

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТЕОМА БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ КАРЦИНОМАХ ГОЛОВЫ И ШЕИ

Г.В. Какурина¹, кандидат медицинских наук, И.В. Кондакова¹, доктор медицинских наук,
профессор, Е.Л. Чойнзон^{1,2}, доктор медицинских наук, профессор

¹Научно-исследовательский институт онкологии СО РАМН, Томск

²Сибирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Томск

E-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

Плоскоклеточные карциномы головы и шеи — одна из агрессивных форм опухолей, с высокой степенью запущенности и низкой выживаемостью больных, что делает необходимым разработку новых маркеров прогноза течения заболевания. Протеомные технологии позволяют провести полномасштабное исследование изменений белкового спектра тканей и биологических жидкостей организма больного, что может открыть новые подходы в лабораторной диагностике. Идентифицированы белки, определение которых возможно в качестве маркеров для ранней диагностики заболевания и прогноза чувствительности опухолей к химиотерапевтическим воздействиям. Решение проблем, связанных с интерпретацией данных, различными методологическими подходами и незаконченностью многих работ позволит с уверенностью определить, какие из кандидатных белков можно предложить для использования в клинической практике.

Ключевые слова: плоскоклеточная карцинома головы и шеи, протеомика, маркеры, прогнозирование

PROTEOMIC PATTERNS OF BIOLOGICAL FLUIDS IN PATIENTS WITH HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMA

G.V. Kakurina¹, I.V. Kondakova¹, E.L. Choinzonov^{1,2}

¹Cancer Research Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russian Federation;

²Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Head and neck squamous cell carcinoma is one of the aggressive forms of cancer, which often presents at advanced stages, being associated with poor prognosis and low survival rates. Therefore, the delivery new biomarkers for early cancer detection and prediction of tumor response to target therapy seems to be necessary. The proteomic technologies allow to conduct the large-scale studies of changes in protein profile of tissues and biological fluids, thus discovering new approaches to the laboratory diagnosis. Identified proteins can be used as markers for early cancer detection and prediction of the chemotherapy response. Solution of the problems related to the interpretation of data, different methodological approaches and incompleteness of many studies, allow to determine with sufficient certainty what proteins can be suggested to use in clinical settings.

Key words: squamous cell head and neck carcinoma, proteomics, markers, prognosis

ВВЕДЕНИЕ

Одна из важных задач современной онкологии — поиск характерных признаков и свойств опухолей, на основе которых можно прогнозировать течение заболевания и определять адекватную терапевтическую тактику. Известно, что типичные клетки плоскоклеточной карциномы (ПК) обладают способностью к персистирующей инвазии, которая приводит к местным рецидивам и лимфогенному метастазированию [4, 23]. Биологическое поведение ПК головы и шеи (ПКГШ), способность к метастазированию и рецидивированию, чувствительность к терапевтическим воздействиям могут варьировать в пределах как одной группы, так и одной локализации [17, 19].

Оценивая биологическую агрессивность первичной опухоли, чаще всего исследуют ее пролиферативную активность, апоптоз и такие ключевые показатели, как изменение адгезивных свойств опухолевых клеток, появление у них «локомоторного» фенотипа и способности к инвазии, сопровождающейся увеличением продукции протеаз [2, 3], что изменяет паренхиматозно-стромальные взаимоотношения, разрушая внеклеточный матрикс. Использование современных молекулярно-биологических методов (таких, как иммуногисто- и иммуноцитохимия, гибридикация *in situ*, полимеразная цепная реакция, лазерная микродиссекция, секвенирование, микрочиповые технологии и т.д.) позволяет достаточно полно оценить картину как белковых, так и генетических

изменений на уровне целостного организма, сопровождающих появление признаков прогрессирования опухолевого процесса.

