

# Globalni proteomski profil ekspresije i uloga proteina IGF2/IGF2R u patogenezi prekanceroznih lezija usne šupljine

---

Lončar Brzak, Božana

Doctoral thesis / Disertacija

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:333768>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-25**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu  
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Božana Lončar Brzak

Globalni proteomski profil ekspresije i uloga  
proteina IGF2/IGF2R u patogenezi  
prekanceroznih lezija usne šupljine

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2015.



University of Zagreb  
SCHOOL OF DENTAL MEDICINE

Božana Lončar Brzak

Global protein expression and role of  
proteins IGF2/IGF2R in the pathogenesis  
of oral precancerous lesions

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2015.



Sveučilište u Zagrebu  
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Božana Lončar Brzak

Globalni proteomski profil ekspresije i uloga  
proteina IGF2/IGF2R u patogenezi  
prekanceroznih lezija usne šupljine

DOKTORSKI RAD

Mentori:

prof.dr.sc. Marinka Mravak Stipetić  
prof.dr.sc. Sandra Kraljević Pavelić

Zagreb, 2015.



University of Zagreb  
SCHOOL OF DENTAL MEDICINE

Božana Lončar Brzak

Global protein expression and role of  
proteins IGF2/IGF2R in the pathogenesis  
of oral precancerous lesions

DOCTORAL THESIS

Supervisors:  
prof.dr.sc. Marinka Mravak Stipetić  
prof.dr.sc. Sandra Kraljević Pavelić

Zagreb, 2015.

Mentorice na radu:

1. Mentorica:

prof. dr. sc. Marinka Mravak-Stipetić,  
Zavod za oralnu medicinu  
Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

2. Mentorica:

prof. dr. sc. Sandra Kraljević Pavelić,  
Odjel za biotehnologiju  
Sveučilište u Rijeci

Lektorica hrvatskog jezika: Tomislava Marinković, prof. hrvatskog jezika i književnosti,  
Vankina 15, Zagreb

Lektorica engleskog jezika: Lidija Štefić, mr.sc lingvistike, prof. engleskog i talijanskog  
jezika, Poljanička 8, Zagreb

Rad sadrži 146 stranica, 23 tablice, 10 slika i 210 literaturnih citata.

*Hvala mojim mentoricama, prof.dr.sc.Marinki Mravak Stipetić i prof.dr.sc.Sandri Kraljević Pavelić, na uloženom vremenu, pomoći i korisnim savjetima prilikom izrade doktorske disertacije.*

*Hvala mojoj obitelji i prijateljima na razumijevanju, ljubavi i potpori prilikom pisanja ovog rada.*

*Disertaciju posvećujem svom pokojnom ocu, Berislavu Lončaru, dr.med., spec.psih.*

## **SAŽETAK**

### **Uvod**

Zadnje desetljeće u istraživanju tumorskih biomarkera obilježile su globalne metode analize (genomika, transkriptomika i proteomika) s ciljem pronalaska novih čimbenika uključenih u zloćudnu preobrazbu stanica.

### **Cilj**

U ovom istraživanju provedeno je proteomsko profiliranje tkiva oralne sluznice pacijenata s potencijalno zloćudnim (oralni lihen planus) i zloćudnim promjenama oralne sluznice (karcinom pločastih stanica glave i vrata) te bez promjena na oralnoj sluznici, kako bi se istražili novi potencijalni biomarkeri koji bi poboljšali ranu dijagnostiku i terapiju potencijalno zloćudnih i zloćudnih lezija.

### **Materijali i metode**

Za analizu proteoma u istraživanim lezijama korištena je metoda masene spektrometrije, a pojedini markeri validirani su metodom Western blot. Nadalje, s obzirom kako je poznato da inzulinu slični čimbenici rasta i njihovi receptori igraju važnu ulogu u rastu normalnih somatskih stanica, ciljano su istraženi status ekspresije proteina inzulinu sličnih čimbenika rasta 2 i njegovog receptora, IGF2/IGF2R, u istim uzorcima te uzorcima leukoplakija metodom imunohistokemije.

### **Rezultati i zaključak**

Analiza diferencijalno eksprimiranih proteina promjenama zahvaćenih tkiva u odnosu na kontrolna tkiva (nezahvaćena oralna sluznica istih pacijenata i zdrava oralna sluznica) ukazala je na ulogu proteina izvanstaničnog matriksa u razvoju oralnih lezija, osobito proteina lumikana u oralnom karcinomu usne šupljine. Većina diferencijalno eksprimiranih proteina u promijenjenoj sluznici pacijenata s lihenom uključena je u citoskeletne promjene, keratinizaciju, morfogenezu i staničnu signalizaciju.

Imunohistokemijska analiza izraženosti IGF2 i IGF2R pokazalo je značajnu razliku u postotku ekspresije IGF2 i intenzitetu ekspresije IGF2R u populaciji zdravih u odnosu na pacijente s lihenom, leukoplakijom i karcinomom glave i vrata.

Ključne riječi: imunohistokemija, masena spektrometrija, zloćudni potencijal, globalni proteomski profil, molekularni marker, inzulinu slični čimbenici rasta



## **SUMMARY**

Global protein expression and role of proteins IGF2/IGF2R in the pathogenesis of oral precancerous lesions

### **Introduction**

Global analysis methods (genomics, transcriptomics and proteomics) have marked the last decade, trying to identify new factors involved in malignant cell transformation.

### **Aim**

A proteomic profiling of oral mucosa tissue of patients with potentially malignant (oral lichen planus) or malignant oral lesions (squamous cell carcinoma) and patients without oral changes has been conducted to explore new potential biomarkers which would enhance making of an early diagnosis and treatment of potentially malignant and malignant lesions.

### **Materials and methods**

Proteomic analysis of these lesions was made using mass spectrometry, and some markers identified by mass spectrometry were validated by Western blotting. Furthermore, since insulin-like growth factors and their receptors are thought to play an important role in the growth of normal somatic cells, the expression status of the insulin-like growth factor 2 and its receptor, IGF2/IGF2R, have been explored in the same type of lesions and also in specimens of oral leukoplakia, using immunohistochemistry.

### **Results and conclusion**

The analysis of differentially expressed proteins in changed tissues compared to control tissues (oral mucosa without changes of the same patient and healthy tissue) pointed to a crucial role of extracellular matrix proteins in development of oral lesions, especially an important role for lumican in oral cancer. Most of the differentially expressed proteins in altered mucosa of patients with oral lichen planus have been included in cytoskeletal changes, keratinization, morphogenesis and cell signaling.

Immunohistochemical analysis of IGF2 and IGF2R expression has determined a significant difference in expression percentage of IGF2 and the expression intensity of IGF2R in a population of healthy patients compared to the patients with lesions of oral lichen planus, leukoplakia and head and neck carcinoma.

Key words: immunohistochemistry, mass spectrometry, malignant potential, global proteome expression, molecular marker, insulin-like growth factors

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1. Biologija tumora.....	2
1.2. Prekancerozne lezije.....	3
1.2.1. Oralni lihen planus .....	4
1.2.2. Oralna leukoplakija.....	5
1.3. Karcinom usne šupljine i ždrijela.....	6
1.4. Molekularni biljezi zloćudne preobrazbe .....	8
1.5. Proteomska istraživanja.....	13
1.5.1. Personalizirani pristup pacijentu .....	15
<b>2. SVRHA ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>16</b>
<b>3. ISPITANICI I POSTUPCI .....</b>	<b>18</b>
3.1. Ispitanici .....	19
3.2. Uzimanje biopsijskih uzoraka .....	20
3.3. Imunohistokemijska analiza biopsijskih uzoraka.....	21
3.4. Poliakrilamidna gel-elektroforeza .....	22
3.5. Digestija proteina u gelu.....	24
3.6. Analiza i identifikacija proteina uz pomoć masene spektrometrije .....	24
3.6.1. Nano – LC – MS/MS analiza .....	25
3.6.2. Analiza podataka .....	25
3.7. Western blot .....	26
3.8. Statistička obrada podataka .....	27
<b>4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>28</b>
4.1. Imunohistokemijska analiza .....	29
4.2. Poliakrilamidna gel-elektroforeza .....	39
4.3. Masena spektrometrija .....	40
4.3.1. Rezultati masene spektrometrije promijenjene i nepromijenjene sluznice u svih pacijenata s dijagnosticiranim lihenom.....	41
4.3.2. Rezultati masene spektrometrije promijenjene i nepromijenjene sluznice u svih pacijenata s dijagnosticiranim oralnim karcinomom pločastih stanica.....	44

4.3.3.	Rezultati masene spektrometrije nepromijenjene sluznice svih pacijenata s lihenom u usporedbi s nepromijenjenom sluznicom svih pacijenata s karcinomom .....	49
4.3.4.	Rezultati masene spektrometrije uzoraka sluznice pacijenata bez promjena na sluznici u usporedbi s uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom i oralnim karcinomom pločastih stanica .....	58
4.3.5.	Rezultati masene spektrometrije pacijenata uzoraka promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom usne šupljine u usporedbi s uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s oralnim lihenom.....	62
4.4.	Analiza biomarkera izvanstaničnog matriksa.....	69
<b>5.</b>	<b>RASPRAVA .....</b>	<b>72</b>
5.1.	Imunohistokemijska ekspresija inzulinu-sličnih čimbenika rasta .....	73
5.2.	Proteomska analiza oralnog lihena i karcinoma.....	75
<b>6.</b>	<b>ZAKLJUČCI.....</b>	<b>87</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURA.....</b>	<b>90</b>
<b>8.</b>	<b>PRILOZI.....</b>	<b>107</b>
<b>9.</b>	<b>ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>143</b>



## 1.1. Biologija tumora

Klasična definicija nastanka tumorskih stanica (tumorigeneze) govori o promjenama fenotipa normalnih stanica kroz seriju mutacija i promjene aktivnosti onkogenih i tumor-supresorskih gena. Svaka nova mutacija u ovakvom modelu vodi u pretjerani rast stanice i nastanak monoklonalne populacije stanica raka pri čemu je svaka od tih mutacija odgovorna za određeno svojstvo stanice raka poput primjerice invazivnosti, metastatskog potencijala i otpornosti na lijekove (1). Dosada se zna da promjene na genetskom nivou stanice koje dovode do nastanka karcinoma ne podrazumijevaju samo jednu mutaciju, već niz genetskih mutacija (2). Taj mehanizam naziva se tzv. višestupanjska karcinogeneza (engl. multi-step carcinogenesis). Točan broj mutacija nije poznat, no procjenjuje se da se radi o tri do 12 mutacija, ovisno o tipu karcinoma, a u tkivima koja se ubrzano dijele njihov broj je i veći (3). Većinu štete prouzročene somatskim mutacijama popravljaju DNA reparatorni mehanizmi, no mutacijama protoonkogenih i tumor-supresorskih gena (2, 3), epigenetskim događajima (metilacija DNA, deacetilacija histona) (4, 5), gubitkom alela na regijama kromosoma te promjenama u sintezi i aktivnosti različitih čimbenika rasta, citokina, proteina uključenih u angiogenezu, imunološki odgovor, staničnu adheziju i regulaciju homeostaze normalnih stanica (6) dolazi do zloćudne preobrazbe. Protoonkogeni kodiraju za proteine uključene u rast i diferencijaciju stanica; oni su fiziološki regulatori stanične proliferacije i diferencijacije. Potencijalni broj protoonkogenih uključenih u razvitak karcinoma pločastih stanica glave i vrata je veoma velik. Mutacijom protoonkogenih nastaju onkogeni koji imaju snažni mitogeni učinak i uzrokuju nezaustavljivu proliferaciju stanica. Tumor-supresorski geni (TSG) negativno reguliraju rast i diferencijaciju stanica. Mutacija tumor-supresorskih gena nastaje gubitkom heterozigotnosti (engl. LOH, loss of heterozygosity) kada obje kopije TSG-a postanu inaktivirane ili izgubljene i tada gen gubi svoju funkciju (6). Smatra se da nalaz LOH-a u potencijalno zloćudnim lezijama može biti rani pokazatelj pretvorbe dobroćudne u zloćudnu leziju (6).

Usprkos tomu što je ovaj model nastanka tumora ekstenzivno istraživano već desetljećima, mnoga pitanja o biologiji tumorskih stanica ostaju otvorena, osobito pitanje metastaziranja. Tako se sve više govori o modelu tzv. matičnih stanica raka, populacije stanica unutar tumora koje imaju sposobnost proliferacije, samo-obnavljanja i indukcije tumorigeneze (7). Tumori se stoga danas ne istražuju samo u kontekstu samog procesa tumorigeneze već se pokušavaju utvrditi prvotni čimbenici koji uzrokuju zloćudnu promjenu fenotipa stanice. Niz autora slaže se oko definicije tumora kao skupine bolesti koja je vezana uz promjene u staničnom metabolizmu

uslijed čega uz genetske promjene dolazi do reprogramiranja staničnog fenotipa i tumorigeneze (8–16). Naime, mnoga nova istraživanja sugeriraju da, u bilo kojem trenutku, i normalne netumorske stanice kao i one već visoko diferencirane tumorske stanice mogu poprimiti značajke matičnih stanica (pluripotentnost i proliferativnost) i da za to ne moraju biti odgovorne samo promjene u genetskim čimbenicima već i u brojnim uvjetima mikrookoliša koji utječu na stanični metabolizam (npr. hipoksija, gladovanje, upala, lijekovi). Određeni metaboliti su onkogeni sami po sebi (17–22) te potiču karcinogenezu indukcijom ekspresije gena koji su aktivni i u matičnim stanicama čime potom i sama stanica poprima takve osobine. Starenjem također dolazi do smanjenja razina određenih metabolita što može potaknuti mutacije koje dovode do tumorigeneze (geronkogena hipoteza) (23). Ovi rezultati negiraju raniju hipotezu nastanka tumora u skladu s kojom su za inicijaciju i širenje tumora odgovorne tumorske stanice koje od samog početka imaju značajke matičnih stanica, već ukazuju da je proces reverzibilan, odnosno da tumorske stanice mogu poprimiti ili izgubiti značajke matičnih stanica ovisno o genetskim promjenama ili pak promjenama u metaboličkim parametrima. Zahvaljujući ovim spoznajama pojavila se i nova disciplina u nastajanju, nutritivna genomika, koja proučava utjecaj prehrane na individualnu aktivnost gena te genetike na metabolizam nutrijenata. Takvo shvaćanje nastanka tumorskih stanica moglo bi u budućnosti pružiti više mogućnosti za prevenciju i ciljanu terapiju utjecajem na metaboličke parametre stanice ili pak genetskim modifikacijama (24). Osobito je u kontekstu prevencije tumora važno i pitanje otkrivanja dijelova tkiva u kojima tumorigeneza nije odmakla. Primjerice, takva su tkiva u kliničkoj praksi često poznata kao prekancerozne lezije za koje molekularni profili (genomski, proteomski i metabološki) još uvijek nisu u potpunosti poznati.

## **1.2. Prekancerozne lezije**

Stara klasifikacija prekanceroznih promjena prema Svjetskoj zdravstvenoj zajednici razlikovala je prekancerozne lezije i prekancerozna stanja. Pod pojmom prekancerozne lezije podrazumijevalo se morfološki promijenjeno tkivo u kojem postoji veći rizik za pojavu oralnog karcinoma nego u susjednoj nepromijenjenoj sluznici, a tu se ubrajala leukoplakija, eritroplakija i nepčane lezije nastale pušenjem cigareta i cigara (engl. reverse smokers). Pod pojmom prekancerozna stanja podrazumijevalo se generalizirano stanje koje nosi veći rizik za pojavu karcinoma, što obuhvaća submukoznu fibrozu, aktiničnu keratozu, lihen planus te diskoidni lupus (25). Smatralo se da se kod pacijenata s prekanceroznim lezijama karcinom javlja na mjestu pro-

mjene, dok se kod pacijenata s prekanceroznim stanjima može javiti bilo gdje. 2002. godine Thompson (26), a potom 2005. godine i Bremmer i suradnici (27) dokazali su da se i u nepromijenjenoj oralnoj sluznici pacijenata s prekanceroznim lezijama može dokazati displazija ili molekularne promjene te da se karcinom može razviti iz naizgled zdrave sluznice. To je naglasilo važnost kontrole ovih pacijenata te otkrivanja parametara koji bi na molekularnoj razini mogli ukazati na mogućnost zloćudne promjene.

Na radionici Svjetske zdravstvene zajednice 2005. g. predloženo je da se umjesto podjele na prekancerozne lezije i prekancerozna stanja koristi termin «potencijalno zloćudni poremećaji» za sve kliničke promjene koje nose povećani rizik od karcinoma. Također je rečeno da su potencijalno zloćudni poremećaji oralne sluznice indikatori rizika za pojavu karcinoma i na drugim mjestima oralne sluznice (28). U potencijalno zloćudne poremećaje usne šupljine ubrajaju se leukoplakija, eritroplakija, nepčane lezije nastale pušenjem cigareta i cigara, oralna submukozna fibroza, diskoidni eritematozni lupus, aktinična keratoza i oralni lihen planus (28). Najčešće oralne prekancerozne lezije u populaciji pacijenata Zavoda za oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta u Zagrebu su oralni lihen planus i leukoplakija (29).

### **1.2.1. Oralni lihen planus**

Oralni lihen planus (OLP) je kronična imunološka upalna bolest sluznice i kože koja izgledom varira od keratotične (retikularni ili nalik plaku) do eritematozne i ulcerozne lezije. Najčešće pogađa osobe srednje životne dobi, češće žene nego muškarce (30, 31). Kožne lezije ima oko 15% bolesnika s OLP-om, a za razliku od lezija usne šupljine, obično su samo-ograničavajuće (30). Učestalost kožnog lihena planusa procjenjuje se na manje od 1% (30), za razliku od oralnog lihena planusa čija učestalost se kreće od 0,5-2,2% (30–32). Učestalost oralnog lihena planusa u populaciji naših pacijenata u razdoblju od 10 godina bila je 4,30%, pri čemu je retikularni oblik lihena bio najčešće zastupljen i to u pacijentica srednje životne dobi (29).

U usnoj šupljini OLP obično simetrično zahvaća obje strane obrazne sluznice te ga temeljem kliničke slike možemo razvrstati u nekoliko oblika (retikularni, plakozni, papularni, erozivni, ulcerozni, bulozni) (32, 33) pri čemu u istog bolesnika istovremeno možemo naći više oblika.

Etiopatogeneza OLP-a je složena. Dosadašnji podatci ukazuju da je to autoimuna bolest posredovana T-limfocitima u kojoj auto-citotoksični CD 8+ T-limfociti induciraju apoptozu oralnih epitelnih stanica (30, 34). Kao mogući čimbenici koji induciraju strukturne promjene

na površini keratinocita i tako djeluju kao promotori nastanka OLP-a spominju se genetski čimbenici, stomatološki materijali, lijekovi, infekcija, autoimune bolesti, kronična bolest jetra, šećerna bolest i povišeni krvni tlak te psihološki čimbenici. Trenutno važeći histopatološki kriteriji za OLP u literaturi su dobro dokumentirani (33, 35, 36).

Pojedini autori dovodili su u pitanje zloćudni potencijal oralnog lihena (37), no veći broj studija ipak je potvrdio takvu prirodu ovih lezija (36, 38–40) te se podatci o zloćudnom potencijalu lihena razlikuju ovisno o autorima i promatranoj populaciji. U usporednoj studiji hrvatskih i tajlandskih pacijenata s lihenom planusom pokazalo se da, usprkos razlikama u kliničkoj slici, obje populacije imaju nisku stopu zloćudne preobrazbe (41). Ismail i sur. 2007. g. naveli su da se ukupna učestalost zloćudne preobrazbe kreće od 0-5,3% (33). Neki literaturni podatci navode da je rizik zloćudne preobrazbe veći u atrofičnih, erozivnih i ulceroznih lezija (33, 40) dok drugi negiraju povezanost s kliničkim oblikom lihena (36, 42). U naših pacijenata s dijagnozom oralnog lihena planusa tijekom razdoblja od deset godina nije zamijećen niti jedan slučaj zloćudne preobrazbe (29), ali smo nakon završetka promatranog perioda imali nekoliko slučajeva zloćudne preobrazbe lihena koje potvrđuju potencijalno zloćudnu prirodu ovih lezija.

### **1.2.2. Oralna leukoplakija**

Leukoplakija je najčešća potencijalno zloćudna lezija sluznice usne šupljine (43). U općoj populaciji njena prevalencija iznosi 1-2% (44). Javlja se obično u muškaraca srednje i starije dobi, a prevalencija joj raste s godinama (45). Svjetska zdravstvena organizacija definira ju kao «bijelu mrlju čija se klinička ili histopatološka obilježja ne mogu pripisati ni jednoj drugoj bolesti» (28, 46–48). Dijagnoza leukoplakije postavlja se nakon identifikacije i, ako je to moguće, eliminacije suspektnih etioloških čimbenika i, u slučaju perzistentnih lezija, histopatološke potvrde dijagnoze (28, 43, 45). Dobročudni oblici leukoplakije histopatološkom analizom pokazuju različit stupanj hiperkeratoze (28, 49).

Klinički razlikujemo homogenu i nehomogenu leukoplakiju. Homogena leukoplakija je dobro ograničena bijela mrlja, glatke, naborane ili namreškane površine. Nehomogena leukoplakija je promjena nodularne odnosno mrljaste crveno-bijele površine, povezana s višom stopom zloćudne preobrazbe.

Proliferativna verukozna leukoplakija je opsežni papilarni ili verukoidni bijeli plak s vrlo visokom stopom prelaska u displaziju, rak pločastih stanica ili verukozni rak (28, 45, 50).



Svaka leukoplakija nosi rizik zloćudne preobrazbe koji ovisi o histopatološkom i kliničkom izgledu, a kreće se od 4-6% (50). Zanimljiv i zabrinjavajući je podatak da je, iako leukoplakija češće pogađa muškarce, zloćudna preobrazba češća u žena, a također je češća u nepušača, iako je poznat karcinogeni učinak duhana (45, 51). Reibel je 2003. godine naveo da se učestalost zloćudne preobrazbe leukoplakije kreće od 0,13-17,5%, ovisno o promatranoj populaciji (52). Petti (44) je izračunao da globalna stopa zloćudne preobrazbe oralne leukoplakije iznosi 1,36% godišnje, odnosno u prosjeku 5% u razdoblju praćenja od 5 godina (49). U populaciji naših pacijenata u razdoblju od deset godina prevalencija leukoplakije bila je 1,11% pri čemu je u gotovo 13% pronađena displazija na primarnoj biopsiji (29). Stopa zloćudne preobrazbe tijekom perioda od deset godina u pacijenata s leukoplakijom bila je 0,64% (29).

### **1.3. Karcinom usne šupljine i ždrijela**

Karcinom usne šupljine i ždrijela je jedan od šest najučestalijih karcinoma u svijetu te sedmi po učestalosti u EU (53, 54). U više od 90% slučajeva radi se o karcinomu pločastih stanica čija incidencija pokazuje veliku geografsku varijabilnost, a obično se javlja u osoba starijih od 50 godina (45, 54). Najčešća lokalizacija karcinoma usne šupljine u Europi i SAD-u, u čak 40-50% slučajeva, jest jezik, dok je među azijskom populacijom to obrazna sluznica, zahvaljujući navici žvakanja duhana ili lišća betela. Ostale intraoralne lokalizacije uključuju dno usne šupljine, gingivu, obraznu sluznicu, usnice i nepce (45, 54). Za određivanje uznapređovalosti oralnog karcinoma u kliničkom radu najviše se upotrebljava TNM klasifikacija koja za kriterije uzima veličinu tumora u centrimetrima (T), prisutnost regionalnih metastaza u limfnim čvorovima (N) i prisutnost udaljenih metastaza (M), čime se vrši stupnjevanje oralnog karcinoma u stadije (stadij 1-4) (55).

Petogodišnje preživljenje za tumore u ranom stadiju (1 ili 2) iznosi oko 80%, za razliku od uznapređovalih stadija (3 ili 4) gdje iznosi oko 30% (56). Istraživanje Doshi Neena i sur. (55) pokazalo je da trećina oralnih karcinoma pločastih stanica otkrivenima u ranim stadijima (T1, T2) ima lošu prognozu usprkos maloj veličini tumora. U većini zemalja petogodišnja stopa preživljavanja oboljelih od karcinoma jezika, usne šupljine i orofarinksa kreće se oko 50% (45, 54, 57, 58), no zahvaljujući dijagnostičkom i terapijskom napretku, početkom 21. stoljeća dolazi do statistički značajnog poboljšanja te petogodišnja stopa preživljavanja iznosi 65% (59). Najveći napredak primijećen je u pacijenata s dijagnozom tonzilarnog karcinoma i karcinoma jezika (59). Iznimku čini karcinom usnice za kojeg petogodišnje preživljenje iznosi 95% (45).

