

# МОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОМАРКЕРЫ ПРОТОВОКОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

М.С. Чесноков, Д.А. Шавочкина, кандидат биологических наук,  
А.Д. Горев, Н.Л. Лазаревич, доктор биологических наук

Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАНН, Москва

E-mail: lazarevich@crc.umos.ru

*Протоковая аденокарцинома – самая распространенная форма опухолей поджелудочной железы, отличающаяся высокой агрессивностью, сложностью постановки диагноза, крайне неблагоприятным прогнозом и устойчивостью к стандартным методам терапии. Разработка эффективных методов ранней диагностики и терапии протоковой аденокарциномы поджелудочной железы (ПАКПЖ) является одной из актуальных задач современной клинической онкологии.*

*В последнее время более перспективным направлением в решении этой проблемы становится поиск специфических молекулярных маркеров этого типа опухолей. В настоящее время единственным широко используемым маркером ПАКПЖ является СА 19-9, однако его чувствительность и специфичность ниже оптимальных значений. Новые многообещающие биомаркеры этого типа опухолей активно исследуются на предмет эффективности и возможности использования в клинической практике. В обзоре рассмотрены наиболее значимые молекулярные маркеры ПАКПЖ, проанализированы их диагностическое, прогностическое и предиктивное значение, а также целесообразность клинического использования.*

**Ключевые слова:** протоковая аденокарцинома поджелудочной железы, биомаркеры, ранняя диагностика, прогностический фактор, предиктивное значение

## MOLECULAR BIOMARKERS OF PANCREATIC DUCTAL ADENOCARCINOMA AND THEIR USEFULNESS IN CLINICAL PRACTICE

M.S. Chesnokov, D.A. Shavochkina, A.D. Gorev, N.L. Lazarevich

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow

*Ductal adenocarcinoma is the most common type of pancreatic tumors that is notable for its highly aggressive phenotype, difficulties in diagnosis establishing, exceptionally unfavorable prognosis and resistance to standard methods of therapy. The development of relevant methods for early diagnostics and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is a challenging task of modern clinical oncology.*

*Lately the search for specific molecular markers of this tumor type has become an increasingly promising field in solving this problem. Up to date the single widely used PDAC marker is CA 19-9, but its sensitivity and specificity are below optimal values. New promising biomarkers of this tumor are under extensive investigation for their efficiency and usefulness in clinical practice. In this review the most significant molecular PDAC markers, their diagnostic, prognostic and predictive value in terms of feasibility of clinical use are considered.*

**Key words:** pancreatic ductal adenocarcinoma, biomarkers, early diagnosis, prognostic factor, predictive significance

Опухоли поджелудочной железы (ПЖ) относятся к наиболее агрессивным типам злокачественных новообразований и занимают 4-е место по смертности среди всех опухолей. Показатель 5-летней выживаемости пациентов с опухолями ПЖ не превышает 6% [1]. Около 95% опухолей этого органа представлены протоковой аденокарциномой (ПАКПЖ), которая отличается поздними сроками диагностики, высокой скоростью прогрессии и крайне неблагоприятным прогнозом.

Высокий уровень смертности больных ПАКПЖ обусловлен как сложностью ранней диагностики этого заболевания, так и низкой эффективностью существующих методов его терапии. Ранние стадии развития ПАКПЖ представлены неинвазивными панкреатическими внутрипротоковыми неоплазиями (ПанИН) и

внутрипротоковыми панкреатическими муцинозными неоплазиями (ВПМН), в ходе прогрессии которых образуется инвазивная опухоль [2]. Особенно актуальна сегодня задача поиска новых высокоэффективных способов диагностики этих новообразований. Второе направление исследований – поиск факторов, определяющих эффективность выбора методов противоопухолевой терапии и длительность жизни пациентов. В настоящее время наибольший успех достигнут в исследованиях, направленных на поиск специфических молекулярных опухолевых маркеров.

Все известные биомаркеры можно классифицировать по структуре молекулы и по клиническому значению. По структуре маркеры делят на генетические (изменение структуры гена), белковые (изме-

нение уровня синтеза или структуры белка) и РНК-маркеры (изменение уровня экспрессии кодирующих и микроРНК). В зависимости от клинического значения выделяют диагностические (выявление заболевания), прогностические (предсказание длительности жизни пациента) и предиктивные (предсказание эффективности методов терапии) биомаркеры. В настоящем обзоре рассмотрены наиболее исследованные и многообещающие молекулярные маркеры ПАКПЖ и проанализирована целесообразность их применения в клинической практике (см. таблицу).

#### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

К генетическим маркерам относятся любые изменения нуклеотидной последовательности генов: точечные мутации, делеции, амплификации и т.д. Возможность выявления мутаций в последовательностях отдельных генов помогает не только глубже понять механизмы развития опухолей, но и предсказать риск возникновения или эффективность терапии уже имеющихся новообразований. Таким образом, потенциал использования генетических маркеров в клинической онкологии очень высок [3].

Многочисленные исследования позволили установить набор основных генов, мутации и изменения активности которых наиболее характерны для клеток ПАКПЖ – *KRAS*, *TP53*, *CDKN2A* и *SMAD4* [4, 5].

**KRAS.** Нарушение функции белка K-Ras, одного из важнейших сигнальных белков клетки, является критическим событием в развитии опухолей ПЖ. Мутации гена *KRAS* обнаруживают в 70–90% образцов ткани опухоли, а также в ДНК из панкреатического сока пациентов, больных ПАКПЖ [6]. В результате мутаций (чаще всего в кодоне 12) K-Ras переходит в конститутивно активированную форму, что приводит к поддержанию внутри клетки постоянного митогенного сигнала и потере чувствительности к внешним ростовым факторам [7].

Мутации *KRAS* – одни из самых ранних событий при развитии ПАКПЖ, что теоретически может быть использовано для ее ранней диагностики. Вероятность их появления намного выше при опухолевой трансформации клеток ПЖ, чем при хроническом панкреатите, и увеличивается по мере прогрессии ПанИН [7]. Чувствительность определения мутаций *KRAS* в ДНК, содержащейся в образцах кала и пан-

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ, ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРЕДИКТИВНОЕ ЗНАЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ПАК ПЖ

Биомаркер	Изменение	Диагностическое значение		Прогностическое значение	Предиктивное значение
		чувствительность, %	специфичность, %		
<i>KRAS</i>	↑	70–94	49–81	Низкое	Нет
<i>TP53</i>	↓	50–75	43	Нет	Нет
<i>CDKN2A</i>	↓	Отс.	Отс.	Низкое	5-FU, гемцитабин
<i>SMAD4</i>	↓	50–54	57	Благоприятное	Гемцитабин
<i>BRCA2</i>	↓	Низкое		Отс.	Ингибиторы PARP, соединения платины
CA 19-9	↑	70–90	68–91	Неблагоприятное	5-FU, гемцитабин
CEA	↑	40	77	Нет	Нет
CA 125	↑	57–63	71–78	Неблагоприятное	–/–/–
CA 242	↑	71–77	91–94	–/–/–	–/–/–
CA 50	↑	82–91	85–89	Отс.	–/–/–
MUC1	↑	40–96	74–100	Неблагоприятное	–/–/–
MUC4	↑	85–94	78	–/–/–	Гемцитабин, бортезомиб
MUC5AC	↑	79–82	56	–/–/–	Нет
S100P	↑	95–100	95–100	Отс.	Отс.
DJ-1	↑	79–80	88	Неблагоприятное	–/–/–
miR-21	↑	83	93	–/–/–	Гемцитабин
miR-155	↑	81	98	Отс.	Отс.
miR-196a	↑	Отс.	Отс.	Неблагоприятное	–/–/–
miR-142-5p	↓	Нет	Нет	–/–/–	Гемцитабин
miR-201	↓	Нет	Нет	–/–/–	–/–/–

**Примечание.** Отс. – данные отсутствуют.

креатического сока пациентов с опухолями ПЖ, довольно высока, но специфичность метода недостаточна для его эффективного применения [8]. Достаточно чувствительных методов выявления мутаций *KRAS* в образцах сыворотки пока не предложено. Прогностическая роль мутаций гена *KRAS* в ткани ПАКПЖ невелика, однако их наличие в клетках неопухолевого ткани, прилежащих к границам опухоли, достоверно коррелирует с продолжительностью жизни пациента после операционного вмешательства [9].

**TP53.** Регулятор транскрипции p53 – важнейший онкосупрессорный белок, контролирующей клеточную пролиферацию путем остановки клеточного цикла или индукции апоптоза. 50–75% образцов ПАКПЖ характеризуются нарушением функций белка p53, вызванным делецией последовательности гена или соматическими мутациями [10, 11]. Нарушения функций p53 характерны для поздней стадии ПанИИИЗ и инвазивной карциномы, поэтому диагностический потенциал этого маркера не так высок, как в случае *KRAS* [12]. Чувствительность и специфичность определения мутаций *TP53* в образцах кала и желчи пациентов с опухолями ПЖ слишком низка для того, чтобы использовать его для скрининга населения [8, 11]. Достоверной корреляции между уровнями экспрессии или мутациями гена *TP53* в ПАКПЖ и выживаемостью пациентов не выявлено [13].

