования, предикторов ответа на терапию. Однако даже при использовании современных технологий до сих пор нельзя уверенно прогнозировать метастатический потенциал и биологическое поведение опухоли. Анализ протеома и транскриптома позволит выявить значимые показатели для создания скрининговых систем и выявления больных с высоким риском метастазирования и рецидивирования, что будет способствовать оптимизации тактики лечения плоскоклеточного рака головы и шеи.

Ключевые слова: протеомика, транскриптомика, плоскоклеточные карциномы, метастазирование.*G.V. Kakurina, I.V. Kondakova, E.L. Choyznzonov***POSTGENOME TECHNOLOGIES IN PREDICTION OF SQUAMOUS CELL HEAD AND NECK CANCER METASTASIS***Cancer Research Institute, Siberian Branch of RAMS***Abstract**

Head and neck cancer is the 6-th most common cancer accounting for about 18–20 % of all malignancies. Most head and neck cancers are squamous cell carcinomas including laryngeal, oropharyngeal, nasopharyngeal and oral cancers. Numerous clinical data give evidence of the fact that distant and regional metastases are the leading causes of death in patients with squamous cell head and neck cancer. Currently available methods for early detection of metastases are not sufficiently effective and reliable. The modern development of postgenome technologies has resulted in creation of new techniques allowing to follow the changes occurring in cells during malignant transformation. The active search for diagnostic markers, prognostic factors for metastasis and recurrence and predictors of response to therapy is carried out using transcriptome and proteome analyses. Numerous studies have been conducted to facilitate the understanding the processes of tumor invasion and metastasis, however, the metastatic potential and biological behavior of tumors can not be surely predicted. The proteome and transcriptome analyses allow one to detect valuable criteria for development of screening schemes to define groups of patients being at high risk for cancer metastasis and recurrence.

Key words: proteomics, transcriptomics, squamous cell carcinomas, metastatic spread.**Введение**

Злокачественные опухоли головы и шеи, которые в общей структуре онкологической заболеваемости занимают шестое ранговое место и составляют в среднем 18–20 % от числа зарегистрированных, относятся к числу наиболее социально-значимых онкологических заболеваний [3; 4]. Ежегодно в мире регистрируется 540 000 новых случаев заболевания опухолями данной локализации и 271 000 летальных исходов [25; 46]. Основным морфологическим вариантом опухолей головы и шеи является плоскоклеточный рак, причем рак органов полости рта – 44 %, рак гортани – 31 %, карцином различных отделов полости рта – 25 % [2; 3]. Около

90 % больных являются людьми работоспособного возраста (30–60 лет), однако, несмотря на визуальную локализацию этих новообразований, 60–70 % пациентов поступают на лечение с местнораспространенным опухолевым процессом (III–IV стадии), что значительно снижает возможность благоприятного исхода лечения [1; 4]. Многочисленные клинические данные убедительно свидетельствуют о том, что главной непосредственной причиной гибели онкологических пациентов, в том числе больных опухолями головы и шеи, является отдаленное и регионарное метастазирование [2; 14; 15; 40], около 50 % лиц с опухолями данной локализации погибают на втором году постановки диагноза, у 5 % в течение года наблюдаются рецидивы [20].

Биологическое поведение ПКГШ и их чувствительность к терапевтическим воздействиям значительно варьируют – как в пределах выборки, так и в пределах одной локализации, что обусловлено большой гетерогенностью опухолей и высоким метастатическим потенциалом клеток [17; 18]. Проблема индивидуального подхода к лечению онкологических больных имеет огромное научное и практическое значение. В связи с этим важно прогнозировать течение конкретного онкологического процесса. В значительной мере неудовлетворительная точность прогнозирования обусловлена тем, что использование стандартных прогностических и предсказательных критериев далеко не всегда позволяет с высокой степенью вероятности оценить индивидуальный риск прогрессирования заболевания у больных и, следовательно, определить адекватный план персонифицированной терапии. Известно, что наличие метастазов в лимфатических узлах является практически единственным неблагоприятным независимым прогностическим критерием у больных ПКГШ [18; 20; 32; 55], поэтому поиск метастазов на диагностическом этапе является необходимым условием выбора тактики лечения больных. Однако имеющиеся на сегодняшний день методы обнаружения метастазов на ранних этапах прогрессии опухоли до их клинического проявления недостаточно эффективны и надежны. Большинство белковых маркеров и маркерных генов, идентифицированных на этапе фундаментальных исследований для диагностики ПКГШ, недоступны для прогноза течения заболевания.

В настоящее время в России и в мире для мониторинга пациентов со злокачественными опухолями головы и шеи рекомендован один тканеспецифичный онкомаркер – SCCA. Определение этого опухолевого маркера используется для диагностики и мониторинга плоскоклеточных карцином различных локализаций (в том числе – рака шейки матки) и отражает стадию, размер опухоли и степень их гистологической дифференцировки. Этот маркер не отвечает полностью требованиям современной онкологии ввиду низкой чувствительности и невозможности его использования для прогноза метастазов и рецидивов. В связи с этим поиск новых маркеров метастазирования и рецидивирования плоскоклеточных карцином, в том числе головы и шеи, весьма актуален.