Što se zastupljenosti spola tiče, rak usne šupljine i ždrijela gotovo je dvostruko češći u muškaraca, iako je taj omjer u opadanju (45, 54). Rizični čimbenici za nastanak raka usne šupljine uključuju ponajprije upotrebu duhana i konzumaciju alkohola koji zajedno imaju i sinergistički učinak (54, 60), a navode se i izlaganje UV-svjetlu (za rak donje usnice), neadekvatna prehrana, imunosupresija te niži socio-ekonomski status, i to neovisno o navikama pojedinca, dok u pojedinim slučajevima ne nalazimo niti jedan poznati rizični čimbenik (53, 60).

Nastanku raka usne šupljine i ždrijela obično prethodi postojanje crvenih, bijelih ili crvenobijelih lezija na sluznici (6, 45). Površina lezije može biti glatka, zrnata, gruba ili prekrivena krastom, ulcerirana ili neulcerirana, ili na njoj mogu postojati izrasline (6, 45). Rak usne šupljine i ždrijela u početku su asimptomatični zbog čega se obično otkrivaju u uznapredovalom stadiju (45). Najrizičnije lokalizacije za pojavu intraoralnog karcinoma jesu jezik i dno usne šupljine, što možemo protumačiti time što su prekriveni tanjom, više propusnom sluznicom i okupani slinom koja dovodi karcinogene spojeve u ta područja (45). Novije studije pokazuju da postoje statistički značajne razlike u lokalizaciji karcinoma usne šupljine između pušača i nepušača; naime, u pušača su rizične lokalizacije rubovi jezika, dno usne šupljine i retromolarni trokut, dok su u nepušača područje najvećeg rizika rubovi jezika. U nepušača, karcinomi na rubovima jezika u usporedbi s karcinomima na dnu usne šupljine bili su čak šesterostruko češći. S obzirom da su rubovi jezika izloženiji mehaničkoj iritaciji i traumi od zuba ili protetskih radova, ovaj nalaz upućuje da bi trauma mogla biti mogući etiološki čimbenik u ljudi bez ostalih poznatih etioloških čimbenika (61) .

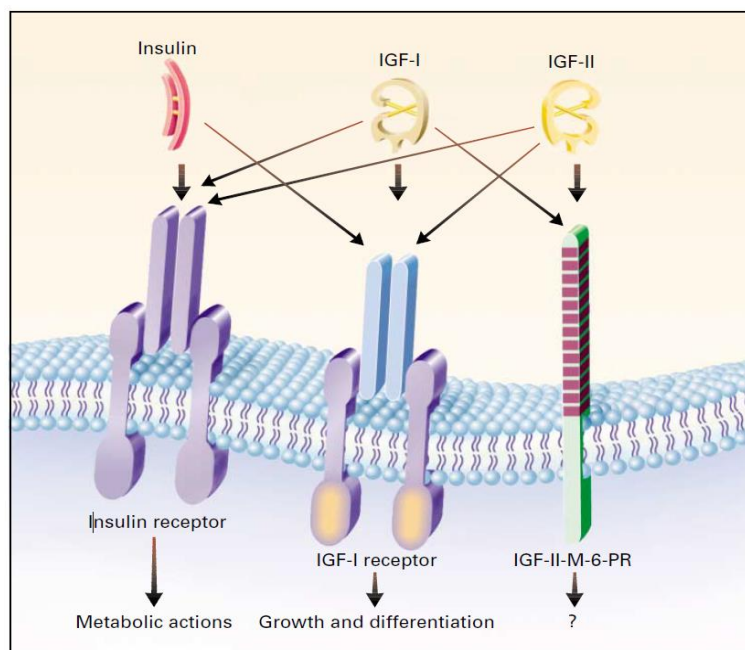
Karcinom ždrijela obično se javlja u području mekog nepca i tonzilarnoj regiji ili na bazi jezika (45). Najčešći simptomi zbog kojih pacijenti s karcinomom usne šupljine i ždrijela traže pomoć su otežano gutanje (disfagija), odbojnost prema jelu (odinofagija), bol u uhu (otalgija), ograničena pokretljivost jezika i čeljusti i krvarenje u usnoj šupljini (6, 45).

Dosad poznati rizični čimbenici, pa čak ni patohistološki nalaz tkiva nisu se pokazali dovoljno pouzdanima u predviđanju lezija koje bi mogle postati zloćudne (62), stoga se ispituju različiti molekularni biljezi u tkivu ili tkivnim tekućinama (krv, slina) koji bi mogli predvidjeti rizik zloćudne preobrazbe i biološka svojstva tumora s većom sigurnošću.

#### 1.4. Molekularni biljezi zloćudne preobrazbe

Bitan korak u nastanku potencijalno zloćudnih i zloćudnih lezija je poremećaj u prijenosu signala u stanici i poremećaj čitavog molekularnog mehanizma koji ga nadzire (63). Čimbenici rasta su glavni prijenosnici signala za diobu stanica pri čemu se vežu na specifične receptore na staničnoj površini i prenose signal za rast do jezgre, nakon čega transkripcijski čimbenici aktiviraju skupine gena potrebne da stanica završi diobeni ciklus. Inzulinu slični čimbenici rasta (engl. insulin-like growth factor, IGF) i njihovi receptori zajedno sa svojim vezujućim proteinima (engl. insulin-like growth factor binding-protein, IGF BP) igraju važnu ulogu u rastu normalnih somatskih stanica (64).

Manoza 6-fosfat je receptor za inzulinu sličan čimbenik rasta 2 (M6P/IGF2R) i kodiran je genom na kromosomskoj regiji 6q25-27 za koju se smatra da sadrži tumor supresorske gene za područje glave i vrata (65). Kao snažni mitogeni, IGF1 i IGF2 potiču signalizaciju vezanjem za receptore tipa 1 za koje se smatra da su važan korak u transformiranju stanica (64, 65) (slika 1). Oba faktora IGF također se vezuju visokom afinitetom s vezujućim proteinom IGF BP te se tako prenose krvnim optokom i reguliraju raspoloživost IGF prema specifičnim receptorima.



**Slika 1.** Vezanje cirkulirajućih inzulinu-sličnih čimbenika rasta za različite receptore na ciljnim stanicama (preuzeto iz (66)).

Mutacija ili inaktivacija gena IGF2R ili promjena u ekspresiji proteina IGF2 i IGF2R opisana je kod više vrsta tumora (karcinoma jetra, endometrija, kolorektuma, prostate, dojke, pluća, laringealnog karcinoma i Wilmsovog tumora) (67). Također se pokazalo da različita izraženost IGF1R i IGF2R može doprinijeti povećanom riziku od zloćudne preobrazbe te agresivnijem obliku raka dojke u mladih afroameričkih žena (68) te da je gubitak heterozigotnosti za receptor IGF2R povezan s lošijom prognozom pacijenata s hepatocelularnim karcinomom koji su kirurški liječeni (69). Kaur i sur. (70) dokazali su da polimorfizam jednog nukleotida u genu za IGF2 može služiti kao marker za predviđanje rizika oralne karcinogeneze u osoba s navikom žvakanja duhana, u usporedbi sa zdravim pojedincima.

IGF2 se veže na receptor za inzulinu sličan čimbenik rasta 2 (IGF2R) koji je multifunkcionalni receptor uključen u niz staničnih mehanizama, a također se veže i na receptor IGF1R, potičući proliferativne signalne kaskade u stanicama. IGF2R u svom aktivnom stanju djeluje kao tumor supresorski protein jer je receptor IGF2R antagonist aktivnosti IGF2. Mutacija ili inaktivacija gena za receptor IGF2 u tumorskim sustavima ili promjena u ekspresiji istoimenog proteina očituje se:

- povećanim rastom tumorskih stanica (zbog izostanka degradacije IGF2 koji djeluje kao mitogen), povećanim metastatskim potencijalom (ne može se kontrolirati prekomjerna sekrecija prokatepsina), smanjenjem apoptoze (zbog nemogućnosti inaktivacije TGF $\beta$  i izostanka njegovog inhibitorynog efekta na staničnu proliferaciju)
- smanjenim odgovorom na radioterapiju (nemogućnost aktivacije TGF $\beta$  koji je medijator senzitivnosti na radioterapiju).

Također, ovaj receptor veže i plazminogen i receptor za aktivaciju plazminogena (engl. urokinase-type plasminogen activator receptor), dvije komponente fibrinolitičkog sustava koje su važne za migraciju stanica kroz tkiva i za angiogenezu, a mutacijom IGF2R preuzima ih tumor (71). Stanice s inaktiviranim receptorom imaju prekomjernu ekspresiju integrina  $\alpha$ V $\beta$ 3, što olakšava mobilnost i invazivnost stanica. Retinoična kiselina i njeni derivati retinoidi imaju različite uloge u stanici, a jedan od njih je i poticanje apoptoze čime djeluju tumorsupresorski/protektivno, no budući da se vežu za IGF2 receptor, u slučaju njegove mutacije taj njihov učinak izostaje.

Zloćudne stanice često imaju prekomjerno izražene inzulinu slične čimbenike rasta koje dostižu ili prelaze razinu ekspresije u klasičnim ciljnim inzulinskim organima, kao što je jetra ili masno tkivo (72, 73). U tumorskim stanicama funkcionalna specifičnost signalnog puta inzulina i inzulinu sličnih čimbenika rasta se mijenja zbog različitih mehanizama (74). Aberantna ekspresija IR-A

može biti medijator tumorske rezistencije na druge ciljane terapije, kao što je inhibitor receptora epidermalnog čimbenika rasta (EGFR), gefitinib (75) i mTOR inhibitori (76).

Mnoga klinička istraživanja s antitijelima koja blokiraju IGF-1 receptor pokazala su da je njihova aktivnost uglavnom skromna i samo je par zloćudnih promjena pokazalo objektivni odgovor (77). Neoplazme koje su odgovarale uključivale su 10% Ewingovog sarkoma i mali dio karcinoma pluća ne-pločastih stanica (engl. non-squamous cell lung carcinoma, NSCLC) (78, 79). Kombinirano cjepivo usmjereno protiv HER2/neu receptora, IGF1R i IGF1R pokazalo je dobre rezultate na miševima s preinvazivnim lezijama dojke, za razliku od cjepiva usmjerenih protiv pojedinačnih antigena (80).

Još jednu prikladnu strategiju predstavlja razvoj antitijela protiv IGF1 i IGF2. Ta antitijela imaju prednost da inhibiraju IGF signalne putove i preko IGF1R i preko IR-A. Ovaj pristup nije nov (81, 82), ali su tek nedavno dobiveni obećavajući inhibički rezultati na *in vivo* rastu tumora ovisnih o IGF-1 ili IGF-2 (83). U novije vrijeme sve je više studija koje se bave mogućnošću blokiranja inzulinske slične čimbenika rasta 1 kao alternative kemoprevenciji karcinoma. Singh i sur. (84) dobili su obećavajuće rezultate korištenjem inhibitora IGF-1, pasireotida, u pacijentica s prekanceroznim lezijama dojke. Primijetili su smanjenje fosforilacije IGF-1 receptora, izvanstaničnih kinaza ovisnih o signalu i protein kinaze B što je inhibiralo staničnu proliferaciju i potaknulo apoptozu. Jedina zamijećena nuspojava ove terapije bila je porast glukoze u krvi i niža razina inzulina, no uz pretpostavku da se mogu dobro kontrolirati, ova terapija predstavlja djelotvornu alternativu kemoprevenciji karcinoma dojke koja se daleko teže podnosi. Nedavno otkriće da oboje IR i IGF1R pripadaju obitelji tzv. receptora na koje možemo utjecati (engl. dependence receptors) obećava moguć razvoj inovativnih terapija (85).

Zavras i sur. (67) istraživali su mutaciju gena za IGF2R i zaključili da je povezana s povećanim rizikom od oralnog karcinoma pločastih stanica, a Jamieson i sur. (65) pokazali su da je gubitak heterozigotnosti gena za IGF2R povezan s lošijim prognostičkim pokazateljima tumora te lošijim odgovorom na radioterapiju kod pacijenata s karcinomom pločastih stanica glave i vrata.

Grbeša i sur. (86) utvrdili su gubitak otiskivanja (engl. loss of imprinting) IGF2 i H19 i gubitak heterozigotnosti gena za IGF2R i CTCF u karcinomu pločastih stanica ždrijela.

Polimorfizmi unutar gena koji kodiraju za proteine signalne osi IGF istraživani su u pacijenata s karcinomima probavnog sustava (ezofagealni karcinom, gastrointestinalni karcinom) i stanjima koja mu prethode (refluksni ezofagitis, Barrettov jednjak) te se pokazalo da pojedini oblici

polimorfizma povećavaju rizik od nastanka zloćudnih promjena probavnog sustava (87, 88). Zhi i sur. (89) istraživali su ekspresiju IGF2, IGF1, E2F3 i IGFBP3 u 41 pacijenta s karcinomom pločastih stanica glave i vrata i njihovom okolnom zdravom tkivu te su zaključili da nema promjene u ekspresiji IGF2, IGF1 i E3F3, no postoji promjena u IGFBP3 što ukazuje na moguću regulatornu ulogu IGF signala preko njegovog veznog proteina u ovom tipu tumora.

Do sada nije istražen status ekspresije IGF2 i IGF2R u oralnim potencijalno zloćudnim lezijama usne šupljine (65, 67, 86, 90) te je to jedan od ciljeva ovog istraživanja.

Uočavanje promjena na razini gena ili proteina ima veliki potencijal u ranoj dijagnostici i terapiji potencijalno zloćudnih i zloćudnih lezija. Proteomskim profiliranjem tkiva moguće je identificirati mnoštvo proteina u tkivu koji imaju različite biološke uloge te među njima odrediti potencijalne biomarkere za daljnju validaciju. Značajke proteomskog profila karcinoma mogu biti prisutne i u histološki normalnoj sluznici uz tumor te u sluznici udaljenoj od tumora čime takav nalaz može imati prognostičku ulogu u predviđanju rekurentne bolesti (91). Pretraživanjem literature našli smo rezultate nekoliko studija koje su analizirale proteomske profile različitih tipova karcinoma, pa tako i oralnog karcinoma pločastih stanica, no podataka o proteomskim profilima oralnih potencijalno zloćudnih promjena gotovo da i nema. Rezultati studije Wang i sur. (92) na temelju proteomske analize šest parova uzoraka oralne leukoplakije i oralnog karcinoma pločastih stanica koji su uzeti od istih pacijenata kako bi eliminirali heterogenost proteina, pokazali su 85 zajedničkih proteina čija ekspresija je bila promijenjena u svih 12 uzoraka. Na temelju tih rezultata istražili su ekspresiju tri homologa aktivatora proteosoma PA28 uz pomoć qPCR (reakcije lančane polimeraze u stvarnom vremenu) i Western blota. Što se tiče rezultata proteomskog profiliranja oralnog lihen planusa, nismo uspjeli pronaći takve rezultate u literaturi te smo odlučili da i to bude jedan od ciljeva našeg istraživanja.

Danas se zna da je ključni događaj u razvoju tumora epitelno-mezenhimalna tranzicija (EMT), biološki proces koji omogućuje epitelnim stanicama da poprime značajke mezenhimalnih stanica pomoću čega dolazi do širenja tumorskih stanica (93). U kontekstu različitih vrsta tumora istražuje se velik broj potencijalnih biomarkera EMT koji imaju različite funkcije unutar stanice, na staničnoj membrani ili u izvanstaničnom matriksu. Izvanstanični matriks sastoji se od proteoglikana, glikoproteina i vode, dok vlaknastu komponentu čine elastična i kolagena vlakna (94). Degradacija izvanstaničnog matriksa događa se pomoću specijaliziranih struktura koje se nazivaju invadopodijima ili pomoću matriksnih metaloproteinaza. Zanimljivo je da su nedavni rezultati iz literature pokazali da je formiranje invadopodija kontrolirano genom koji

kodira za protein-3 koji veže IGF2 mRNA (95). Naime, autori su utišavanjem navedenog gena inhibirali formiranje invadopodija, degradaciju ECM, rast i invazivnost oralnog karcinoma pločastih stanica (95). Proteini izvanstaničnog matriksa su mali proteoglikani bogati leucinom (engl. small leucine-rich proteoglycans, SLRP) koji imaju ulogu u regulaciji stanične proliferacije, diferencijacije, adhezije i migracije te su zbog toga ključni u biološkim procesima razvoja i obnove tkiva te metastaziranju stanica. Sudjeluju u unutarstaničnoj fosforilaciji koja je nužna u prijenosu staničnog odgovora te regulaciji različitih puteva reguliranih članovima koštanih morfogenskih proteina (engl. bone morphogenetic protein, BMP), transformirajućeg čimbenika rasta (engl. transforming growth factor, TGF), receptorima tirozin-kinaze i Toll-like receptora te receptorom inzulinu sličnog čimbenika rasta (96). Zbog važne uloge u procesu razvoja karcinoma, ova skupina proteina zanimljiva je u literaturi te se molekularnim metodama među njima pokušava otkriti biomarkere koji bi se mogli koristiti kao prediktori ponašanja tumora ili ciljna meta protutumorskog liječenja.

Rezultati iz literature koji se tiču karcinoma pločastih stanica glave i vrata pokazali su promjene u ekspresiji različitih proteina izvanstaničnog matriksa. Navodi se smanjena ekspresija proteina kao što su laminin 1, kolagen tipa IV (93), dekorin (97), dermatopontin (98) dok je za proteine kao što su fibronektin, laminin 5, kolagen tipa I i II (93), tenascin (99, 100), ECM1 protein (101) primijećena pojačana ekspresija u karcinomima pločastih stanica glave i vrata. Agrawal i sur. (94) proučavali su u uzorcima oralnog karcinoma pločastih stanica i promjene u kolagenim vlaknima izvanstaničnog matriksa te je u 25% pacijenata utvrđena limfocitna infiltracija, degradacija kolagenih vlakana te prisutnost metastaza u limfnim čvorovima dok je u 17% uzoraka utvrđena povećana količina kolagenih vlakana uz odlaganje gustog elastina što su autori povezali s manjom invazivnošću tumorskih stanica.

U literaturi smo pronašli samo nekoliko studija koje su istraživale ekspresiju proteina izvanstaničnog matriksa u oralnim potencijalno zloćudnim promjenama. Zhang i sur. (99) istraživali su ekspresiju tenascina u laringealnim lezijama leukoplakije, papiloma, karcinoma *in situ* te invazivnog karcinoma pločastih stanica. U lezijama leukoplakije i papiloma nije zamijećena ekspresija tenascina, za razliku od lezija karcinoma *in situ* i invazivnog karcinoma gdje je nađena statistički značajna razlika u ekspresiji tenascina. Zaključili su da se ekspresija tenascina može povezati s prisutnošću metastaza u limfnim čvorovima, no ne i s T stadijem ili histološkim stupnjem tumora. Ekspresija dekorina, također jednog od proteina izvanstaničnog matriksa, istraživana je u lezijama leukoplakije, oralne submukozne fibroze i karcinoma pločastih stanica te su rezultati pokazali ekspresiju dekorina u 74 % oralnih potencijalno zloćudnih lezija, 51%

oralnih karcinoma pločastih stanica i 56% kontrolnih zdravih sluznica (97). Autori su zaključili da smanjena ekspresija dekorina korelira s lošijim preživljenjem od ovog oblika karcinoma. Za razliku od ovih autora, Banerjee i sur. (102) pronašli su aberantnu ekspresiju i lokalizaciju dekorina i u displastičnim oralnim potencijalno zloćudnim promjenama i u oralnom karcinomu pločastih stanica.

Gu i sur. (101) istraživali su ekspresiju proteina ECM1 u benignim laringealnim lezijama, laringealnoj leukoplakiji i karcinomu pločastih stanica larinksa te su pokazali da ekspresija ECM1 raste od benignih laringealnih lezija, preko leukoplakije do laringealnog karcinoma pločastih stanica te ju se može povezati s pojavom, razvojem i metastaziranjem ovog tipa karcinoma.

Pretraživanjem literature pronašli smo samo jedan rad u kojem je istraživana promjena u ekspresiji laminina 1, laminina 5 i kolagena tipa IV u lezijama oralnog lihen, uz lezije leukoplakije te invazivnog i *in situ* karcinoma pločastih stanica (103). Autori su pomoću imunohistokemije pronašli diskontinuiranu i isprekidanu ekspresiju navedenih proteina u invazivnom karcinomu, za razliku od karcinoma *in situ* i potencijalno zloćudnih lezija lihen i leukoplakije gdje nije bilo promjena u njihovoj ekspresiji.

## 1.5. Proteomska istraživanja

Proteom je skup svih proteina unutar organela, stanice ili organizma (104) odnosno skup svih proteina i proteinskih oblika koje organizam proizvodi tijekom života. Sam naziv nastao je 1994. g. iz izraza „*Protein srodan genomu*“ (105).

Približan broj gena čovjeka procjenjuje se na oko 30000, a čitav proteom čovjeka obuhvaća više milijuna vrsta proteina koji se mogu mijenjati u interakciji s okolišem, primjerice različitim poslijetranslacijskim modifikacijama poput fosforilacije ili glikozilacije i čija se funkcija značajno mijenja s obzirom na lokalizaciju. Za razliku od statičnog genoma, proteom je dinamičan sustav s obzirom da se razina ekspresije proteina i njihov kemijski sastav mijenjaju ovisno o potrebama organizma (106). Osnovna razlika između proteomike i klasičnih molekularnih metoda analize proteina je u tome što se proteomika temelji na globalnoj analizi svih proteina unutar sustava odjednom, a ne na analizi pojedinačnih proteina (107).



Osnovni metodološki pristup tijekom proteomske analize čini niz postupaka (108):

- (i) razdvajanje proteinskih smjesa (iz kultura stanica, tkiva ili organizma) (za što se obično koristi jednodimenzionalna ili dvodimenzionalna poliakrilamidna elektroforeza ili pak tekućinska kromatografija) u svrhu otkrivanja proteomskog ekspresijskog profila
- (ii) kvalitativna i kvantitativna analiza ekspresijskog proteomskog profila, identifikacija i karakterizacija proteina (najčešće masenom spektrometrijom)
- (iii) pohrana podataka i analiza uz pomoć bioinformatike

Prednost proteomike pred standardnim metodama analize proteina je u tome da može proučavati složena međudjelovanja velikog broja proteina, što do sada nije bilo moguće. Da bismo mogli identificirati što veći broj proteina u uzorku, potrebno ih je razdvojiti (109), za što se često koristi gel elektroforeza ili tekućinska kromatografija spregnuta s masenim spektrometrom. Identifikacija proteina provodi se u oba slučaja uz pomoć masenih spektrometara za što je potrebno prethodno provesti proteolitičku digestiju proteina, najčešće uz pomoć tripsina.

Stoga je jasno kako je upravo tehnološka baza za razvoj proteomike temeljena na novim metodama masene spektrometrije uz pomoć kojih se može provesti brza identifikacija proteina u analiziranom uzorku. Masena spektrometrija je tehnika kojom se određuje omjer mase i naboja ( $m/z$ ) iona u smjesi koja je u plinovitom stanju i u vakuumu, a istovremeno se određuje i broj iona unutar pojedine vrijednosti omjera  $m/z$ . Ovaj pristup se može koristiti i za određivanje sastava nepoznatog uzorka (kvalitativna analiza), određivanje količine određene tvari u uzorku (kvantitativna analiza) ili pojašnjavanje kemijske strukture molekula. Esencijalni dio masenog spektrometra je ionizator gdje ioni koje analiziramo zadobivaju naboj te se potom provode kroz analizador mase, koji razdvaja ione u prostoru i/ili vremenu. Detekcija iona vrši se na kraju analizatora, detektorom gdje se proizvodi električni signal koji se može registrirati na računalu. Danas razlikujemo različite analizatore masa unutar masenih spektrometara, primjerice analizatore TOF (engl. time of flight) ili ionske stupice (engl. iona trap). Rezultat analize je spektar masa koji se koristi kao osnova za identifikaciju proteina uz pomoć specijalnih bioinformatičkih alata koji automatizirano uspoređuju eksperimentalno dobivene spektre masa s onim teoretskim u bazama podataka (110–112). Rezultati dobiveni proteomskom analizom obično se potvrđuju standardnim imunohistokemijskim postupcima ili analizom Western blot.