**CDKN2A.** Локус *CDKN2A*, находящийся на 9 хромосоме (9q21), кодирует 2 белка-опухолевых супрессора – p16<sup>INK4A</sup> и p14<sup>ARF</sup>, регулирующих различные стадии клеточного цикла. Нарушения экспрессии гена *CDKN2A* наблюдаются в преобладающем (95%) большинстве опухолей ПЖ [14]. Мутации гена *CDKN2A* могут быть обнаружены уже на стадии ПанИИИ 2 и значительно чаще встречаются при опухолях ПЖ, чем при хроническом панкреатите [5], что делает этот ген потенциальным ранним диагностическим маркером ПАКПЖ. Сегодня в литературе не представлены успешные исследования по определению мутаций *CDKN2A* в сыворотке крови или выделениях больных с опухолями ПЖ.

Прогностическое значение нарушения экспрессии *CDKN2A* в ПАКПЖ неоднозначно. В ряде исследований отмечено отсутствие связи между мутациями *CDKN2A* и продолжительностью жизни пациентов [13], однако некоторые авторы описывают корреляцию уровня экспрессии этого гена с клинико-патологическими характеристиками опухолей и постоперационной выживаемостью [15]. Мутации *CDKN2A* являются одним из определяющих условий для развития устойчивости ПАКПЖ к химиотерапевтическим препаратам гемцитабину, митомицину С и 5-фторурацилу [16, 17].

**SMAD4.** Транскрипционный фактор *SMAD4* является важным звеном передачи сигнала по TGFβ-зависимому пути. Для опухолей ПЖ частота инактивации *SMAD4* составляет около 50% [5].

Делеции или мутации гена *SMAD4* возникают, как правило, на поздних стадиях прогрессии ПанИИИ, поэтому его диагностическое значение невелико [5]. Выявление мутаций *SMAD4* в образцах ткани опухоли и желчи пациентов с ПАКПЖ обладает слишком низкой специфичностью для его эффективного применения [4, 11].

Исчезновение экспрессии гена *SMAD4* в опухолевой ткани ассоциировано с большей продолжительностью жизни пациентов после оперативного вмешательства [13]. Применение гемцитабина и других химиотерапевтических препаратов оказывает более выраженный эффект на продолжительность жизни пациентов с нарушенной экспрессией *SMAD4* в опухолях [18].

**BRCA2.** Белки семейства BRCA занимают важное место в системах репарации повреждений ДНК. Нарушения функции в ПАКПЖ описаны в основном для гена *BRCA2* – его мутации наблюдаются примерно у 10% пациентов с ПАКПЖ, поэтому их диагностическая ценность невелика [19]. Сведений о прогностическом значении *BRCA2* для ПАКПЖ в литературе не описано.

Нарушение систем репарации повреждений ДНК в *BRCA2*-дефектных опухолевых клетках ПЖ значительно повышает их чувствительность к ингибиторам поли-(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP) и ДНК-повреждающим веществам (митомоцину С, соединения платины) [20, 21]. Поэтому обнаружение мутаций гена *BRCA2* в образцах ПАКПЖ является значимым фактором при назначении пациенту адъювантной терапии препаратами-ингибиторами PARP и ДНК-повреждающими соединениями.

#### БЕЛКОВЫЕ МАРКЕРЫ

Изменение уровня синтеза белков в опухолях по сравнению с нормальной тканью – классическое поле для поиска биомаркеров. В опухолях изменяется уровень синтеза нескольких десятков или сотен белков, поэтому разработка специфичных и чувствительных панелей белковых маркеров для отдельных типов опухолей остается актуальной задачей современной молекулярной онкологии [3].

Белковые биомаркеры можно разделить на 2 большие группы: секретируемые и тканевые. Основное различие заключается в невозможности использования тканевых маркеров для массовой рутинной диагностики (скрининга) опухолевых заболеваний ввиду сложности получения образцов. Поэтому наибольший интерес представляют специфические изменения синтеза секретируемых белков.

**СА 19-9.** СА 19-9 – сывороточный гликопротеин с высокой молекулярной массой, который представляет собой сialiриновое производное антигена (а) Льюиса (Le<sup>a</sup>). В норме СА 19-9 синтезируется в экзокринных эпителиальных клетках и включается в состав мембраны эритроцитов [22].