Различные технологические подходы, используемые при поиске биомаркеров, не могут гарантировать полноценное использование кандидатных маркеров в клинической практике [57]. Поэтому в последнее время ведется активный поиск высокочувствительных и высокоспецифичных онкомаркеров, которые позволили бы прогнозировать биологическое поведение опухоли на ранних стадиях и предсказать с высокой степенью вероятности появление метастазов. В частности, показано, что папилломавирусная инфекция, матриксные металлопротеиназы, экспрессия Е-кадхеринов и фактора роста сосудистого эндотелия в опухолевой ткани могут влиять на возникновение метастазов и прогноз течения заболевания у больных ПКГШ [7; 24; 31; 46; 66]. На наш взгляд, эти биомаркеры имеют определенное прогностическое значение. Современное развитие молекулярных технологий привело к созданию новых методологий, позволяющих комплексно оценивать изменения транскриптома и протеома, происходящие как при злокачественной трансформации клеток, так и при приобретении опухолевыми клетками новых биологических свойств, а именно способности к метастазированию.

Транскриптомный анализ потенциальных маркеров ПКГШ

Идентификация новых биомаркеров, понимание сложного процесса злокачественной трансформации клетки требует всестороннего описания экспрессии генома, которое может быть достигнуто только при использовании комбинации различных технологий. Анализ транскриптома (набора всех РНК, находящихся в исследуемом образце), определение качественного и количественного профиля всех РНК отражает уровень синтеза кодируемых ими белков, а также синтез рибосомальных, транспортных и других РНК. Сравнение транскриптомов нормальных и патологических образцов позволяет идентифицировать новые маркеры, проследить изменение уровней генной экспрессии во времени, судить о динамике развития патологии, об эффективности проводимого лечения и прогнозировать его результат [62]. Известно, что каждый патологический процесс характеризуется так называемым «штрих-кодом» или транскриптомным профилем – уникальным паттерном уровней транскрипции генов, характерных именно для данного заболевания. Для создания транскриптомного профиля используются современные методологические подходы: анализ кДНК на микрочипах (*cDNA microarray*), ПЦР в режиме реального времени, метод Нозерн-блоттинг, методы биоинформатики и т.д. [6; 38; 47; 48].

С помощью транскриптомного анализа тканей и биологических жидкостей ведется активный поиск диагностических маркеров, факторов прогноза метастазирования и рецидивирования, предикторов ответа на терапию. Проводятся исследования по поиску маркеров ранней диагностики опухолей головы и шеи.

Так, для поиска новых маркеров ранней диагностики рака ротовой полости было проведено исследование слюны больных ПК полости рта с помощью транскриптомного анализа *cDNA microarray*. Показано, что есть значительные различия в уровнях экспрессии 1 679 генов в группах больных и здоровых ($p < 0,05$). Были выделены мРНК – возможные биомаркеры, уровень которых в слюне больных с ПК полости рта был в 3,5 раза выше по сравнению с таковым в группе контроля ($p < 0,01$): IL8, IL1B, DUSP1, HA3, OAZ1, S100P, и SAT. В комбинации эти предполагаемые маркеры показали чувствительность и специфичность около 90 % при определении различий между здоровыми донорами и больными раком полости рта.

Авторы предлагают использование транскриптомного анализа слюны для ранней диагностики ПК полости рта [37]. Ранее с помощью *cDNA microarray* было отмечено различие в экспрессионном профиле по 128 генам между клеточными линиями нормальных и человеческих трансформированных кератиноцитов, включающих гены, связанные с пролиферацией, а также *IGFBP6*, *EGFR* и *VEGFC*; опухолевые супрессоры и гены, связанные с апоптозом – *Trp53*, *Trp63*; регуляторы клеточного цикла – *CCND1* и *CCND2* (циклины D1 и D2) [27]. На клеточных линиях Tu-138, Tu-167, Tu-177, Tu-159, Tu-404, Tu-409, MDA-1986 и NOE (нормальный клеточный эпителий полости рта) и тканях опухоли ПКГШ с помощью анализа *cDNA microarray* и относительного ПЦР в реальном времени были идентифицированы и подтверждены иммуногистохимическим анализом различия в экспрессии 9 генов злокачественной и доброкачественной опухоли слизистой оболочки той же локализации [21].