### **1.5.1. Personalizirani pristup pacijentu**

Proteomika je samo jedna od globalnih tehnologija za sveobuhvatne analize bioloških uzoraka koja, uz ostale metode tzv. metode *-omike*, stremi idealu molekularne obrade svakog pacijenta zasebno prije dijagnoze i/ili terapije. Ovakav individualizirani pristup prema pacijentu predstavlja korjenitu promjenu u medicini gdje danas prevladava pojednostavljena obrada prema pacijenta i terapija bolesti. Metode *-omike* omogućuju razvoj individualiziranog pristupa i tzv. personalizirane medicine koja u prvi plan stavlja osobu s njezinim specifičnim molekularnim profilom. Na taj način postiglo bi se djelotvornije i jeftinije liječenje, a izbjeglo davanje nedjelotvornih lijekova ili lijekova koji će u pacijenta izazvati nuspojave (113–115).

S obzirom da može identificirati regulatorne proteine ili potencijalne mete za djelovanje nekog lijeka, proteomika može imati i važnu ulogu u procesu otkrivanja i dizajniranja novih lijekova i/ili mehanizama učinka lijeka na razini proteoma (116).

U ovoj disertaciji se stoga korištenjem metoda proteomike željelo vidjeti postoje li razlike između ekspresijskog profila pojedinih skupina uzoraka i koji su to proteini različito ekspimirani u odnosu na vrstu lezije ili kontrolna, promjenama nezahvaćena tkiva. Rezultati i zaključci proteomske analize validirani su Western blotom. Uz pomoć metoda imunohistokemije željeli smo ispitati postoji li promjena u ekspresiji proteina IGF2 i IGF2R u potencijalno zloćudnim i zloćudnim lezijama usne šupljine što bi potvrdilo ulogu ovih proteina u njihovu nastanku. Dobivene informacije mogle bi se upotrijebiti za predviđanje fenotipa stanica, odnosno prognozu pojedinih vrsta lezija.

## 2. SVRHA ISTRAŽIVANJA

Detaljna molekularna analiza ekspresije globalnog proteoma s posebnim naglaskom na osovinu IGF2 u prekanceroznim lezijama usne šupljine do sada nije rađena te je svrha ovog istraživanja:

1. Istražiti ekspresiju proteina IGF2 i IGF2R (lihena, leukoplakije, oralni karcinomi pločastih stanica, zdrava sluznica)
2. Istražiti proteomski profil ekspresije u lezijama (lihena, oralni karcinomi pločastih stanica, zdrava sluznica)

Usporedba proteomskog profila lihena provest će se u odnosu na kontrolne uzorke koje čine bolešću nezahvaćena tkiva i lezije raka pločastih stanica usne šupljine.

Očekuje se kako će rezultati istraživanja utvrditi postojanje i pronalazak novih molekularnih čimbenika važnih za patogenezu oralnih lezija.

### **3. ISPITANICI I POSTUPCI**

### 3.1. Ispitanici

U istraživanju su analizirani biopsijski uzorci ukupno 84 pacijenta, i to 24 pacijenta s oralnim lihenom planusom i 18 pacijenata s leukoplakijom koji se liječe na Zavodu za oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta u Zagrebu, 20 pacijenata s karcinomom pločastih stanica glave i vrata koji se liječe na Zavodu za maksilofacijalnu kirurgiju Kliničke bolnice Dubrava u Zagrebu i ukupno 22 ispitanika s klinički urednim nalazom oralne sluznice (uzorci 18 ispitanika s urednim nalazom oralne sluznice iz arhivskog materijala Zavoda za patologiju „Ljudevit Jurak“ KBC-a Sestre milosrdnice koje su činili pacijenti kojima je u periodu 2007.-2009. godine učinjena biopsija zbog promjene oralne sluznice bez dijagnosticiranog oralnog lihen planusa i karcinoma te uzorci tkiva četiri pacijentice bez promjena na sluznici koje su upućene na Zavod za oralnu kirurgiju radi alveotomije) (tablice 1 i 2). Pacijenti s karcinomom prije kirurškog zahvata nisu bili podvrgnuti bilo kakvom obliku protutumorske terapije koja bi mogla utjecati na rezultate analize.

**Tablica 1.** Popis ispitanika na čijim parafinskim preparatima je rađena imunohistokemijska analiza.

Dijagnoza	Broj ispitanika	Srednja dob	Spol (Ž-žene, M-muškarci)
Oralni lihen planus	24	55,3 ± 13,7 (26-81)	18 Ž, 6 M
Leukoplakija	18	59,1 ± 12,5 (37-84)	12 Ž, 6 M
Karcinom pločastih stanica glave i vrata	20	58,1 ± 9,6 (36-73)	2 Ž, 18 M
Zdrava sluznica	18	46,4 ± 7,3 (28-54)	9 Ž, 9 M

U tablici 2. je naveden popis uzoraka na kojima je rađena proteomska analiza. Pacijentima s lihenom i karcinomom tijekom redovne biopsije uzela se patološki promijenjena i kontrolna nepromijenjena sluznica u odložila u tekući dušik, dok se pacijenticama bez promjena na oralnoj sluznici uzela samo nepromijenjena sluznica, prilikom alveotomije, i također odložila u tekući dušik.

**Tablica 2.** Popis uzoraka na kojima je rađena proteomska analiza.

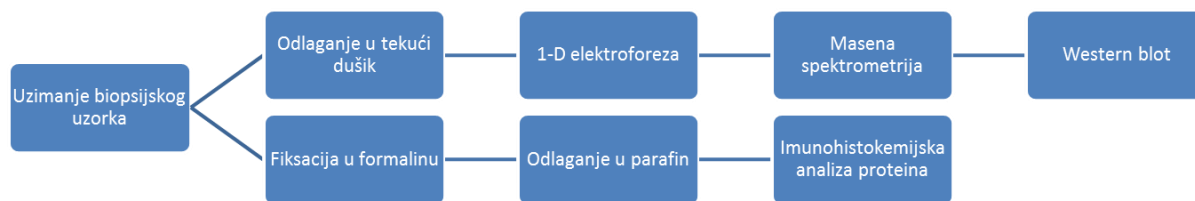
Dijagnoza	Broj ispitanika	Srednja dob	Spol (Ž-žene, M-muškarci)
Oralni lihen planus	3	70 (62-74)	Ž
Karcinom pločastih stanica glave i vrata	3	63 (60-68)	M
Zdrava sluznica	4	27.25 (22-38)	Ž

Pacijentima s oralnim lihenom, leukoplakijom i karcinomom pločastih stanica glave i vrata dijagnoza je postavljena na temelju kliničkih i histopatoloških kriterija. Istraživanje je odobreno od Etičkog povjerenstva Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Sudionici istraživanja dobili su informacije za sudionike u pisanom obliku te su potpisali informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju.

### 3.2. Uzimanje biopsijskih uzoraka

Dijelovi oralne sluznice s kojih su uzeti uzorci prethodno su anestetizirani s 1 ml otopine lokalnog anestetika (3% Mepivastein, ESPE, Germany), zarezani skalpelom ili punch-em, zahvaćeni kirurškom pincetom i odrezani zavnutim škarićama. Biopsijski uzorci za imunohistokemijsku analizu bili su u prosjeku veličine 4-5 mm<sup>2</sup> i dubine oko 2-3mm te su nakon uzimanja odloženi u 10% puferirani formalin i potom uklopljeni u parafinske blokove. Biopsijski uzorci za proteomsku analizu bili su u prosjeku veličine 4-5 mm<sup>2</sup> i dubine oko 2-3 mm te su nakon uzimanja odloženi u Eppendorf epruvete i stavljeni u bocu s tekućim dušikom, do početka proteomskih analiza.

Imunohistokemijska analiza ekspresije IGF2 i IGF2R rađena je na parafinskim blokovima ukupno 80 pacijenata, s dijagnozom lihena, leukoplakije, karcinoma pločastih stanica glave i vrata te zdrave sluznice. Nakon toga napravili smo proteomsku analizu na uzorcima tkiva iz tekućeg dušika pacijenata s dijagnozom lihena i karcinoma pločastih stanica glave i vrata te pacijenata bez promjena na sluznici, a potom smo napravili i dodatnu validaciju proteina lumikana i biglikana Western blotom na istim uzorcima (slika 2).



**Slika 2.** Tijek postupaka s uzorcima nakon uzimanja biopsije

### 3.3. Imunohistokemijska analiza biopsijskih uzoraka

Za imunohistokemijsku analizu korišten je kit EnVision Flex, High pH (Code K8010, Dako, Glostrup, Denmark). Analizirano je ukupno 80 uzoraka uklopljenih u parafinske blokove i potom narezanih mikrotomom na debljinu 5  $\mu\text{m}$ . Preparati su osušeni u termostatu na 60 °C kroz 60 minuta i potom uronjeni u spremnik PT Linka (Dako, Glostrup, Denmark). Dodana je otopina EnVision Flex Target Retrieval Solution (pH = 9, razrjeđenje 1:50, DM828, Code K8004, Dako, Glostrup, Denmark), te su uzorci zagrijani tijekom 20 minuta na 97 °C. Tako je provedena deparafinizacija, rehidracija i otkrivanje epitopa uz pomoć zagrijavanja. Potom je uslijedilo hlađenje uzoraka u PT Linku (Dako, Glostrup, Denmark) do 65 °C tijekom dva sata. Nakon hlađenja, uzorci su uronjeni u razrijeđeni EnVision FLEX Wash Buffer (1:20, Dako, Glostrup, Denmark) te ostavljeni na sobnoj temperaturi 15 minuta. Preparati su potom inkubirani u otopini s primarnim protutijelom u Autostaineru (Dako, Glostrup, Denmark), razrijeđenoj diluentom EnVision FLEX Antibody Diluent (DM830, Code K8006, Dako, Glostrup, Denmark) u različitim omjerima, ovisno o primarnom protutijelu. Za protutijelo IGF2 (ab 9574, Abcam, Velika Britanija) razrjeđenje je bilo 1:1000, a inkubacija je trajala 30 minuta na sobnoj temperaturi. Za protutijelo IGF2R (ab 32815, Abcam, Velika Britanija) razrjeđenje je bilo 1:1000, a inkubacija je također trajala 30 min na sobnoj temperaturi, ali se između primarnog i sekundarnog protutijela koristio EnVision Rabbit Linker (Code K8019, Dako, Glostrup, Denmark) kao pojačivač signala, kroz 15 min. Za vizualizaciju proteina rabljen je Dako EnVision FLEX detection system (Code 8010, Dako, Glostrup, Denmark), odnosno sustav automatiziranog bojenja u Autostaineru (Dako, Glostrup, Denmark). U otopini sa sekundarnim protutijelom korišten je Dako EnVision FLEX /HRP detection reagent (DM822, Dako, Glostrup, Denmark) koji sadrži peroksidazu. Najprije je dodan 3% vodikov-peroksid kroz 5 minuta pa je provedena inkubacija s kozjim sekundarnim protutijelom, kroz 30 minuta. Nakon toga uzorci su obrađeni sa supstratnom otopinom koja sadrži diaminobenzidin (DAB) (EnVision FLEX DAB+ Chromogen, DM827, Dako, Glostrup, Denmark) razrijeđenoj sa otopinom koja sadrži vodikov



peroksid (EnVision FLEX Substrate Buffer, DM823, Dako, Glostrup, Denmark) u mraku, kroz 10 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon oksidacije DAB stvara stabilan smeđi produkt na mjestu ciljnog antigena. Potom su uzorci isprani vodovodnom pa destiliranom vodom i kontrastno bojani hematoksilinom (EnVision FLEX Hematoxylin, Code K8018, Dako, Glostrup, Denmark) jednu minutu, da bi se obojale stanične jezgre. Nakon toga slijedilo je završno ispiranje vodovodnom zatim destiliranom vodom te završna dehidracija u nizu alkohola etanola (70%, 96% i 100%) i ksilola. Preparati su potom pokriveni sa sintetskom smolom New Entellanom (Merck, Darmstadt, Njemačka) i predmetnim stakalcem.

Za antitijelo IGF2 (ab 9574, Abcam, Cambridge, Velika Britanija) korištena je placenta kao pozitivna kontrola, negativna kontrola nije korištena. Za antitijelo IGF2R (ab 32815, Abcam, Cambridge, Velika Britanija) kao pozitivna kontrola korišten je zdravi srčani zalistak, negativna kontrola nije korištena. Imunohistokemijska reakcija na IGF2 određivana je prema metodi koju su opisali Steigen i sur. (117) dok je reakcija na IGF2R određivana prema metodi koju su opisali Berthe i sur. (118).

Za statističku analizu ispitanici su podijeljeni u skupine po spolu te u tri dobne skupine (do 30 godina, 40-45 godina i više od 45 godina). Za skupinu zdravih sluznica imali smo samo deskriptivnu dob iz arhivskih podataka pa nije bilo moguće povezati dobnu skupinu i vrijednosti mjerenja za pojedini protein.

### **3.4. Poliakrilamidna gel-elektroforeza**

U Eppendorf epruveti u 1,5 mL vode otopljena je jedna tableta koktela inhibitora proteaze (cOmplete ULTRA Tablets, Mini, EDTA-free, EASYpack, MadeinGermany, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Tkiva prethodno pohranjena u tekućem dušiku ručno su homogenizirana uz pomoć tekućeg dušika u tarioniku. U svaki uzorak dodani su inhibitori proteaza i SDS pufer za lizu tkiva (850  $\mu$ l pufera +150 inhibitora proteaza; 4% SDS, 125 mM tris pH 8.5, 40% glycerol, 100 mM DTT, 7 x inhibitori proteaza). Nakon toga su svi uzorci stavljeni u ultrazvučnu kupelj kako bi se pospješila liza, na jedan sat. Uzorci su centrifugirani pri 14000 rpm, 45 minuta, a zatim je dodan 1M jod-acetamid (Sigma-Aldrich, SAD) radi alkilacije. Kvantifikacija proteina provedena je uz pomoć fluorometrijske kvantifikacijske platforme Qubit-fluorometra (Qubit<sup>TM</sup> Fluorometer, Invitrogen<sup>TM</sup>, Life technologies<sup>TM</sup>; SAD), a rezultati su prikazani u tablici (tablica 3).

Za poliakrilamidnu-gel elektroforezu (SDS-PAGE) korišteno je 50 µg proteina po uzorku. Proteini su prije elektroforeze pročišćeni dodatkom četverostruke količine acetona ohlađenog na -20 °C. Tako pripremljeni uzorci stavljeni su da odstoje preko noći na -20 °C. Slijedeći dan je odstranjen aceton te je u proteinski pelet dodan pufer za nanošenje uzoraka na gel (Laemmli Sample Buffer, 1 M Tris HCl, 10% SDS, 100% glicerol, 2 M DTT, miliQ H<sub>2</sub>O) te su uzorci zagrijani na 95 ° 5 minuta. Potom su uzorci nanoseni u gel za jednodimenzionalnu elektroforezu (4% gel za razdvajanje; 12% gel za sabijanje), i to tako da je u prvu jažicu nanosena standardna otopina proteina (Biorad dual color protein standard, SAD; mješavina prethodno obojanih proteinskih standarda), a u ostale jažice svaki uzorak pojedinačno. Elektroforeza je tekla uz struju konstantnog napona 200 V, tijekom sat vremena. Za poliakrilamidnu gel-elektroforezu korišten je uređaj za elektroforezu BIO-RAD tetracell, SAD. Nakon toga membrana je slikana digitalnom kamerom Image Quant LAS 500 (GE Healthcare Bio-Sciences AB, Švedska).

**Tablica 3.** Rezultati kvantifikacije proteina prema Qubit-fluorometru.

Redni broj uzorka	Kvantificirana količina proteina (mg/mL)	Količina lizata i dodanog acetona
1.	1,8	27 µL lizata + 115 µL acetona
2.	3,53	14,16 µL lizata + 60 µL acetona
3.	3,01	16,6 µL lizata + 70 µL acetona
4.	4,84	10 µL lizata + 40 µL acetona
5.	19,80	2,52 µL lizata + 10 µL acetona
6.	34,1	1,46 µL lizata + 10 µL acetona
7.	14,5	3,44 µL lizata + 15 µL acetona
8.	48,1	1,03 µL lizata + 10 µL acetona
9.	29,8	1,6 µL lizata + 10 µL acetona
10.	2,25	22,2 µL lizata + 100 µL acetona
11.	2,36	21,18 µL lizata + 100 µL acetona
12.	1,95	25,6 µL lizata + 150 µL acetona
13.	3,17	15,77 µL lizata + 100 µL acetona
14.	2,87	17,42 µL lizata + 100 µL acetona
15.	1,86	26,88 µL lizata + 150 µL acetona
16.	2,96	16,9 µL lizata + 100 µL acetona

### **3.5. Digestija proteina u gelu**

Za identifikaciju diferencijalno eksprimiranih proteina, poliakrilamidni gelovi obojani su bojom Coomassie Brilliant Blue (Sigma-Aldrich, Njemačka). Slikanje gelova provedeno je digitalnom kamerom (ImageQuant LAS500, GE Healthcare Bio – Science AB, Švedska), a analiza diferencijalno eksprimiranih traka na gelu provedena je uz pomoć programa Quantity one (BIO – RAD). Diferencijalno eksprimirane trake su ručno izrezane uz pomoć skalpela i usitnjene na male komadiće te stavljene u epruvete od 2 mL (Eppendorf). Zatim se tri puta naizmjenično ponavljalo dodavanje otopine za hidrataciju komadića gela (100 mM amonij karbonat  $\text{NH}_4\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) 5 min uz trešnju i odbacivanja supernatanta te dodavanje otopine za dehidraciju komadića gela (50 mM  $\text{NH}_4\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 60% acetonitril ACN) 30 min uz trešnju i odbacivanje supernatanta. Komadići gela su potom posušeni do potpune suhoće u vakuumu te je nakon toga na njih dodana otopina za digestiju (10 ng/ $\mu\text{g}$  tripsin (Lonza, Švicarska), 50 mM  $\text{NH}_4\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 10% ACN). Komadići gela su rehidrirani 30 min na ledu te potom tijekom noći na  $+37^\circ\text{C}$ . Iz uzorka su idući dan vodeni ekstrakti peptida prebačeni u nove epruvete od 1.5 mL (Eppendorf), a na preostale komadiće gela je dodano 65% ACN (J. T. Baker, SAD)/ 5% octene kiseline (Kemika, Hrvatska) te su uzorci smiješani (Vortex), centrifugirani 30 minuta i sonicirani 5 minuta. Preostali supernatant je potom prebačen u epruvete od 1.5 mL (Eppendorf, Njemačka) sa ekstraktima peptida. Na komadiće gela se dodala voda nakon čega slijedi inkubacija 15 min te ponovno prebacivanje supernatanta u epruvete od 1.5 mL (Eppendorf). Korak s 65% ACN / 5% octene kiseline se ponavlja, te se nakon toga slijedi dodavanje 100% ACN i inkubiranje 20 min i ponovno prebacivanje supernatanta u epruvete od 1.5 mL. Ekstrahirane digeste se centrifugira i posuši u vakuumu kako bi se reducirao volumen. Ekstrakti su nakon redukcije volumena u vakuumu pohranjeni na  $-20^\circ\text{C}$ .

### **3.6. Analiza i identifikacija proteina uz pomoć masene spektrometrije**

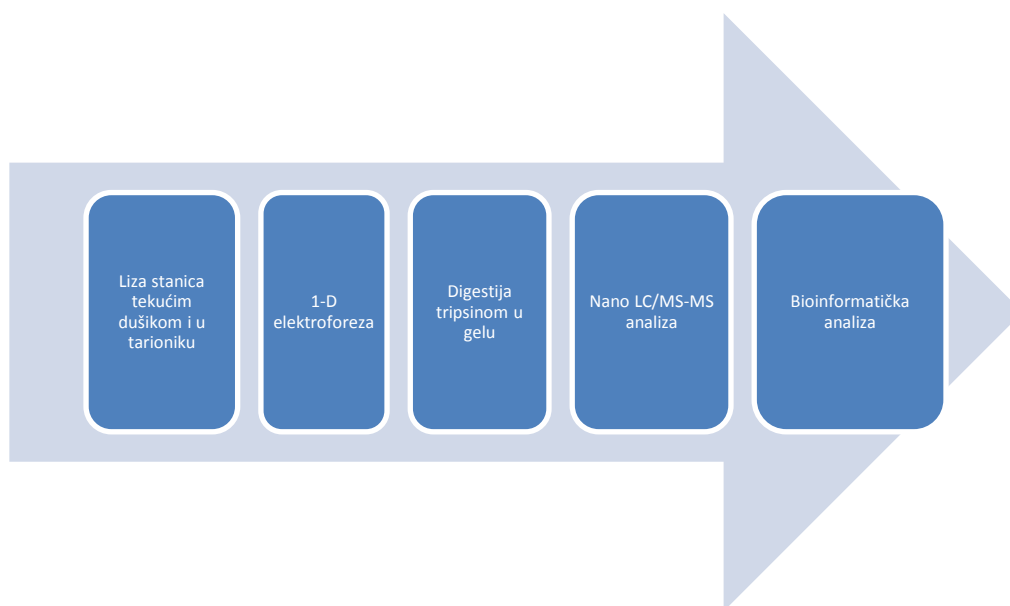
Identifikacija proteina u digestima provedena je uz pomoć masene spektrometrije u proteomskom centru „Proteomics Core, COBRE Center for Cancer Research Development“, Rhode Island Hospital, SAD.

### 3.6.1. Nano – LC – MS/MS analiza

Za separaciju triptičkih peptida prije masene spektrometrije koristila se kolona s punilom C18 (75  $\mu\text{m}$  x 12 cm; Orochem Technologies, Inc., Lombard, IL, SAD) sa integriranim sustavom za elektrosprej ionizaciju (10  $\mu\text{m}$  ESI emitter tip “Self-Pack” PicoFrit column; New Objective, Woburn, MA, SAD). Otapalo A je bilo 0,1 M octena kiselina u vodi, a otapalo B 0,1 M octena kiselina u ACN. Peptidi su eluirani u linearnom gradijentu (0-70% otapala B tijekom 60 minuta), pri 200 nL/min na uređaju HPLC (Agilent 1200 HPLC, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD). Identifikacija proteina provedena je na uređaju LTQ Velos Orbitrap Velos (Thermo Scientific, San Jose, CA, SAD) pri voltaži izvora ESI od 1,8 kV. Spektri masa dobiveni su u rasponu  $m/z$  od 300 – 1700, nakon čega je uslijedilo prikupljanje spektara nakon fragmentacije (MS/MS) za deset najzastupljenijih iona u ionskoj stupici LTQ. Samo ioni koji su imali naboj veći ili jednak 2 su uzeti u obzir za disocijaciju izazvanu kolizijom.

### 3.6.2. Analiza podataka

MS/MS spektri su pretraživani uz pomoć bazi podataka proteina UniProt uz pomoć algoritma Mascot v.2.3.2 (Matrix Science, SAD). Mascot pretraživanja su izvedena pri sljedećim parametrima: specifičnost enzima – tripsin, dva moguća propuštena cijepanja, tolerancija mase - 20 ppm, modifikacija – oksidacija na metioninu i statička izmjena karbamidometilacije na cisteinu. Kvantifikacija proteina je provedena uz pomoć programa ProteoIQ software v. 2.3.05 (BioInquire, Bogart, SAD). Podaci su filtrirani prema sljedećim strogim kriterijima: Mowse score > 64 za sva stanja naboja, najmanje dva peptida po proteinu, 1% stopa pogrešne identifikacije peptida i 1% stopa pogrešne identifikacije proteina. Tijek eksperimentalnih postupaka prikazan je na slici 3.



**Slika 3.** Tijek eksperimentalnih postupaka. Uzorci odloženi u tekući dušik su lizirani, proteini iz lizata su odvojeni 1-D elektroforezom te je nakon toga uslijedila digestija proteina u gelu tripsinom. Peptidi su nakon toga analizirani LC-MS/MS nakon čega su bioinformatički obrađeni.

