

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ДИАГНОСТИКИ И МОНИТОРИНГА ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПОЛОСТИ РТА**

*Обзор посвящен одному из приоритетных направлений в диагностике заболеваний – применению биомаркеров. Актуальность исследования и применения биологических маркеров в профилактике и доклинической диагностике обусловлена ростом заболеваемости раком ротовой полости у людей до 40 лет, диагностирование заболевания в продвинутой стадии. Приводятся сведения о слюнных и сывороточных биомаркерах, мутациях влияющих на риск развития заболевания и эффективность терапии, экспрессии микроРНК в опухолевых тканях*

**Ключевые слова:** рак ротовой полости, генетика предрасположенности, биомаркеры, онкология

Большой вклад в развитии стоматологической ортопедии и тесно с ней связанной реконструктивно-лицевой хирургии принадлежит профессору В.Ю. Курляндскому, который плодотворно работал в направлении челюстно-лицевого протезирования. Приобретенные дефекты лица и челюстей, обусловленные новообразованиями и травмами, растут, что связано с техногенными катастрофами, локальными войнами, бытовым травматизмом и ростом числа онкологических больных [1].

Сегодня, в век цифровой медицины, стоматология развивается очень интенсивно и достижения специалистов в этой области впечатляют. Зубочелюстные и лицевые протезы изготавливаются с использованием стоматологических CAD/CAM технологий [2].

Однако достижения молекулярной диагностики в области профилактики, доклинической диагностики новообразований головы и шеи остаются неизвестны и недоступны большинству врачей-стоматологов. Рак полости рта – многофакторное заболевание с тяжелыми инвалидизирующими последствиями и высокой смертностью. Рост заболеваемости у людей до 40 лет, частое диагностирование в продвинутой стадии требует разработки мер профилактики данного заболевания. Одним из решений такой задачи является выявление и использование в практике биомаркеров. Биологические маркеры могут использоваться для оценки риска заболеваний, скрининга на первичный рак, дифференцирования доброкачественных, злокачественных состояний или разных типов опухолей, определения прогноза, в качестве предикторов/скрининга и мониторинга состояния болезни. Определение риска развития рака полости рта у пациента является полезным, если стратегии уменьшения риска эффективны. Эти стратегии, при применении в группе высокого риска более эффективны по сравнению с использованием для всей популяции [3]. Вирус папилломы человека типа 16 (ВПЧ 16) признается в качестве одной из причин большинства случаев рака шейки матки и значительной части рака аногенитальной области и ротоглотки. Е6 и Е7 онкобелки ассоциированы с началом злокачественной трансформации пораженных тканей шейки матки.

Результаты текущих исследований предполагают, что антитела ВПЧ 16 Е6 можно использовать на доклинической стадии [4]. Маркер p16INK4a используется в определении рака ротовой полости и привел к успешной идентификации орального секса в качестве причины HPV-связанного ракового заболевания [5, 6]. Слюнные биомаркеры – весьма перспективный неинвазивный подход для обнаружения рака полости рта и в мониторинге процесса заболевания и ответа на лечение. Brinkmann и соавторы в 2011 году изучали слюнные биомаркеры у больных раком ротовой полости в Сербии и показали, что три слюнных протеомных биомаркера и четыре слюнных мРНК биомаркера достоверно связаны с поздней стадией рака ротовой полости. Слюнные протеомные биомаркеры например интерлейкин 1b (IL-1B), интерлейкин-8 (IL8), M2BP, и микроРНК маркеры, таких генов как IL8, S100P, SAT1 и IL1B были определены с статистически значимыми значениями [7].

Биомаркеры могут использоваться как скрининговые инструменты у здоровых лиц и пациентов клинически или гистологически негативных для рака полости рта. Скрининг и ранняя диагностика рака ротовой полости являются полезными и важными для стратегии, снижающей риски. Другие стратегии включают изменение образа жизни, отказ от вредных привычек и профилактическое лечение в профилактике рака, которые увеличивают выживаемость больных.