С возникновением протеомных технологий появилась возможность провести исследование большой совокупности белков — ключевых игроков во всех биологических процессах, и сравнить протеомы тканей и биологических жидкостей организма в норме и при патологии для выявления потенциальных биомаркеров заболеваний, в том числе злокачественных новообразований [1]. В большинстве опубликованных исследований изучали молекулярные характеристики, отражающие ограниченное количество параметров, связанных с биологической агрессивностью опухоли. Работ, в которых рассматривался бы широкий спектр маркеров, описывающих различные стороны прогрессии опухолевого заболевания, немного. До сих пор не определена диагностическая панель белковых маркеров, способных достоверно предсказать биологическое поведение опухоли и ее ответ на терапевтические воздействия, которая была бы достаточной для проведения стандартного клинического исследования.

ПРОТЕОМНЫЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПКГШ

Биологические жидкости организма человека являются наиболее удобным объектом для исследования, поскольку содержат белки практически всех тканей организма, и в конечном итоге все патологические процессы отражаются на их составе. Поэтому поиск ключевых биологических меток патологических состояний чаще всего основан на использовании биологических жидкостей пациента, в частности сыворотки крови. Основной путь проведения исследовательских работ — сравнительный анализ белковых спектров сыворотки или плазмы крови практически здоровых доноров и пациентов со злокачественными новообразованиями. Причем такой подход является наиболее чувствительным и специфичным методом.

Сравнительный анализ протеома сыворотки крови показал его отличие у больных с ПКГШ и у здоровых людей при высокой степени чувствительности и специфичности [43]. Кроме того, анализ белковых спектров сыворотки крови (от 0 до 100 kDa) продемонстрировал определенные их различия у пациентов с опухолями полости рта (83%), ротоглотки (81%), гортани (88%) [21]. В образцах сыворотки крови с помощью SELDI-MS было определено 8 возможных биомаркеров с различной молекулярной массой (5320–9366 Da). При проверке точности предложенной модели для первичной диагностики ее чувствительность составила 90,9% (40/44), специфичность — 92,0% (23/25) [9].

Протеомный анализ низкомолекулярных фракций белков сыворотки крови здоровых (доноры) и

больных раком различной локализации, в том числе ПКГШ, выявил 2 спектральных пика, соответствующих фрагментам сывороточного амилоида А. Авторы подчеркивают, что увеличение содержания сывороточного амилоида А отражает общий ответ организма на патологический процесс [34]. С помощью MALDI-TOF-масс-спектрометрии плазмы крови больных с ПК полости рта было выявлено 6 белков с различной молекулярной массой (2664–9240 Da). Белок с массой 2664 Da, идентифицированный как фрагмент α -цепи фибриногена, показал самую высокую чувствительность (100%) и специфичность (97%) в отношении определения метастазов [10]. Увеличение содержания фрагмента α -цепи фибриногена и(или) других его продуктов протеолиза может свидетельствовать об активации сериновых протеаз, которые участвуют в контроле физиологических процессов (активация каскада белков свертывания крови, фибринолиз) и могут, вероятно, служить маркером инвазии.

Для оценки возможности прогнозировать рецидив болезни Ch. Gourgin и соавт. исследовали белковый спектр сыворотки крови больных ПКГШ после лечения с использованием комбинации таких методов, как SELDI-TOF-MS и 2-DIGE/MALDI-TOF-MS [22]. Было показано, что существует дифференциальная экспрессия 181 белка в сыворотке крови у больных ПКГШ до лечения и через 6 мес и более после него. Кроме этого, авторы показали, что рецидив заболевания был связан с недостаточной экспрессией нескольких ингибиторов сериновых протеаз (С1-ингибитор, SERPING1), кининогена и со сверхэкспрессией антиоксидантного тиолспецифичного белка нескольких форм аполипопротеина А1 и цитокератина 2. Показано, что кининоген ингибирует клеточную адгезию, миграцию, пролиферацию, инвазию и ангиогенез. Он очень восприимчив к деградации тканевым *калликреином 14*, участвующим в опухолевом росте, инвазии и ангиогенезе через активацию матриксных протеаз. Известно, что высокий уровень экспрессии mRNA калликреина 14 связан с агрессивными формами рака молочной железы, предстательной железы и яичников [7, 13]. Как предполагают авторы, низкая экспрессия кининогена и его предшественников при рецидивирующей ПКГШ является результатом увеличенной деградации и может быть биомаркером агрессивного поведения опухоли. Отмеченная в работе сверхэкспрессия эпидермального цитокератина-2, как известно, является показателем активации пролиферации кератиноцитов, их дифференцировки и конечной стадии ороговения [12]. Протеомный профиль сыворотки крови больных ПКГШ до и после радиотерапии показал изменения в экспрессии серотрансферина и транстиретина, причем уровень идентифицированных белков в сыворотке крови больных после лечения возвращался к контрольно-