### 3.7. Western blot

Nakon liziranja tkiva i kvantifikacije proteina, iz staničnih lizata za Western blotting pretaloženo je 50 µg proteina po uzorku u 100%-tnoj otopini acetona na -20 °C preko noći. Lizati odnosno proteini su razdvojeni uz pomoć okomite elektroforeze na poliakrilamidnom gelu (prema ranije opisanom protokolu). Nakon razdvajanja proteini su preneseni s gela na nitroceluloznu membranu (BIO-RAD, SAD) tako da se složio tzv. „sendvič“ (redosljed slojeva: crna spužvica, filter papir, gel, membrana, filter papir, crna spužvica) koji je ekvilibriran u puferu za transfer (25 mM Tris, 192 mM glycine, 20% (v/v) methanol (pH 8.3). Prijenos proteina s gela na membranu proveden je u sustavu za prijenos (BIO-RAD, SAD) uz konstantnu jakost struje od 200 mA 1.5 sat i miješanje na magnetskoj miješalici, a potvrda transfera proteina na membranu napravljena je bojom Amido-BlueBlack (Sigma-Aldrich, SAD). Zatim je uz pomoć korištenja otopine za odbojavanje (25% izopropanola, 10% octene kiseline; Kemika, Hrvatska) tri puta po pet minuta provedeno uklanjanje boje prije blokiranja membrane. Nakon odbojavanja membrana je isprana 2 puta po 15 minuta u puferu TBST (50 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7.5, 0.1% Tween-20; BIO-RAD, SAD). Nakon ispiranja membrane su blokirane u 4%-tnoj otopini nemasnog mlijeka u prahu (BIO-RAD, SAD) u puferu TBST jedan sat uz trešnju (Rocking

Platform, CAMLAB; England), na sobnoj temperaturi. Po završetku blokiranja membrane su preko noći inkubirane na +4 °C u otopini s primarnim protutijelima na željeni protein uz dodatak 1%-tne otopine albumina goveđeg seruma (Sigma-Aldrich, SAD) otopljene u TBST, uz vrtnju (Rotary shaker, J.P.SELECTA; Španjolska). Korištena su primarna protutijela usmjerena na lumikan (Anti Lumican antibody, ab 168348, Abcam, Velika Britanija, razrjeđenje 1:1000) i biglikan (Anti Byglican antibody, ab 109369, Abcam, Velika Britanija; razrjeđenje 1:1000).

Nakon inkubacije, membrane su isprane 4 puta po 15 minuta u TBST i inkubirane na sobnoj temperaturi jedan sat uz vrtnju sa sekundarnim protutijelom konjugiranim s perokidazom hrena (sc-2030, Goat anti rabbit IgG-HRP, SantaCruz Biotechnology; razrjeđenje 1:2000). Nakon inkubacije, membrane su ponovno isprane 4 puta po 15 minuta u TBST. Prije kemiluminiscencijske detekcije na membranu je stavljen 1 mL otopine luminola (Lumi Light Western Blotting Substrate, Roche; Francuska), kroz jednu minutu na sobnoj temperaturi. Nakon inkubacije, višak reagensa je uklonjen kratkim sušenjem filter papirom te je membrana stavljena između dvije folije da se ne posuši i istisnuti su mjehurići zraka. Potom je membrana slikana digitalnom kamerom Image Quant LAS 500 (GE Healthcare Bio-Sciences<sup>AB</sup>, Švedska).

### **3.8. Statistička obrada podataka**

Za statističku obradu podataka korišten je programski paket Medcalc (v 11.4, MedCalc Software, Belgium). Ovisno o potrebi korišteni su t-test, hi kvadrat test za trend, Fischerov egzaktni test, Spearmanov koeficijent korelacije te Mann-Whitneyev test, na razini značajnosti  $p < 0,05$ .

#### **4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA**

#### 4.1. Imunohistokemijska analiza

U tablici 4. prikazane su skupine biopsijskih uzoraka pacijenata na kojima je rađena imunohistokemijska analiza ekspresije IGF2 i IGF2R.

**Tablica 4.** Prikaz skupina biopsijskih uzoraka pacijenata na kojima je rađena imunohistokemijska analiza ekspresije IGF2 i IGF2R.

Dijagnoza	Broj pacijenata u skupini
Oralni lihen planus (OLP)	24
Leukoplakija (LPL)	18
Karcinom pločastih stanica glave i vrata (CA PL)	20
Zdrava sluznica (Z)	18

Imunohistokemijski nalaz za oba proteina kvantificiran je prema intenzitetu bojanja kao negativan (0), slabo (1), jako (2) i vrlo jako obojan (3) te prema postotku bojenja kao negativan (0), slabo pozitivan- obojenje manje od 10% stanica (1), umjereno pozitivan-obojenje 10-50 % stanica (2) i jako pozitivan- obojenje >50 % stanica (3). Rezultati su prikazani u tablici 5. a, b, c i d te na slici 4. Vrijednosti intenziteta i postotka ekspresije 2 i 3 tretirane su kao pozitivan rezultat, dok su vrijednosti intenziteta i postotka ekspresije 0 i 1 tretirane kao negativan rezultat, odnosno smatralo se da proteinski marker nije potvrđen.



a) **Tablica 5a.** Rezultati imunohistokemije uzoraka karcinoma pločastih stanica

Redni broj	Spol	Dob	IGF2 binarno	IGF2 %	IGF2 intenzitet	IGF2R binarno	IGF2R %	IGF2R intenzitet
1	M	36	0	1	1	1	3	3
2	M	43	1	1	2	0	2	1
3	M	46	0	2	1	0	3	1
4	M	46	0	2	1	1	3	2
5	M	54	1	2	2	1	3	3
6	M	55	1	2	2	1	3	3
7	M	55	0	2	1	1	3	3
8	M	58	0	2	1	1	3	2
9	M	58	0	1	1	1	3	2
10	M	59	0	0	0	1	3	3
11	M	60	0	2	1	1	3	2
12	M	60	0	1	1	1	2	2
13	M	61	0	3	1	1	3	3
14	M	63	0	1	1	0	2	1
15	M	63	0	1	1	1	3	3
16	Ž	63	0	1	1	1	3	3
17	M	67	0	1	1	1	3	3
18	M	68	1	3	2	1	3	3
19	M	73	0	3	1	1	3	3
20	Ž	73	0	3	1	0	2	1

**b) Tablica 5b.** Rezultati imunohistokemijske analize uzoraka leukoplakije

Redni broj	Spol	Dob	IGF2 binarno	IGF2 %	IGF2 intenzitet	IGF2R binarno	IGF2R %	IGF2R intenzitet
1	Ž	37	0	2	1	1	3	2
2	M	39	1	2	2	1	2	2
3	M	44	0	1	1	0	3	1
4	Ž	49	0	1	1	1	3	2
5	Ž	53	0	2	1	1	3	3
6	Ž	53	0	0	0	0	3	1
7	M	54	0	1	1	1	3	2
8	Ž	56	0	1	1	1	2	2
9	M	60	1	2	2	1	3	3
10	Ž	61	0	2	1	1	3	3
11	Ž	63	1	2	2	1	3	3
12	M	63	0	2	1	1	3	3
13	M	64	0	1	1	1	3	3
14	Ž	66	0	0	0	1	3	2
15	Ž	68	0	1	1	1	3	2
16	Ž	71	0	1	1	1	3	2
17	Ž	78	0	1	1	1	2	2
18	Ž	84	1	2	2	1	2	2

c) **Tablica 5c.** Rezultati imunohistokemijske analize uzoraka oralnog lihen planusa

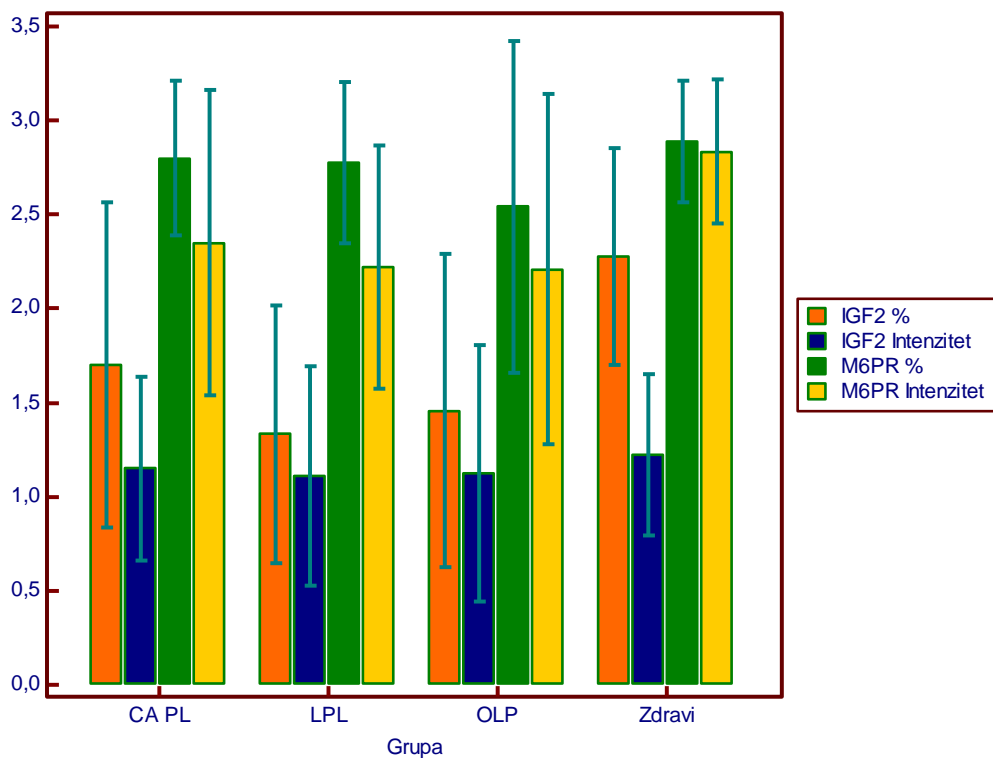
Redni broj	Spol	Dob	IGF2 binarno	IGF2 %	IGF2 intenzitet	IGF2R binarno	IGF2R %	IGF2R intenzitet
1	Ž	26	0	1	1	1	3	3
2	M	32	0	0	0	0	0	0
3	Ž	38	0	2	1	1	3	2
4	M	38	0	2	1	1	3	2
5	Ž	46	1	2	2	1	3	3
6	Ž	49	1	2	2	1	2	2
7	Ž	49	1	2	2	1	2	2
8	Ž	49	0	2	1	1	3	3
9	Ž	50	0	1	1	1	3	3
10	M	50	0	1	1	0	2	1
11	Ž	51	0	0	0	1	2	2
12	M	54	0	2	1	1	3	3
13	Ž	56	0	2	1	1	3	2
14	Ž	56	1	2	2	1	3	3
15	M	61	1	2	2	1	3	3
16	Ž	62	0	0	0	0	3	1
17	Ž	62	0	0	0	0	0	0
18	Ž	66	0	2	1	1	2	2
19	Ž	68	0	1	1	1	3	2
20	Ž	70	0	1	1	1	3	3
21	Ž	71	0	1	1	1	3	2
22	Ž	71	1	2	2	1	3	3
23	M	72	1	2	2	1	3	3
24	Ž	81	0	3	1	1	3	3

**d) Tablica 5d.** Rezultati imunohistokemijske analize uzoraka zdrave sluznice

Redni broj	Spol	Dob *	IGF2 binarno	IGF2 %	IGF2 intenzitet	IGF2R binarno	IGF2R %	IGF2R intenzitet
1	M	28	0	2	1	1	2	2
2	M	43	0	3	1	1	3	2
3	M	37	0	2	1	1	3	3
4	M	53	1	3	2	1	3	3
5	M	38	1	3	2	1	3	3
6	M	39	0	2	1	1	3	3
7	M	53	0	1	1	1	3	3
8	M	54	0	2	1	1	3	3
9	M	45	1	2	2	1	3	3
10	Ž	42	1	3	2	1	3	3
11	Ž	53	0	2	1	1	3	3
12	Ž	50	0	2	1	1	3	3
13	Ž	47	0	3	1	1	3	3
14	Ž	49	0	2	1	1	3	3
15	Ž	50	0	3	1	1	3	3
16	Ž	51	0	2	1	1	3	3
17	Ž	50	0	2	1	1	3	3
18	Ž	54	0	2	1	1	2	2

\* srednja dob  $46,4 \pm 7,3$  (raspon dobi 28-54)

Usporedba intenziteta i postotka ekspresije IGF2 i IGF2R unutar pojedine skupine uzoraka, pokazala je kako IGF2 obično ima manji intenzitet i na manjoj je površini (postotak ekspresije) u odnosu na IGF2R u svakoj skupini pacijenata (slika 4), što ispada statistički značajno prema Mann-Whitney testu (tablica 6).



**Slika 4.** Postotak i intenzitet ekspresije IGF2 i IGF2R (M6PR) unutar pojedine skupine uzoraka (CA PL-karcinom pločastih stanica glave i vrata, LPL-leukoplakija, OLP-oralni lihen planus).

**Tablica 6.** Usporedba postotka i intenziteta ekspresije IGF2 i IGF2R unutar pojedine skupine uzoraka (Mann-Whitneyev test).

	Ca PL	LPL	OLP	Zdravi
IGF postotak u usporedbi s IGF2R postotkom	P = 0,0001	P < 0,0001	P < 0,0001	P = 0,001
IGF intenzitet u usporedbi s IGF2R intenzitetom	P < 0,0001	P < 0,0001	P = 0,0001	P < 0,0001

Ako gledamo samo binarnu podjelu intenziteta bojenja unutar pojedine grupe prilikom čega intenzitet bojenja ++ (2) i +++ (3) smatramo pozitivnim, a 0 i + (1) negativnim, razlika je također statistički značajna (tablica 7).

**Tablica 7.** Usporedba intenziteta ekspresije IGF2 i IGF2R unutar pojedine skupine uzoraka, prema binarnoj podjeli intenziteta.

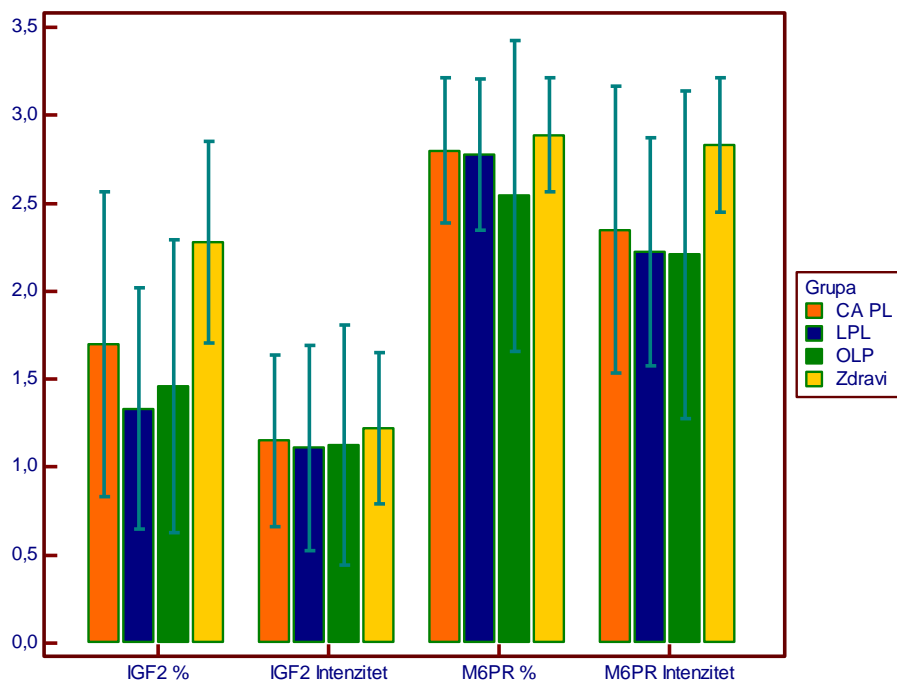
	zdravi		Ca pl		LPL		OLP	
Intenzitet	IGF2	IGF2R	IGF2	IGF2R	IGF2	IGF2R	IGF2	IGF2R
+	4	18	4	16	4	16	7	20
-	14	0	16	4	14	2	17	4
Fischerov test	< 0,0001		0,0002		< 0,0001		0,0004	

Korelacijom parametara unutar ukupnih rezultata uočeno je da je korelacija intenziteta i postotka ekspresije za IGF2 i IGF2R umjerena (Spearmanov koeficijent korelacije (IGF2 postotak ekspresije s IGF2 intenzitetom ekspresije) = 0,519; koeficijent korelacije (IGF2R postotak ekspresije s IGF2R intenzitetom ekspresije) = 0,591).

Uspoređivanjem postotka ekspresije i intenziteta ekspresije IGF2 i IGF2R između pojedinih skupina uzoraka odnosno dijagnoza, pokazalo se kako je razlika u postotku ekspresije IGF2 i intenzitetu ekspresije IGF2R u populaciji zdravih statistički značajna u odnosu na pacijente s lihenom, leukoplakijom i oralnim karcinomom pločastih stanica. U intenzitetu ekspresije IGF2 i postotku ekspresije IGF2R nije bilo statistički značajne razlike među skupinama (tablica 8, slika 5) što je utvrđeno Mann-Whitneyevim testom.

**Tablica 8.** Razlika postotka i intenziteta ekspresije IGF2 i IGF2R unutar pojedinih skupina.

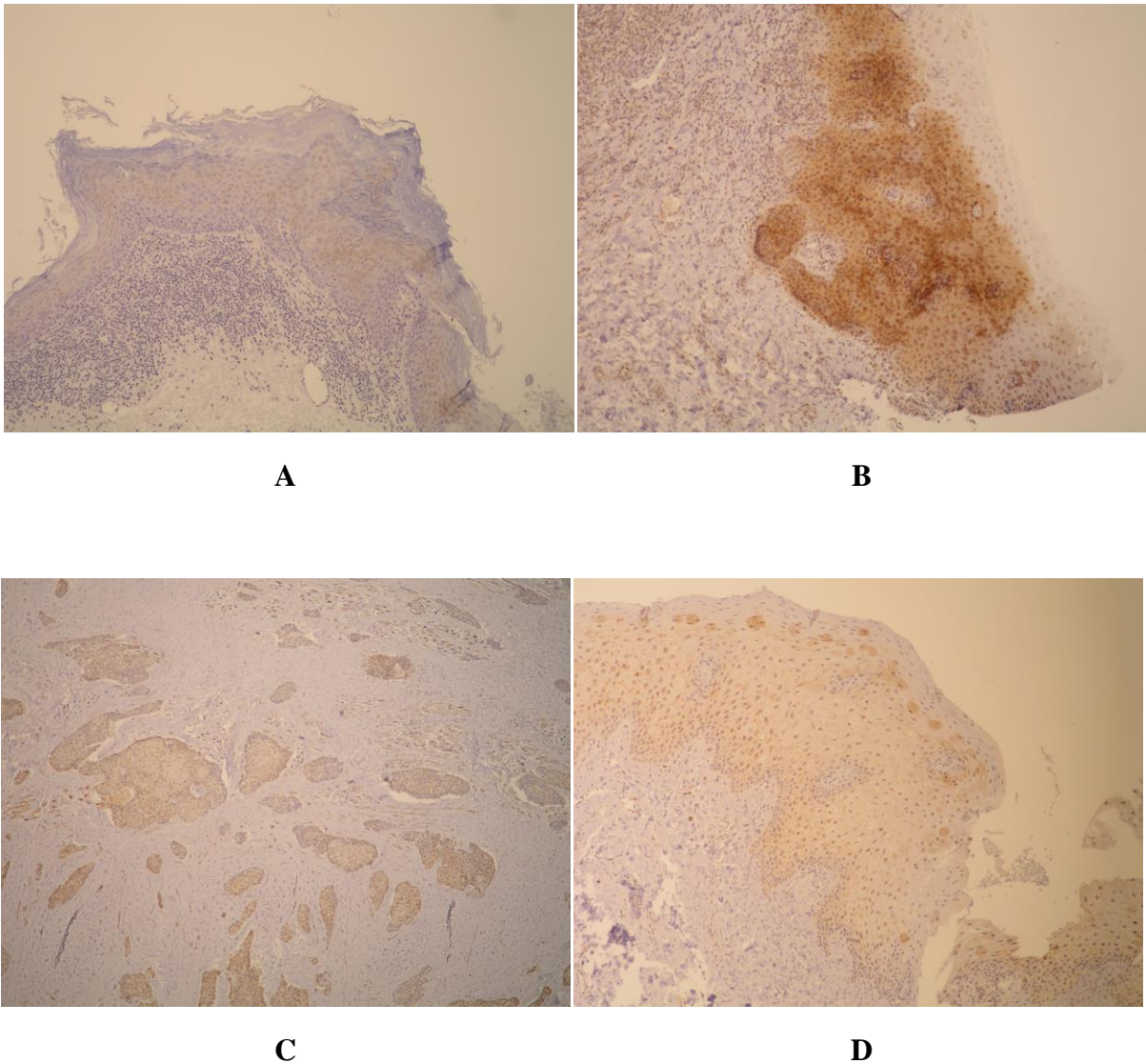
IGF2 %		IGF intenzitet		IGF2R %		IGF2R intenzitet	
zdravi vs		zdravi vs		zdravi vs		zdravi vs	
CaPI	P = 0,0288	CaPI	P = 0,6765	CaPI	P = 0,4881	CaPI	P = 0,0478
LPL	P = 0,0003	LPL	P = 0,5851	LPL	P = 0,4086	LPL	P = 0,0028
OLP	P = 0,0015	OLP	P = 0,7027	OLP	P = 0,1619	OLP	P = 0,0118
CaPI vs							
LPL	P = 0,2264						
OLP	P = 0,4927						



**Slika 5.** Postotak i intenzitet ekspresije IGF2 i IGF2R (M6PR) za svaku skupinu uzoraka (CA PL-oralni karcinom pločastih stanica, LPL-leukoplakija, OLP-oralni lihen planus)

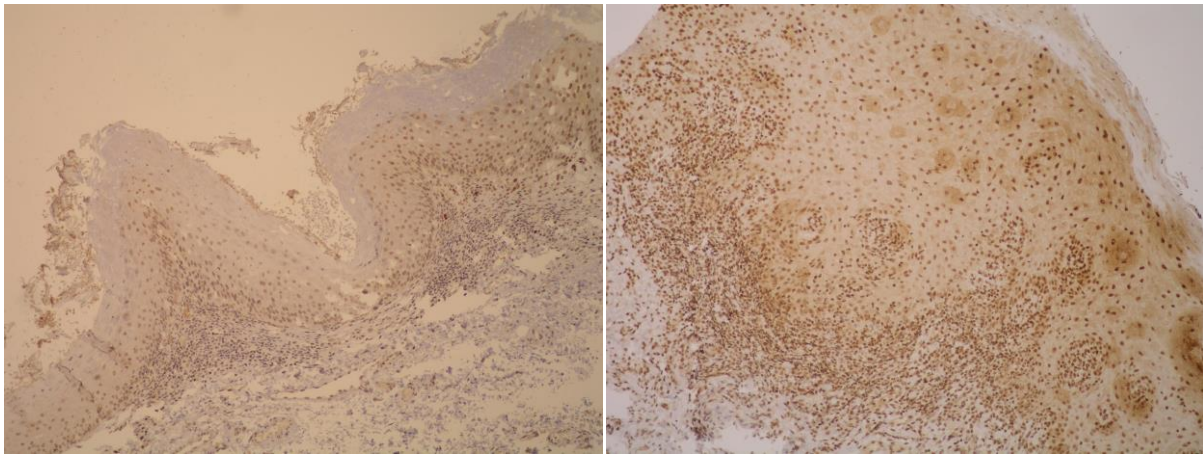
U intenzitetu ekspresije IGF2 i IGF2R nije bilo statistički značajne razlike među spolovima, ali je utvrđena značajna razlika u raspodjeli spolova između skupine uzoraka zdravih pacijenata (devet muškaraca i devet žena) i pacijenata s karcinomom (18 muškaraca i dvije žene) (Fischerov test,  $p = 0,0113$ ).

Kada smo podijelili uzorke oralnog lihen planusa, leukoplakije i karcinoma pločastih stanica glave i vrata prema dobi pacijenata u skupine (do 30 godina, 30 – 45 godina i više od 45 godina), razlika u intenzitetu ekspresije pojedinog proteina u odnosu na dob pacijenata nije bila statistički značajna. Za uzorke zdrave sluznice imali smo samo deskriptivnu dob, a ne i podatke o dobnoj skupini pa nije bilo moguće povezati dobnu skupinu i vrijednosti mjerenja za proteine.



