

Г.А. Гірна
І.Д. Костишин

Івано-Франківський
національний медичний
університет,
Івано-Франківськ, Україна

Ключові слова: плоскоклітинний рак порожнини рота і ротоглотки, онкомаркери, ротова рідина, сироватка крові, діагностика, лікування.

ВИКОРИСТАННЯ ОНКОМАРКЕРІВ НА ЕТАПАХ ДІАГНОСТИКИ І ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ПЛОСКОКЛІТИННИЙ РАК ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЇ ДІЛЯНКИ

В огляді проаналізовано можливість і ефективність визначення онкомаркерів у ротовій рідині та сироватці крові при раку порожнини рота і ротоглотки. Акцентовано увагу на найбільш специфічних і чутливих онкомаркерах, які потребують подальшого дослідження з метою діагностики, моніторингу захворювання, обґрунтування вибору того чи іншого методу лікування.

Плоскоклітинний рак ротової порожнини і ротоглотки (РРПР) становить 2–10% серед усіх злоякісних пухлин [1]. Він належить до пухлин візуальної локалізації, але часто діагностується на пізніх стадіях — у 69,7% випадків [2, 3]. П'ятирічна виживаність таких хворих становить 45,0% [4]. Пацієнти, які успішно пройшли лікування з приводу РРПР, протягом 1-го року мають високу частоту місцево-регіонарних рецидивів — 50–65% [5].

Сучасна онкологія продовжує пошук нових показників для діагностики, прогнозування і контролю за лікуванням хворих на РРПР, зокрема специфічних молекулярних маркерів [6]. Уже відомо близько 200 типів пухлинних маркерів (ПМ), але на практиці застосовуються не більше 20 [7]. До того ж (зокрема, при карциномах ротової порожнини), не завжди підвищення рівня онкомаркера є ознакою злоякісного захворювання [8]. ПМ є корисними, якщо максимально відповідають певним вимогам: мають високу чутливість і специфічність до певного виду пухлини; їх рівень корелює з розміром пухлини, стадією захворювання і ефектом від лікування; мають високе позитивне і негативне прогностичне значення; мають короткий біологічний період напіврозпаду, щоб визначатися з високою частотою; виявляються на ранніх стадіях і використовуються в режимі скринінг-тестування [8].

Здебільшого виявлені ПМ використовують як допоміжний метод діагностики для остаточного встановлення діагнозу злоякісного новоутворення. Деяко не так широко впроваджене їх визначення з метою вибору раціонального методу лікування, моніторингу перебігу захворювання, раннього виявлення рецидиву чи метастазування [9]. Вивчається питання пошуку ПМ для визначення індивідуальної чутливості до цитостатичних препаратів [10]. Це дозволить більш цілеспрямовано використовувати останні, з максимально позитивною реакцією на лікування та низькою токсичністю [11].

ПМ класифікуються за хімічною структурою: глікопротеїни, вуглеводневі детермінанти глікопротеїнів, гліколіпіди, білки, поліаміни, поліпептиди, імуноглобуліни [12]; за біологічною функцією: онкофетальні антигени, ферменти, гормони, рецептори гормонів

[13]; за походженням: епітеліальні, сполучнотканинні, маркери слинних залоз [14]. При діагностиці злоякісної пухлини розрізняють: головні ПМ, які мають високу чутливість і специфічність до певного виду пухлин; другорядні — мають нижчу чутливість і специфічність, ніж головні, визначаються паралельно з ними для більшої достовірності; додаткові — мають низьку чутливість і специфічність, але для деяких характерна органо-специфічність [12, 15].

У сироватці крові (СК) для прогнозування появи рецидиву чи лімфогенних метастазів пацієнтів із РРПР визначають такі найбільш показові ПМ: матриксні металопротеїнази-2, -9, тканинні інгібітори матриксних металопротеїназ-1, -2 [16]. Підвищена експресія маркера S100A8 (кальцій-зв'язуючий протеїн) відмічається при дисплазіях і раку порожнини рота [17]. Експресія S100A2 [18] і S100A4 [19], навпаки, знижується, що пов'язано із несприятливим прогнозом, рецидивом пухлини. Аналіз білків СК хворих на рак ротоглотки дозволив ідентифікувати фрагмент α -ланцюга фібриногену як ПМ з чутливістю 100% і специфічністю 97% для визначення глибини інвазії і метастазів. З агресивнішим перебігом і ймовірністю рецидиву РРПР корелює низька експресія кініногену [20, 21].

Послідовна підвищена експресія інтерлейкіну (IL)-8 і IL-6 у СК свідчить про вищу ймовірність місцевих і регіонарних рецидивів і метастазування, тому їх трактують як потенційні прогностичні ПМ. У цьому самому дослідженні вивчали рівні епідермального фактора росту (epidermal growth factor — EGF), дані щодо якого виявилися не показовими [22]. Визначено також, що певну роль в ангиогенезі при РРПР виконує фактор росту ендотелію судин C (vascular endothelial growth factor C — VEGF-C), що збігається з даними аналогічних досліджень при раку молочної залози, стравоходу, шлунка, ободової і прямої кишки, передміхурової залози. VEGF-C збільшує метастатичний потенціал при раку порожнини рота, його рівні тісно корелюють із метастазуванням у регіонарні лімфатичні вузли, а отже, він може використовуватися як прогностичний маркер регіонарного метастазування РРПР [23].