При сравнении профиля генной экспрессии в нормальных эпителиальных клетках и первичных раковых клетках ПКГШ с использованием *cDNA microarray* (12 530 человеческих генов) показаны существенные изменения в экспрессии 213 генов (91 ген с высокоуровневой регуляцией и 122 – с низкоуровневой). Список идентифицированных генов включает гены, кодирующие белки, связанные с трансдукцией сигнала (факторы роста), структурой клетки, регуляцией цикла клетки, транскрипции, апоптоза, адгезивными свойствами клеток. Дальнейший анализ с помощью Вестерн-блоттинга и *real time PCR* подтвердил результаты кДНК анализа для 9 генов, вовлеченных в межклеточное взаимодействие. Достоверно отмечено, что клаудин-7 и коннексин 31.1 имели низкоуровневую регуляцию в клетках ПКГШ по сравнению с нормальными клетками [42]. Экспрессионный анализ показал, что высокие уровни экспрессии мРНК *PTTG (proto-oncogene pituitary tumor-transforming gene)* в опухолевой ткани могут быть прогностическим маркером развития рецидивов у больных с ПКГШ, особенно на ранних стадиях развития опухоли [50].

Таким образом, в настоящее время определены основные подходы к ранней диагностики ПКГШ с использованием транскриптомных технологий. Однако молекулярные основы процесса метастазирования до конца не изучены. Метастатический фенотип раковой клетки достаточно трудно установить, используя традиционные подходы, в связи с большим числом факторов, вовлеченных в процесс метастазирования. До сих пор лечение метастатического рака остается в значительной степени эмпирическим и малоэффективным.

Большое количество работ посвящено изучению транскриптома метастазирующих опухолей других локализаций, что говорит о перспективности использования транскриптомного анализа для поиска маркеров метастазирования. Эксперименты, проведенные на клеточных линиях метастазирующего РМЖ MDA-MB-231, показали, что транскриптомный профиль содержит определенный набор генов, который коррелирует с общим метастатическим потенциалом, включающим такие характеристики как способность к миграции и инвазии опухолевых клеток [44]. Исследование транскриптома рака почки показало, что опухоли, обладающие высоким метастатическим потенциалом, имеют свой характерный профиль – так называемая "метастатическая подпись" [9; 28].

Использование транскриптомного анализа для сравнения карт генной экспрессии метастазирующих и не метастазирующих опухолей головы и шеи является многообещающим методом [19; 38]. Сравнение профилей экспрессии генов клеток не метастазирующей карциномы полости рта и метастазирующей в лимфоузлы шеи показало различия в экспрессии 160 генов (в том числе для трансглутаминазы-3 и кератина-16) [41]. Исследование экспрессионного профиля клеточных линий, полученных из первичных опухолей и метастатических лимфоузлов, выявило 28 генов с высокой экспрессией, среди них гены, ассоциированные с метастазированием, такие как рецептор ламинина, тимозин β -4 и β -10 и металлопептидаза [59]. Следует отметить, что работ посвященных использованию полномасштабных исследований транскриптома для поиска маркеров метастазирования ПКГШ, в литературе представлено мало. В основном литературные данные содержат анализ результатов ПЦР в режиме реального времени. С помощью этого метода были выявлены мРНК, канди-

датные маркеры метастазирования: *SCCA1/2*, *PVA*, *TACSTD1* и *PTHrP*. Авторы считают, что это чрезвычайно надежные маркеры, каждый из которых или в комбинации может быть использован для прогноза метастазирования. Отмечено, что экспрессия *SCCA2* была связана с агрессивным фенотипом плоскоклеточного рака в лимфатические узлы [29]. *TACSTD1* также известный как *EPSCAM*, по мнению авторов может быть использован для выявления микрометастазов в лимфатические узлы в различных опухолях, в том числе ПКГШ [56]. *PVA*, также известный как десмоглеин 3 (*DSG-3*), представляет собой гликопротеин массой 130-кДа, член подсемейства десмосомальных кадгеринов. По данным R.L. Ferris et al. [15] изменение экспрессии генов *PVA* и *TACSTD1* явились наилучшими показателями для дифференциальной диагностики ПКГШ между интактными лимфоузлами и пораженными метастазами.

Отмечено, что *PVA* как кандидатный маркер имел 100% точность для прогноза метастазирования в шейные лимфатические узлы при ПКГШ [15]. Позже с помощью *real time PCR* была показана связь уровня экспрессии гена *PVA* с наличием метастазов в лимфоузлах у больных ПКГШ [54], однако авторы указывают на необходимость продолжения исследования на большей выборке.

При исследовании с помощью *cDNA microarray* анализа формалиновых и замороженных срезов тканей ПКГШ и интерпретации данных с помощью аналитического метода GSEA авторы получили набор из 75 генов для выявления риска рецидива. В списке предлагаемых объектов были гены, кодирующие белки, участвующие в ЕМТ, активации ядерного фактора NF- κ B и адгезии клетки. По мнению авторов, полученная панель с 75 генами может использоваться как набор маркеров предикторов рецидива данного заболевания [10; 11].