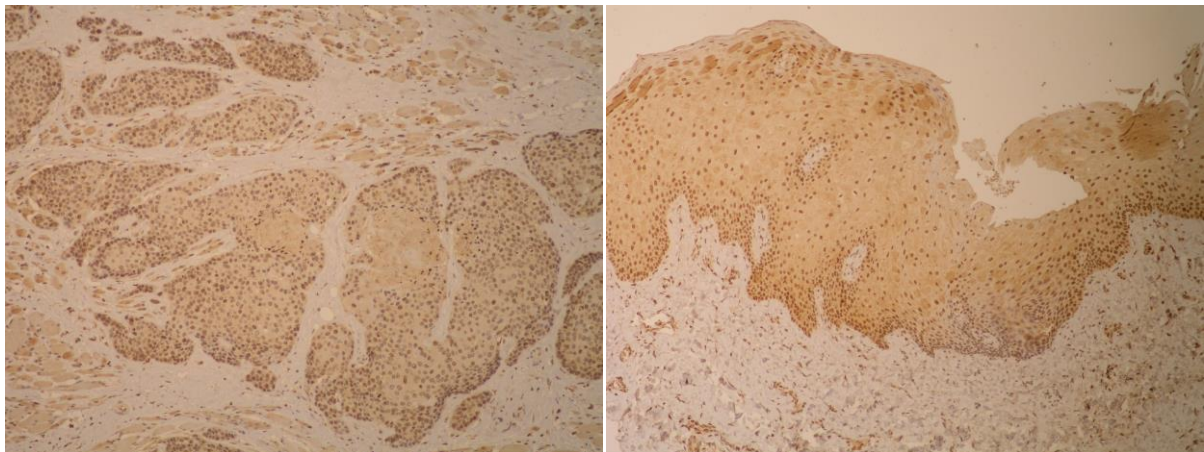
**Slika 6.** Prikaz jako pozitivnog imunohistokemijskog nalaza za IGF2 prema dijagnozama pacijenata: A) leukoplakija, povećanje 200X, obojenje (++) (postotak i intenzitet ekspresije); B) oralni lihen planus, povećanje 200X, obojenje (+++) (postotak i intenzitet ekspresije); C) oralni karcinom pločastih stanica, povećanje 100X, obojenje (++) (postotak i intenzitet ekspresije); D) zdrava sluznica, povećanje 200X, obojenje (+++) (postotak ekspresije IGF2) i (++) (intenzitet ekspresije IGF2).





**A**

**B**



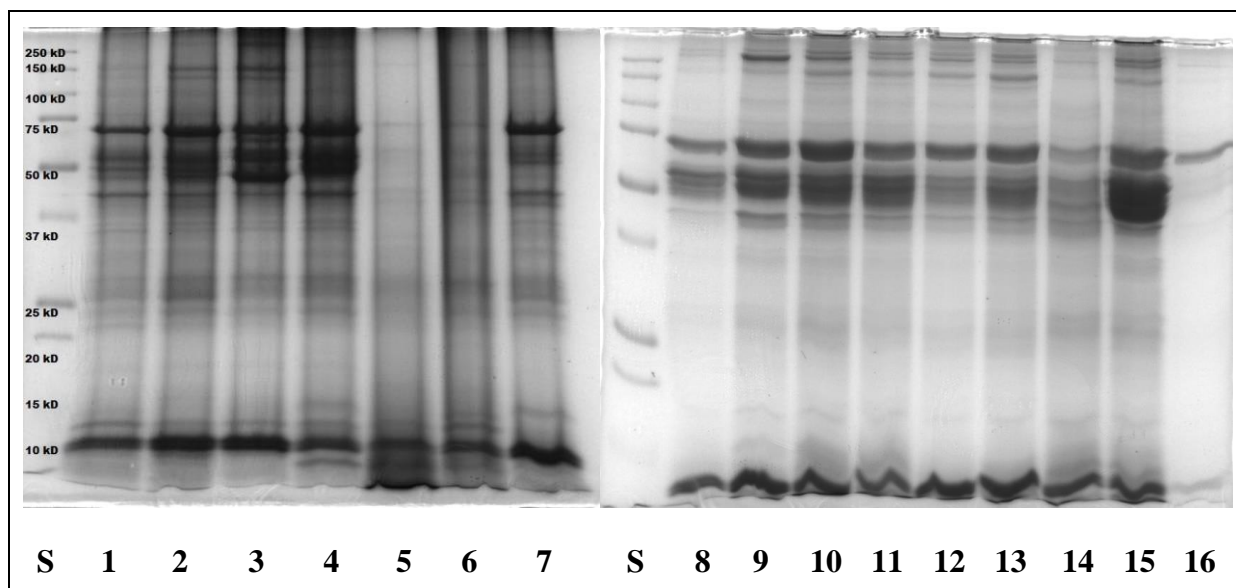
**C**

**D**

**Slika 7.** Prikaz jako pozitivnog imunohistokemijskog nalaza za IGF2R prema dijagnozama pacijenata: A) leukoplakija, povećanje 200X, obojenje (++) (postotak i intenzitet ekspresije); B) oralni lihen planus, povećanje 200X, obojenje (+++) (postotak i intenzitet ekspresije); C) oralni karcinom pločastih stanica, povećanje 200X, obojenje (+++) (postotak i intenzitet ekspresije); D) zdrava sluznica, povećanje 200X, obojenje (+++) (postotak i intenzitet ekspresije).

## 4.2. Poliakrilamidna gel-elektroforeza

Ukupni profil ekspresije proteina analiziran je u uzorcima promijenjene oralne sluznice pacijenata s lihenom i karcinomom u usporedbi sa sluznicom istih pacijenata koja nije zahvaćena promjenama te sluznicom zdravih ispitanika bez promjena na sluznici. U tu su svrhu iz tkiva izolirani ukupni proteini i razdvojeni uz pomoć poliakrilamidne gel-elektroforeze (slika 8). Iz gelova su izrezane diferencijalne trake te su potom podvrgnute digestiji u gelu. Identifikacija diferencijalno eksprimiranih proteina provedena je na spektrometru masa.



**Slika 8.** Reprezentativni poliakrilamidni gel dobiven separacijom proteina iz ekstrakcija biopsijskih uzoraka ukupno deset pacijenata s dijagnozom karcinoma pločastih stanica, oralnog lihenusa te pacijenata bez promjena na sluznici. S-standard, 1-3 zdrave sluznice, 4-7 nepromijenjene sluznice pacijenata s karcinomom, 8-10 i 12 promijenjena sluznica pacijenata s lihenom, 11 i 13 nepromijenjena sluznica pacijenta s lihenom, 14-promijenjena sluznica pacijenta s karcinomom glave i vrata, 15-zdrava sluznica, 16-nepromijenjena sluznica pacijenta s karcinomom glave i vrata.

Analiza gelova pokazala je kako se između analiziranih grupa diferencijalno eksprimiraju proteini u ukupno 16 traka te su u njima masenom spektrometrijom identificirani proteini za koje smatramo kako imaju ulogu u patogenezi bolesti i/ili nastanku simptoma.

### **4.3. Masena spektrometrija**

Masenom spektrometrijom identificiralo se ukupno 5011 proteina u svim analiziranim uzorcima. Kako bismo utvrdili koji su identificirani proteini diferencijalno eksprimirani u pojedinim uzorcima usporedili smo rezultate identifikacija za sljedeće skupine:

- (1) usporedba promijenjene i nepromijenjene sluznice u svih pacijenata s dijagnosticiranim lihenom,
- (2) usporedba promijenjene i nepromijenjene sluznice u svih pacijenata s dijagnosticiranim karcinomom,
- (3) usporedba nepromijenjenih sluznica u svih pacijenata s lihenom u odnosu s nepromijenjenom sluznicom svih pacijenata s karcinomom,
- (4) usporedba svih nepromijenjenih sluznica pacijenata s lihenom i karcinomom u usporedbi sa zdravim sluznicama u pacijenata bez promjena na oralnoj sluznici te
- (5) usporedba promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom glave i vrata u odnosu s uzorcima promijenjene sluznice u pacijenata s oralnim lihenom (tablice 9-13).

#### 4.3.1. Rezultati masene spektrometrije promijenjene i nepromijenjene sluznice u svih pacijenata s dijagnosticiranim lihenom

U tablici 9. prikazani su diferencijalno eksprimirani proteini dobiveni masenom spektrometrijom uzoraka oralnog lihen: promijenjene i naizgled nepromijenjene sluznice.

**Tablica 9.** Diferencijalno eksprimirani proteini u svim uzorcima oralnog lihen: promijenjene sluznice (OLP-B) u usporedbi s naizgled nepromijenjenom sluznicom istih pacijenata (OLP-Z).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>OLP-B (promijenjena sluznica)</b>				
<b>Citoskeletni proteini</b>				
1	P35527	Keratin, tip I citoskeletni 9	Citoskeletni protein	Svi OLP-B
2	Q60FE2	Miozin-9	Citoskeletni protein, regulacija staničnog oblika, stanična signalizacija	Svi OLP-B
3	P12035	Keratin, tip II citoskeletni 3	Citoskeletni protein, diferencijacija epitelnih stanica	Svi OLP-B
4	Q15149	Plektin	Citoskeletni protein, sudjeluje u apoptotičkim procesima	Svi OLP-B
5	P19012	Keratin, tip I citoskeletni 15	Citoskeletni protein, razvoj epiderma	Svi OLP-B
6	P07476 B4DU44	Involukrin	Keratinizacija, vezanje proteina	Svi OLP-B
7	O60437 K7EKI8	Periplakin	Citoskeletni protein, keratinizacija	Svi OLP-B
8	Q86Y46	Keratin, tip II citoskeletni 73	Keratinizacija dlaka/kose	Svi OLP-B
9	P07737	Profilin-1	Citoskeletni protein, stanična signalizacija, uloga u grušanju krvi	Svi OLP-B
10	Q8N1N4	Keratin, tip II citoskeletni 78	Aktivnost strukturnih molekula	Svi OLP-B
11	P04259	Keratin, tip II citoskeletni 6B	Razvoj ektoderma	Svi OLP-B
12	P35749 D2JYH7 B1PS43	Miozin-11	Kontrakcija stanice	Svi OLP-B
13	Q9UBC9 F5GZ12	Mali protein 3 bogat prolinom	Keratinizacija, cijeljenje rana, diferencijacija keratinocita, razvoj epiderma	Svi OLP-B
14	Q01546	Keratin, tip II citoskeletni 2	Citoskeletni protein	Svi OLP-B
15	P08727	Keratin, tip I citoskeletni 19	Kontrakcija stanica, citoskeletni protein, diferencijacija stanica	Svi OLP-B
<b>Metabolički proteini</b>				
16	P14618 B4DNK4	Piruvat kinaza	Uloga u metaboličkim procesima	Svi OLP-B
17	H0YN42	Aneksin 2 (Ulomak)	Angiogeneza, metabolički procesi	Svi OLP-B
18	J3KPS3	Fruktozno-bisfosfonatna aldolaza	Glikolitički procesi	Svi OLP-B

19	Q53HR5	Čimbenik elongacije 1-alfa (ulomak)	Sudjeluje u biosintezi proteina	Svi OLP-B
20	Q01469 E7D VW5	Protein koji veže masne kiseline	Metabolički procesi	Svi OLP-B
21	Q14134	Protein koji sadrži tročlani motiv 29	Regulacija metaboličkih procesa	Svi OLP-B
22	I1VZV6	Hemoglobin alfa 1	Transport kisika	Svi OLP-B
23	P13639	Čimbenik elongacije 2	Metabolički procesi, stanična smrt	Svi OLP-B
<b>Apoptotički proteini</b>				
24	P47929	Galektin-7	Sudjeluje u apoptotičkim procesima	Svi OLP-B
<b>Stanična signalizacija</b>				
25	P14923 F5GWP8	Spojni plakoglobin	Migracija stanica, morfogeneza stanica, uloga u staničnoj signalizaciji	Svi OLP-B
26	P27482	Protein 3 nalik kalmodulinu	Može se natjecati s kalmodulinom za različita vezna mjesta; vezanje kalcijevih iona	Svi OLP-B
<b>Komponenta nukleosoma</b>				
27	P58876 P57053 O60814	Histon H2B	Komponenta nukleosoma, organizacija kromatina, uloga u urođenom imunološkom odgovoru sluznice	Svi OLP-B
28	Q0VAS5	Histon H4	Komponenta nukleosoma	Svi OLP-B
<b>Komponenta izvanstaničnog matriksa</b>				
29	D3D TX7	Kolagen, tip I, alfa 1, izoforma CRA_a	Komponenta izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-B
30	Q6FH10 P07585 F8VXZ8	Protein dekorin	Starenje, cijeljenje rana, stanična signalizacija, komponenta izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-B
<b>Nepoznata funkcija</b>				
31	Q6PJF2 Q6P5S8	Protein IGK@	Funkcija nije poznata	Svi OLP-B
<b>OLP-Z (naizgled nepromijenjena sluznica)</b>				
<b>Metabolički proteini</b>				
32	P60174	Triozafosfatna izomeraza	Metabolizam ugljikohidrata, glukoneogeneza, glikoliza	Svi OLP-Z
33	Q53H26	Inačica transferina (Fragment)	Homeostaza i transport (staničnog) željeza	Svi OLP-Z
34	P02647	Apolipoprotein A-I	Uloga u grušanju krvi, migracija endotelnih stanica krvnih žila, regulacija staničnih procesa	Svi OLP-Z
35	Q75MT9 Q6FHZ0 Q0QF37 P40926	Malat-dehidrogenaza	Regulacija staničnih procesa, metabolizam ugljikohidrata	Svi OLP-Z
36	P00558	Fosfoglicerat-kinaza 1	Metabolizam ugljikohidrata, glukoneogeneza, glikoliza	Svi OLP-Z
37	P62937 A8K486	Peptidil-prolil cis-trans izomeraza A	Uloga u grušanju krvi, regulacija staničnih procesa, nabiranje (savijanje) proteina	Svi OLP-Z

38	P30086 D9IAI1	Protein 1 koji veže fosfatidiletanolamin	Inhibitor proteaza	Svi OLP-Z
39	Q8N6N5 Q8IZ29	Tubulin, beta 2C	Polimerizacija proteina, komponenta mikrotubula	Svi OLP-Z
40	P23396 J3KN86	40S ribosomalni protein S3	Regulacija staničnih procesa	Svi OLP-Z
41	P01023	Alfa-2-makroglobulin	Uloga u grušanju krvi, regulacija staničnih procesa	Svi OLP-Z
42	M0QYT0	Nekarakterizirani protein (Fragment)	Katalitička aktivnost, vezanje nukleotida i nukleinske kiseline	Svi OLP-Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
43	P01876	Regija lanca C imunoglobulina alfa-1	Sudjeluje u imunološkom odgovoru	Svi OLP-Z
44	P08238	Protein toplinskog šoka 90-beta	Urođeni imunološki odgovor, nabiranje proteina, stanična signalizacija	Svi OLP-Z
45	P05109	Protein S100-A8	Veže kalcij i cink i ima ulogu u upalnim i imunološkim procesima	Svi OLP-Z
46	P07900	Protein toplinskog šoka 90-alfa	ATP katabolički procesi, metabolički procesi malih molekula, urođeni imunološki odgovor	Svi OLP-Z
47	Q6EZE9 P59666 P59665	Neutrofilni defenzin	Sudjeluje u imunološkom odgovoru protiv bakterija, antibiotska, protugljivična i protuvirusna aktivnost	Svi OLP-Z
48	P00738	Haptoglobin	Imunološki odgovor, regulacija staničnih procesa	Svi OLP-Z
<b>Stanične komponente</b>				
49	Q6FI13 Q16777	Histon H2A type 2	Komponenta nukleosoma	Svi OLP-Z
50	P13489	Inhibitor ribonukleaze	Regulacija angiogeneze, negativna regulacija katalitičke aktivnosti	Svi OLP-Z
51	P08123	Alfa-2(I) lanac kolagena	Uloga u grušanju krvi, razvoju krvnih žila, organizaciji staničnog matriksa	Svi OLP-Z
<b>Antiapoptotički proteini</b>				
52	P04792	Protein toplinskog šoka beta-1	Pozitivna regulacija angiogeneze, negativna regulacija apoptoze, stanična signalizacija	Svi OLP-Z
53	P02679	Gama lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, negativna regulacija apoptoze, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-Z
<b>Komponente izvanstaničnog matriksa</b>				
54	Q15582 G8JLA8	Protein ig-h3 induciran transformirajućim čimbenikom rasta $\alpha$	Angiogeneza, proliferacija stanica, organizacija izvanstaničnog matriksa, regulacija stanične adhezije	Svi OLP-Z
55	P35555	Fibrillin-1	Organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-Z
56	P12109 P12110	Alfa-1(VI) lanac kolagena	Organizacija izvanstaničnog matriksa, stanična adhezija, odgovor na glukozu	Svi OLP-Z

#### 4.3.2. Rezultati masene spektrometrije promijenjene i nepromijenjene sluznice u svih pacijenata s dijagnosticiranim oralnim karcinomom pločastih stanica

U tablici 10. prikazani su diferencijalno eksprimirani proteini uzoraka oralnog karcinoma pločastih stanica – promijenjene sluznice u usporedbi s pripadajućom nepromijenjenom sluznicom.

**Tablica 10.** Diferencijalno eksprimirani proteini u uzorcima oralnog karcinoma pločastih stanica: promijenjene sluznice (Ca-B) u usporedbi s naizgled nepromijenjenom sluznicom (Ca-Z).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>Ca-B (promijenjena sluznica)</b>				
<b>Citoskeletni protein</b>				
1	Q04695	Keratin, tip I citoskeletni 17	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
2	Q15149	Plektin	Citoskeletni protein, sudjeluje u apoptotičkim procesima	Svi Ca-B
3	A6NDY9	Filamin A	Keratinizacija, citoskeletni protein, pozitivna regulacija staničnog rasta	Svi Ca-B
4	B4E3A4	cDNA FLJ57283, vrlo slična citoplazmatskom aktinu 2	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
5	B4E335	cDNA FLJ52842, vrlo slična citoplazmatskom aktinu 1	Aksonogeneza	Svi Ca-B
6	P35908 Q01546	Keratin, tip II citoskeletni 2	Keratinizacija, regulacija aktivnosti keratinocita, citoskeletni protein	Svi Ca-B
7	P04259	Keratin, tip II citoskeletni 6B	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
8	J3QST3	Keratin, tip II citoskeletni 3	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
9	Q05707	Lanac kolagena alfa-1(XIV)	Citoskeletni protein, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-B
10	Q86UA5 Q86TM8	Protein TPSAB1	Hidrolaza, proteaza, serinska proteaza	Svi Ca-B
11	B4DJ98	cDNA FLJ53558, vrlo slična proteinu disulfidnoj izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B
12	B3KQT2	cDNA PSEC0148 fis, klon PLACE1007202, vrlo slična proteinu disulfidnoj izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B
13	Q09666	Protein povezan s diferencijacijom neuroblasta AHNAK	Regulacija aktivnosti kalcijevih kanala, oligomerizacija protein, regulacija cijepanja RNA	Svi Ca-B
<b>Metabolički proteini</b>				
14	D9YZU5	Hemoglobin, beta	Prijenos željeza	Svi Ca-B
15	Q53H26 Q06AH7	Transferin	Prijenos željeza, homeostaza staničnih iona željeza	Svi Ca-B

16	P02787	Serotransferin	Uloga u grušanju krvi, homeostazi staničnog željeza	Svi Ca-B
17	B4E1B2	cDNA FLJ53691, vrlo slična serotransferinu	Prijenos željeza, homeostaza staničnih iona željeza	Svi Ca-B
18	Q2TSD0	Gliceraldehyd-3-fosfat dehidrogenaza	Sudjeluje u metaboličkim procesima glukoze	Svi Ca-B
19	Q00610	Teški lanac 1 klatrina	Regulacija staničnih procesa	Svi Ca-B
20	P52209 F5H7U0 B4E2U0 B4DQJ8	Dekarboksilirajuća 6-fosfoglukonatna dehidrogenaza	Metabolizam ugljikohidrata, oksidoreduktivni procesi, ostali metabolički procesi	Svi Ca-B
21	E7ERH5	Fosfoglicerat kinaza	Metabolizam ugljikohidrata	Svi Ca-B
22	P11142 E9PKE3	Protein 71 kDa srodan proteinu toplinskog šoka	ATP katabolički procesi, organizacija membrane, regulacija staničnog ciklusa	Svi Ca-B
23	D3DP13	Lanac fibrinogena beta, izoforma CRA_e	Uloga u grušanju krvi, stanična signalizacija	Svi Ca-B
24	B4E1D3	cDNA FLJ53952, vrlo slična lancu fibrinogena beta	Uloga u staničnoj signalizaciji	Svi Ca-B
25	C9JEU5	Gama lanac fibrinogena	Uloga u staničnoj signalizaciji	Svi Ca-B
26	P80723	Protein 1 topiv u moždanoj kiselini	Stanična signalizacija, razvoj crne tvari, ošita, prsnog koša, prednje abdominalne šupljine	Svi Ca-B
27	Q9Y490 Q5TCU6	Talin-1	Uloga u grušanju krvi, kontrakciji stanica, staničnoj signalizaciji	Svi Ca-B
28	F5GWP8	Spojni plakoglobin	Migracija stanica, morfogeneza stanica, uloga u staničnoj signalizaciji	Svi Ca-B
29	Q99880 Q99879 Q99877 Q93079 Q5QNW6 P62807 P58876	Histon H2B	Organizacija kromatina i nukleosoma	Svi Ca-B
<b>Imunološki odgovor</b>				
30	P10809, B3GQS7	Mitochondrijski protein toplinskog šoka, 60 kDa	Aktivacija B i T limfocita, regulacija staničnih procesa, savijanje (nabiranje) proteina, odgovor na stres	Svi Ca-B
31	Q53GZ6	Izoforma proteina 8 izoforme 1 toplinskog šoka 70 kDa (Fragment)	Odgovor na stres	Svi Ca-B
<b>Ca-Z (naizgled nepromijenjena sluznica)</b>				
<b>Metabolički proteini</b>				
32	P06733	Alfa-enolaza	Metabolizam ugljikohidrata, glukoneogeneza, glikoliza, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
33	P02774 D6RF35	Protein koji veže vitamin D	Metabolički procesi malih molekula, vitamina D i steroida	Svi Ca-Z



34	Q0QEN7 P06576	Podjedinica ATP sintaze	Metabolički procesi lipida, transport protona nakon hidrolize i sinteze ATP-a, angiogeneza, biosintetički procesi povezani s ATP-om, transport protona	Svi Ca-Z
35	P13639	Čimbenik elongacije 2	Metabolički procesi staničnih protein, stanična smrt	Svi Ca-Z
36	Q8N6N5 Q8IWP6	Beta tubulin	Polimerizacija proteina, procesi povezani s mikrotubulima	Svi Ca-Z
37	P13489	Inhibitor ribonukleaze	Regulacija angiogeneze, negativna regulacija kataboličkih procesa	Svi Ca-Z
38	Q13584	Izocitrat dehidrogenaza [NADP]	Metabolički procesi izocitrata, ciklus trikarboksilne kiseline	Svi Ca-Z
39	P00450 Q1L857 E9PFZ2 A5PL27	Ceruloplazmin	Homeostaza staničnih iona željeza, prijenos iona bakra, transmembranski transport	Svi Ca-Z
40	B7Z5Q2	cDNA FLJ58075, vrlo slična ceruloplazminu (EC 1.16.3.1)	Homeostaza staničnih iona željeza, prijenos iona bakra	Svi Ca-Z
41	A8K5A4	cDNA FLJ76826, vrlo slična feroksidazi ljudskog ceruloplazmina (CP), mRNA	Homeostaza staničnih iona željeza, prijenos iona bakra	Svi Ca-Z
42	Q75MT9 Q6FHZ0 P40926 P40925 B9A041	Malat dehidrogenaza	Uloga u metabolizmu staničnih ugljikohidrata, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
43	P60174	Triozafosfat izomeraza	Uloga u metabolizmu ugljikohidrata, metab.procesi malih molekula	Svi Ca-Z
44	Q86Y46	Keratin, tip II citoskeletni 73	Aktivnost strukturnih molekula	Svi Ca-Z
45	P02790	Hemopeksin	Homeostaza staničnog željeza, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
46	P02042 A0N071	Delta podjedinica hemoglobina	Uloga u grušanju krvi, prijenos kisika	Svi Ca-Z
47	P14923	Spojni plakoglobin	Stanična signalizacija i migracija stanica	Svi Ca-Z
48	E9PCV6	Lanac kolagena alfa 3(VI)	Odgovor na glukozu	Svi Ca-Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
49	Q9UKX2 P12882 P60660 J3KND3 G8JLA2 P12883 P13535	Miozin	Kontrakcija stanica, stanična signalizacija urođeni imunološki odgovor, organizacija membrane	Svi Ca-Z
50	Q5TZZ9 P04083 P07355 B4DNH8	Aneksin I/II	Diferencijacija T-limfocita, stanična signalizacija, stanični odgovor na različite spojeve, angiogeneza, pupanje membrane	Svi Ca-Z