У хворих із передпухлинними станами слизової оболонки порожнини рота гістотопографічно в пластах епітелію (базальний, парабазальний та супрабазальний) вивчено експресію білків p53, Ki-67, маркерних білків епітеліальних стовбурових і прогеніторних клітин: p63, CK_{5/14} (цитокератин, подопланін, ABCG2 (аденозинтрифосфат-зв'язуючий білок підгрупи G2)). Імуногістохімічне визначення їх експресії в біопсійному матеріалі дозволяє більш індивідуально оцінити передпухлинні захворювання, їх проліферативний потенціал, можливість малігнізації [24]. Найбільш діагностично значущими виявилися подопланін і ABCG2 [25]. Однак використання тільки одного маркера не робить результат достовірним [26]. За допомогою визначення рівня p63, CK_{5/14} у супрабазальному пласті епітелію слизової оболонки можна диференціювати передраковий стан (дисплазію) і внутрішньоепітеліальний рак [27].

Біомаркери p53, Ki-67 можна використовувати для моніторингу «полів трансформації» [28], де локалізовані генетично змінені та проліферуючі клітини, які є потенційними вогнищами розвитку пухлин та їх рецидивів [29]. p53 є прогностичним при раку слизової оболонки порожнини рота, оскільки є показником того, наскільки пухлина чутлива до хіміопроменевого лікування [30, 31]; високий рівень p53 зазвичай є ознакою поганого прогнозу [32]. Значний рівень експресії згаданих біомаркерів при плоскоклітинному РППР є показником високої злоякісності пухлини [33, 34], але не може свідчити про її біологічну поведінку.

Дослідження експресії глікопротеїну SPARC (остеоонектин) — ключового регулятора клітинних функцій — у прилеглий до строми пухлині визначило різні рівні його позитивності. Так, у глибоких пластах експресія SPARC набагато вища, ніж у поверхневих, що корелює з інвазивним ростом пухлини, наявністю метастазів і низькою виживаністю пацієнтів [35]. Також у пухлинній тканині РППР визначається підвищена експресія онкобілка bcl-2, що корелює зі ступенем гістологічної диференціації пухлини і виникненням рецидивів [36].

Сьогодні серед дослідників різко зростає інтерес до діагностики різних захворювань за допомогою аналізу ротової рідини (слини) [37], у тому числі визначення в ній ПМ [38, 39]. Слина — суміш рідин порожнини рота, яка містить такі компоненти: виділення великих і малих слинних залоз, ясенної рідини, бронхіальні та назальні виділення, близько 30% білків СК, а також виділення з рани, бактерії і продукти їхньої життєдіяльності, віруси, гриби, десквамований епітелій та інші клітинні компоненти [40]. Аналіз модифікованих складових компонентів ротової рідини дозволяє оцінити як місцеві, так і системні зміни [41]. Діагностична цінність ротової рідини ґрунтується на її постійному і тісному контакті зі слизовою оболонкою, де розвивається рак [42]. В ініціюванні росту і поширенні пухлини беруть участь продукти її мікросередовища, які є в ротовій рідині [43, 44], тому вивчення скомпromетованого середовища порожнини рота дозволяє не тільки краще розуміти патогенез захворювання [41], а й діяти відпо-

відно до сучасного напрямку діагностики та лікування онкопатології [45–47].

У ротовій рідині досліджували такі групи потенційних біомаркерів: неорганічні сполуки, білки, ДНК, мРНК, метаболічні біомаркери. Більшість із них — це білки, які є продуктом внутрішньоклітинних реакцій або беруть участь у передаванні клітинних сигналів, ангіогенезі, клітинній диференціації, проліферації, апоптозі, імунній відповіді та інших клітинних чи позаклітинних реакціях. У слині є білки майже всіх тканин організму, і зміни їх складу є свідченням патологічного процесу. Виявляти маркери сполуки стало легше з розвитком сучасних методологій: високоефективної рідинної хроматографії (HPLC), імуноферментного (ELISA) та радіоімунологічного аналізу, методу двовимірного гель-електрофорезу (2DE), мас-спектрометрії (MS), матрично-активованої лазерної десорбції/іонізації (MALDI-TOF MS) [48].

Як свідчать результати досліджень, для раннього виявлення РППР визначення в слині будь-якого ПМ є ефективнішим, ніж у СК, оскільки чутливість таких маркерів вища у слині [49–53]. Також ротова рідина легкодоступна, забір її неінвазивний, простий і може бути використаний для масового скринінгу [54]. На відміну від вивчення ПМ в СК, їх рівень у слині відображає і особливості розвитку пухлинного процесу [50]. Розробка й удосконалення методів їх визначення дозволяє знівелювати той факт, що в слині кількість інформаційних аналітів менша [55]. Досягнення в нанотехнології, геноміці, протеоміці дозволяють виявити біомаркери найменшої молекулярної маси і найнижчої концентрації, тому діагностична цінність слини рівноцінна такій СК [54].