му. В связи с этим авторы предположили важность этих белков для диагностики и мониторинга больных с ПКГШ [40].

Таким образом, исследования пептидного состава сыворотки крови больных с ПКГШ в литературе представлены недостаточно, работы по поиску возможных маркеров заболевания являются незаконченными и разнородными по содержанию. Полученные авторами данные не могут отразить в полной мере ключевые точки прогрессирования патологического процесса и поэтому стать источником для разработки маркерной панели. Кроме того, различный методический подход может внести определенные трудности в интерпретацию результатов и дальнейшую разработку диагностической панели для клинических нужд.

Отметим, что на данный момент в крови идентифицировано 20 433 белка, внесенных в электронную базу данных [16]. Из них 1261 белок ассоциирован со злокачественными новообразованиями различных локализаций, около 22% являются плазменными белками крови и только 5% из предложенных кандидатных маркеров были использованы для дальнейших исследований и клинических разработок [35]. Поэтому данное направление остается перспективным для многих исследователей.

ПРОТЕОМНЫЙ СПЕКТР СЛЮНЫ БОЛЬНЫХ ПКГШ

Недавние исследования с применением протеомных технологий показали возможность использования слюны для поиска новых биомаркеров как неинвазивный метод диагностики [26]. Слюна – один из самых доступных образцов для получения биомаркеров, особенно для опухолей поверхностных локализаций (головы и шеи). Например, определенные успехи достигнуты при поиске маркеров рака поджелудочной железы – исследование транскриптомного профиля слюны выявило возможные маркеры с чувствительностью 90,0% и специфичностью 95,0% [45].

С помощью хромато-масс-спектрометрии LC-MS/MS, 2D-гель-электрофореза с последующим иммуноблоттингом были отобраны 12 кандидатных белков с высокой экспрессией в слюне у пациентов с ПК полости рта. Из них для 5 белков показаны существенные различия между больными (основная группа; $n=48$; $p \leq 0,006$) и здоровыми (контроль; $n=48$): Мас-2 ВР, MRP14, CD59, каталаза, профилин [27]. Миелоидассоциированный белок MRP14 известен как S100-A9-белок или кальгранулин-В и связан с регуляцией каскада воспалительных реакций [42]. Кроме этого, показано, что комплекс MRP14-MRP8 (кальгранулин А/кальгранулин В) играет важную роль в подавлении иммунного ответа на опухоль, способствуя прогрессии опухолей разного происхождения [11, 18, 25, 38]. Также показана сверхэкспрессия белка S100A9, связанная с плохим прогнозом у пациентов с

немелкоклеточным раком легкого [30]. Известно, что CD59 (протектин, MIRL, MACIF, P-18, H19) – один из мембранных белков, которые защищают клетки собственного организма от лизиса под воздействием лизирующей мембрану комплекса; его экспрессия связана с плохим прогнозом у больных раком ободочной и прямой кишки [44].

Изучение белкового профиля в образцах слюны пациентов с ПК полости рта с помощью протеомного анализа в комплексе с ELISA и вестерн-блоттингом выявили увеличение экспрессии трансферрина, достоверно коррелировавшее с размером и стадией опухоли [28], а также пептид 2918.57 Da, идентифицированный как олигомерный белок цинкового пальца ZNF510 (ZNP510) (25 и 60% соответственно у пациентов с T1+T2 и T3+T4), который, по мнению авторов, может быть полезен для ранней диагностики опухоли этой локализации [29]. Белки семейства ZNP (ZNP510, ZNP782) идентифицированы недавно, предположительно их функция заключается в регуляции транскрипции, они экспрессируются в остеобластах и хондроцитах и, видимо, связаны с процессами и особенностями этнического развития скелета индивидуума [31].