В 2014 году Wang и соавторы успешно выделили потенциальные слюнные биомаркеры для ранней диагностики рака ротовой полости. Их исследование показало 8 сверхэкспрессируемых и 6 сниженноэкспрессируемых групп слюнных метаболомных биомаркеров. Результаты показали, что пять слюнных метаболомных биомаркеров, пронионил холин, N-ацетил-L-фенилаланин, сфинганин, фитосфингосин и S-карбоксиметил-L-цистеин имеют достоверные статистические корреляции и могут рассматриваться в качестве кандидатов-биомаркеров для скрининга на рак ротовой полости [8]. Ген кислой лакказы 2 является протеомным биомаркером, который используется для дифференцирования плоскоклеточного рака от аденокарциномы [9]. Ангиогенетический маркер кластер дифференцировки фактора 34 (CD34) служит важным инструментом прогнозирования для повторных случаев рака ротовой полости [10]. Геномные биомаркеры интегрин  $\alpha 3$  и интегрин  $\beta 4$  положительно коррелируют с отдаленными метастазами и прогнозом опухолей [11]. Шесть маркеров, таких как сосудистый эндотелиальный фактор роста, В-клеточная лимфома 2, клаудин 4, уес-ассоциированный белок 1, MET протоонкоген и рецептор тирозинкиназы были предложены как новая группа биомаркеров, которые можно использовать для мониторинга терапии и как предикторы радиорезистентности у больных раком ротовой полости [12]. Ни и соавторы сообщили о исследовании с помощью иммуноанализа слюнных белков, таких как Мас-2-связывающий белок (M2BP), профилин, CD59, MRP14, каталаза, гистон H1, S100A12, крысиной саркомы вирусного онкогена гомолог (Ras)-связанный белок Rab-7, моззин, инволюкрин, белок, связывающий кальций S100P (S100P) и гемопэтические линии клеток-специфический белок различно экспрессируются у пациентов с раком ротовой полости и в контрольной группе здоровых индивидуумов [13]. Аберрантная экспрессия miR-375, miR-200a и метилирование miR-200c-144 были первоначально определены у больных раком ротовой полости и предложены в качестве потенциального клинического применения для диагностики рака полости рта [14].

Биомаркеры могут использоваться для определения прогноза и повторных случаев после лечения (хирургического, лучевой терапии или химиотерапии) у больных раком полости рта. Huang и соавторы в 2010 году изучали экспрессию белка GRP78 в ткани рака ротовой полости с помощью вестер-блоттинга и иммуногистохимии, и их результаты исследования показали, что снижение экспрессии белка GRP78 значительно коррелирует с прогнозом опухолевой ткани [15]. Козэкспрессия фосфоропротеида 53(p53) / р-гликопротеина, коэкспрессия комбинированной экспрессии цитоплазматического и мембранного эпидермального фактора роста (EGFR) и p53, коэкспрессия с-erbB-2, 3 и 4, фосфоропротеида 16 (циклин-зависимой киназы ингибитора 2A) (p16) / циклических D1 амплификация и RAR альфа/фосфоропротеида 21 (мощного ингибитора циклин-зависимой киназы) может представлять дополнительную прогностическую информацию о состоянии опухолевых тканей.

Биомаркеры могут использоваться для идентификации терапевтических целей и в качестве инструмента для выявления эффективности терапии [16, 17, 18, 19, 20, 21]. Monteiro с соавторами в 2011 году предложили, что повышенная экспрессия белка p-mTOR может использоваться в качестве потенциальной терапевтической цели у больных с раком ротовой полости [22]. Yang и соавторы в 2014 исследуя биопсии образцов тканей рака ротовой полости показали, что экспрессия GF15 может использоваться как прогностический и предиктивный биомаркер для пациентов под доцетаксел, цисплатина и 5-флуорацил (ВПС) индукционной химиотерапии [23, 24].

Существенно важное значение для прогнозирования у людей риска развития рака имеют биомаркеры, которые идентифицируют герминальные мутации, и которые могут иметь неблагоприятные реакции на некоторые виды терапии рака. Полиморфизмы гена p53/p73, CCND1, MDM2, и Harvey Ras (H-Ras) связаны с клеточным циклом, апоптозом и риск развития рака [25]. Tandle и соавторы в отчете 2001 года указали, что связь между генотипами p53 и раком ротовой полости не наблюдалась у индийских пациентов [26]. Мисра и соавторы в 2009 году изучали полиморфизмы в p53, p73 и MDM2 и проанализированы риск развития рака полости рта с учетом комбинированных трех локусов. Результаты их исследования показали, что наличие по крайней мере одного рискового аллеля во всех трех локусах увеличивает риск табакоассоциированной лейкоплакии и развития рака полости рта [27].

Биомаркеры полезны в выявлении повторных случаев озлокачествления у пациентов, получавших адъювантную терапию. Sulzyc-Bielicka и соавторы в 2013 исследовали полиморфизм в гене тимидилат синтазы (TC/TS) гена у больных колоректальным раком, получающих адъювантную терапию 5-флуораурилом. Их результаты исследования показали, что пациенты с высокой экспрессией TS, имеют достоверно высокий риск ранних рецидивов рака полости рта в рентгенологический период [28]. Эффективность EGFR для плоскоклеточного рака головы и шеи в настоящее время проходит фазу III клинического исследования. Эти исследования показывают, что идентификация биомаркеров для определения эффективности и токсичности адъювантной терапии является важной областью исследования в лечении рака ротовой полости [29].