Переваги вивчення слини над СК для діагностики захворювання і моніторингу його перебігу сприяють пошуку потенційних маркерів не тільки стосовно РППР, а й онкопатології інших органів [56–63]. Першим ПМ, виявленим у слині, є c-erbB-2 у хворих на рак молочної залози. Його визначення є перспективним для раннього скринінгу раку молочної залози [56]; також у таких хворих визначається раковий антиген 15–3 (CA15–3) [57, 58], гаптоглобін, профілін-1, трансферин [59]. У слині виявляють і маркер епітеліальної пухлини яєчника — CA125. У порівняльному дослідженні CA125 в слині та СК відмічено позитивну кореляцію між слинними і сироватковими рівнями. У слині визначалася дещо нижча чутливість, ніж в СК (81,3% проти 93,8% відповідно), але специфічність і позитивне прогностичне значення були вищі в слині, ніж у СК (88,0% проти 59,8% та 54,2% проти 28,8% відповідно) [60].

Вивчено також роль широковідомих ПМ у слині хворих на плоскоклітинний РППР, таких як: CA72–4, CA19–9, CA125, CA 5–3, α-фетопротеїн (АФП), раковий ембріональний антиген, CYFRA 21–1, нейронспецифічна енолаза, хоріонічний гонадотропін і простатспецифічний антиген. Їхні рівні визначали залежно від стадії захворювання, виду комбінованого чи комплексного лікування, у періоди стабілізації, часткової та повної ремісії. Встановлено, що високу діагнос-

тичну чутливість на всіх етапах обстеження має раковий ембріональний антиген в слині. Високу чутливість на етапах хірургічного лікування та в стані рецидиву має АФП, у період повної ремісії — CA72-4 і АФП, під час стабілізації процесу — CA72-4 і CA125. Визначено, що простатспецифічний антиген і CA15-3 не можуть бути використані як ПМ при РППР, тому що вони не змінюють свою концентрацію в слині. Паралельно вивчено ці самі онкомаркери в СК і доведено, що їхня діагностична цінність не збігається з показником у слині. Отже, для того щоб проводити динамічне спостереження за розвитком захворювання під час лікування і після нього, потрібно користуватися схемою і різними наборами онкомаркерів, які визначаються окремо в слині та в СК на етапах захворювання, враховуючи індекс Карновського і шкалу ECOG-ВО3 [64].

Імуноаналіз слини виявив підвищені рівні таких білків: M2BP, профілін, CD59, S100A9 (MRP14), каталаза, гістон H1, S100P, S100A12, Rab-7, мезин, інволюкрин, HLCSP. Але, враховуючи основну вимогу до ПМ (висока чутливість і специфічність), тільки M2BP, профілін, CD59, S100A9 і каталаза є достовірними для діагностики раку. Раніше повідомлялося про підвищення експресії S100A9 у пухлинній тканині при раку язика [65], про підвищення сироваткових рівнів M2BP при раку носоглотки [66]. CD59, профілін і каталаза виділяються в мікросередовище, беручи участь як в канцерогенезі, так і в пухлинній прогресії. При дослідженні одночасно цих 5 білків у слині встановлено, що при виявленні раку вони мають чутливість 90%, специфічність 83% [67]. Значення як ПМ білків M2BP, CD59, S100A9, каталази, профіліну [67], а також трансферину [78] в слині підтвержено методами хромато-мас-спектрометрії LS MS/MS і 2D-гель-електрофорезу з наступним імуноблотингом. Цікаво зазначити, що рівень трансферину в слині корелював із розміром і стадією пухлини при раку порожнини рота; паралельно було визначено, що його рівні в СК були низькими і не асоціювалися із розвитком злоякісного процесу [78].

Поглиблений аналіз низькомолекулярних білків S100 як ПМ при РППР показав, що різні ізоформи білка мають різні впливи. Вони можуть бути як пухлинними промоторами, так і супресорами, брати участь в стимулюванні або пригніченні клітинної проліферації і метастазування шляхом взаємодії з іншими білками мікросередовища і пухлинних клітин, здатні підвищувати моторику останніх. При позаклітинній локалізації деякі з білків S100 можуть виконувати роль лейкоцитарних хемоатрактантів, активаторів макрофагів. Така поліфункціональність потребує подальших досліджень для більш чіткого визначення ролі S100 у розвитку і прогресуванні раку [97]. У слині визначається експресія S100A7 при T1, T2 пухлинах, але при T3 і T4 рівні цього білка нижчі; не помічено перекопливої різниці залежно від регіонарного метастазування. Рівні S100A8 помірно підвищені при T1, при пухлинах T2, T3 і T4 спостерігають гіперекспресію (чутливість і специфічність — 95%). Тому високий рівень S100A8 рекомендовано як ПМ при РППР [98].

Також у слині визначається DUSP1. Як самостійний ПМ виникнення РППР він має чутливість 59%, специфічність 75%; у комплексі з іншими речовинами (H3F3A, IL-8, IL1- β , OAZ1, SAT, S100P), специфічність і чутливість — 91% [68].

Як потенційні ПМ для діагностики РППР можуть бути використані холін, бетаїн, піпеколінова кислота, L-карнітин. Кожен із них виконує свою функцію у взаємопов'язаних метаболічних процесах, при РППР експресія всіх підвищена. У поєднанні ці 4 біомаркери мають 100,0% чутливості та 96,7% специфічності. Це визначено за допомогою такого методу дослідження, як ультратонна хроматографія (HILIC-UPLC-MS) [69].