Диагностической ценности для скрининга опухолей ПЖ СА 19-9 не имеет [23]. В группах пациентов с выраженными симптомами заболеваний ПЖ эффективность СА 19-9 значительно повышается; чувствительность составляет 70–90%, специфичность – 68–91% [24]. Однако такие показатели не позволяют отнести СА 19-9 к надежным диагностическим маркерам, так как повышение его уровня в сыворотке крови наблюдается также при других формах опухолей (холангиокарцинома, нейроэндокринные опухоли) и при некоторых неопухолевых заболеваниях (панкреатит, язва желудка, дивертикулит и др.) в 10–30% случаев [22].

Намного выше значение СА 19-9 как прогностического маркера при резектабельных опухолях ПЖ. Предоперационный уровень СА 19-9 в сыворотке крови коррелирует с продолжительностью жизни пациентов после оперативного вмешательства; большинство исследователей приводят в качестве порогового значения 37 ед/мл. Средняя продолжительность жизни пациентов с предоперационным уровнем СА 19-9 ниже этого значения составляет 32–36 мес, выше – 12–15 мес [22]. Снижение уровня СА 19-9 после резекции опухоли является независимым благоприятным прогностическим фактором [25]. Повышенный послеоперационный уровень СА 19-9 (>90 ед/мл) ассоциирован с низкой эффективностью адъювантной химиотерапии гемцитабином и 5-фторурацилом [26].

**CEA, СА 125, СА 242 и СА 50.** Помимо СА 19-9, в качестве потенциальных маркеров опухолей ПЖ рассматриваются и другие гликопротеины, содержание которых в крови повышается при развитии опухолей – CEA, СА 125, СА 242 и СА 50. Чувствительность и специфичность CEA и СА 125 уступают таковым для СА 19-9; использование СА 125 совместно с СА 19-9 несколько повышает чувствительность и специфичность диагностики ПАКПЖ [27]. Уровень СА 125 в сыворотке крови пациентов с опухолями ПЖ обладает высоким прогностическим значением, особенно в сочетании с СА 19-9 [28].

СА 242 и СА 50 экспрессируются совместно с СА 19-9 в составе общего макромолекулярного комплекса гликопротеинов. Их чувствительность сравнима с таковой для СА 19-9, но специфичность превышает наблюдаемую для СА 19-9, особенно в случае СА 242 [29]. СА 242 может рассматриваться как биомаркер опухолей ПЖ, альтернативный СА 19-9, или использоваться вместе с ним для повышения эффективности диагноза, а также в качестве независимого прогностического маркера [30].

**MUC1, MUC4, MUC5AC.** Муцины (MUC) – семейство высокомолекулярных мембранных и секретруемых гликопротеинов, синтезируемых эпителиальными клетками. В опухолях часто наблюдаются изменения как экспрессии отдельных генов муцинов, так и структуры белкового и полисахаридного компонентов гликопротеинов. Для опухолей ПЖ наиболее характерны изменения MUC1, MUC4 и MUC5AC.

В случае MUC1 в опухолях ПЖ наибольшим диагностическим и прогностическим потенциалом обладают гликозилные эпитопы, детектируемые моноклональными антителами DF3 и PAM4 [31, 32]. Определение PAM4 в сыворотке крови пациентов отличается высокой чувствительностью и специфичностью к ПАКПЖ при сравнении с образцами больных хроническим панкреатитом [33]. Высокий уровень синтеза DF3 в образцах ПАКПЖ ассоциирован с низкой продолжительностью жизни пациентов после резекции опухоли [31].

Высокий по сравнению с таковым в неопухолевой ткани ПЖ уровень синтеза MUC4 наблюдается в образцах ткани ПаниНЗ, при поздних стадиях ВПМН и инвазивной карциноме [34]. MUC4 обладает чувствительностью и специфичностью, сравнимыми с СА 19-9 и рядом других маркеров, однако эффективных методов его определения в сыворотке или выделениях пациентов пока не предложено [35]. Повышенный уровень синтеза MUC4 рассматривается как неблагоприятный прогностический фактор [36]; он также коррелирует с пониженной чувствительностью ПАКПЖ к гемцитабину, но повышает эффективность действия бортезомида [37].

В случае MUC5AC наибольший интерес представляет использование антител к эпитопу NPC-1C, определение которого характеризуется относительно высокой чувствительностью в образцах сыворотки крови пациентов с ПАКПЖ [38]. Уровень синтеза MUC5AC повышен также в образцах ткани ВПМН, что делает его потенциальным диагностическим маркером ранних стадий канцерогенеза ПЖ [39].