Биомаркеры также являются полезными инструментами для выявления инвазии, метастазов и мониторинга терапевтических реакций у больных, получающих лечение для метастазов рака. Huang и соавторы в 2014 исследовали miRNA-459-5p и GIT1 в тканях рака ротовой полости как потенциальные биомаркеры для инвазии и метастатических фенотипов. Их результаты показали, что уровни экспрессии miRNA-491-51-5p и GIT1 обратно коррелируют в тканях рака ротовой полости. Их результаты также поддерживают мнение, что miRNA-491-5p и GIT1 могут служить метастатическими прогностическими биомаркерами, и как цели для вмешательства в случаях метастазирования рака ротовой полости [30].

МикроРНК анализ с помощью биочипов был впервые описан Yang с соавторами, изучавших преобразование дисплазий ранней стадии, т.е. ротовые предраковые поражения при раке ротовой полости [31]. Их доклад показал, что 13 микроРНК имели сниженную экспрессию и 12 были с повышенной экспрессией в тканях с дисплазией склонной к озлокачествлению. Salazar и соавторы показали, что miR-9, miR-191 и miR-134 можно использовать в качестве новых неинвазивных биомаркеров при плоскоклеточном раке головы и шеи [32].

Chai и соавторы в 2014 году обнаружили потенциальные сывороточные биомаркеры для метастазов в лимфатические узлы при раке полости рта. Количественное исследование белков сыворотки с помощью протеомного анализа выявило 4 кандидата в биомаркеры: гельсолин, фибронектин, ангиотензиноген и гаптоглобин. Лучшим биомаркером из кандидатов был определен гельсолин с характерным значением 89% для положительности лимфатических узлов в образцах рака ротовой полости. Однако из-за ограниченной выборки в вышеупомянутом исследовании необходимо проверить результаты в нерегулярном лонгитюдном исследовании для оценки клинической полезности [33].

Существующее в настоящее время достаточное понимание причин для предотвращения почти трети всех раковых заболеваний в мире и наличие достаточной информации, позволяющей рано выявить и назначить своевременное лечение еще трети случаев [34], при которых рак ротовой полости дает эту возможность. Для рака полости рта есть доказательства, что визуальный осмотр как часть программы скрининга населения снижает смертность у больных с высоким риском [35], также возможно изменить образ жизни и создать барьеры для запуска факторов риска. Образование для населения в целом и для тех, кто с повышенным риском, хорошая теоретическая основа для удовлетворения ключевых аспектов рака полости рта и постоянное обновление информации о патологии рта у практикующих медиков с коррекцией стратегии снижения рисков позволит уменьшить рост заболеваемости и смертности, которые сопровождают эту болезнь в последние десятилетия.