Також порівнювали при РППР вміст в СК і слині таких ПМ, як p53 [70], сюрвівін [71], СК8 [72], Hsp60 [73], RPLP0 [74] (за допомогою платформ multiplexed immunobead-based). Встановлено, що визначення в обох біологічних рідинах p53, сюрвівіну, Hsp60, RPLP0 можна використовувати для раннього виявлення раку, а одночасне визначення кількох маркерів є ефективнішим, ніж одного [49].

У СК визначається антиген плоскоклітинної карциноми — SCC, специфічність якого становить 60% [75]. Підвищення вмісту цього ПМ виявляється при плоскоклітинному раку різної локалізації. Підвищений рівень SCC у СК хворих на плоскоклітинний РППР свідчить про проліферацію пухлинних клітин, відповідно, несприятливий прогноз виникнення рецидиву [76, 77]. Також SCC визначали і в слині, проте його концентрації були підвищені без статистичної значущості [42]. Підвищеною експресія SCC є і при доброякісних утвореннях шкіри із багатошарового плоского епітелію, печінки, нирок, активній формі туберкульозу, бронхіальній астмі. Також для об'єктивної оцінки концентрації SCC в слині треба врахувати, що слинні залози продукують цей антиген. Таким чином, питання доцільності визначення цього ПМ в слині пацієнтів із РППР залишається відкритим.

В іншому дослідженні визначено, що як потенційний ПМ для раннього виявлення РППР може використовуватися білок THBS2, його підвищена експресія пов'язана з інвазивним поширенням пухлини, наявністю регіонарних метастазів і поганим прогнозом [51]. У цьому дослідженні проводили порівняння рівнів білка THBS2 в слині та в СК і виявили, що в СК THBS2 практично не визначається.

Із розвитком слинної протеоміки стали відомими нові потенційні ПМ РППР. Це прозапальні, проангіогенні цитокіни, серед яких: IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , VEGF- α .

Відомо, що IL-1 β має ефект промотора канцерогенезу шляхом підсилення дії хімічних канцерогенів, що призводить до проліферації мутованих клітин і подальшого генетичного пошкодження [67]. IL-6 — багатфункціональний цитокін; він має подвійний ефект, пригнічуючи проліферацію одних клітин, стимулює інші; активує онкогени, що може призвести до гальмування апоптозу і неконтрольованого росту клітин [80]. У кількох дослідженнях проводили порівняння концен-

трацій IL-1 β , IL-6, TNF- α в слині та СК у хворих з передраковими процесами і РППР. Результати показують, що найвищі концентрації цих цитокінів були в слині хворих на РППР [52, 53, 78–83]. Куріння, захворювання пародонта, місцеві запальні процеси не впливають на рівні цитокінів [84, 87]. На підставі описаних даних вважається, що IL відображають розвиток пухлинного процесу, тому їх рекомендують використовувати як ПМ трансформації передракового стану в рак [88].

Інший цитокін, IL-8, відіграє роль у розвитку пухлини в умовах гіпоксії [89], може індукувати клітинну проліферацію, ангиогенез і міграцію ракових клітин, залучаючи низку факторів, які зумовлюють пухлинний ріст, отже, бере участь у прогресуванні захворювання [90]. Уже відомо, що підвищення вмісту IL-8 в СК чи пухлинних клітинах відповідає підвищеному метастатичному потенціалу при РППР, меланомі, раку молочної залози, шлунка, яєчника, підшлункової залози, уrogenітальному раку, колоректальному раку. Досліджено його діагностичну цінність у ротовій рідині та показано, що рівні IL-8, його чутливість і специфічність (як ПМ) в слині вищі, ніж у СК: чутливість у ротовій рідині — 85%, специфічність — 93%; у СК — 72 і 8% відповідно [81, 84–87, 91–94]. IL-8 не має достовірного прогностичного значення для передракових станів, проте може використовуватися як маркер диференційної діагностики передракового стану і раку, оскільки виявлено значну різницю між його рівнями у хворих з передраковими процесами і у хворих із РППР I стадії [95]. Згідно з даними досліджень [84, 92, 93], експресія IL-8 не має достовірної залежності від ступеня диференціації злоякісних пухлин ротової порожнини та їх стадії.

Проведено порівняння різних методів дослідження IL-8 і IL-1 β як біомаркерів для виявлення РППР — Single-plex, Multiplex Luminex і ELISA-аналізів. Використовуючи перший метод, для IL-8 визначили чутливість — 75% і специфічність — 80%, для IL-1 β — чутливість і специфічність аналогічна. Multiplex-аналіз демонстрував такі самі чутливість і специфічність для IL-8, як і Single-plex; для IL-1 β — 80 і 65% відповідно. ELISA-аналіз для IL-8 засвідчив чутливість — 87,5%, специфічність — 64,3%; для IL-1 β — 63,9 і 100,0% відповідно. На думку авторів, більш ефективним і точним для визначення білків у слині є дослідження Luminex [81].

Дослідження рівня ендотеліну-1 (ET-1) у слині встановило, що цей біомаркер можна використовувати для діагностики ймовірності малігнізації передракового стану в рак, але він не інформативний для моніторингу перебігу злоякісного захворювання чи виявлення його раннього рецидивування [98].