Таким образом, несмотря на активно проводимые исследования, до сих пор окончательно не установлены гены, определение уровня экспрессии которых могло быть использовано для создания тест-систем для прогнозирования развития метастазов, а также нет единогласного мнения об участии описываемых различными авторами генов в процессах метастазирования и рецидивирования. Крупномасштабный анализ генной экспрессии позволит идентифицировать высокочувствительные и специфичные молекулярные маркеры для ранней диагностики ПК, прогнозирования метастазирования, рецидивирования и чувствительности к противоопухолевой терапии. Нужно отметить, что, несмотря на достигнутые успехи в изучении экспрессионного профиля, характерного для клеток ПКГШ, полученные данные не дают полной информации о биологическом поведении опухоли [43; 51], так как экспрессия белков, их активность, пост-трансляционные модификации, в конечном счете, ответственны за агрессивное поведение опухоли этого типа. Поэтому выявление новых белковых маркеров метастазирования возможно с использованием протеомных исследований.

Использование протеомных технологий для поиска потенциальных маркеров метастазирования ПКГШ

С развитием новых высокоэффективных постгеномных технологий, в частности – протеомных, таких как двумерный гель электрофорез (2DE), масс-спектрометрия (MALDI-TOF-MS, SELDI и другие), ProteinChip, появилась возможность поиска маркеров заболевания с необходимыми характеристиками.

Использование протеомных технологий в онкологии позволяет при исследовании большой совокупности белков выявить характерные для опухолевого процесса белки, сравнить протеомный состав нормальных и злокачественных тканей, а также сыроворотки крови здоровых и больных лиц для выявления потенциальных маркеров, позволяющих прогнозировать риск развития метастазов или рецидивов.

Для выяснения молекулярных механизмов канцерогенеза и идентификации потенциальных диагностических биомаркеров ПКГШ многими исследователями используется метод сравнения протеомного профиля нормальных клеток плоского эпителия и трансформированных клеточных линий. С помощью анализа MALDI-масс-спектрометрии протеомов клеточных линий нормальных кератиноцитов и ПК человека (HSC-2 и HSC-3) идентифицированы различия по 22 белкам: аннексин A1 [66], HPS27, ламин A/C, антагонист рецептора IL-1, ингибитор сериновых протеиназ clade B5, статмин 1, и SOD 2 и другие [30].

Работы, проведенные на клеточных линиях рака носоглотки, обозначили другие потенциальные маркеры для диагностики ПКГШ – фибронектин, Мас-2 BP, и PAI-1 [63]. При сравнительном анализе с помощью 2D-электрофореза, масс-спектрометрии, Вестерн-блоттинга тканей рака носоглотки, нормальной ткани и клеточных линий было идентифицировано 3 белка: статмин, белок 14-3-3σ и аннексин I, которые, по мнению авторов, могут быть потенциальными маркерами носоглоточного рака [12].

В тканях рака полости рта с помощью протеомного анализа была отмечена сверхэкспрессия нескольких белков: альфа В-кристаллин, тропомиозин 2, легкие цепи миозина 1, HSP27, стратифин, тиреодоксин-зависимая пероксидоредуктаза, виментин, глутатион-S-трансфераза Pi (GST-pi) и супероксиддисмутаза (MnSOD) по сравнению с тканью нормальной слизистой [39].

В субклеточных фракциях плоскоклеточной карциномы полости рта с помощью 2-DE и MALDI-TOF-MS показано изменение уровня экспрессии 20 белков, из них 14 (кофилин, предшественник СРБ, m-цепь креатинкиназы, кератин II типа, легкие цепи миозина и др.) могут, по мнению авторов, представлять интерес как потенциальные диагностические маркеры [58].

Большое число исследований по поиску маркеров заболевания проведено с использованием биологических жидкостей организма [22; 26; 34; 52; 60; 64]. Предполагается, что протеомный профиль биологических жидкостей здоровых доноров и онкологических больных должны различаться, что может являться полезным инструментом в поиске маркеров ранней диагностики опухолей. Анализ белковых спектров сыворотки крови (молекулярной массой до 100 kDa), взятой у больных ПКГШ и здоровых лиц, достоверно различался в группах с 82 %-ной чувствительностью и 76 %-ной специфичностью [23]. С помощью 2-DIGE/MALDI-TOF-MS сыворотки крови этих больных до и после лечения показано различие в экспрессии 16 белков [22]. С помощью технологий SELDI-TOF ProteinChip выявлено несколько белков (2778 – 20800 Da), которые обозначили разницу протеомов сыворотки крови у пациентов с ПКГШ и группы контроля. Пик со средней массой 10 068 Da [60] был идентифицирован как металлопанстимулин-1 (MPS-1). В этом же году другие авторы методами радиоиммунного анализа и Вестерн-блоттинга показали, что MPS-1 может быть маркером ранней диагностики ПКГШ и

ответа опухоли на лечение [5; 13; 16; 33; 49; 53]. Таким образом, поиск новых диагностических маркеров с помощью протеомного анализа позволяет существенно расширить возможности для раннего выявления рака [5; 13; 16; 49]. Однако для их внедрения необходимо провести ряд дополнительных исследований, которые окончательно подтвердят возможность клинического применения.