51	P01024	Komplement C3	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor, uloga u staničnoj signalizaciji	Svi Ca-Z
52	Q06830	Peroksiredoksin-1	Uloga u staničnoj proliferaciji, citotoksičnost posredovana NK stanicama	Svi Ca-Z
53	P00738	Haptoglobin	Odgovor u akutnoj fazi upale, imunološki odgovor	Svi Ca-Z
54	Q96A32	Laki regulirajući lanac 2 miozina, izoforma skeletnog mišića	Imunološki odgovor, uloga u razvoju skeletnih mišića	Svi Ca-Z
55	P05109	Protein S100-A8	Akutni i kronični imunološki odgovor, urođeni imunološki odgovor, odgovor stanice na različite spojeve	Svi Ca-Z
56	Q5CAQ5	Antigen odbijanja tumora (Gp96) 1	Odgovor na stres, savijanje (nabiranje) proteina	Svi Ca-Z
<b>Citoskeletni proteini</b>				
57	P08727	Keratin, tip I citoskeletni 19	Kontrakcija stanica, citoskeletni protein, diferencijacija stanica	Svi Ca-Z
58	Q60FE2	Izoforma miozina-9	Citoskeletni protein, uloga u pokretanju stanice, angiogeneza	Svi Ca-Z
59	P02647	Apolipoprotein A-I	Uloga u grušanju krvi, migracija endotelih stanica krvnih žila, regulacija staničnih procesa	Svi Ca-Z
60	O60437 K7EKI8	Periplakin	Keratinizacija, citoskeletni protein	Svi Ca-Z
61	P22105 G5E9A9	Tenascin-X	Citoskeletni protein, stanična adhezija, metabolički procesi	Svi Ca-Z
62	H6VRG2	Keratin 1	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
63	P10916 F8VWQ7 Q6IB42	Laki regulirajući lanac 2 miozina, izoforma pretkljetke/srčanog mišića	Razvoj mišićnih vlakana, kontrakcija srčanog mišića	Svi Ca-Z
64	P07737	Profilin-1	Citoskeletni protein, uloga u grušanju krvi, staničnoj smrti	Svi Ca-Z
65	P68133	Aktin, alfa skeletni mišić	Kontrakcija mišića, rast stanice, odgovor na različite spojeve	Svi Ca-Z
66	Q9UBC9 F5GZ12	Mali protein 3 bogat prolinom	Razvoj epiderma, keratinizacija, cijeljenje rana	Svi Ca-Z
67	P67936	Alfa-4 lanac tropomiozina	Kontrakcija mišića, pokretanje staničnih komponenti	Svi Ca-Z
68	Q14908	Laki lanac 2 miozina srčane pretkljetke	Vežanje kalcijevih iona	Svi Ca-Z
69	Q9BTM1 Q99878 Q96KK5 Q16777 P0C0S8	Histon H2A	Sastavni dio nukleosoma	Svi Ca-Z
<b>Anti-apoptotični proteini</b>				
70	P09211	Glutation S-transferaza	Negativna regulacija apoptotičkih procesa i akutnog upalnog odgovora, regulacija metaboličkih procesa	Svi Ca-Z

71	P68032 P62736 D2JYH4	Aktin, alfa srčani mišić	Negativna regulacija apoptotičkih procesa, pokretanje aktinskih vlakana, odgovor na lijekove, kontrakcija mišića, regulacija krvnog tlaka	Svi Ca-Z
72	P14625	Endoplazmin	Negativna regulacija apoptoze, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
73	P35609 B2RCS5	Alfa-aktinin 2	Uloga u grušanju krvi, kontrakciji stanica, adheziji stanica, regulacija apoptoze	Svi Ca-Z
74	P62937 A8K486	Peptidil-prolil cis-trans izomeraza A	Uloga u grušanju krvi, ulasku u stanicu-domaćina, životnom ciklusu virusa, savijanje (nabiranje) proteina	Svi Ca-Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
75	Q6PJF2	Protein IGK@	Funkcija nije poznata	Svi Ca-Z
76	Q6UWP8	Suprabazin	Funkcija nije poznata	Svi Ca-Z
<b>Komponente izvanstaničnog matriksa</b>				
77	P23284	Peptidil-prolil cis-trans izomeraza B	Organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
78	D3DUV3	Protein nalik alfa-2-makroglobulinu 1, izoforma CRA_b	Protein izvanstaničnog prostora	Svi Ca-Z
79	P35555	Fibrillin-1	Organizacija izvanstaničnog matriksa, razvoj različitih organa	Svi Ca-Z
80	Q32Q65	Beta lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, organizaciji izvanstaničnog matriksa, staničnoj signalizaciji	Svi Ca-Z
81	P36952	Serpin B5	Tumor supresor; pokretanje staničnih komponenti, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
82	F6KPG5	Albumin (Fragment)	Protein izvanstaničnog prostora	Svi Ca-Z

### 4.3.3. Rezultati masene spektrometrije nepromijenjene sluznice svih pacijenata s lihenom u usporedbi s nepromijenjenom sluznicom svih pacijenata s karcinomom

U tablici 11. prikazani su diferencijalno eksprimirani proteini u uzorcima nepromijenjene sluznice svih pacijenata s lihenom (OLP-Z) u usporedbi s uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata s oralnim karcinomom pločastih stanica.

**Tablica 11.** Diferencijalno eksprimirani proteini u uzorcima nepromijenjene sluznice uzoraka liheni (OLP-Z) u usporedbi sa svim uzorcima nepromijenjene sluznice uzoraka karcinoma pločastih stanica glave i vrata (Ca-Z).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>OLP-Z</b>				
<b>Citoskeletni proteini</b>				
1	B4DRR0	cDNA FLJ53910, vrlo slična citoskeletnom keratinu 6A, tipa II	Citoskeletni protein	Svi OLP-Z
2	A8K2I0	cDNA FLJ78504, vrlo slična ljudskom keratinu 6A, mRNA	Citoskeletni protein	Svi OLP-Z
3	P35908	Keratin, tip II citoskeletni 2 epidermalni	Keratinizacija, razvoj epiderma	Svi OLP-Z
4	A1A4E9	Keratin 13	Citoskeletni protein	Svi OLP-Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
5	P02751	Fibronektin	Protein akutne faze, uloga u angiogenezi	Svi OLP-Z
6	K9JA46	Sekretorni protein 52 lumena pasjemenika	Odgovor na stres, nabiranje proteina	Svi OLP-Z
7	Q9UP60	SNC73 protein	Domena imunoglobulina/ funkcija nije navedena	Svi OLP-Z
8	Q99880 Q99879 Q99877 Q93079 Q5QNW6 P62807	Histon tipa H2B	Komponenta nukleosoma, organizacija kromatina, uloga u urođenom imunološkom odgovoru sluznice	Svi OLP-Z
9	B3KSM6	cDNA FLJ36606 fis, klon TRACH2015654, vrlo slična proteinu 6 toplinskog šoka 70 kDa	Odgovor na stres	Svi OLP-Z
10	B2R6X5	cDNA, FLJ93166, vrlo slična proteinu 6 toplinskog šoka 70 kDa 70kDa protein 6 (HSP70B~) (HSPA6), mRNA	Odgovor na stres	Svi OLP-Z
11	P01011 G3V5I3	Alfa-1-antikimotripsin	Upalni odgovor akutne faze, metabolizam lipida i proteina	Svi OLP-Z
12	P59666 Q6EZE9 P59665	Neutrofilni defenzin 1/3	Sudjeluje u imunološkom odgovoru protiv bakterija, antibiotska, protugljivična i protuvirusna aktivnost	Svi OLP-Z
13	P26038	Moesin	Pokretanje staničnih komponenti, migracija leukocita	Svi OLP-Z
14	P01876	Alfa-1 lanac regije C imunoglobulina	Sudjeluje u imunološkom odgovoru	Svi OLP-Z

<b>Metabolički proteini</b>				
15	D9YZU5 P68871	Hemoglobin, beta	Prijenos kisika	Svi OLP-Z
16	P07355	Aneksin A2	Angiogeneza, metabolički procesi	Svi OLP-Z
17	Q59E92	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein (Fragment)	Vežanje ATP-a, vežanje nukleinskih kiselina; aktivnost helikaza ovisna o ATP-u	Svi OLP-Z
18	Q5I6Y6	Lamin A/C prijepisna izoformaa 1	Stanična signalizacija, mitotički procesi	Svi OLP-Z
19	P10809 B3GQS7	Mitohondrijski protein toplinskog šoka, 60 kDa	Katabolički procesi ATP-a, aktivacija B i T stanica, nabiranje proteina	Svi OLP-Z
20	Q6IPT9	Čimbenik elongacije 1-alfa	Sudjeluje u biosintezi proteina	Svi OLP-Z
21	Q53HR5	Čimbenik elongacije 1-alfa (Fragment)	Biosinteza proteina	Svi OLP-Z
22	B3KQT9	cDNA PSEC0175 fis, klon OVARC1000169, vrlo slična proteinu disulfidnoj-izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi OLP-Z
23	B3KQT2	cDNA PSEC0148 fis, clone PLACE1007202, vrlo slična proteinu disulfidnoj-izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi OLP-Z
24	P69905	Alfa podjedinica hemoglobina	Oksidativno-reduktivni procesi, prijenos kisika	Svi OLP-Z
25	D1MGQ2	Alfa-2 lanac globina	Prijenos kisika	Svi OLP-Z
26	B7Z992	cDNA FLJ53698, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi OLP-Z
27	B7Z6N2	cDNA FLJ56154, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi OLP-Z
28	B7Z2X4	cDNA FLJ53327, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi OLP-Z
29	Q6EHZ3	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein STRF8	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi OLP-Z
30	Q658S9	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp666I134 (Fragment)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi OLP-Z
31	Q670S4	Hemoglobin Lepore-Baltimore (Fragment)	Prijenos kisika	Svi OLP-Z
32	Q9Y490 Q5TCU6	Talin-1	Uloga u grušanju krvi; metabolizmu proteina	Svi OLP-Z
33	O75369	Filamin-B	Stanična signalizacija, diferencijacija stanica	Svi OLP-Z
34	Q75L23	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein PSMC2 (Fragment)	Katabolički procesi proteina	Svi OLP-Z
35	P35998	Regulatorna podjedinica 7 proteaze 26S	Metabolički procesi malih molekula, katabolički procesi ATP-a	Svi OLP-Z
36	Q53G83	Izoforma ribosomskog proteina S3 (Fragment)	Sudjeluje u translaciji	Svi OLP-Z
37	Q14697 F5H6X6	Neutralna alfa-glukozidaza AB	Metabolički procesi staničnih proteina, nabiranje proteina	Svi OLP-Z
38		cDNA FLJ61290, vrlo slična neutralnoj alfa-glukozidazi AB	Metabolizam ugljikohidrata, prijenos unutarstaničnih proteina	Svi OLP-Z
39	MOQYT0	Nekarakterizirani protein (Fragment)	Katalitička aktivnost, vežanje nukleotida i nukleinske kiseline	Svi OLP-Z
40	P01023	Alfa-2-makroglobulin	Uloga u grušanju krvi, regulacija staničnih procesa	Svi OLP-Z
41	P08123	Alfa-2(I) lanac kolagena	Uloga u grušanju krvi, razvoju krvnih žila, organizaciji staničnog matriksa	Svi OLP-Z
42	P30086 D9IAI1	Protein 1 koji veže fosfatidiletanolamin	Inhibitor proteaza	Svi OLP-Z

43	P07900	Protein toplinskog šoka 90-alfa	ATP katabolički procesi, metabolički procesi malih molekula, urođeni imunološki odgovor	Svi OLP-Z
44	P00558	Fosfoglicerat-kinaza 1	Metabolizam ugljikohidrata, glukoneogeneza, glikoliza	Svi OLP-Z
45	Q6FHZ0 P40926 Q75MT9 Q0QF37	Malat-dehidrogenaza	Regulacija staničnih procesa, metabolizam ugljikohidrata	Svi OLP-Z
46	Q53H26	Izoforma transferina (Fragment)	Homeostaza i transport (staničnog) željeza	Svi OLP-Z
47	P23396 J3KN86	40S ribosomski protein S3	Regulacija staničnih procesa	Svi OLP-Z
48	Q8N6N5 Q8IZ29	Tubulin, beta 2C	Polimerizacija proteina, komponenta mikrotubula	Svi OLP-Z
<b>Stanične komponente</b>				
49	Q9BTM1 Q99878 Q96KK5 Q6FI13 Q16777 P20671 P0C0S8	Histon H2A tipa 2	Komponenta nukleosoma	Svi OLP-Z
50	Q8NCL6	cDNA FLJ90170 fis, klon MAMMA1000370, vrlo slična alfa-1 lancu regije C imunoglobulina	Komponenta membrane	Svi OLP-Z
<b>Apoptotički proteini</b>				
51	P31946 B5BU24	14-3-3 beta/alfa protein	Apoptotički procesi, stanična signalizacija	Svi OLP-Z
52	P63104	14-3-3 protein zeta/delta	Apoptotički procesi, stanična signalizacija, grušanje krvi	Svi OLP-Z
53	D0PNI1	Zeta polipeptid za aktivaciju tirozin 3-monooksigenaze/triptofan 5-monooksigenaze	Regulacija stanične smrti, sekrecija histamina iz mastocita, odgovor na lijekove	Svi OLP-Z
<b>Antiapoptotički proteini</b>				
54	Q8NBS9 Q86UY0	Protein 5 koji sadrži domenu tioredoksina	Homeostaza staničnih redoks procesa, organizacija membrane, negativna regulacija apoptotičkih procesa	Svi OLP-Z
<b>Komponente izvanstaničnog matriksa</b>				
55	P12110	Alfa-2 lanac kolagena tipa VI	Stanična adhezija, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-Z
56	B3KS79	cDNA FLJ35730 fis, klon TESTI2003131, vrlo slična alfa-1 antikomotripsinu	Komponenta izvanstaničnog prostora/ funkcija nije navedena	Svi OLP-Z
57	Q15582 G8JLA8	Protein ig-h3 induciran transformirajućim čimbenikom rasta beta	Angiogeneza, proliferacija stanica, organizacija izvanstaničnog matriksa, regulacija stanične adhezije	Svi OLP-Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
58	Q6MZW0	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686J11235 (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi OLP-Z
59	F8W7G7	Ugl-Y3	Funkcija nije navedena	Svi OLP-Z
60	B2R9S4	cDNA, FLJ94534, vrlo slična ljudskom proteinu koji prekriva (aktinske niti), nalik gelsolinu(CAPG), mRNA	Funkcija nije navedena	Svi OLP-Z

<b>Ca-Z (naizgled nepromijenjena sluznica)</b>				
<b>Citoskeletni proteini</b>				
61	P19013	Keratin, tip II citoskeletni 4	Citoskeletni protein, diferencijacija epitelnih stanica, negativna regulacija proliferacije epitelnih stanica	Svi Ca-Z
62	B4DRW1	cDNA FLJ55805, vrlo slična citoskeletnom keratinu 4, tipa II	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
63	P35527	Keratin, tip I citoskeletni 9	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
64	Q53GK6	Beta inačica aktina (Fragment)	Pripada obitelji aktina / funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
65	Q1KLZ0	HCG15971, izoforma CRA_a	aksonogeneza	Svi Ca-Z
66	B4DRR0	cDNA FLJ53910, vrlo slična citoskeletnom 6A keratinu, tipa II	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
67	Q6IN99	Keratin, tip II citoskeletni 3	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
68	P19012	Keratin, tip I citoskeletni 15	Citoskeletni protein, razvoj epiderma	Svi Ca-Z
69	Q60FE6 P21333	Filamin A	Keratinizacija, citoskeletni protein, pozitivna regulacija staničnog rasta	Svi Ca-Z
70	P12035	Keratin, tip I citoskeletni 16	Citoskeletni protein, negativna regulacija stanične migracije	Svi Ca-Z
71	P06576 Q0QEN7	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein MYL1 (Ulomak)	Kontraktacija srčanog mišića	Svi Ca-Z
72	Q53R15	Laki lanac 1/3 miozina, izoforma skeletnog mišića	Mišićna kontraktacija	Svi Ca-Z
73	A8K486	Keratin, tip II citoskeletni 78	Aktivnost strukturalnih molekula	Svi Ca-Z
74	P14923	Periplakin	Keratinizacija, citoskeletni protein	Svi Ca-Z
75	P13535	Tenascin-X	Citoskeletni protein, stanična adhezija, metabolički procesi	Svi Ca-Z
76	P68032 P62736 D2JYH4	Aktin, aortni glatki mišić	Regulacija krvnog tlaka, kontraktacija mišića	Svi Ca-Z
77	P23284 D2JYH7 P35749	Miozin-11	Kontraktacija glatkih mišića, razvoj vlakana srčanog mišića	Svi Ca-Z
78	P62736	Aktin, alfa 2, glatki mišić	Regulacija krvnog tlaka, kontraktacija mišića	Svi Ca-Z
79	Q9BTM1 Q99878 Q96KK5 Q6FI13 Q16777 P20671 P0C0S8	Alfa-4 lanac tropomiozina	Kontraktacija mišića, pokretanje staničnih komponenti	Svi Ca-Z
80	E7ETN3	Mali protein 3 bogat prolinom	Razvoj epiderma, keratinizacija, cijeljenje rana	Svi Ca-Z
81	P13646	Keratin, tip I citoskeletni 13	Citoskeletni protein, odgovor na zračenje i na retinoičnu kiselinu	Svi Ca-Z
82	A8K5A4	Profilin-1	Citoskeletni protein, uloga u grušanju krvi, staničnoj smrti	Svi Ca-Z
83	P07737	Aktin, alfa skeletni mišić	Kontraktacija mišića, rast stanice, odgovor na različite spojeve	Svi Ca-Z
84	Q8N6N5 Q8IWP6	Beta tubulin	Polimerizacija proteina, procesi povezani s mikrotubulima	Svi Ca-Z
85	P08727	Keratin, tip I citoskeletni 19	Kontraktacija stanica, citoskeletni protein, diferencijacija stanica	Svi Ca-Z

86	A8K2I0	cDNA FLJ78504, vrlo slična ljudskom keratinu 6A (KRT6A), mRNA	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
87	P68363	Alfa-1B lanac tubulina	Citoskeletni protein, metabolizam staničnih proteina	Svi Ca-Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
88	P63261	Citoplazmatski aktin 2	Urođeni imunološki odgovor, organizacija međustaničnih spojeva, organizacija membrane	Svi Ca-Z
89	P60709	Citoplazmatski aktin 1	Urođeni imunološki odgovor, organizacija međustaničnih spojeva, organizacija membrane	Svi Ca-Z
90	B4DI39	cDNA FLJ54328, vrlo slična proteinu 1 toplinskog šoka 70 kDa	Odgovor na stres	Svi Ca-Z
91	P17066	cDNA FLJ36606 fis, klon TRACH2015654, vrlo slična proteinu toplinskog šoka 6, 70 kDa	Odgovor na stres	Svi Ca-Z
92	B3KSM6	cDNA, FLJ93166, vrlo slična proteinu toplinskog šoka 6, 70 kDa (HSP70B~) (HSPA6), mRNA	Odgovor na stres	Svi Ca-Z
93	P12883 Q9UKX2 P12882 P60660 J3KND3 G8JLA2 P13535 D2JYH4 O60437 K7EKI8	Miozin- 1/2/6/7/8	Kontraktacija stanica, stanična signalizacija urođeni imunološki odgovor, organizacija membrane	Svi Ca-Z
94	P60174	Antigen odbijanja tumora (Gp96) 1	Odgovor na stres, savijanje (nabiranje) proteina	Svi Ca-Z
95	P01876	Lanac alfa-1 imunoglobulina regije C	Sudjeluje u imunološkom odgovoru	Svi Ca-Z
96	P07355 Q5TZZ9 P04083 B4DNH8	Aneksin I/II	Diferencijacija T-limfocita, stanična signalizacija, stanični odgovor na različite spojeve, angiogeneza, pupanje membrane	Svi Ca-Z
97	P68133	Lakiregulatoričan lanac 2 miozina, izoformaskeletnog mišića	Imunološki odgovor, uloga u razvoju skeletnih mišića	Svi Ca-Z
98	B4DWK5	cDNA FLJ54392, vrlo slična proteinu 1 toplinskog šoka 70 kDa	Odgovor na stres	Svi Ca-Z
99	P01598	Lanac V-I imunoglobulina kapa regije EU	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor	Svi Ca-Z
100	P01596	Lanac V-I imunoglobulina kapa regije CAR	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor	Svi Ca-Z
101	B4DMA2	cDNA FLJ54023, vrlo slična proteinu toplinskog šoka HSP 90-beta	Odgovor na stres, nabiranje proteina	Svi Ca-Z
102	P01860	Protein IGL@	Uloga u imunološkom odgovoru	Svi Ca-Z
103	P36952	Čimbenik komplementa B	Uloga u imunološkom odgovoru	Svi Ca-Z
<b>Metabolički proteini</b>				
104	P68871	Hemoglobin beta	Prijenos željeza	Svi Ca-Z
105	I1VZV6 P69905	Hemoglobin alfa 1	Prijenos kisika	Svi Ca-Z
106	D1MGQ2	Lanac alfa-2 globina	Prijenos kisika	Svi Ca-Z



107	P07585 Q6FH10	Protein dekorin	Metabolizam ugljikohidrata, odgovor na mehaničke podražaje, organizacija izvanstaničnog matriksa, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-Z
108	Q6B051 Q15661 J3QTS8 H3BMK9 P20231	Triptaza alfa/beta 1/2	Endopeptidazna aktivnost	Svi Ca-Z
109	P14625	Disulfidna izomeraza	Homeostaza staničnih redoks procesa, metabolizam lipoproteina, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
110	Q9UBC9 F5GZ12	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp434K0435 (Fragment)	Homeostaza energije, razvoj masnog tkiva	Svi Ca-Z
111	B3KQT9	cDNAPSEC0148 fis, klonPLACE1007202, vrlo slična proteindisulfidnoj izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-Z
112	Q5U5U6	Ribosomski protein S27a	Sudjeluje u translaciji	Svi Ca-Z
113	Q6NZY1 Q6FHB8	Protein TPSB2	Aktivnost endopeptidaze serinskog tipa	Svi Ca-Z
114	B2R892	Protein koji veže masne kiseline, epidermalni	Metabolički procesi ugljikohidrata i lipida, razvoj epiderma	Svi Ca-Z
115	Q01469	Protein koji veže masne kiseline 5 (povezan s psorijazom)	Metabolički procesi ugljikohidrata i lipida	Svi Ca-Z
116	Q96H31	Poliubikvitin-C	Homeostaza energije, razvoj masnog tkiva	Svi Ca-Z
117	P14618	Izoenzimi piruvat-kinaze M1/M2	Metabolizam ugljikohidrata, programirana stanična smrt	Svi Ca-Z
118	Q96RZ6	Triptaza I	Aktivnost endopeptidaze serinskog tipa	Svi Ca-Z
119	Q0QEN7	Podjedinica ATP sintaze	Metabolički procesi lipida, transport protona nakon hidrolize I sinteze ATP-a, angiogeneza, biosintetički procesi povezani s ATP-om, transport protona	Svi Ca-Z
120	P00558	Beta podjedinica ATP sintaze (Ulomak)	Metabolički procesi peptida, prijenos proteina	Svi Ca-Z
121	P60660 J3KND3 G8JLA2	Spojni plakoglobin	Stanična signalizacija i migracija stanica	Svi Ca-Z
122	P07237	cDNA FLJ59361, vrlo slična disulfidnoj izomerazi (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-Z
123	P09382 A8K7E0	Malat dehidrogenaza	Uloga u metabolizmu staničnih ugljikohidrata, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
124	Q6FHZ0 Q75MT9 P40926 P40925 B9A041	Laki polipeptid 6 miozina	Kontraktacija mišića, katabolizam ATP-a	Svi Ca-Z
125	Q53HU6 B1PS43	Biglikan	Metabolizam ugljikohidrata, organizacija izvanstaničnog matriksa, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-Z
126	Q6UWP8	Inhibitor leukocitne elastaze	Regulacija proteolize, negativna regulacija aktivnosti endopeptidaza	Svi Ca-Z
127	P30740	cDNA FLJ53963, vrlo slična inhibitoru leukocitne elastaze	Negativna regulacija aktivnosti endopeptidaza	Svi Ca-Z