Як видно з проаналізованих даних, визначення ПМ (як в СК, так і в ротовій рідині) є цінним допоміжним методом діагностики і прогнозування перебігу РППР. Визначення ПМ з метою обрання раціонального методу лікування ще не отримало достатнього обґрунтування і широкого впровадження в практичну охорону здоров'я. Пошук способів і ПМ для визначення індивідуальної чутливості до цитостатичних препаратів є актуальним.

ВИСНОВКИ

1. Визначення в слині будь-якого ПМ є не менш ефективним, ніж у СК, і може бути використане для масового скринінгу.

2. Є доцільним більш глибоке вивчення ПМ в слині з найвищою специфічністю і чутливістю стосовно РППР, а також злоякісних пухлин інших органів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74–108.
2. Костишин ІД, Бойко ВВ, Романчук ВР, Гірна ГА. Показники діагностики та результати різних методів лікування хворих на рак ротової порожнини в Івано-Франківській області (2003–2012 рр.). XII З'їзд оториноларингологів України 2015: 271.
3. Костишин ІД, Бойко ВВ, Романчук ВР, Гірна ГА. Рак слизової порожнини рота. Діагностика і лікування в Івано-Франківській області. Галицький лікарський вісник. Частина 2, 2015; 4 (22): 119–22.
4. Wang Q, Gao P, Wang X, Duan Y. The early diagnosis and monitoring of squamous cell carcinoma via saliva metabolomics. *Sci Rep* 2014; (4): 6802.
5. Галай ОО. Ультразвукова діагностика рецидивного ураження регіонарних лімфатичних вузлів у хворих на рак слизової порожнини рота, глотки і гортані. *Хірургія України* 2009; 3: 76–9.
6. Waxman J. Tumor markers. *Quart J Med* 1995; 88: 233–41.
7. Sturgeon C, Hammond E, Chang SL, et al. Laboratory medicine practice guidelines. Use of Tumor Markers in Clinical Practice: Quality requirements. *Natl Acad Clin Biochem* 2009; 1–20.
8. Muralee Mohan Choontharu, Arpit Binda, Smitha Bhat, Sampathila Mahalinga Sharma. Role of tumor markers in oral squamous cell carcinoma: Review of literature and future consideration. *SRM J Res Dent Sci* 2012; 3 (4): 251–4.
9. Duffy MJ. Role of tumor markers in patients with solid cancer: A critical review. *Eur J Intern Med* 2007; 18: 175–84.
10. Патент на винахід № 101492 Україна. Спосіб визначення чутливості до протиракового засобу / Танігавара Юсуке, Сузуки Сайо, Сугімото Сіндзі; Власник Кейо Юніверсіті. Заявка № а 2010 10512; заявл. 30.01.2009; опубл. 25.11.2013, Бюл. № 7.
11. Яценко ЛД. Роль біомаркерів в патогенезі злоякісних образований. *Світ мед біол* 2014; 1 (43): 192–5.
12. Щербіна ОВ. Пухлинні маркери: роль у клінічній практиці. *Онкологія* 2008; 10 (2): 269–73.
13. Mu T, Li XP, Wang JL, et al. Value of CA(125) in the prediction of optimal interval debulking surgery and its prognosis in patients with epithelial ovarian cancer. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2012; 47 (8): 566–70.
14. Cuperlovic-Culf M, Belacel N, Ouellette RJ. Determination of tumor markers gene from gene expression data. *Drug Discov Today* 2005; 10: 429–37.
15. Костишин ІД, Лукач ЕВ, Туманова ОА. Прогностична роль клінічних даних і молекулярно-біологічних тканинних маркерів при великофракційному передопераційному опроміненні раку гортані. *Буковин мед вісник* 2015; 19 (2): 116–9.
16. Патент на изобретение № 2426991 Росія. Спосіб прогнозування исходов плоскоклеточных опухолей головы ишеи / Клишо ЕВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ, Шишкин ДА, Мухамедов МР. Патентообладатель: Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт онкологии Сибирского отделения Российской академии медицинских наук (НИИ онкологии СО РАМН). Заявка № 2009119769/15; заявл. 25.05.2009; опубл. 20.08.2011 Бюл. № 23.
17. Driemel O, Escher N, Ernst G, et al. S100A8 cellular distribution in normal epithelium, hyperplasia, dysplasia and squamous cell carcinoma and its concentration in serum. *Anal Quant Cytol Histol* 2010; 32: 219–24.