Работы, посвященные поиску белковых маркеров метастазирования ПКГШ, малочисленны. Процесс метастазирования зависит от многих факторов: способности клеток первичной опухоли к миграции, процесса деструкции межклеточных барьеров, неоангиогенеза, наличия лимфатических сосудов и фенотипических особенностей опухолевых клеток, которые включают пролиферацию, выживание, устойчивость к апоптотическим сигналам и способность к уклонению от иммунного надзора. Для описания молекулярных изменений при приобретении опухолевыми клетками метастатических свойств потребуется оценка многих белковых маркеров и использование различных методологий [7].

На клеточных линиях ПК полости рта (UM1/UM2, 1386Tu/1386Ln, 686Tu/686Ln) с различным метастатическим потенциалом с помощью 2D-PAGE/MS были идентифицированы 2 белка, SOD 2 и HPS27. Отмечено, что высокий уровень СОД2 коррелирует с метастазированием в лимфоузлы, что подтвердилось иммуногистохимическим окрашиванием [65]. С помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии плазмы крови больных с плоскоклеточными карциномами полости рта было выявлено 6 белков с молекулярными массами 2664 Da, 2850 Da, 3250 Da, 7735 Da, 7927 Da, и 9240 Da.

Белок с массой 2664 Da, идентифицированный как фрагмент α-цепи фибриногена, показал самую высокую чувствительность (100 %) и специфичность (97 %) в отношении определения метастазов [8].

У пациентов с назофарингеальной карциномой анализ кривых выживания показал, что при увеличении уровня экспрессии цитокератина 18 был плохой прогноз, обусловленный появлением метастазов ($p=0,000$). Эти данные позволили предположить, что цитокератин 18 является потенциальным маркером прогноза опухоли этой локализации [35].

Известно, что протеиназы и их ингибиторы играют существенную роль в процессах инвазии и метастазирования раковых клеток [24; 31; 61]. С помощью лазерной микродиссекции с последующей тандемной масс-спектрометрией было показано увеличение экспрессии белков семейства протеаз ADAMTS [14]. Эти протеазы участвуют в процессах деградации внеклеточного матрикса, клеточной адгезии, пролиферации и миграции, а также процессинге цитокинов и факторов роста, и изменение их экспрессии способствует прогрессии опухоли и неоангиогенезу. В умеренно-дифференцированных опухолевых клетках ПКГШ наряду с ADAMTS было обнаружено увеличение содержания катепсина D, экспрессия которого увеличивает рост и метастатический потенциал различных раковых клеток *in vivo* [36; 45].

Следует отметить, что меж- и внутрииндивидуальные вариации белкового состава сыворотки крови достаточно высоки, кроме того, концентрация потенциальных маркеров в крови на ранних стадиях неопластического процесса мала, и в основном детектироваться могут мажорные белки, что может крайне осложнить получение адекватных результатов. Анализ тканей является более трудоёмким, но найденный таким образом опухолевый маркер будет более надежным.

Таким образом, на настоящий момент в литературе достаточно широко представлены исследования, проводимые на клеточных линиях ПКГШ и с использованием биологических жидкостей пациента, что затрудняет экстраполяцию данных на клиническую ситуацию. В то же время недостаточно работ, посвященных исследованию сыворотки крови больных и тканевого материала, взятого у пациентов во время операции или путем биопсии.

В целом следует отметить, что поиск маркеров метастазирования ПКГШ методами протеомного анализа начат сравнительно недавно, поэтому картина изменения протеома при развитии метастазов остается малоизученной.

Заключение

На сегодняшний день проведено большое количество исследований и накоплено достаточно данных для понимания процессов инвазии и метастазирования.