Таким образом онкологическая настороженность, знания возможностей диагностики новообразований головы и шеи и потенциалы современной медицины необходимы в деятельности врача-стоматолога, что реально может способствовать ранней диагностике и профилактики рака полости рта.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Арутюнов А.С. Клинико-организационные основы повышения эффективности ортопедической стоматологической реабилитации онкологических больных с приобретенными дефектами верхней челюсти: Дис. ... д-р. мед. наук – М., 2012. – 337 с.
- 2 Арутюнов С.Д., Пивоваров А.А., Орджоникидзе Р.З. Современная технология ортопедического стоматологического лечения онкологических больных с дефектами верхней челюсти в ранний послеоперационный период // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 5. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25320>.
- 3 Yoon A.J., Shen J., Santella R.M., et al. Activated checkpoint kinase 2 expression and risk for oral squamous cell carcinoma // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 2007. – №16. – P. 2768-2772.
- 4 Kreimer A.R., Johansson M., Waterboer T., et al. Evaluation of human papillomavirus antibodies and risk of subsequent head and neck cancer // J Clin Oncol. – 2013. – №31. – P. 2708-2715.
- 5 Patil S., Rao R.S., Amrutha N., et al. Analysis of human papillomavirus in 400 oral squamous cell carcinoma using p16: An immunohistochemical study // J Int Soc Prev Community Dent. – 2014. – №4. – P. 61-66.
- 6 Zia A., Khan S., Bey A., et al. Oral biomarkers in the diagnosis and progression of periodontal diseases // Biol Med. – 2011. – №3. – P. 45-52.
- 7 Brinkmann O., Kastratovic D.A., Dimitrijevic M.V., et al. Oral squamous cell carcinoma detection by salivary biomarkers in a Serbian population // Oral Oncol. – 2011. – №47. – P. 51-55.
- 8 Wang Q., Gao P., Wang X., et al. The early diagnosis and monitoring of squamous cell carcinoma via saliva metabolomics // Sci Rep. – 2014. – №4. – P. 6802-6809.
- 9 Shinmura K., Igarashi H., Kato H., et al. CLCA2 as a novel immunohistochemical marker for differential diagnosis of squamous cell carcinoma from adenocarcinoma of the lung // Dis Markers. – 2014. – №4. – P. 109-118.
- 10 Kademani D., Lewis J.T., Lamb D.H., et al. Angiogenesis and CD34 expression as a predictor of recurrence in oral squamous cell carcinoma // J Oral Maxillofac Surg. – 2009. – №67. – P. 1800-1805.
- 11 Nagata M., Noman A.A., Suzuki K., et al. ITGA3 and ITGB4 expression biomarkers estimate the risks of locoregional and hematogenous dissemination of oral squamous cell carcinoma // BMC Cancer. – 2013. – №13. – P. 410-419.
- 12 Akervall J., Nandalur S., Zhang J., et al. A novel panel of biomarkers predicts radioresistance in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck // Eur J Cancer. – 2014. – №50. – P. 570-581.
- 13 Hu S., Arellano M., Boontheung P., et al. Salivary proteomics for oral cancer biomarker discovery // Clin Cancer Res. – 2008. – №14. – P. 6246-6252.
- 14 Majem B., Rigau M., Reventós J., Wong D.T. Non-coding RNAs in saliva: Emerging biomarkers for molecular diagnostics // Int J Mol Sci. – 2015. – №16. – P. 8676-8698.
- 15 Huang T.T., Chen J.Y., Tseng C.E., et al. Decreased GRP78 protein expression is a potential prognostic marker of oral squamous cell carcinoma in Taiwan // J Formos Med Assoc. – 2010. – №109. – P. 326-337.

- 16 Monteiro L.S., Diniz-Freitas M., Garcia-Caballero T., et al. Combined cytoplasmic and membranous EGFR and p53 overexpression is a poor prognostic marker in early stage oral squamous cell carcinoma // J Oral Pathol Med. – 2012. - №41. – P. 559-567.
- 17 Warnakulasuriya S., Jia C., Johnson N., et al. p53 and P-glycoprotein expression are significant prognostic markers in advanced head and neck cancer treated with chemo/radiotherapy // J Pathol. – 2000. - №191. – P. 33-38.
- 18 Ibrahim S.O., Vastrand E.N., Liavaag P.G., et al. Expression of c-erbB proto-oncogene family members in squamous cell carcinoma of the head and neck // Anticancer Res. – 1997. - №17. – P. 4539-4546.
- 19 Namazie A., Alavi S., Olopade O.I., et al. Cyclin D1 amplification and p16(MTS1/CDK4I) deletion correlate with poor prognosis in head and neck tumors // Laryngoscope. – 2002. - №112. – P. 472-481.
- 20 Jayasurya R., Francis G., Kannan S., et al. p53, p16 and cyclin D1: Molecular determinants of radiotherapy treatment response in oral carcinoma // Int J Cancer. – 2004. - №109. – P. 710-716.
- 21 Ralhan R., Chakravarti N., Kaur J., et al. Clinical significance of altered expression of retinoid receptors in oral precancerous and cancerous lesions: Relationship with cell cycle regulators // Int J Cancer. – 2006. - №118. – P. 1077-1089.
- 22 Monteiro L.S., Delgado M.L., Ricardo S., et al. Phosphorylated mammalian target of rapamycin is associated with an adverse outcome in oral squamous cell carcinoma // Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. – 2013. - №115. – P. 638-645.
- 23 Yang C.Z., Ma J., Zhu D.W., et al. GDF15 is a potential predictive biomarker for TPF induction chemotherapy and promotes tumorigenesis and progression in oral squamous cell carcinoma // Ann Oncol. – 2014. - №25. – P. 1215-1222
- 24 Haddad R., Tishler R.B., Norris C.M., et al. Docetaxel, cisplatin, 5-fluorouracil (TPF)-based induction chemotherapy for head and neck cancer and the case for sequential, combined - modality treatment // Oncologist. – 2003. - №8. – P. 35-44.
- 25 Bag A., Jyala N.S., Bag N. Indian studies on genetic polymorphisms and cancer risk // Indian J Cancer. – 2012. - №49. – P. 144-162.
- 26 Tandle A.T., Sanghvi V., Saranath D. Determination of p53 genotypes in oral cancer patients from India // Br J Cancer. – 2001. - №84. – P. 739-742.
- 27 Misra C., Majumder M., Bajaj S., et al. Polymorphisms at p53, p73, and MDM2 loci modulate the risk of tobacco associated leukoplakia and oral cancer // Mol Carcinog. – 2009. - №48. – P. 790-800.
- 28 Sulzyc-Bielicka V., Bielicki D., Binczak-Kuleta A., et al. Thymidylate synthase gene polymorphism and survival of colorectal cancer patients receiving adjuvant 5-fluorouracil // Genet Test Mol Biomarkers. – 2013. - №17. – P. 799-806.
- 29 Fung C., Grandis J.R. Emerging drugs to treat squamous cell carcinomas of the head and neck // Expert Opin Emerg Drugs. – 2010. - №15. – P. 355-373.
- 30 Huang W.C., Chan S.H., Jang T.H., et al. miRNA-491-5p and GIT1 serve as modulators and biomarkers for oral squamous cell carcinoma invasion and metastasis // Cancer Res. – 2014. - №74. – P. 751-764.
- 31 Yang Y., Li Y.X., Yang X., et al. Progress risk assessment of oral premalignant lesions with saliva miRNA analysis // BMC Cancer. – 2013. - №13. – P. 129-137.
- 32 Salazar C., Nagadia R., Pandit P., et al. A novel saliva-based microRNA biomarker panel to detect head and neck cancers // Cell Oncol (Dordr). – 2014. - №37. – P. 331-338.
- 33 Chai Y.D., Zhang L., Yang Y., et al. Discovery of potential serum protein biomarkers for lymph node metastasis in oral cancer // Head Neck. – 2014. - №38. – P. 118-125.
- 34 Petersen P.E. Oral cancer prevention and control - the approach of the World Health Organization // Oral Oncol. – 2009. - №45. – P. 454-460.
- 35 Brocklehurst P., Kujan O., O'Malley L.A., et al. Screening programmes for the early detection and prevention of oral cancer // Cochrane Database Syst Rev. – 2013. - №11. – P. 149-156.