18. Suzuki F, Oridate N, Homma A. S100A2 expression as a predictive marker for late cervical metastasis in stage I and II invasive squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oncol Rep* 2005; **14**: 1493–8.
19. Sapkota D, Bruland O, Boe OE, *et al.* Expression profile of the S100 gene family members in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med* 2008; **37**: 607–15.
20. 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.
21. 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**: 2405–22.
22. Gokhale AS, Haddad RI, Cavacini LA, *et al.* Serum concentrations of interleukin-8, vascular endothelial growth factor, and epidermal growth factor receptor in patients with squamous cell cancer of the head and neck. *Oral Oncol* 2005; **41**: 70–6.
23. Sugiura T, Inoue Y, Matsuki R, *et al.* VEGF-C and VEGF-D expression is correlated with lymphatic vessel density and lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma: Implications for use as a prognostic marker. *Int J Oncol* 2009; **34**: 673–80.
24. Кіреєва СС, Юрченко НП, Іщенко ВВ та ін. P53 та Ki-67 як біомаркери об'єктивізації гістологічної діагностики передпухлинних станів та раку слизової порожнини рота на біопсійному матеріалі. *Проблеми екол мед* 2010; **14** (3–4): 17–20.
25. Ebrahimi M, Boldrup L, Wahlin YB, *et al.* Decreased expression of the p63 related proteins beta-catenin, E-cadherin and EGFR in oral lichen planus. *Oral Oncol* 2008; **44** (7): 634–8.
26. Acay RR, Felizola CR, de Araújo N, de Sousa SO. Evaluation of proliferative potential in oral lichen planus and oral lichenoid lesions using immunohistochemical expression of p53 and Ki67. *Oral Oncol* 2006; **42** (5): 475–80.
27. Кіреєва СС, Юрченко НП, Сидоренко МА. Експресія маркерних білків епітеліальних стовбурових та прогеніторних клітин: регуляторного ядерного білку p63 і цитокератинів СК 5/14 у епітелії слизової оболонки порожнини рота при передракових станах та у осіб з групи ризику. *Журн вушних, носових і горлових хвороб* 2014; **1**: 8–14.
28. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. «Field cancerization» in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer (Phila)* 1953; **6**: 963–8.
29. Кіреєва СС, Юрченко НП, Іщенко ВВ та ін. Зміни у слизовій на відстані від сформованої пухлини та профіль білків p53 та Ki-67 у клітинних шарах епітелію слизової у хворі на плоскоклітинний рак порожнини рота. *Проблеми екол мед* 2010; **14** (1–2): 15.
30. Murti PR. P53 expression in oral precancer as a marker for malignant potential. *J Oral Pathol Med* 1998; **27** (5): 191–6.
31. De Sousa FA, Paradella TC, Carvalho YR, Rosa LE. Comparative analysis of the expression of proliferating cell nuclear antigen, p53, bax, and bcl-2 in oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. *Ann Diagnostic Pathol* 2009; **13** (5): 308–12.
32. Ebrahimi M, Boldrup L, Coates PJ, *et al.* Expression of novel p53 isoforms in oral lichen planus. *Oral Oncol* 2008; **44** (2): 156–61.
33. Tumuluri V, Thomas GA, Fraser IS. Analysis of the Ki-67 antigen at the invasive tumor front of human oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2000; **31** (10): 598–604.
34. Van Houten VMM, Tabor MP, Van den Brekel MWM, *et al.* Mutated P53 as molecular marker for the diagnosis of head and neck cancer. *J Pathol* 2002; **1** (198): 476–86.
35. Aquino G, Sabatino R, Cantile M, *et al.* Expression analysis of SPARC/Osteonectin in oral squamous cell carcinoma patients: from saliva to surgical specimen. *BioMed Res Int* 2013; **2013**, ID 736438, 9 p. (<http://dx.doi.org/10.1155/2013/736438>).
36. Галай ОО, Гулей ПВ, Петрончак ОА. Аналіз експресії онкобілка bcl-2 в плоскоклітинних раках слизової порожнини рота і ротоглотки. *Шпитальна хірургія* 2011; (4): 37–9.
37. Mandel ID. A contemporary view of salivary research. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; **4** (3/4): 599–604.
38. Slavkin HC. Toward molecularly based diagnostics for the oral cavity. *J Am Dent Assoc* 1998; **129**: 1138–43.
39. Malamud D. Saliva as a diagnostic fluid. *Br Med J* 1992; **305**: 207–8.
40. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J Prosthetic Dent* 2001; **85** (2): 162–4.
41. Shpitzer T, Bahar G, Feinmesser R. A comprehensive salivary analysis for oral cancer diagnosis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; **133**: 613–7.
42. Nagler RM, Bahar G, Shpitzer T. Concomitant analysis of salivary tumor markers — a new diagnostic tool for oral cancer. *Clin Cancer Res* 2006; **12** (13): 3979–84.
43. O'Byrne KJ, Dalgleish AG. Chronic immune activation and inflammation as the cause of malignancy. *J Cancer* 2001; **85** (4): 473–83.
44. Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumour-host interface. *Nature* 2001; **411**: 375–9.
45. Johnson PJ, Lo YM. Plasma nucleic acids in the diagnosis and management of malignant disease. *Clin Chem* 2002; **48**: 1186–93.
46. Neves AF, Araújo TG, Biase WK, *et al.* Combined analysis of multiple mRNA markers by RT-PCR assay for prostate cancer diagnosis. *Clin Biochem* 2008; **41**: 1191–8.
47. Li Y, St John MA, Zhou X, *et al.* Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection. *Clin Cancer Res* 2004; **10**: 8442–50.
48. Jou YJ, Lin CD, Lai CH, *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.
49. Wu C-C, Chang Y-T, Chang K-P, *et al.* Salivary auto-antibodies as noninvasive diagnostic markers of oral cavity squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; **23** (8): 1569–77.
50. Кочурова ЕВ, Серяков АП, Козлов СВ и др. Роль онкомаркеров слюнной жидкости в диагностике и мониторинге пациентов с плоскоклеточным раком полости рта. *Воен-мед журн* 2007; **3**: 62.
51. Hsu C-W, Yu J-S, Peng P-H, *et al.* Secretome profiling of primary cells reveals that THBS2 is a salivary biomarker of oral cavity squamous cell carcinoma. *J Proteome Res* 2014; **13**: 4796–807.
52. Brailo V, Vucicevic-Boras V, Lukac J, *et al.* Salivary and serum interleukin 1 beta, interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in patients with leukoplakia and oral cancer. *Med Oral Patologia Oral Cir Bucal* 2012; **17** (1): e10–e15.
53. Wong HL, Pfeiffer RM, Fears TR, *et al.* Reproducibility and correlations of multiplex cytokine levels in asymptomatic persons. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; **17**: 3450–6.
54. Krishna Prasad RB, Sharma A, Babu HM. An insight into salivary markers in oral cancer. *Dental Res J* 2013; **10** (3): 287–92.
55. Miller SM. Saliva testing — a nontraditional diagnostic tool. *Clin Lab* 1994; **7**: 39–44.
56. Streckfus CL, Tucci M, Tucci M, Thigpen JT. A preliminary study of CA15-3, c-erbB-2, epidermal growth factor receptor, cathepsin-D, and p53 in saliva among women with breast carcinoma. *Cancer Invest* 2000; **18**: 101–9.
57. Bonassi S, Neri M, Puntoni R. Validation of bio-markers as early predictors of disease. *Mutat Res* 2001; **58**: 480–1.
58. Streckfus CF, Bigler LR. Saliva as diagnostic fluid. *Oral Des* 2002; **8**: 69–76.
59. Bigler LR, Streckfus CF, Dubinsky WP. Salivary biomarkers for the detection of malignant tumors that are remote from the oral cavity. *Clin Lab Med* 2009; **29** (1): 71–85.
60. Chien DX, Schwartz PE, Li FQ. Saliva and serum CA 125 assays for detecting malignant ovarian tumors. *Obstet Gynecol* 1990; **75**: 701–4.
61. Zhang L, Farrell J, Zhou H, *et al.* Salivary transcriptomic biomarkers for detection of resectable pancreatic cancer. *Gastroenterology* 2010; **138** (3): 949–57: e1–e7.
62. Kawai H, Minamiya Y, Takahashi N. Prognostic impact of S100A9 overexpression in non-small cell lung cancer. *Tumor Biol* 2011; **32** (4): 641–6.
63. Watson N, Durrant L, Majid 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.