Литература

1. Айдарбекова А. А., Любаев В. Л. К вопросу о регионарном метастазировании рака гортани, слизистой полости рта и гортаноглотки // Вестник Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина. – 2006. – №. 2. – С. 9–16.
2. Любаев В.Л., Айдарбекова А.А. Эффективность хирургических вмешательств при лечении регионарных метастазов у больных раком слизистой оболочки полости рта и ротоглотки // Сибирский онкологический журнал. – 2006. – № 2 (18). – С. 11–5.
3. Пачес А.И. Опухоли головы и шеи. – М.: «Медицина», 2000. – 480 с.
4. Чойнзонов Е.Л., Балацкая Л.Н., Кицманюк З.Д. и др. Реабилитация больных опухолями головы и шеи. – Томск: Изд-во НТЛ, 2003. – 296 с.
5. Atsuta Y., Aoki N., Sato K. et al. Identification of metalloproteinase-1 as a member of a tumor associated antigen in patients with breast cancer // Cancer Lett. – 2002. – 182 (1). – P. 101–7.
6. Carles A., Millon R., Cromer A. et al. Head and neck squamous cell carcinoma transcriptome analysis by comprehensive validated differential display // Oncogene. – 2006. – 25. – P. 821–31.
7. Cortesina G. and Martone T. Molecular metastases markers in head and neck squamous cell carcinoma: review of the literature // Acta Otorhinolaryngol Ital. – 2006. – 26(6). – P. 317–25.
8. Cheng A.-J., Chen L.-C., Chien K.-Y. et al. Oral cancer plasma tumor marker identified with bead-based affinity-fractionated proteomic technology // Clin. Chem. – 2005. – 51(12). – P. 2236–44.
9. Chen Y.T., Tu J.J., Kao J. et al. Messenger RNA expression ratios among four genes predict subtypes of renal cell carcinoma and distinguish oncocyoma from carcinoma // Clin Cancer Res. – 2005. – 11(18). – P. 6558–66.
10. Chung C.H., Parker J.S., Ely K. et al. Gene expression profiles identify epithelial-to-mesenchymal transition and activation of nuclear factor-kappaB signaling as characteristics of a high-risk head and neck squamous cell carcinoma // Cancer Research. – 2006. – 66. – P. 8210–8.
11. Chung C.H., Aulino J. et al. Nuclear factor-kappa B pathway and response in a phase II trial of bortezomib and docetaxel in patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma // Annals of Oncology. – 2010. – 21(4). – P. 864–70.
12. Cheng A.L., Huang W.G., Chen Z.C. et al. Identification of novel nasopharyngeal carcinoma biomarkers by laser capture microdissection and proteomic analysis // Clinical Cancer Research. – 2008. – 14. – P. 435–45.
13. Dai Y., Pierson S.E., Dudney W.C., Stack B.C. Extracellular function of metalloproteinase-1: reducing paxillin in head and neck squamous cell carcinoma and inhibiting tumor growth // J. Int. J. Cancer. – 2010. – 126. – P. 611–9.
14. Demircan K., Gunduz E., Gunduz M. et al. Increased mRNA expression of ADAMTS metalloproteinases in metastatic foci of head and neck cancer // Head & Neck. – 2009. – 31(6). – P. 793–801.
15. Ferris R. L., Xi L., Raja S. et al. Molecular staging of cervical lymph nodes in squamous cell carcinoma of the head and neck // Cancer Research. – 2005. – 65. – P. 2147–56.
16. Fernandez-Pol J.A. Fernandez-Pol J.A. Metalloproteinase as a novel tumor marker in sera of patients with various types of common cancers: implications for prevention and therapy // Anticancer Res. – 1996. – 16(4B). – P. 2177–85.
17. Garavello W., Ciardo A., Spreafico R. et al. Risk Factors for Distant Metastases in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma // Arch Otolaryngol Head Neck Surg. – 2006. – 132. – P. 762–6.
18. Gendena E.M., Ferlito A., Bradley P.J. et al. Neck disease and distant metastases // Oral Oncology. – 2003. – 39. – P. 207–12.
19. Ginos M.A., Page G.P., Michalowicz B.S. et al. Identification of a gene expression signature associated with recurrent disease in squamous cell carcinoma of the head and neck // Cancer Res. – 2004. – 64(1). – P. 55–63.
20. Grandis J.R., Pietenpol J.A., Greenberger J.S. et al. Head and Neck Cancer // Cancer Research. – 2004. – 64. – P. 8126–9.
21. Gonzalez H.E., Gujrati M., Frederick M. et al. Identification of 9 genes differentially expressed in head and neck squamous cell carcinoma // Arch. Otolaryngol Head Neck Surg. – 2003. – 129(7). – P. 754–62.
22. Gourin C.G., Zhi W., Adam B.L. Proteomic identification of serum biomarkers for head and neck cancer surveillance. Laryngoscope // Laryngoscope. – 2009. – 119(7). – P. 1291–302.
23. Gourin C.G., Xia Z.S., Han Y. et al. Serum protein profile analysis in patients with head and neck squamous cell carcinoma // Arch Otolaryngol Head Neck Surg. – 2006. – 132(4). – P. 390–7.
24. Görögh T., Beier U.H., Baumken J. et al. Metalloproteinases and their inhibitors: influence on... // Head Neck. – 2006. – 28(1). – P. 31–9.
25. Hardisson D. Molecular pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma. // Eur Arch Otorhinolaryngol. – 2003. – 260(9). – P. 502–8.
26. Hu S., Yu T., Xie Y. et al. Discovery of oral fluid biomarkers for human oral cancer by mass spectrometry // Cancer Genomics and Proteomics. – 2007. – 4(2). – P. 55–64.
27. Jeon G.A., Lee J.S., Patel V. et al. Global gene expression profiles of human head and neck squamous carcinoma cell lines // Int. J. Cancer. – 2004. – 112(2). – P. 249–58.