При сравнительном анализе протеомов слюны пациентов с ПКГШ и доброкачественными заболеваниями этой локализации установлено, что у больных раком повышена экспрессия β -фибрина, кальций-связывающего белка S100, трансферрина, тяжелая цепь γ -иммуноглобулина и кофилина-1 и понижена экспрессия транстеритина. Увеличенная экспрессия S100 подтверждена иммуноблоттингом [14]. Трансферрин и транстеритин относятся к транспортным белкам и могут быть вовлечены в стимуляцию пролиферации опухолевых клеток [36]. Белки семейства S100 насчитывают около 16 членов, которые участвуют в ответе генов раннего реагирования, в реализации генетических программ апоптоза и антиапоптозной защиты [37] и являются маркерами злокачественной меланомы. Белки S100 являются кальцийсвязывающими, регулирующими фундаментальные биологические процессы. 13 белков из S100 (S100A2, S100A3, S100A4, S100A6, S100A7, S100A8, S100A9, S100A10, S100A11, S100A12, S100A15, S100B, и S100P) экспрессируются в нормальном и(или) пораженном эпидермисе. Некоторые S100 белки сверхэкспрессируются в коже при раке, метастазах, псориазе, артрите, повреждении кожи и ее воспалении, при клеточных стрессах [15]. Один из белков семейства S100A4 (Mts1) предложен как маркер стволовых клеток ПКГШ [32]. Согласно одной из гипотез, появление агрессивного фенотипа ПКГШ зависит от наличия в пределах опухоли субпопуляции клеток (так называемые раковые стволовые клетки – CSCs или ракинициирующие клетки – CICs), ведущей к регенерации опухоли и метастазированию, развитию химио- и радиорезистентности [24, 39, 41].

Оценка протеомного профиля слюны больных ПКГШ показала увеличенную (по сравнению с таковой у здоровых) экспрессию белка PLUNC (белок, секретирующийся эпителиальными клетками верхних дыхательных путей) и Zn- α_2 -гликопротеина. Авторы отметили, что обнаруженные ими белки в слюне могут быть потенциальными маркерами диагностики и мониторинга у пациентов с ПКГШ в комбинации с выявленными в той же работе белками в плазме крови [40].

Проведенные исследования показали присутствие достаточно информативных биомаркеров в слюне. Однако мало описаны проблемы специфичности/чувствительности в отношении патологических состояний возможных биомаркеров, содержащихся в слюне пациентов [5, 26]. Кроме того, состав белков в слюне может зависеть от различных факторов, в том числе и от этнического происхождения [8].

Ранее при картировании белков слюны здорового человека было идентифицировано около 100 белков, представляющих 20 различных модификаций. Основная часть белков, экспрессировавшихся в различных формах, состояла из α -амилазы, иммуноглобулина (Ig) A, пролактининдуцибельного белка, Zn- β_2 -гликопротеина и цистатинов (S, SA, D и SN), антагониста рецептора интерлейкина (ИЛ)-1, липокалина-1 и кальгранулинов A и B (S100A8 и A9), аполипопротеина I, α_2 -микроглобулина, S-глутатионтрансферазы [20]. Дальнейшие исследования протеомного состава слюны человека пополнили белковый каталог до 2290 белков, причем исследователи отметили, что приблизительно 27% из них обнаружены в плазме крови. Кроме того, как утверждают авторы, почти 40% белков из предложенных в качестве кандидатных маркеров рака, сердечно-сосудистых и других заболеваний, могут находиться в цельной слюне [33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературы позволяет сделать вывод, что протеомная характеристика ПКГШ сегодня изучена не в полном объеме, результаты многих работ не проанализированы до конца или остаются на стадии идентификации белка по его массе.