64. Кочурова ЕВ. Значение онкомаркеров слюнной жидкости при плоскоклеточном раке органов полости рта [Автореф. дис... канд. мед наук]. Москва: Государственный институт усовершенствования врачей Министерства обороны Российской Федерации, 2009. 120 с.

65. He QY, Chen J, Kung HF, *et al.* Identification of tumor associated protein sinoral tongues squamous cell carcinoma by proteomics. *Proteomics* 2004; 4: 271–8.

66. Wu CC, Chien KY, Tsang NM, *et al.* Cancer cell-secreted proteomes as a basis for searching potential tumor markers: nasopharyngeal carcinoma as a model. *Proteomics* 2005; 5: 3173–82.

67. Hu S, Arellano M, Boonthueung P, *et al.* Salivary proteomics for oral cancer biomarker discovery. *Clin Cancer Res* 2008; 14 (19): 6246–51.

68. Li Y, John MAR St, Zhou X, *et al.* Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8442–50.

69. Wang Q, Gao P, Wang X, Duan Y. Investigation and identification of potential biomarkers in human saliva for the early diagnosis of oral squamous cell carcinoma. *Clin Chim Acta* 2014; 427: 79–85.

70. Yamazaki Y, Chiba I, Ishikawa M, *et al.* Serum p53 antibodies as a prognostic indicator in oral squamous cell carcinoma. *Odontology* 2008; 96: 32–7.

71. Eto M, Kodama S, Uemura N, Suzuki M. Antibody responses to surviving and their clinical significance in patients with head and neck cancer. *Head Neck* 2007; 29: 1128–35.

72. Gires O, Munz M, Schaffrik M, *et al.* Profile identification of disease-associated humoral antigens using AMIDA, a novel proteomics-based technology. *Cell Mol Life* 2004; 61: 1198–207.

73. Castelli M, Cianfriglia F, Manieri A, *et al.* Anti-p53 and anti-heat shock proteins antibodies in patients with malignant or pre-malignant lesions of the oral cavity. *Anticancer Res* 2001; 21: 753–8.

74. Bei R, Masuelli L, Trono P, *et al.* The ribosomal P0 protein induces a spontaneous immune response in patients with head and neck advanced stage carcinoma that is not dependent on its overexpression in carcinomas. *Int J Oncol* 2007; 31: 1301–8.

75. Гриневич ЮА, Юринова ЛГ. Маркеры опухолевого роста. Київ: Здоров'я, 2013. 200 с.

76. Котукова СІ, Маніхас ГМ, Яременко ОІ, Божор СС. Роль опухолевых маркеров и других клинико-лабораторных показателей в прогнозировании рецидива плоскоклеточного рака головы и шеи. Материалы XIV Российского онкологического конгресса 2010: 261.