Однако до сих пор при использовании современных технологий нельзя с полной достоверностью предсказать метастатический потенциал и биологическое поведение опухоли. Поскольку инвазия и метастазирование очень сложные и многоступенчатые процессы, то для описания и прогнозирования опухолевого заболевания, вероятно, потребуется больше чем один маркер, чтобы оценить индивидуальный риск больного. В настоящее время для использования результатов протеомных и транскриптомных исследований в онкологической практике необходимо идентифицировать как можно больше маркеров. В дальнейшем полученные с помощью протеомного и транскриптомного анализов данные позволят выявить значимые показатели для создания диагностических панелей и скрининговых систем с целью прогноза развития метастазов и рецидивов, а также для индивидуального подхода к выбору тактики лечения. Кроме того, понимание молекулярных основ метастатического распространения опухоли поможет выбрать новые мишени для антиметастатической ХТ.

28. Jones J., Otu H., et al. Gene signatures of progression and metastasis in renal cell cancer // Clin Cancer Res. – 2005. – 11(16). – P. 5730–9.
29. Kano M., Shimada Y., Kaganoi J. et al. Detection of lymph node metastasis of oesophageal cancer by RT-nested PCR for SCC antigen gene mRNA // British Journal of Cancer. – 2000. – 82. – P. 429–35.
30. Koike H., Uzawa K., Nakashima D. et al. Identification of differentially expressed proteins in oral squamous cell carcinoma using a global proteomic approach // Int. J. Oncol. – 2005. – 27(1). – P. 59–67.
31. Kondakova I.V., Klisho E.V., Savenkova O.V. et al. Matrix metalloproteinase 2 and 9 as the factor of head and neck tumor metastasis // Biomed Khim. – 2008. – 54(5). – P. 555–60.
32. Kruse A.L.D. and Grötz K. W. Evaluation of metastases in the submandibular gland in head and neck malignancy // Head & Neck Oncology. – 2009. – 1. – P. 28–33.
33. Lee W.J., Keefer K., Hollenbeak C.S. et al. A new assay to screen for head and neck squamous cell carcinoma using the tumor marker metalloproteinase (MPS) // Otolaryngol Head Neck Surg. – 2004. – 131. – P. 466–71.
34. Li S.-J., Peng M., Li H. et al. Sys-BodyFluid: a systematical database for human body fluid proteome research // Nucleic Acids Research. – 2009. – 37. – P. 907–12.
35. Li X.M., Huang W.G., Yi H. et al. Proteomic analysis to identify cytokeratin 18 as a novel biomarker of nasopharyngeal carcinoma // J Cancer Res Clin Oncol. – 2009. – 135(12). – P. 1763–75.
36. Liaudet-Coopman E., Beaujouis M., Derocq D. et al. Cathepsin D: newly discovered functions of a long-standing aspartic protease in cancer and apoptosis // Cancer Lett. – 2006. – 237. – P. 167–79.
37. Li Y., John M.A.R., Zhou X. et al. Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection // Clin. Cancer Res. – 2004. – 10. – P. 8442–50.
38. Lunde M.L., Warnakulasuriya S., Sand L. et al. Gene expression analysis by cDNA microarray in oral cancers from two Western populations // Anticancer Res. – 2010. – 30(4). – P. 1083–91.
39. Lo W.Y., Tsai M.H., Tsai Y. et al. Identification of over-expressed proteins in oral squamous cell carcinoma (OSCC) patients by clinical proteomic analysis // Clin Chim Acta. – 2007. – 376(1–2). – P. 101–7.
40. Melle C., Ernst G., et al. Biomarker Discovery and Identification in Laser Microdissected Head and Neck Squamous Cell Carcinoma with ProteinChip® Technology, Two-dimensional Gel Electrophoresis, Tandem Mass Spectrometry, and Immunohistochemistry // Molecular & Cellular Proteomics. – 2003. – 32. – P. 443–52.
41. Méndez E., Fan W., Choi P. et al. Tumor-specific genetic expression profile of metastatic oral squamous cell carcinoma // Head Neck. – 2007. – 29(9). – P. 803–14.
42. Moustafa A.-E.A., Alaoui-Jamali M.A., Batist G. et al. Identification of genes associated with head and neck carcinogenesis by cDNA microarray comparison between matched primary normal epithelial and squamous carcinoma cells // Oncogene. – 2002. – 21(17). – P. 2634–40.
43. Mlynarek A.M., Balys R.L., Su J. et al. A cell proteomic approach for the detection of secretable biomarkers of invasiveness in oral squamous cell carcinoma // Arch Otolaryngol Head Neck Surg. – 2007. – 33(9). – P. 910–8.
44. Nagaraja G.M., Othman M., Fox B.P. et al. Gene expression signatures and biomarkers of noninvasive and invasive breast cancer cells: comprehensive profiles by representational difference analysis, microarrays and proteomics // Oncogene. – 2006. – 25(16). – P. 2328–38.