На данном этапе можно выделить несколько встречающихся в разных работах белковых маркеров: белки семейства S100 (клеточные линии, слюна, опухолевый тканевый материал), митохондриальная супероксиддисмутаза, белки теплового шока и виментин (клеточные линии, тканевый материал), цитокератины (кровь, тканевый материал), транспортные белки (слюна, кровь).

Итак, описанные в литературе кандидатные маркеры включают белки, являющиеся продуктами внутриклеточных реакций или вовлеченные в различные клеточные и внеклеточные процессы и структуры – такие, как межклеточные контакты, ангиогенез, клеточная дифференцировка, пролифе-

рация, апоптоз, иммунный ответ, передача клеточных сигналов, гидролиз, клеточный хоуминг, ответ острой фазы и пр. Гипотетически все эти белки в той или иной концентрации должны содержаться в биологических жидкостях организма (кровь, слюна), где их можно обнаружить с помощью высокотехнологичных протеомных методов, которые позволяют отследить концентрацию белка на фемтомолярном уровне. Следует отметить, что анализ биологических жидкостей организма достаточно доступен для клинического применения.

Несмотря на высокий методологический подход в исследованиях белкового профиля карцином головы и шеи, картина происходящих в организме физиологических и патологических процессов при прогрессировании ПКГШ недостаточно ясная. Результаты исследований описаны довольно мозаично, чаще противоречивы и разнородны по содержанию. Учитывая, что прогрессирование заболевания сопровождается большим количеством реакций (усиление клеточной адгезии, появление способности опухолевых клеток к миграции и инвазии, усиленная пролиферация, активация неоангиогенеза, толерантность к апоптотическим сигналам и уход от иммунного надзора), в сыворотке крови больных может появиться большое количество конечных продуктов этих процессов. Возможно, на ранних стадиях появляются также сигнальные белки и(или) продукты клеточных реакций, которые могут говорить о начале процесса перехода новообразования на более агрессивный уровень. Для разработки диагностической панели необходимо выделить особенно важные ключевые белки, которые с высокой степенью чувствительности и достоверности будут предсказывать исход заболевания.

Первоначально применение новых технологий для поиска биомаркеров в клинически доступных образцах (ткань, кровь и слюна) в качестве предвестников ПКГШ, дало многообещающие результаты. Однако проблемы, связанные с оценкой воспроизводимости результатов и недостаточной освещенностью большого количества данных, пока не разрешены. Нельзя с полной уверенностью сказать, какой из предложенных в экспериментальных исследованиях белков может быть включен в дальнейшие клинические исследования. Нужно учитывать также, что идентифицированная масс-спектрометрически молекулярная масса белка в эксперименте может отличаться от теоретических значений в базе данных протеомного атласа. Вероятно, это связано с посттрансляционными модификациями.

Таким образом, несмотря на большое количество работ с использованием клинического материала, до сих пор неизвестно, какие из кандидатных белков в полной мере могут служить маркерами, предупреждающими о возможной прогрессии опухолевого заболевания и ответе на терапевтические вмешательства. На

данном этапе поиска из 1261 предложенных кандидатных белка только единицы одобрены и разрешены к применению для диагностических целей в качестве маркеров опухолевого процесса [35]. Решение проблем, связанных с интерпретацией эксперименталь-

ных данных, различными методологическими подходами и незаконченностью многих работ позволит с уверенностью определить, какие из кандидатных белков-маркеров можно предложить для использования в клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

- Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Постгеномные технологии в прогнозе метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи // *Росс. биотерапев. журн.* – 2011; 3: 31–6.
- Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Прогнозирование метастазирования плоскоклеточного карцином головы и шеи // *Вопр. онкологии.* – 2012; 1 (58): 26–32.
- Кондакова И.В., Клишо Е.В., Савенкова О.В. и др. Патогенетическая значимость системы матриксных металлопротеиназ при плоскоклеточном раке головы и шеи // *Сиб. онкол. журн.* – 2011; 1: 29–33.
- Чойнзонов Е.Л., Чижевская С.Ю., Мусабасева Л.И., и др. Результаты комбинированного лечения больших раком гортани и гортаноглотки // *Сиб. онкол. журн.* – 2012; 1 (49): 5–9.
- Al-Tarawneh S., Border M., Dibble C. et al. Defining salivary biomarkers using mass spectrometry-based proteomics: a systematic review // *OMICS.* – 2011; 15(6): 353–61.
- Anderson N., Polanski M., Pieper R., et al. The Human Plasma Proteome: A Non-Redundant List Developed by Combination of Four Separate Sources // *Mol. Cell. Proteomics.* – 2004; 3: 311–26.
- Borgono C., Michael I., Shaw J. et al. Expression and functional characterization of the cancer-related serine protease, human tissue kallikrein 14 // *J Biol Chem.* – 2007; 282: 2405–2422.
- Brinkmann O., Kasratovic D., Milovan V. et al. Oral Squamous Cell Carcinoma Detection By Salivary Biomarkers in a Serbian Population // *Oral Oncol.* – 2011; 47(1): 51–5.
- Cao S., Yu J., Chen Q. et al. Detection of nasopharyngeal carcinoma using surface-enhanced laser desorption and ionization mass spectrometry profiles of the serum proteome // *Chin. J. Cancer.* – 2010; 29 (8): 721–8.
- Cheng A., Chen L., Chien K. et al. Oral cancer plasma tumor marker identified with bead-based affinity-fractionated proteomic technology // *Clin. Chem.* – 2005; 51 (12): 2236–44.
- Cheng P., Corzo C., Luetke N. et al. Inhibition of dendritic cell differentiation and accumulation of myeloid-derived suppressor cells in cancer is regulated by S100A9 protein // *J. Exp. Med.* – 2008; 205(10): 2235–49.
- Collin C., Moll R., Kubicka S. et al. Characterization of human cytokeratin 2, an epidermal cytoskeletal protein synthesized late during differentiation // *Exp. Cell. Res.* – 1992; 202 (1): 132–41.
- Coticchia Ch., Yang J., Moses M. Ovarian Cancer Biomarkers: Current Options and Future Promise // *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* – 2008; 6: 795–802.
- Dowling P., Wormald R., Meleady P. et al. Analysis of the saliva proteome from patients with head and neck squamous cell carcinoma reveals differences in abundance levels of proteins associated with tumour progression and metastasis // *J. Proteomics.* – 2008; 71 (2): 168–75.
- Eckert R., Broome A., Ruse M. et al. S100 proteins in the epidermis // *J. Invest. Dermatol.* – 2004; 123 (1): 23–33.
- Farrah T., Deutsch E., Omenn G. et al. A high-confidence human plasma proteome reference set with estimated concentrations in PeptideAtlas // *Mol. Cell. Proteomics.* – 2011; 10 (9): M110.006353.
- 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: 762–6.
- Gebhardt C., Németh J., Angel P. et al. S100A8 and S100A9 in inflammation and cancer // *Biochem. Pharmacol.* – 2006; 72 (11): 1622–31.
- Gendena E., Ferlito A., Bradley P. et al. Neck disease and distant metastases // *Oral. Oncology.* – 2003; 39: 207–12.
- Ghafouri B., Tagesson C., Lindahl M. Mapping of proteins in human saliva using two-dimensional gel electrophoresis and peptide mass fingerprinting // *Proteomics.* – 2003; 3 (6): 1003–15.
- Gourin C., Xia Z., 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): 390–7.
- Gourin C., Zhi W., Adam B. Proteomic identification of serum biomarkers for head and neck cancer surveillance // *Laryngoscope.* – 2009; 119 (7): 1291–302.