77. Онкомаркеры. Официальный сайт Биохиммак [электрон. ресурс] (http://www.rusmedserv.com/files/labdiag/25_onkomarkery.pdf).

78. 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.

79. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; 87: 2095–147.

80. Hodge DR, Peng B, Cherry JC, *et al.* Interleukin 6 supports the maintenance of p53 tumor suppressor gene promoter methylation. *Cancer Res* 2005; 65: 4673–82.

81. Arellano-Garcia ME, Hu S, Wang J, *et al.* Multiplexed immunobead-based assay for detection of oral cancer protein biomarkers in saliva. *Oral Dis* 2008; 14: 705–12.

82. Katakura A, Kamiyama I, Takano N, *et al.* Comparison of salivary cytokine levels in oral cancer patients and healthy subjects. *Bull Tokyo Dent Coll* 2007; 48: 199–203.

83. Rhodus NL, Cheng B, Myers S, *et al.* A comparison of the pro-inflammatory, NF-kappaB-dependent cytokines: TNF-alpha, IL-1-alpha, IL-6, and IL-8 in different oral fluids from oral lichen planus patients. *Clin Immunol* 2005; 114: 278–83.

84. Rhodus NL, Cheng B, Myers S, *et al.* The feasibility of monitoring NF-kappaB associated cytokines: TNF-alpha, IL-1alpha, IL-6, and IL-8 in whole saliva for the malignant transformation of oral lichen planus. *Mol Carcinog* 2005; 44: 77–82.

85. Saheb Jamee M, Eslami M, Atarbash Moghadam F, Sarafnejad A. Salivary concentration of TNF-alpha, IL1 alpha, IL6, and

IL8 in oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Pathol Oral Cir Bucal* 2008; 13: e292–5.

86. Vucicevic Boras V, Cikes N, Lukać J, *et al.* Salivary and serum interleukin 6 and basic fibroblast growth factor levels in patients with oral squamous cell carcinoma. *Minerva Stomatol* 2005; 54: 569–73.

87. Brailo V, Vucicevic-Boras V, Cekić-Arambasin A, *et al.* The significance of salivary interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in patients with oral leukoplakia. *J Oral Oncol* 2006; 42: 370–3.

88. Korostoff A, Reder L, Masood R, Sinha UK. The role of salivary cytokine biomarkers in tongue cancer invasion and mortality. *Oral Oncol* 2011; 47: 282–7.

89. Shi Q, Abbruzzese JL, Huang S, *et al.* Constitutive and inducible interleukin 8 expression by hypoxia and acidosis renders human pancreatic cancer cells more tumorigenic and metastatic. *Clin Cancer Res* 1999; 5 (11): 3711–21.

90. Christofakis EP, Miyazaki H, DS Rubink, Yeudall WA. Roles of CXCL8 in squamous cell carcinoma proliferation and migration. *Oral Oncol* 2008; 44: 920–6.

91. St John MA, Li Y, Zhou X, *et al.* Interleukin 6 and interleukin 8 as potential biomarkers for oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 130: 929–35.

92. Rajkumar K, Nandhini G, Ramya R, Nirmala Anandan S. Validation of diagnostic utility of salivary interleukin-8 in differentiation of potentially malignant oral lesion and malignant oral squamous cell carcinoma in high endemic setting region. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014. doi: 10.1016/j.oooo.2014.04.008.

93. Brinkmann O, Kastratovic DA, Dimitrijevic MV, *et al.* Oralsquamous cell carcinoma detection by salivary biomarkers in a Serbian population. *Oral Oncol* 2011; 47 (1): 51–5.

94. Rhodus NL, Ho V, Miller CS, *et al.* NF-kappaB dependent cytokine levels in saliva of patients with oral preneoplastic lesions and oral squamous cell carcinoma. *Cancer Detect Prevent* 2005; 29: 42–5.

95. Panyani SR, Sathawane RS. Salivary level of interleukin-8 in oral precancer and oral squamous cell carcinoma. *Clin Oral Invest* 2013; 17: 517–24.

96. Cheng Y-SL, Rees T, Jordan L, *et al.* Salivary endothelin-1 potential for detecting oral cancer in patients with oral lichen planus or oral cancer in remission. *Oral Oncol* 2011; 47: 1122–6.

97. Salama I, Malone PS, Mihaimed F, Jones JL. A review of the S100 proteins in cancer. *EJSO* 2008; 34: 357–64.

98. Y-J Jou, C-H Hua, C-D Lin, *et al.* S100A8 as potential salivary biomarker of oral squamous cell carcinoma using nanoLC-MS/MS. *Clin Chim Acta* 2014; 436: 121–9.

THE USE OF TUMOR MARKERS IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF PATIENTS WITH SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE OROPHARYNGEAL AREA

H.A. Hirna, I.D. Kostyshyn

Summary. *It was analyzed the possibility and efficiency of determining tumor markers in oral fluid and serum for cancer of the oral cavity and oropharynx. The attention is focused on the most specific and sensitive tumor markers that require further investigation with the goal of choosing a treatment method.*

Key Words: squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx, tumor markers, oral fluid diagnostics, treatment.

Адреса для листування:

Гірна Г.А.

77500, Івано-Франківська обл., м. Долина,

вул. Івана Франка, 43

E-mail: halynagurna@mail.ua

Одержано: 22.11.2016