45. Patel V., Hood B.L., Molinolo A.A. et al. Proteomic analysis of laser-captured paraffin-embedded tissues: a molecular portrait of head and neck cancer progression // Clinical Cancer Research. – 2008. – 14(4). – P. 1002–14.
46. Perez-Ordoez B., Beauchemin M., Jordan R.C.K. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck // J Clin Pathol. – 2006. – 59. – P. 445–53.
47. Sen S., Ateeq B., Sharma H. et al. Molecular profiling of genes in squamous cell lung carcinoma in Asian Indians // Life Sci. – 2008. – 82(13–14). – P. 772–9.
48. Silveira N.J.F., Varuzza L., Machado-Lima A. et al. Searching for molecular markers in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC) by statistical and bioinformatic analysis of larynx-derived SAGE libraries // BMC Medical Genomics. – 2008. – 1. – P. 56–73.
49. Scurry W.C., Stack B.C. Role of metalloproteins in the clinical management of head and neck squamous cell carcinoma // Head Neck. – 2007. – 29(12). – P. 1144–55.
50. Solbach C., Roller M., Eckerdt F. et al. Pituitary tumor-transforming gene expression is a prognostic marker for tumor recurrence in squamous cell carcinoma of the head and neck // BMC Cancer. – 2006. – 6. – P. 242–9.
51. Sudha R., Kawachi N., Du P. et al. Global proteomic analysis distinguishes biologic differences in head and neck squamous carcinoma // Laboratory Investigation. – 2007. – 87. – P. 755–66.
52. Sun G., Sun G., He H. et al. Proteomic Diagnosis Models from Serum for Early Detection of Oral Squamous Cell Carcinoma // Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology. – 2009. – 37(3). – P. 125–9.
53. Stack B.C. Jr., Hollenbeak C.S., Lee C.M. et al. Metalloproteinase as a marker for head and neck cancer // World J Surg Oncol. – 2004. – 2. – P. 45–53.
54. Solassol J., Burcia V., Costes V. et al. P16INK4a expression and p16 mRNA quantification for the staging of sentinel lymph nodes in head and neck cancer // British Journal of Cancer. – 2010. – 102. – P. 181–7.
55. Rodrigo J.P., Suarez C., Ferlito A. et al. Potential Molecular Prognostic Markers for Lymph Node Metastasis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma // Acta Oto-Laryngologica. – 2003. – 123(1). – P. 100–5.
56. Takes R.P., Baatenburg de J. R.J., Wiffels K. et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer // J. Pathol. – 2001. – 194(3). – P. 298–302.
57. Thomas G.R., Nadiminti H. and Regalado J. Molecular predictors of clinical outcome in patients with head and neck squamous cell carcinoma // International Journal of Experimental Pathology. – 2005. – 86(6). – P. 347–63.
58. Turhani D., Krapfenbauer K., Thurnher D. et al. Identification of differentially expressed, tumor-associated proteins in oral squamous cell carcinoma by proteomic analysis // Electrophoresis. – 2006. – 27(7). – P. 1417–23.
59. Vigneswaran N., Wu J., Sacks P. et al. Microarray gene expression profiling of cell lines from primary and metastatic tongue squamous cell carcinoma: Possible insights from emerging technology // J Oral Pathol Med. – 2005. – 34(2). – P. 77–86.
60. Wadsworth J.T., Somers K.D., Cazares L.H. et al. Serum protein profiles to identify head and neck cancer // Clinical Cancer Research. – 2004. – 10. – P. 1625–32.
61. Werner J.A., Rathcke I.O., Mandic R. The role of matrix metalloproteinases in squamous cell carcinomas of the head and neck // Clin Exp Metastasis. – 2002. – 19(4). – P. 275–82.
62. William C.S., Timothy T.C., Ngan R. K.C. et al. ProteinChip Array Profiling for Identification of Disease- and Chemotherapy-Associated Biomarkers of Nasopharyngeal Carcinoma // Clinical Chemistry. – 2007. – 53. – P. 241–50.
63. Wu C.C., Chien K.Y., Tsang N.M. et al. Cancer cell-secreted proteomes as a basis for searching potential tumor markers: nasopharyngeal carcinoma as a model // Proteomics. – 2005. – 5(12). – P. 3173–82.
64. Xie H., Onsongo G., Popko J. et al. Proteomics analysis of cells in whole saliva from oral cancer patients via value-added three-dimensional peptide fractionation and tandem mass spectrometry // Molecular & Cellular Proteomics. – 2008. – 7. – P. 486–98.
65. Ye H., Wang A., Lee B.-S. et al. Proteomic Based Identification of Manganese Superoxide Dismutase 2 (SOD2) as a Metastasis Marker for Oral Squamous Cell Carcinoma // Cancer Genomics and Proteomics. – 2008. – 5(2). – P. 85–93.
66. Zhang L., Yang X., Zhong L.P. et al. Decreased expression of Annexin A1 correlates with pathologic differentiation grade in oral squamous cell carcinoma // J. Oral Pathol Med. – 2009. – 38(4). – P. 362–70.