128	B2R9S4	Alfa-1 lanac kolagena tipa I	Uloga u grušanju krvi, razvoju krvnih žila, staničnoj signalizaciji	Svi Ca-Z
129	Q5RKT7	Delta podjedinica hemoglobina	Uloga u grušanju krvi, prijenos kisika	Svi Ca-Z
130	P02042	Delta globin	Prijenos kisika	Svi Ca-Z
131	P12882	Kreatin kinaza M-tipa	Metabolički procesi kreatina i malih molekula	Svi Ca-Z
132	P06732	cDNA, FLJ93793, vrlo slična ljudskoj kreatin kinazi, mišićna (CKM), mRNA	Vežanje ATP-a, kinazna aktivnost	Svi Ca-Z
133	E7EVA3 Q53F89 P00751	Nekarakterizirani protein	aktivnost endopeptidaza serinskog tipa	Svi Ca-Z
134	Q5VTE0	Keratin, tip II citoskeletni 73	Aktivnost strukturnih molekula	Svi Ca-Z
135	P08779	Hemopeksin	Homeostaza staničnog željeza, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
136	P05109	Protein koji sadrži trodijelni motiv 29	Negativna regulacija transkripcije, vežanje cinkovih iona	Svi Ca-Z
137	Q14134	Alfa-1 čimbenik elongacije	Biosinteza proteina	Svi Ca-Z
138	B2R6X5	Ceruloplazmin	Homeostaza staničnih iona željeza, prijenos iona bakra, transmembranski transport	Svi Ca-Z
139	E9PFZ2 Q1L857 P00450 A5PL27	cDNAFLJ58075, vrlo sličnaceruloplazminu (EC 1.16.3.1)	Homeostaza staničnih iona željeza, prijenos iona bakra	Svi Ca-Z
140	B7Z5Q2	cDNAFLJ76826, vrlo slična feroksidazi ljudskog ceruloplazmina (CP), mRNA	Homeostaza staničnih iona željeza, prijenos iona bakra	Svi Ca-Z
141	P67936	Prijenosna ATP-aza endoplazmatske mrežice	stanični odgovor na oštećenje DNA, popravak DNA, metabolički procesi proteina	Svi Ca-Z
142	P02774 D6RF35	Protein koji veže vitamin D	Metabolički procesi malih molekula, vitamina D i steroida	Svi Ca-Z
143	Q6IB42 B4E3A8	Laki lanac 2 miozina srčane pretkljetke	Vežanje kalcijevih iona; kontrakcija srčanog mišića, razvoj mišićnih vlakana	Svi Ca-Z
144	Q14908	Laki regulirajući lanac 2 miozina, izoforma pretkljetke/ srčanog mišića	Razvoj mišićnih vlakana, kontrakcija srčanog mišića	Svi Ca-Z
145	P10916 F8VWQ7	Izocitratna dehidrogenaza [NADP]	Metabolički procesi izocitrata, ciklus trikarboksilne kiseline	Svi Ca-Z
146	P00325 A8MYN5 P00326	Alkohol dehidrogenaza 1B/ 1C	Oksidacija etanola, metabolički procesi malih molekula i ksenobiotika	Svi Ca-Z
147	F5HB16	cDNA FLJ51682, vrlo slična alkoholnoj dehidrogenazi 1B (EC 1.1.1.1)	Oksidoreduktazna aktivnost, vežanje iona cinka	Svi Ca-Z
148	B3KT06	cDNA FLJ37398 fis, klon BRAMY2027467, vrlo slična alfa-lancu tubulina	Polimerizacija proteina	Svi Ca-Z
149	P20774	Mimekan	Metabolizam ugljikohidrata, negativna regulacija proliferacije mišićnih stanica	Svi Ca-Z
150	B7Z992	cDNA FLJ53698, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Ca-Z
151	B7Z6N2	cDNA FLJ56154, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Ca-Z
152	B7Z2X4	cDNA FLJ53327, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Ca-Z
153	P13639	Čimbenik elongacije 2	Metabolički procesi staničnih proteina, stanična smrt	Svi Ca-Z

154	P08123	Alfa-2 lanac kolagena tipa I	Uloga u grušanju krvi, razvoju krvnih žila, organizaciji staničnog matriksa	Svi Ca-Z
155	P35609 B2RCS5	Fosfogliceratna kinaza 1	Metabolizam ugljikohidrata	Svi Ca-Z
<b>Komponente izvanstaničnog matriksa</b>				
156	P12110	Lanac alfa-2 kolagena tipa VI	Stanična adhezija, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
157	D3DTX7	Kolagen, tip I, alfa 1, izoforma CRA_a	Komponenta izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
158	E7D VW5	Proteinnalikalfa-2-makroglobulinu 1, izoformaCRA_b	Protein izvanstaničnog prostora	Svi Ca-Z
159	P22105 G5E9A9	Peptidil-proлил cis-trans izomeraza B	Organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
160	P21810 A6NLG9	cDNA FLJ55187, vrlo slična biglikanu	Preoblikovanje krvnih žila, povezivanje izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
<b>Stanične komponente</b>				
161	B4DI63	cDNA FLJ59205, vrlo slična mimekanu	Komponenta endoplazmatske mrežice	Svi Ca-Z
162	Q5UGI3 Q59EM9	Ubikvitin B	Komponenta citoplazme	Svi Ca-Z
163	Q9UFQ0	cDNA FLJ32377 fis, klon SKMUS1000014, vrlo slična poliubikvuitinu 9	Komponenta citoplazme	Svi Ca-Z
164	Q9UL91	Protein SLC25A6	Prijenos kroz membranu	Svi Ca-Z
165	Q6I9V5	ADP,ATP prijenosni protein, inačica jetrene izoforme T2 (Fragment)	Prijenos kroz membranu	Svi Ca-Z
166	Q8NCL6	cDNA FLJ90170 fis, klon MAMMA1000370, vrlo slična alfa-1 lancu imunoglobulina regije C	Komponenta membrane	Svi Ca-Z
<b>Apoptotički proteini</b>				
167	P04792	Galektin-1	Stanični odgovor na glukozu i lijekove, apoptotički procesi	Svi Ca-Z
168	P02452	Serpin B5	Tumor supresor; pokretanje staničnih komponenti, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
169	Q59E19	ADP/ATP translokaza 3	Regulacija sekrecije inzulina, metabolizam staničnih proteina, apoptotički procesi, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-Z
170	Q13584	Protein S100-A11	Negativna regulacija stanične proliferacije, prijenos signala	Svi Ca-Z
171	P31949 B2R5H0	cDNA, FLJ92471, vrlo slična ljudskom S100 proteinu koji veže kalcij A11 (calgizzarin) (S100A11), mRNA	Regulacija stanične proliferacije	Svi Ca-Z
172	P63104	14-3-3 zeta/delta protein	Apoptotički procesi, grušanje krvi, organizacija membrane	Svi Ca-Z
173	D0PNI1	Zeta polipeptid za aktivaciju tirozin 3-monooksigenaze/triptofan 5-monooksigenaze	Regulacija stanične smrti, sekrecija histamina iz mastocita, odgovor na lijekove	Svi Ca-Z
<b>Anti-apoptotički proteini</b>				
174	P08107 Q59EJ3	Protein toplinskog šoka 70 kDa 1A/1B	Negativna regulacija staničnog rasta i apoptoze, metabolički procesi povezani s RNA	Svi Ca-Z
175	Q8N1N4	Aktin, alfa srčani mišić	Negativna regulacija apoptotičkih procesa, pokretanje aktinskih vlakana, odgovor na lijekove, kontrakcija mišića, regulacija krvnog tlaka	Svi Ca-Z

176	Q5CAQ5	Endoplazmin	Negativna regulacija apoptoze, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
177	P09211	Glutation S-transferaza	Negativna regulacija apoptotičkih procesa i akutnog upalnog odgovora, regulacija metaboličkih procesa	Svi Ca-Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
178	P12236	Suprabazin	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
179				
180	P40121 B4DU58	cDNA, FLJ94534, vrlo slična ljudskom proteinu koji prekriva (aktinske niti), nalik-gelsolinu(CAPG), mRNA	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
181	Q6PJF2	Protein IGK@	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
182	Q9UP60	Protein SNC73	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
183	Q6MZW0	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686J11235 (Ulomak)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
184	Q6N093	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I04196 (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
185	A0N5G1	Laki lanac reumatoidnog čimbenika C6 (Ulomak)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
186	Q7Z532 A8K0R3	Osteoglicin OG	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
187	Q96C32	Inačica ubikvitina C	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
188	Q8WVW5	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
189	Q96MH4	UBC protein (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
190	G5EA52	Disulfidna izomeraza obitelji A, član 3, izoforma CRA_b	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
191	B1PS43	Izoforma preproteina biglikana (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
192	B4DDQ2	cDNA FLJ76911, vrlo slična ljudskom biglikanu (BGN), mRNA	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
193	P55072	Promjenjiva regija teškog lanca imunoglobulina koja reagira s miozinom (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z

#### 4.3.4. Rezultati masene spektrometrije uzoraka sluznice pacijenata bez promjena na sluznici u usporedbi s uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom i oralnim karcinomom pločastih stanica

U tablici 12. prikazani su diferencijalno eksprimirani proteini pacijenata bez promjena na sluznici u usporedbi s uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom i oralnim karcinomom pločastih stanica.

**Tablica 12.** Diferencijalno eksprimirani proteini u uzorcima sluznice svih pacijenata bez promjena na sluznici (Z) u usporedbi sa svim uzorcima naizgled nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom i oralnim karcinomom pločastih stanica (OLP-Z i Ca-Z).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>Z (zdrava sluznica)</b>				
<b>Metabolički proteini</b>				
1	D9YZU5	Hemoglobin, beta	Prijenos kisika	Svi Z
2	I1VZV6	Hemoglobin alfa 1	Prijenos kisika	Svi Z
3	D9ZGF2 P12111	Kolagen, tip VI, alfa 3	Odgovor na glukozu	Svi Z
4	B4E3A4	cDNA FLJ57283, vrlo slična citoplazmatskom aktinu 2	Vežanje ATP-a	Svi Z
5	B4E335	cDNA FLJ52842, vrlo slična citoplazmatskom aktinu 1	Vežanje ATP-a	Svi Z
6	Q53H26	Izoforma transferina (Fragment)	Homeostaza i prijenos staničnog željeza	Svi Z
7	Q5R210 Q59HF8 P31327 J3KQL0	Karbamoilfosfat sintetaza I	Biosintetički procesi karbamoil-fosfata	Svi Z
8	A8K134	cDNA FLJ75245, vrlo slična ljudskoj karbamoil-fosfatnoj sintetazi, mitohondrijska (CPS1), mRNA	Biosintetički procesi karbamoil-fosfata	Svi Z
9	D3DTX7	Kolagen, tip I, alfa 1, izoforma CRA_a	Razvoj krvnih žila, stanični odgovor na različite podražaje	Svi Z
10	P36578 Q59GY2	60S ribosomalni protein L4	Stanični metabolički proteinski procesi, ekspresija gena	Svi Z
11	B4DMJ6	cDNA FLJ50996, vrlo slična 60S ribosomalnom proteinu L4	Sudjeluje u translaciji	Svi Z
12	P68363 Q8WU19	Alfa-1B lanac tubulina	Stanični proteinski metabolički procesi, polimerizacija proteina	Svi Z
13	Q01469 E7DVW5	Protein koji veže masne kiseline, epidermalni	Razvoj epiderma, metabolički procesi glukoze i lipida	Svi Z
14	Q6EHZ3	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein STRF8	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Z
15	Q658S9	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp666I134 (Fragment)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Z
<b>Citoskeletni proteini</b>				

16	B0YJC4	Vimentin	Pripada intermedijarnom filamentima, sudjeluje u aktivnosti strukturalnih molekula	Svi Z
17	Q60FE2	Izoforma miozina-9	Reorganizacija citoskeleta, angiogeneza, regulacija staničnog oblika, migracija endot.st.krvnih žila, migracija leukocita, prijenos proteina	Svi Z
18	O75369	Filamin-B	Organizacija citoskeleta, diferencijacija stanice, sudjelovanje u staničnoj signalizaciji	Svi Z
19	P08779	Keratin, tip I citoskeletni 16	Stanična proliferacija, negativna regulacija stanične migracije, starenje, organizacija citoskeleta, razvoj epiderma	Svi Z
20	P19012	Keratin, tip I citoskeletni 15	Razvoj epiderma	Svi Z
21	P35527	Keratin, tip I citoskeletni 9	Razvoj epiderma, organizacija intermedijarnih filamenata	Svi Z
22	P35908 Q01546	Keratin, tip II citoskeletni 2	Razvoj epiderma, keratinizacija, organizacija citoskeleta	Svi Z
23	Q1KLZ0	HCG15971, izoforma CRA_a	Aksonogeneza	Svi Z
24	P63261	Aktin, citoplazmatski 2	Organizacija adherentnih spojeva, unutrašnji imunol.odgovor, pokretanje staničnih komponenti, agregacija trombocita, organizacija membrane	Svi Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
25	P07900	Protein toplinskog šoka HSP 90-alfa	Katabolički procesi ATP-a, mitotički ciklus, sudjeluje u prirodnom imunološkom odgovoru I prijenosu signala	Svi Z
26	Q16778	Histon H2B tip 2-E	Organizacija kromatina, prirodni imunološki odgovor, antibakterijski humoralni odgovor	Svi Z
27	B3GQS7 P10809	Izoforma 1 mitohondrijskog proteina 1 toplinskog šoka 60kD	Sudjeluje u nabiranju proteina I odgovoru na stres	Svi Z
28	Q00610	Teški lanac 1 klatriina	Prezentacija antigena, organizacija membrane, unutarstanični prijenos proteina i željeza	Svi Z
<b>Apoptotički proteini</b>				
29	B7Z5V1	cDNA FLJ55934, vrlo slična gelsolinu	Polimerizacija aktinskih vlakana, regeneracija tkiva, apoptotički procesi	Svi Z
<b>Anti-apoptotički proteini</b>				
30	Q8NBS9 Q86UY0	Protein 5 koji sadrži domenu tioredoksina	Negativna regulacija apoptoze, čišćenje apoptotičkih stanica, homeostaza staničnih redoks procesa, nabiranje proteina	Svi Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
31	Q6N093	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I04196 (Fragment)	Funkcija nije poznata	Svi Z
32	Q6PJF2	Protein IGK@	Funkcija nije poznata	Svi Z
<b>OLP-Z + Ca-Z (naizgled nepromijenjena sluznica)</b>				
<b>Komponente izvanstaničnog matriksa</b>				
33	P12109	Lanac kolagena alfa-1(VI)	Organizacija izvanstaničnog matriksa, adhezija stanice	OLP-Z+ Ca-Z
34	P12110 P08123	Lanac kolagena alfa-2(VI)	Organizacija izvanstaničnog matriksa, odgovor na glukozu, stanična adhezija	OLP-Z+ Ca-Z
<b>Metabolički proteini</b>				

35	P06733	Alfa-enolaza	Metabolizam ugljikohidrata, negativna regulacija staničnog rasta I transkripcije, odgovor na viruse, metab.procesi malih molekula	OLP-Z+ Ca-Z
36	P51884	Lumikan	Metabolički procesi malih molekula, organizacija kolagenih vlakana	OLP-Z+ Ca-Z
37	P02647	Apolipoprotein A-I	Sudjeluje u staničnoj signalizaciji, zgrušavanju krvi	OLP-Z+ Ca-Z
38	Q06830	Peroksiredoksin-1	Sudjeluje u staničnoj proliferaciji, razvoju kostura, homeostazi eritrocita	OLP-Z+ Ca-Z
39	B3KQT9	cDNA PSEC0175 fis, klon OVARC1000169, vrlo slična disulfidnoj izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	OLP-Z+Ca-Z
40	P63104	14-3-3 protein zeta/delta	Metabolički procesi, zgrušavanje krvi, stanična signalizacija	OLP-Z+ Ca-Z
41	P02679	Gama lanac fibrinogena	Sudjeluje u grušanju krvi, staničnoj signalizaciji	OLP-Z+ Ca-Z
42	P60174	Triozafosfatna izomeraza	Metabolički procesi malih molekula	OLP-Z+Ca-Z
43	P04075	Fruktozno-bisfosfatna aldolaza A	Organizacija aktinskih vlakana, metabolički procesi malih molekula, biosintetički procesi ATP-a, regulacija staničnog oblika	OLP-Z+ Ca-Z
44	Q8N6N5	Tubulin, beta 2C	Polimerizacija proteina, procesi povezani s mikrotubulima	OLP-Z+ Ca-Z
45	P13489	Inhibitor ribonukleaze	Regulacija angiogeneze, katabolički procesi mRNA	OLP-Z+ Ca-Z
46	P40121 B4DU58	Protein koji štiti makrofage	Reverzibilno blokira krajeve aktinskih vlakana	OLP-Z+ Ca-Z
47	Q99878 Q96KK5 Q6FI13 Q16777 P20671 P0C0S8 Q9BTM1	Histon H2A tip	Vežanje DNA	OLP-Z+ Ca-Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
48	P01876	Regija lanca C Ig alfa-1	Sudjeluje u imunol.odgovoru, antibakterijskom humoralnom odgovoru	OLP-Z+ Ca-Z
49	P01024	Komplement C3	Sudjeluje u aktivaciji komplementa i upalnom odgovoru, pozitivnoj regulaciji angiogeneze, čišćenja apoptotičkih stanica, fosforilacije proteina	OLP-Z+ Ca-Z
50	P08238	Protein toplinskog šoka HSP 90-beta	Sudjeluje u staničnoj signalizaciji i urođenom imunološkom odgovoru	OLP-Z+ Ca-Z
51	P30101	Protein disulfidna-izomeraza A3	Sudjeluje u prezentaciji antigena, homeostazi staničnih redoks procesa, metabolizmu proteina	OLP-Z+ Ca-Z
52	P00738	Haptoglobin	Sudjelovanje u imunološkom odgovoru	OLP-Z+ Ca-Z
53	P05109	Protein S100-A8	Sudjeluje u imunološkom odgovoru, negativna regulacija staničnog rasta, odgovor na različite podražaje	OLP-Z+ Ca-Z

<b>Apoptotički proteini</b>				
54	Q5I6Y6	Izoforma 1 lamina A/C	Sudjeluje u apoptotičkim procesima, mitotičkim procesima, staničnoj signalizaciji	OLP-Z+ Ca-Z
55	P02545	Prelamin-A/C	Sudjeluje u apoptotičkim procesima, mitotičkim procesima, staničnoj signalizaciji	OLP-Z+ Ca-Z
56	P31947	14-3-3 protein	Sudjeluje u apoptotičkim procesima, staničnoj signalizaciji	OLP-Z+ Ca-Z
57	D0PNI1	Zeta polipeptid aktivacije proteina tirozina 3-monooksigenaze/triptofan 5-monooksigenaze	Regulacija stanične smrti, odgovor na lijekove	OLP-Z+ Ca-Z
58	F5H1A8	Gelsolin	Polimerizacija aktinskih vlakana, apoptotički procesi, odgovor na različite podražaje, regeneracija tkiva	OLP-Z+ Ca-Z
59	B7Z2X4 B2R9S4	cDNA FLJ53327, vrlo slična gelsolinu	Polimerizacija aktinskih vlakana, apoptotički procesi, odgovor na različite podražaje, regeneracija tkiva	OLP-Z+ Ca-Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
60	G5EA52	Protein obitelji A disulfidne izomeraze, član 3, izoforma CRA_b	Funkcija nije navedena	OLP-Z+ Ca-Z



#### 4.3.5. Rezultati masene spektrometrije pacijenata uzoraka promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom usne šupljine u usporedbi s uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s oralnim lihenom

U tablici 13. prikazani su diferencijalno eksprimirani proteini promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom usne šupljine u usporedbi s promijenjenom sluznicom pacijenata s oralnim lihenom.

**Tablica 13.** Diferencijalno eksprimirani proteini u svim uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom usne šupljine (Ca-B) u usporedbi sa svim uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s oralnim lihenom (OLP-B).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>Ca-B (promijenjena sluznica)</b>				
<b>Metabolički proteini</b>				
1	Q06AH7 Q53H26 P02787	Transferin	Homeostaza staničnog željeza	Svi Ca-B
2	B4E1B2	cDNA FLJ53691, vrlo slična serotransferinu	Homeostaza staničnog željeza	Svi Ca-B
3	Q66K58	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein (Fragment)	Homeostaza energije, uloga u mejozi muškog i ženskog spola	Svi Ca-B
4	Q2TSD0	Glicerinaldehid-3-fosfat dehidrogenaza	Metabolički procesi glukoze	Svi Ca-B
5	B3GQS7 P10809	Mitohondrijski protein 1 toplinskog šoka 60kD izoforma 1	Nabiranje proteina	Svi Ca-B
6	B4DF70	cDNA FLJ60461, vrlo slična peroksiredoksinu-2 (EC 1.11.1.15) 1	Oksidoredukcijska aktivnost	Svi Ca-B
7	Q96RZ6 Q86UA5 Q86TM8 Q6NZY1 Q6FHB8 Q6B051 Q15661 P20231 J3QTS8 H3BMK9	Triptaza	Aktivnost endopeptidaza	Svi Ca-B
8	P07237 I3L2P8 H7BZ94 F5H8J2	Protein disulfidna-izomeraza	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B
9	B4DUA5 B4DNL5 B4DLN6	cDNA FLJ59430, vrlo slična disulfidnoj izomerazi (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B
10	B4DJ98	cDNA FLJ53558, vrlo slična proteinu disulfidnoj izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B

11	B3KQT9	cDNA PSEC0175 fis, klon OVARC1000169, vrlo slična proteinu disulfidnoj izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B
12	B3KQT2	cDNA PSEC0148 fis, klon PLACE1007202, vrlo slična proteinu disulfidnoj izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B
13	Q5R210 Q59HF8 P31327 J3KQL0	Karbamoilfosfatna sintaza	Vežanje ATP-a, katabolički procesi	Svi Ca-B
14	A8K134	cDNA FLJ75245, vrlo slična ljudskoj karbamoil-fosfatnoj sintetazi 1, mitohondrijska (CPS1), mRNA	Vežanje ATP-a, katabolički procesi	Svi Ca-B
15	Q53GZ6	Izoforme 1 proteina 8 toplinskog šoka (Fragment)	Vežanje ATP-a, odgovor na stres	Svi Ca-B
16	P11142 E9PNE6	Protein srodan proteinu toplinskog šoka 71 kDa	ATP katabolički procesi, regulacija staničnog ciklusa	Svi Ca-B
17	P00558, E7ERH5	Fosfogliceratna kinaza	Metabolizam ugljikohidrata, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-B
18	Q09666	Protein povezan s diferencijacijom neuroblasta AHNAK	Oligomerizacija proteina, regulacija cijepanja RNA	Svi Ca-B
19	Q9UFQ0	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp434K0435 (Fragment)	Homeostaza energije, uloga u mejozi I.muškog i ženskog spola	Svi Ca-B
20	P52209 F5H7U0 B4E2U0 B4DQJ8	Dekarboksilirajuća 6-fosfoglukonatna dehidrogenaza	Oksidoreduktazna aktivnost	Svi Ca-B
21	P01009	Alfa-1-antitripsin	Grušanje krvi, hemostaza, regulacija proteolize	Svi Ca-B
22	H3BSS4 G3V0E8 F8VZX2	Protein 2 koji veže poli(rC)	Vežanje RNA	Svi Ca-B
23	B4DRD7	cDNA FLJ54752, vrlo slična proteinu 2 koji veže poli(rC)	Vežanje RNA	Svi Ca-B
24	E9PHT9	Aneksin 5	Vežanje kalcijevih iona	Svi Ca-B
25	Q5T6W5 Q5EC54 P61978 Q6IBN1	Heterogeni ribonukleoprotein K jezgre	Vežanje RNA	Svi Ca-B
26	B4DUQ1 B4DFF1	cDNA FLJ54552, vrlo slična heterogenom ribonukleoproteinu K jezgre	Vežanje RNA	Svi Ca-B
27	Q5RKT7	Ribosomski protein S27a	Uloga u translaciji	Svi Ca-B
28	P80723	Protein 1 topiv u moždanoj kiselini	Uloga u epitelno-mezenhimalnoj tranziciji	Svi Ca-B
<b>Citoskeletni proteini</b>				
29	Q04695	Keratin, tip I citoskeletni 17	Razvoj epiderma, keratinizacija, pozitivna regulacija staničnog rasta	Svi Ca-B
30	Q60FE6 P21333 A6NDY9	Filamin A	Citoskeletni protein	Svi Ca-B