**Другие перспективные маркеры.** Онкобелок DJ-1, кодируемый геном *PARK7*, часто гиперэкспрессирован в образцах ткани ПАКПЖ по сравнению со здоровой тканью [40]. Недавние исследования продемонстрировали, что DJ-1 может быть использован в качестве эффективного сывороточного маркера ПАКПЖ, по чувствительности и специфичности превосходящего СА 19-9. Было также показано, что высокий уровень DJ-1 в сыворотке крови является неблагоприятным прогностическим фактором [41].

Уровень синтеза  $Ca^{2+}$ -связывающего белка S100P при анализе образцов ткани ПЖ S100P может быть использован в качестве высокочувствительного (до 95%) и высокоспецифичного (до 95–100%) маркера ПАКПЖ, в том числе ее ранних стадий [42]. Прогностическая и предиктивная ценность S100P не исследована.

Наряду с перечисленными белками исследователи также рассматривают ряд других потенциальных маркеров ПЖ. Наиболее значимыми являются EGFR, HER2/neu, антиген Adnab-9, MMP-9 [43–45].

#### МИКРОРНК

МикроРНК (*miR*) – особый класс регуляторных некодирующих РНК, отличающихся малой длиной

(17–25 нуклеотидов). Они специфически взаимодействуют с последовательностями на 3'-конце определенных мРНК, кодирующих белки и, в зависимости от степени комплементарности, посттранскрипционно регулируют их стабильность или эффективность трансляции. В последнее время исследованию роли микроРНК в развитии опухолей уделяется все больше внимания. Исследователи описывают около 100 микроРНК, уровень экспрессии которых существенно различается в опухолевых и неизмененных протоковых клетках ПЖ [46]. Для ПАКПЖ наиболее характерны изменения экспрессии miR-21, miR-107, miR-130b, miR-142-5p, miR-143, miR-155, miR-196a, miR-204, miR-210, miR-221.

Значительное (10–12 раз) повышение экспрессии miR-21 и miR-155 наблюдается в образцах ткани опухоли пациентов с ВПМН по сравнению с таковой в неопухолевой ткани ПЖ тех же пациентов. Чувствительность и специфичность определения в образцах ткани для miR-21 составляет соответственно 83 и 93%, для miR-155 – 81 и 98%. Содержание этих микроРНК повышается также в образцах панкреатического сока пациентов с ВПМН [47]. Повышение уровней miR-21 и miR-155 может быть зафиксировано в сыворотке пациентов с патологией ПЖ, причем гиперэкспрессия miR-21 специфична только для опухолей, а miR-155 – для опухолей и хронического панкреатита [48]. Таким образом, miR-21 и miR-155 представляются многообещающими диагностическими маркерами ранних стадий ПАКПЖ. Повышенный уровень экспрессии miR-21 в ПАКПЖ является также неблагоприятным прогностическим и предиктивным фактором, коррелирует с низкой продолжительностью жизни пациентов после резекции опухоли и устойчивостью опухолевых клеток к действию гемцитабина [46, 49].

Повышенный уровень miR-196a в сыворотке крови пациентов может иметь как диагностическое, так и прогностическое значение. Так, уровень экспрессии miR-196a значительно выше у пациентов с неоперабельной ПАКПЖ (III–IV стадии), чем у пациентов, для которых резекция возможна (I–II стадия). Средняя продолжительность жизни пациентов с повышенным содержанием miR-196a в сыворотке в 2 раза меньше, чем у пациентов с низким уровнем miR-196a (соответственно 6 и 12 мес) [48].

В отличие от описанных выше микроРНК, изменения экспрессии miR-142-5p и miR-204 не имеют диагностического значения, однако уровень их экс-

прессии снижается в гемцитабин-устойчивых клеточных культурах в опытах *in vitro*. Для пациентов, получающих курс адъювантной химиотерапии гемцитабином, пониженный уровень экспрессии этих микроРНК служит неблагоприятным прогностическим фактором [50].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПАКПЖ диагностируется преимущественно на поздних стадиях развития опухоли, когда противопуховая терапия уже малоэффективна. В настоящее время только один из рассмотренных биомаркеров ПАКПЖ – СА 19-9 – широко применяется в клинической практике, при этом его диагностическое значение невелико. Другие потенциальные маркеры либо не обладают значимым преимуществом перед СА 19-9 по чувствительности и специфичности (СА 125, СЕА, KRAS), либо недостаточно хорошо охарактеризованы (СА 242, MUC1, DJ-1, S100P). Помимо верификации клинического значения уже описанных маркеров, возможным путем решения проблемы эффективной диагностики ПАКПЖ является использование диагностических панелей из нескольких независимых биомаркеров. Так, описаны панели из 25 сывороточных [51] или 4 тканевых [52] белковых маркеров, позволяющие идентифицировать ПАКПЖ с чувствительностью и специфичностью, превосходящими результаты, полученные при использовании отдельных белков.