- Grandis J., Pietenpol J., Greenberger J. et al. Head and Neck Cancer. Meeting Summary and Research Opportunities // *Cancer Res.* – 2004; 64: 8126–9.
- Graziano A., d'Aquino R., Tirino V. et al. The stem cell hypothesis in head and neck cancer // *J. Cell. Biochem.* – 2008; 103(2): 408–12.
- Hermani A., De Servi B., Medunjanin S. et al. S100A8 and S100A9 activate MAP kinase and NF-kappaB signaling pathways and trigger translocation of RAGE in human prostate cancer cells // *Exp. Cell. Res.* – 2006; 312 (2): 184–97.
- Hu S., Loo J., Wong D. Human saliva proteome analysis // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2007; 1098: 323–9.
- Hu Sh., Arellano M., Boonthueung P. et al. Salivary Proteomics for Oral Cancer Biomarker Discovery // *Clin. Cancer Res.* – 2008; 14: 6246–52.
- Jou Y., Lin C., Lai C. et al. Proteomic identification of salivary transferrin as a biomarker for early detection of oral cancer // *Anal. Chim. Acta.* – 2010; 681 (1–2): 41–8.
- Jou Y., Lin C., Lai C. et al. Salivary zinc finger protein 510 peptide as a novel biomarker for detection of oral squamous cell carcinoma in early stages // *Clin. Chim. Acta.* – 2011; 412 (15–16): 1357–65.
- Kawai H., Minamiya Y., Takahashi N. Prognostic impact of S100A9 overexpression in non-small cell lung cancer // *Tumor Biology.* – 2011; 32 (4): 641–6.
- Lei Sh., Yang T., Tan L. et al. Genome-wide association scan for stature in Chinese: evidence for ethnic specific loci // *Hum. Genet.* – 2009; 125 (1): 1–9.
- Lo J., Yu C., Chiou S. et al. The epithelial-mesenchymal transition mediator S100A4 maintains cancer-initiating cells in head and neck cancers // *Cancer Res.* – 2011; 71 (5): 1912–23.
- Loo J., Yan W., Ramachandran P. et al. Comparative Human Salivary and Plasma Proteomes // *J. Dent. Res.* – 2010; 89 (10): 1016–23.
- Pietrowska M., Polańska J., Suwiński R. et al. Comparison of peptide cancer signatures identified by mass spectrometry in serum of patients with head and neck, lung and colorectal cancers: association with tumor progression // *Int. J. Oncol.* – 2012; 40 (1): 148–56.
- Polanski M. and Anderson N. A List of Candidate Cancer Biomarkers for Targeted Proteomics // *Biomark Insights.* – 2006; 1: 1–48.
- Rossi M. and Zetter B. Selective stimulation of prostatic carcinoma cell proliferation by transferring // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 1992; 89 (13): 6197–201.
- Scotto Ch., Delouime J., Rousseau D. et al. Calcium and S100B Regulation of p53-Dependent Cell Growth Arrest and Apoptosis // *Mol. Cell. Biol.* – 1998; 18 (7): 4272–81.
- Srikrishna G. S100A8 and S100A9: New Insights into Their Roles in Malignancy // *J. Innate Immun.* – 2012; 4 (1): 31–40.
- Stanley Shostak. Cancer Stem Cells – The Cutting Edge. – Croatia: InTech. – 2011. – 606 p.
- Vidotto A., Henrique T., Raposo L. et al. Salivary and serum proteomics in head and neck carcinomas: before and after surgery and radiotherapy // *Cancer Biomark.* – 2010–2011; 8 (2): 95–107.
- Visvader J., Lindeman G. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions // *Nat. Rev. Cancer.* – 2008; 8 (10): 755–68.
- Vogl T., Tenbrock K., Ludwig S. Mrp8 and Mrp14 are endogenous activators of Toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock // *Nat. Med.* – 2007; 13 (9): 1042–9.
- Wadsworth J., Somers K., Cazares L. Serum Protein Profiles to Identify Head and Neck Cancer // *Clin. Cancer Research.* – 2004; 10: 1625–32.
- Watson N., Durrant L., Madaj Z. et al. Expression of the membrane complement regulatory protein CD59 (protectin) is associated with reduced survival in colorectal cancer patients // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2006; 55 (8): 973–80.
- Zhang L., Farrell J., Zhou H. et al. Salivary transcriptomic biomarkers for detection of resectable pancreatic cancer // *Gastroenterology.* – 2010; 138 (3): 949–57. e1–7.