**И.В. Угаров, С.Д. Арутюнов**

*Ресей ДСМ А.И.Евдокимов атындағы ФГБОУ ВО МГМСУ*

#### **АУЫЗ ҚУЫСЫ ОЫРЫ БАР НАУҚАСТАРДЫҢ ТЕРАПИЯЛЫҚ РЕАКЦИЯСЫ МОНИТОРИНГІ ЖӘНЕ ДИАГНОСТИКАНЫҢ МОЛЕКУЛЯРЛЫ БИОЛОГИЯЛЫҚ МАРКЕРЛЕРІ**

**Түйін:** Шолу ауру диагностикасының басым басыттарының бірі – биомаркерлерді қолдануға арналған. Зерттеудің өзектілігі және клиникаға дейінгі диагностика мен аурудың алдын алуда биологиялық маркерлерді қолдану 40 жасқа дейінгі адамдардың ауыз қуысы обырының өсуімен, ауруға диагноз қоюдың ілгерілеген кезеңімен шартталады. Сілекей және қан сарысуы биомаркерлері, аурудың даму қаупі мен емнің тиімділігіне әсер ететін мутациялар туралы, ісік тіндеріндегі микроРНК экспрессиясы туралы мәліметтер келтіріледі.

**Түйінді сөздер:** ауыз қуысының обыры, бейімділік генетикасы, биомаркерлер, онкология.

**I.V. Ugarov, S.D. Arutiunov**

*FGBOU at the MGMSU. A.I. Evdokimova of Ministry of Health of Russia*

#### **MOLECULAR BIOLOGICAL MARKERS FOR DIAGNOSIS AND MONITORING THERAPEUTIC RESPONSES IN PATIENTS WITH CANCER OF THE ORAL CAVITY**

**Resume:** The review is dedicated to one of the priority directions in the diagnosis of diseases – the use of biomarkers. The relevance of the study and use of biological markers in the prevention and preclinical diagnostics due to rising incidence of oral cancer in people under 40 years old, diagnosis of the disease in an advanced stage. Provides information on salivary and serum biomarkers, mutations affecting the risk of developing the disease and efficacy of treatment, the miRNA expression in tumor tissues.

**Keywords:** Oral cancer, genetic predisposition, biomarkers, oncology