Другое перспективное направление исследования молекулярных маркеров ПАКПЖ – поиск предиктивных маркерных молекул, определяющих чувствительность опухоли к различным терапевтическим препаратам. Использование таких маркеров в клинической практике может значительно повысить эффективность назначаемой пациенту схемы лечения и станет еще одним шагом в направлении развития персонализированной терапии. Учитывая активное внедрение молекулярно-биохимических подходов в повседневную клиническую практику, можно надеяться, что в ближайшем будущем будут подробно охарактеризованы уже известные и описаны новые высокоэффективные маркеры опухолей ПЖ.

\*\*\*

*Работа поддержана грантами Министерства образования и науки № 8066, Российского фонда фундаментальных исследований 13-04-02080-а и благотворительного фонда «Протек».*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Siegel R., Naishadham D., Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA // Cancer J. Clin.* – 2013; 63 (1): 11–30.
2. Singh M., Maitra A. Precursor lesions of pancreatic cancer: molecular pathology and clinical implications // *Pancreatol.* – 2007; 7 (1): 9–19.
3. Dunn B., Jegalian K., Greenwald P. Biomarkers for early detection and as surrogate endpoints in cancer prevention trials: issues and opportunities // *Recent Results Cancer Res.* – 2011; 188: 21–47.
4. Salek C., Benesova L., Zavoral M. et al. Evaluation of clinical relevance of examining K-ras, p16 and p53 mutations along with allelic losses at 9p and 18q in EUS-guided fine needle aspiration samples of patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer // *World J. Gastroenterol.* – 2007; 13 (27): 3714–20.
5. Hruban R., Goggins M., Kern S. Molecular genetics and related developments in pancreatic cancer // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 1999; 15 (5): 404–9.
6. Almoguera C., Shibata D., Forrester K. et al. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell.* – 1988; 53 (4): 549–54.
7. Lohr M., Kloppel G., Maisonneuve P. et al. Frequency of K-ras mutations in pancreatic

- intraductal neoplasias associated with pancreatic ductal adenocarcinoma and chronic pancreatitis: a meta-analysis // *Neoplasia*. – 2005; 7: 17–23.
8. Lu X., Xu T., Qian J., et al. Detecting K-ras and p53 gene mutation from stool and pancreatic juice for diagnosis of early pancreatic cancer // *Chin. Med. J.* – 2002; 115 (11): 1632–6.
  9. Kim J., Reber H., Dry S. et al. Unfavourable prognosis associated with K-ras gene mutation in pancreatic cancer surgical margins // *Gut*. – 2006; 55 (11): 1598–605.
  10. Scarpa A., Capelli P., Mukai K. et al. Pancreatic adenocarcinomas frequently show p53 gene mutations // *Am. J. Pathol.* – 1993; 142 (5): 1534–43.
  11. Pantalone D., Pelo E., Minuti B. et al. p53 and DPC4 alterations in the bile of patients with pancreatic carcinoma // *J. Surg. Oncol.* 2004; 88 (4): 210–6.
  12. Maitra A., Adsay N., Argani P. et al. Multicomponent analysis of the pancreatic adenocarcinoma progression model using a pancreatic intraepithelial neoplasia tissue microarray. *Mod. Pathol.* – 2003; 16 (9): 902–12.
  13. Biankin A., Morey A., Lee C. et al. DPC4/Smad4 expression and outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma // *J. Clin. Oncol.* – 2002; 20 (23): 4531–42.
  14. Schutte M., Hruban R., Geradts J. et al. Abrogation of the Rb/p16 tumor-suppressive pathway in virtually all pancreatic carcinomas // *Cancer Res.* – 1997; 57 (15): 3126–30.
  15. Chang D., Chapman C., Norton J. et al. Expression of p16 (INK4A) but not hypoxia markers or poly adenosine diphosphate-ribose polymerase is associated with improved survival in patients with pancreatic adenocarcinoma // *Cancer*. – 2010; 116 (22): 5179–87.
  16. Halloran C., Ghaneh P., Shore S. et al. 5-Fluorouracil or gemcitabine combined with adenoviral-mediated reintroduction of p16INK4A greatly enhanced cytotoxicity in Panc-1 pancreatic adenocarcinoma cells // *J. Gene Med.* – 2004; 6 (5): 514–25.
  17. Cui Y., Brosnan J., Blackford A. et al. Genetically defined subsets of human pancreatic cancer show unique in vitro chemosensitivity // *Clin. Cancer Res.* – 2012; 18 (23): 6519–30.
  18. Bachet J., Maréchal R., Demetter P. et al. Contribution of CXCR4 and SMAD4 in predicting disease progression pattern and benefit from adjuvant chemotherapy in resected pancreatic adenocarcinoma // *Ann. Oncol.* – 2012; 23 (9): 2327–35.
  19. Goggins M., Schutte M., Lu J. et al. Germline BRCA2 gene mutations in patients with apparently sporadic pancreatic carcinomas // *Cancer Res.* – 1996; 56 (23): 5360–4.
  20. Lowery M., Kelsen D., Stadler Z. et al. An emerging entity: pancreatic adenocarcinoma associated with a known BRCA mutation: clinical descriptors, treatment implications, and future directions // *Oncologist*. – 2011; 16 (10): 1397–402.
  21. Chalasani P., Kurtin S., Dragovich T. Response to a third-line mitomycin C (MMC)-based chemotherapy in a patient with metastatic pancreatic adenocarcinoma carrying germline BRCA2 mutation // *JOP*. – 2008; 9 (3): 305–8.
  22. Ballehaninna U., Chamberlain R. The clinical utility of serum CA 19-9 in the diagnosis, prognosis and management of pancreatic adenocarcinoma: An evidence based appraisal // *J. Gastrointest. Oncol.* – 2012; 3 (2): 105–19.
  23. Kim J., Lee K., Lee J. et al. Clinical usefulness of carbohydrate antigen 19-9 as a screening test for pancreatic cancer in an asymptomatic population // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2004; 19 (2): 182–6.
  24. Goonetilleke K., Siriwardena A. Systematic review of carbohydrate antigen (CA 19-9) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer // *Eur. J. Surg. Oncol.* – 2007; 33 (3): 266–70.
  25. Montgomery R., Hoffman J., Riley L. et al. Prediction of recurrence and survival by post-resection CA 19-9 values in patients with adenocarcinoma of the pancreas // *Ann. Surg. Oncol.* – 1997; 4 (7): 551–6.
  26. Humphris J., Chang D., Johns A. et al. NSW Pancreatic Cancer Network. The prognostic and predictive value of serum CA19.9 in pancreatic cancer // *Ann. Oncol.* – 2012; 23 (7): 1713–22.
  27. Sakamoto K., Haga Y., Yoshimura R. et al. Comparative effectiveness of the tumour diagnostics, CA 19-9, CA 125 and carcinoembryonic antigen in patients with diseases of the digestive system // *Gut*. – 1987; 28 (3): 323–9.
  28. Gattani A., Mandeli J., Bruckner H. Tumor markers in patients with pancreatic carcinoma // *Cancer*. – 1996; 78 (1): 57–62.
  29. Haglund C., Lundin J., Kuusela P. et al. CA 242, a new tumour marker for pancreatic cancer: a comparison with CA 19-9, CA 50 and CEA // *Br. J. Cancer*. – 1994; 70 (3): 487–92.
  30. Lundin J., Roberts P., Kuusela P., Haglund C. Prognostic significance of serum CA 242 in pancreatic cancer. A comparison with CA 19-9 // *Anticancer. Res.* – 1995; 15 (5B): 2181–6.
  31. Hinoda Y., Ikematsu Y., Horinouchi M. et al. Increased expression of MUC1 in advanced pancreatic cancer // *J. Gastroenterol.* – 2003; 38 (12): 1162–6.
  32. Gold D., Karanjawala Z., Modrak D. et al. PAM4-reactive MUC1 is a biomarker for early pancreatic adenocarcinoma // *Clin. Cancer Res.* – 2007; 13 (24): 7380–7.
  33. Gold D., Modrak D., Ying Z. et al. New MUC1 serum immunoassay differentiates pancreatic cancer from pancreatitis // *J. Clin. Oncol.* – 2006; 24 (2): 252–8.
  34. Swartz M., Batra S., Varshney G. et al. MUC4 expression increases progressively in pancreatic intraepithelial neoplasia // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2002; 117 (5): 791–6.
  35. Bhardwaj A., Marsh W., Nash J. et al. Double immunohistochemical staining with MUC4/p53 is useful in the distinction of pancreatic adenocarcinoma from chronic pancreatitis: a tissue microarray-based study // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2007; 131 (4): 556–62.
  36. Saitou M., Goto M., Horinouchi M. et al. MUC4 expression is a novel prognostic factor in patients with invasive ductal carcinoma of the pancreas // *J. Clin. Pathol.* – 2005; 58 (8): 845–52.
  37. Wissniewski T., Meister S., Hahn E. et al. Mucin production determines sensitivity to bortezomib and gemcitabine in pancreatic cancer cells // *Int. J. Oncol.* – 2012; 40 (5): 1581–9.
  38. Luka J., Arien P., Bristol A. Development of a serum biomarker assay that differentiates tumor-associated MUC5AC (NPC-1C ANTIGEN) from normal MUC5AC // *J. Biomed. Biotechnol.* – 2011; 2011: 934757. Available at: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2011/934757/> (Accessed 02 June 2013).
  39. Wang Y., Gao J., Li Z. et al. Diagnostic value of mucins (MUC1, MUC2 and MUC5AC) expression profile in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration specimens of the pancreas // *Int. J. Cancer*. – 2007; 121 (12): 2716–22.
  40. Melle C., Ernst G., Escher N. et al. Protein profiling of microdissected pancreas carcinoma and identification of HSP27 as a potential serum marker // *Clin. Chem.* – 2007; 53 (4): 629–35.
  41. He X., Liu B., Yao W. et al. Serum DJ-1 as a diagnostic marker and prognostic factor for pancreatic cancer // *J. Dig. Dis.* – 2011; 12 (2): 131–7.
  42. Nakata K., Nagai E., Ohuchida K. et al. S100P is a novel marker to identify intraductal papillary mucinous neoplasms // *Hum. Pathol.* – 2010; 41 (6): 824–31.
  43. Dancer J., Takei H., Ro J., Lowery-Nordberg M. Coexpression of EGFR and HER-2 in pancreatic ductal adenocarcinoma: a comparative study using immunohistochemistry correlated with gene amplification by fluorescent in situ hybridization // *Oncol. Rep.* – 2007; 18 (1): 151–5.
  44. Tobi M., Kim M., Weinstein D. et al. Prospective markers for early diagnosis and prognosis of sporadic pancreatic ductal adenocarcinoma // *Dig. Dis. Sci.* – 2013; 58 (3): 744–50.
  45. Tian M., Cui Y., Song G. et al. Proteomic analysis identifies MMP-9, DJ-1 and A1BG as overexpressed proteins in pancreatic juice from pancreatic ductal adenocarcinoma patients. *BMC Cancer*. – 2008; 8: 241. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/8/241> (Accessed 02 June 2013).
  46. Jamieson N., Morran D., Morton J. et al. MicroRNA molecular profiles associated with diagnosis, clinicopathologic criteria, and overall survival in patients with resectable pancreatic ductal adenocarcinoma // *Clin. Cancer Res.* – 2012; 18 (2): 534–45.
  47. Habbe N., Koorstra J., Mendell J. et al. MicroRNA miR-155 is a biomarker of early pancreatic neoplasia // *Cancer Biol. Ther.* – 2009; 8 (4): 340–6.
  48. Kong X., Du Y., Wang G. et al. Detection of differentially expressed microRNAs in serum of pancreatic ductal adenocarcinoma patients: miR-196a could be a potential marker for poor prognosis // *Dig. Dis. Sci.* – 2011; 56 (2): 602–9.
  49. Giovannetti E., Funel N., Peters G. et al. MicroRNA-21 in pancreatic cancer: correlation with clinical outcome and pharmacologic aspects underlying its role in the modulation of gemcitabine activity // *Cancer Res.* – 2010; 70 (11): 4528–38.
  50. Ohuchida K., Mizumoto K., Kayashima T. et al. MicroRNA expression as a predictive marker for gemcitabine response after surgical resection of pancreatic cancer // *Ann. Surg. Oncol.* – 2011; 18 (8): 2381–7.
  51. Wingren C., Sandström A., Segersvärd R. et al. Identification of serum biomarker signatures associated with pancreatic cancer // *Cancer Res.* – 2012; 72 (10): 2481–90.
  52. Liu H., Shi J., Anandan V. et al. Reevaluation and identification of the best immunohistochemical panel (pVHL, Maspin, S100P, IMP-3) for ductal adenocarcinoma of the pancreas // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2012; 136 (6): 601–9.