31	J3QST3	Keratin, tip II citoskeletni 3	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
32	E7EN95	Filamin-B	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
<b>Komponente izvanstaničnog matriksa</b>				
33	P12109 E9PCV6	Lanac kolagena tipa VI alfa-1	Organizacija izvanstaničnog matriksa, stanična adhezija	Svi Ca-B
34	P02679 C9JEU5	Gama lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, organizacija izvanstaničnog matriksa, stanična signalizacija	Svi Ca-B
35	P12110	Lanac kolagena tipa VI alfa-2	Organizacija izvanstaničnog matriksa, stanična adhezija	Svi Ca-B
36	P08123	Lanac kolagena tipa I alfa-2	Uloga u grušanju krvi, organizaciji izvanstaničnog matriksa, razvoju krvnih žila	Svi Ca-B
37	E9KL23	Protein Li 44a koji veže sekretornu spermu epididimisa	Protein izvanstaničnog prostora	Svi Ca-B
38	Q05707	Lanac kolagena XIV alfa-1	Organizacija izvanstaničnog matriksa, katabolički procesi kolagena	Svi Ca-B
<b>Apoptotički proteini</b>				
39	P09382	Galektin-1	Apoptotički procesi, stanična signalizacija	Svi Ca-B
<b>Anti-apoptotički proteini</b>				
40	P32119	Peroksiredoksin-2	Negativna regulacija apoptoze, stanični odgovor na oksidacijski stres	Svi Ca-B
41	P04792	Protein toplinskog šoka beta-1	Pokretanje staničnih komponenti, stanična signalizacija, negativna regulacija apoptoze, pozitivna regulacija angiogeneze	Svi Ca-B

<b>Imunološki odgovor</b>				
42	Q00610	Teški lanac 1 klatrina	Prezentacija antigena, organizacija membrane, prijenos unutarstaničnih proteina	Svi Ca-B
43	P07900	Protein toplinskog šoka HSP 90-alfa	ATP katabolički procesi, sudjelovanje u urođenom imunološkom odgovoru i metaboličkim procesima malih molekula	Svi Ca-B
44	K9JA46	Sekretorni protein 52 luminalnog epididimisa	Nabiranje proteina, odgovor na stres	Svi Ca-B
<b>Stanične komponente</b>				
45	Q96MH4	cDNA FLJ32377 fis, klon SKMUS1000014, vrlo sličan poliubikvitinu 9	Komponenta citoplazme	Svi Ca-B
<b>Nepoznata funkcija</b>				
46	Q5T0H9	Gelsolin	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
47	Q6PYX1	Protein koji veže receptor virusa hepatitisa B (Fragment) 1	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B

48	Q68CT4	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686A1668	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
49	G5EA52	Protein obitelji A disulfidne izomeraze, član 3, izoforma CRA_b	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
50	Q5UGI3 Q96H31 Q96C32 Q5U5U6 Q59EM9	Izoforma ubikvitina C	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
51	Q6N093	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I04196 (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
52	Q9UL91	Teški lanac varijabilne regije imunoglobulina koju reagira s miozinom (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
<b>OLP-B (promijenjena sluznica)</b>				
<b>Apoptotički proteini</b>				
53	Q6UYC3	Prelamin-A/C	Apoptotički procesi	Svi OLP-B
54	P47929	Galektin-7	Apoptotički procesi	Svi OLP-B
55	P63104	14-3-3 protein zeta/delta	Apoptotički procesi, grušanje krvi, ekspresija gena	Svi OLP-B
56	B7Z5E2 P35998	Regulatorna podjedinica 7 proteaze 26S	Apoptotički procesi, ekspresija gena, ATP-katabolički procesi	Svi OLP-B
<b>Imunološki odgovor</b>				
57	P07355 H0YN42 Q5TZZ9 P04083	Aneksin I/II	Diferencijacija T-limfocita, stanična signalizacija, stanični odgovor na različite spojeve, angiogeneza, pupanje membrane	Svi OLP-B
58	Q60FE2	Izoforma miozina-9	Reorganizacija aktinskog citoskeleta, angiogeneza	Svi OLP-B
59	P06733	Alfa-enolaza	Metabolizam ugljikohidrata, negativna regulacija transkripcije	Svi OLP-B
60	Q06830	Peroksiredoksin-1	Stanična proliferacija, citotoksičnost posredovana NK stanicama	Svi OLP-B
61	P01024	Komplement C3	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor, pozitivna regulacija apoptoze	Svi OLP-B
62	Q32Q65	Beta lanac fibrinogena	Grušanje krvi, urođeni imunološki odgovor	Svi OLP-B
63	P57053 Q0D2M2 O60814	Histon tipa H2B	Antibakterijski humoralni odgovor, urođeni imunološki odgovor u sluznici	Svi OLP-B
64	Q5FWF9	IGL@ protein	Imunološki odgovor	Svi OLP-B
<b>Citoskeletni proteini</b>				
65	P07476 B4DU44	Involukrin	Keratinizacija	Svi OLP-B
66	O60437 K7EKI8	Periplakin	Keratinizacija	Svi OLP-B
67	Q9UBC9 F5GZ12	Mali protein 3 bogat prolinom	Razvoj epiderma, keratinizacija	Svi OLP-B
68	P07737	Profilin-1	Organizacija citoskeleta, grušanje krvi	Svi OLP-B

<b>Metabolički proteini</b>				
69	Q6IPT9 Q5VTE0 Q53HR5	Čimbenik elongacije 1-alfa	Biosinteza proteina	Svi OLP-B
70	Q9UBG3	Kornulin	Vežanje kalcijevih iona, odgovor na zagrijavanje	Svi OLP-B
71	A8K5I6	cDNA FLJ78643, vrlo sličan ljudskom kornulinu (CRNN), mRNA	Vežanje kalcijevih iona	Svi OLP-B
72	B4DRT3	Piruvat kinaza	Glikolitički procesi	Svi OLP-B
73	Q86Y46	Keratin, tip II citoskeletni 73	Aktivnost strukturnih molekula	Svi OLP-B
74	Q670S4	Hemoglobin Lepore-Baltimore (Fragment)	Prijenos kisika	Svi OLP-B
75	P27482	Protein 3 nalik kalmodulinu	Vežanje kalcijevih iona	Svi OLP-B
76	P08727	Keratin, tip I citoskeletni 19	Stanična diferencijacija	Svi OLP-B
77	P26038	Moezin	Pokretanje staničnih komponenti, pozitivna regulacija ekspresije gena	Svi OLP-B
78	P13639	Čimbenik elongacije 2	Biosinteza proteina	Svi OLP-B
79	B2RBS8	cDNA, FLJ95666, vrlo slična ljudskom albuminu (ALB), mRNA	Prijenos proteina	Svi OLP-B
80	P14923	Spojni plakoglobin	Migracija stanica, organizacija međustaničnih spojeva, regulacija stanične proliferacije	Svi OLP-B
81	P02538	Keratin, tip II citoskeletni 6A	Diferencijacija stanica, pozitivna regulacija stanične proliferacije	Svi OLP-B
82	F8VXZ8	Dekorin (Fragment)	Starenje, cijeljenje rana, odgovor na mehaničku stimulaciju	Svi OLP-B
83	Q99878 Q96KK5 Q93077 Q7L7L0 Q08AJ9 P20671 P0C0S8 P0C0S8 P0C0S8 Q9BTM1	Histon tipa H2A	Vežanje DNA	Svi OLP-B
84	Q75L23	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein PSMC2 (Fragment)	Katabolički procesi proteina	Svi OLP-B
85	E9PCV6	Lanac kolagena tipa VI alfa-3	Odgovor na glukozu	Svi OLP-B
<b>Nepoznata funkcija</b>				
86	Q6P5S8	Protein IGK@	Funkcija nije navedena	Svi OLP-B

Diferencijalno eksprimirani proteini identificirani masenom spektrometrijom pripadaju skupinama proteina koji imaju različite uloge u stanici: regulaciju transkripcije, organizaciju staničnog citoskeleta, regulaciju imunološkog odgovora, organizaciju i degradaciju izvanstaničnog matriksa, apoptozu, onkogenu transformaciju, sudjelovanje u imunološkom odgovoru, pokretanje staničnih organela, prijenos kisika, angiogenezu, grušanje krvi i staničnu signalizaciju.

Većina diferencijalno eksprimiranih proteina u promijenjenoj sluznici pacijenata s lihenom uključena je u citoskeletne promjene (keratin, miozin, plektin), keratinizaciju (involukrin, periplakin, mali protein 3 bogat prolinom), morfogenezu (periplakin), apoptozu (prelamin, galektin-7) i staničnu signalizaciju (dekorin, plakoglobin, profilin, miozin), osobito preko kalcijevih iona (kalmodulin). Zanimljivo je kako je identificiran i marker patološkog stresa alfa-enolaza. Vidljivo je i da u promijenjenoj sluznici pacijenata s lihenom pada ekspresija niza metaboličkih proteina koji su prisutni u nepromijenjenoj sluznici istih pacijenata, primjerice enzima koji sudjeluju u metabolizmu ugljikohidrata kao što su triozafosfatna izomeraza, malatna dehidrogenaza, fosfogliceratna kinaza; inhibitor proteaza kao što je protein koji veže fosfatidil-etanolamin.

Proteini zajednički svim uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s lihenom pripadaju citoskeletnim proteinima (keratini), proteinima uključenima u različite metaboličke procese (metabolizam proteina-talin, metabolizam glukoze-lumikan, alfa-enolaza, gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza), apoptozu (prelamin, lamin, vimentin, dezmooplakin) i imunološki odgovor (aneksin, protein IGL@, alfa lanac fibrinogena, citoplazmatski aktini). Proteini zajednički svim uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom pripadaju skupinama proteina koji pretežno imaju uloge u keratinizaciji (citoskeletni keratini, miozin, kolageni), imunološkom odgovoru (peroksiredoksin, lanac imunoglobulina, aneksin, fibrinogen, komplement C3) i apoptotičkim procesima (protein 5 koji sadrži domenu tioredoksina, 14-3-3 beta/alfa protein).

Prilikom analize proteina zajedničkih svim uzorcima tkiva promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom vidljivo je da su izraženi različiti tipovi citoskeletnih proteina (keratini, vimentin, filamin), proteini uključeni u regulaciju angiogeneze i negativnu regulaciju apoptoze (proteini toplinskog šoka, galektin), metabolizam ugljikohidrata (lumikan, fruktozno-bisfosfonatna aldolaza, gliceraldehid-3-fosfatna dehidrogenaza), odgovor na stres (proteini toplinskog šoka) i epitelno-mezenhimalnu tranziciju (citoskeletni keratini, kolagen, lumikan). U uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom, osim citoskeletnih promjena i promjena u keratinizaciji, potaknut je i odgovor na stres (proteini toplinskog šoka) te je vidljiva također promjena u metabolizmu ugljikohidrata (enzimi kao što su gliceraldehid-3-fosfatna dehidrogenaza, dekarboksilirajuća-6-fosfoglukonatna dehidrogenaza), procesima prijenosa željeza (serotransferin, hemoglobin) i promjena u ekspresiji proteina uključenih u epitelno-mezenhimalnu tranziciju (citoskeletni keratini, kolagen, lumikan). U nepromijenjenoj sluznici pacijenata s karcinomom vidljiva je aktivnost citoskeletnih proteina te enzima koji sudjeluju u metabolizmu ugljikohidrata, ali i aktivnost protu-apoptotičkih proteina/proteina koji sudjeluju u staničnoj proliferaciji

(glutation-S-transferaza, alfa-aktinin, aktin, endoplazmin), reguliranju angiogeneze (inhibitor ribonukleaze, apolipoprotein, aneksin) i epitelno-mezenhimalnoj tranziciji (aneksin, citoskeletni keratin, kolagen). Ovakva aktivnost upućuje da su i u naizgled nepromijenjenoj sluznici pacijenata s karcinomom prisutne metaboličke promjene. Proteini zajednički svim uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata s karcinomom pločastih stanica glave i vrata pripadaju proteinima koji sudjeluju u imunološkom odgovoru (aktini, lanci imunoglobulina), prijenosu željeza (hemoglobin, ceruloplazmin, hemopeksin), metabolizmu proteina (triptaze, alfa-1-antitripsin), ugljikohidrata (izoenzimi piruvat kinaze, galektin, lumikan, fruktozno-bisfosfonatna aldolaza, gliceraldehid-3-fosfatna dehidrogenaza, mimekan, biglikan) i lipida (proteini koji vežu masne kiseline).

U zdravoj kontrolnoj sluznici su osobito prisutni regulatorni metabolički proteini (tubulin, protein koji veže masne kiseline, klattrin, ribosomski proteini), proteini uključeni u homeostazu tkiva nasuprot statusu u tkivu lihenom i karcinoma kod kojih su osobito vidljive promjene proteina ECM-a (lumikan, kolagen) i proteina uključenih u signalizaciju (lamin, prelamin, apolipoprotein, peroksiredoksin) i aktivaciju aktina/ promjenu citoskeleta (gelsolin, fruktozno-bisfosfonatna aldolaza).

Prilikom usporedbe diferencijalne ekspresije proteina promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom te promijenjene sluznice pacijenata s lihenom, bitna razlika je u tome što se kod lihenom izgleda pretežno aktivira apoptoza (prelamin, galektin 7, proteaze) i keratinizacija (involukrin, periplakin, mali protein bogat prolinom), a kod karcinoma imamo snažnu promjenu metabolizma (proteini koji sudjeluju u homeostazi staničnog željeza: transferin, serotransferin; proteini koji sudjeluju u metabolizmu glukoze: gliceraldehid-3-fosfatna dehidrogenaza; vezanje ATP-a: karbamoil-fosfatna sintetaza, protein toplinskog šoka), promjenu u oksidoreduktivnom statusu (disulfidna izomeraza, peroksiredoksin, dekarboksilirajuća 6-fosfoglukonatna dehidrogenaza) i staničnoj proliferaciji (negativna regulacija apoptoze-protein toplinskog šoka, peroksiredoksin, galektin-1).

Budući da smo masenom spektrometrijom identificirali velik broj proteina koji bi mogli sudjelovati u mehanizmu nastanka potencijalno zloćudnih i zloćudnih oralnih promjena, detaljnije ćemo obrazložiti i raspraviti značaj ekspresije proteina izvanstaničnog matriksa u našim uzorcima te proteina koji su s njima u interakciji, s obzirom da se u literaturi pokušava razjasniti njihova uloga u nastanku zloćudnih promjena (tablica 14).

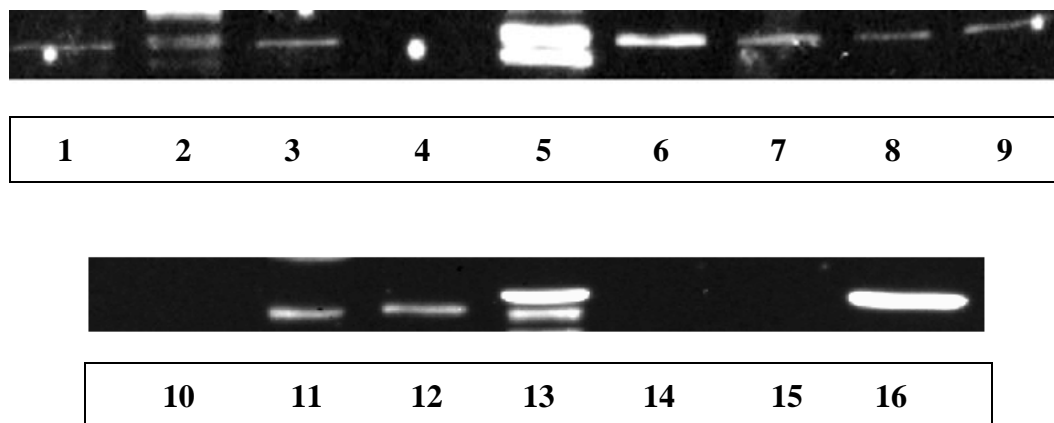
**Tablica 14.** Proteini izvanstaničnog matriksa te proteini koji su s njima u interakciji, a identificirani su masenom spektrometrijom u uzorcima promijenjene i pripadajuće nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom i oralnim karcinomom pločastih stanica te zdrave sluznice.

Proteini eksprimirani u promijenjenom tkivu pacijenata s lihenom	Proteini eksprimirani u nepromijenjenom tkivu pacijenata s lihenom	Proteini eksprimirani u promijenjenom tkivu pacijenata s karcinomom	Proteini eksprimirani u nepromijenjenom tkivu pacijenata s karcinomom	Proteini eksprimirani u zdravoj sluznici
Kolagen tip I $\alpha 1$ , tip VI $\alpha 3$	Kolagen tip I $\alpha 2$ , tip VI $\alpha 2$ i $\alpha 3$	Kolagen tipa I $\alpha 1$ i $\alpha 2$ , VI $\alpha 1$ i $\alpha 2$ te XIV $\alpha 1$	Kolagen tipa I $\alpha 1$ i $\alpha 2$ , VI $\alpha 1$ , $\alpha 2$ i $\alpha 3$	Kolagen tip I $\alpha 1$ , tip VI $\alpha 3$
-	-	-	Biglikan	-
Lumikan	Lumikan	Lumikan	Lumikan	Lumikan
Dekorin	-	Dekorin	Dekorin	-
-	-	-	Tenascin	-
Aneksin, aneksin I i II	Aneksin, aneksin I i II	Aneksin V	Aneksin I i II	Aneksin, aneksin I i II
Galektin-7	-	Galektin-1	Galektin-1	-
Vimentin	Vimentin	Vimentin	Vimentin	Vimentin
Citoskeletni keratini 1, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 19 (tip I) te 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 73, 78 (tip II)	Citoskeletni keratini 1, 10, 13, 14, 16 (tip I) te 4, 5, 6A (tip II)	Citoskeletni keratini 1, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 17 (tip I) te 2, 3, 4, 5, 6B, 78 (tip II)	Citoskeletni keratini 1, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 19 (tip I) te 3, 4, 5, 73, 78 (tip II)	Citoskeletni keratini 1, 2, 5, 6A (tip I) te 9, 10, 14, 15, 16 (tip II)
Hsp70 kDa i Hsp90kDa	Hsp70 kDa i Hsp90kDa	Hsp70 kDa i Hsp90kDa	Hsp70 kDa i Hsp90kDa	Hsp 90 kDa
-	Hsp $\beta$ 1	Hsp $\beta$ 1	Hsp $\beta$ 1	Hsp $\beta$ 1
Alfa-enolaza	Alfa-enolaza	-	Alfa-enolaza	-

#### 4.4. Analiza biomarkera izvanstaničnog matriksa

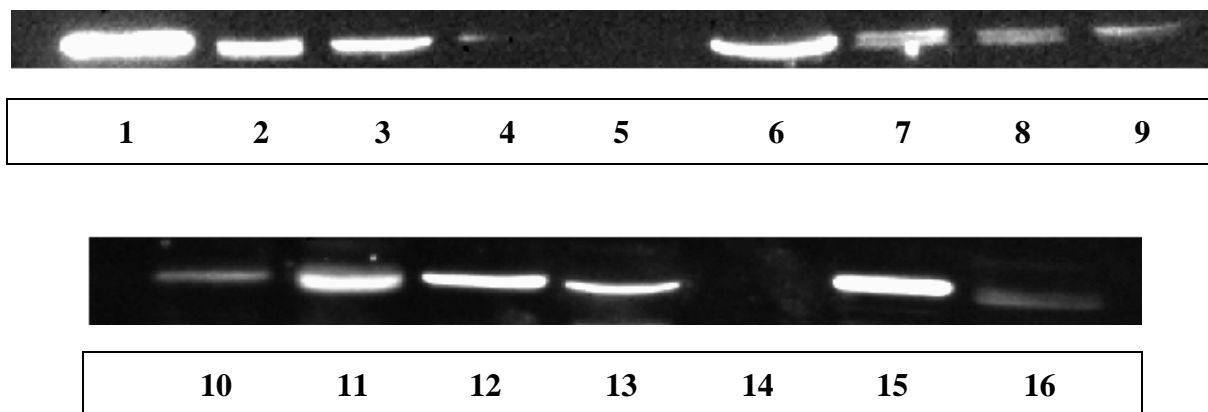
S obzirom da je analiza diferencijalno eksprimiranih proteina ukazala na ulogu izvanstaničnog matriksa (ECM, od engl. extracellular matrix) u razvoju oralnih lezija koje prate i promjene u nekim imunološkim komponentama, uz pomoć metode Western blota željeli smo odrediti izraženost važnih komponenti ECM-a, biglikana i lumikana koji su uključeni u imunološki odgovor u uzorcima pacijenata s lihenom i karcinomom pločastih stanica glave i vrata (slika 9 i 10).





**Slika 9.** Reprezentativni rezultati Western blot analize izraženosti biglikana: 1, 14, 15 – promijenjeno tkivo pacijenata s karcinomom pločastih stanica; 2, 13, 16 – nepromijenjeno tkivo pacijenata s karcinomom; 3, 5, 8 nepromijenjeno tkivo pacijenata s oralnim lihenom; 4, 7, 9 – promijenjeno tkivo pacijenata s oralnim lihenom; 6, 10, 11, 12 – zdrava sluznica.

Biglikan je pronađen u gotovo svim analiziranim uzorcima, osim u dva uzorka promijenjenog tkiva pacijenata s karcinomom pločastih stanica i jednom uzorku zdrave sluznice. Najjači intenzitet primijećen je u dva uzorka nepromijenjenog tkiva pacijenata s karcinomom i jednom uzorku nepromijenjenog tkiva pacijenta s oralnim lihenom dok su ostali uzorci pokazali slabiju izraženost biglikana.



**Slika 10.** Reprezentativni rezultati Western blot analize izraženosti lumikana: 1, 14, 15 – promijenjeno tkivo pacijenata s karcinomom pločastih stanica; 2, 13, 16 – nepromijenjeno tkivo pacijenata s karcinomom; 3, 5, 8 – nepromijenjeno tkivo pacijenata s oralnim lihenom; 4, 7, 9 – promijenjeno tkivo pacijenata s oralnim lihenom; 6, 10, 11, 12 – zdrava sluznica.

Lumikan je pronađen u gotovo svim analiziranim uzorcima, osim u jednom uzorku nepromijenjenog tkiva pacijenta s oralnim lihenom i u jednom uzorku promijenjenog tkiva pacijenta s karcinomom pločastih stanica. Najjači intenzitet opažen je u: dva uzorka promijenjenog tkiva pacijenata s karcinomom pločastih stanica; dva uzorka nepromijenjenog tkiva pacijenta s karcinomom pločastih stanica; jednom uzorku nepromijenjenog tkiva pacijenta s oralnim lihenom te tri uzorka zdrave sluznice.



Potruga za biomarkerima koji bi bili važni za rano ili poboljšano dijagnosticiranje, prognozu i praćenje tijeka bolesti karcinoma glave i vrata, ali i za odgovor na terapiju posljednjih godina postaje sve zanimljivija. Biomarkeri će sve veću važnost imati i u kontekstu personalizirane medicine gdje će se moći koristiti za bolju stratifikaciju pacijenata i prognozu (114, 119). Do danas je istraživana veliki broj potencijalnih biomarkera - proteina iz krvi, sline ili tkiva koji sudjeluju u staničnim procesima, ali i dalje ne postoje validirani klinički testovi koji bi se upotrebljavali u te svrhe. Naime, znanstvene rezultate dobivene u ovom području istraživanja treba tek potvrditi na većem broju kliničkih uzoraka i detaljnije ispitati.

### **5.1. Imunohistokemijska ekspresija inzulinu-sličnih čimbenika rasta**

Prvi cilj ove disertacije bio je određivanje ekspresije inzulinu-sličnog čimbenika 2 i njegovog receptora u uzorcima oralnog lihena, leukoplakije, karcinoma i zdrave sluznice, uz pomoć metoda imunohistokemije. S obzirom da su inzulinu slični čimbenici rasta mitogeni proteini uključeni u regulaciju staničnog rasta i diferencijaciju, nekoliko autora proučavalo je njihovu povezanost sa zloćudnim promjenama probavnog sustava. Jamieson (65) je 2003. g. pokazao smanjeno 5-godišnje preživljenje pacijenata s karcinomom glave i vrata u kojih je došlo do gubitka heterozigotnosti receptora za inzulinu sličan čimbenik rasta 2 (IGF2R). Xu i sur. (120) su, uz pomoć lančane reakcije polimeraze, pokazali da gubitak utiskivanja IGF2 (IGF2 LOI, engl. loss of imprinting) dovodi do pojačane izraženosti IGF2 i njegove mRNA u tkivu karcinoma pločastih stanica jednjaka u usporedbi s pripadajućim zdravim tkivom. McElholm i sur. (87), a potom i Ong i sur. (88) utvrdili su da je polimorfizam IGF osi povezan s povećanim rizikom od nastanka gastrointestinalnih karcinoma, odnosno ezofagealnog karcinoma i stanja koja mu prethode, kao što su refluksni ezofagitis i Barrettov jednjak. Yoon i sur. (121) 2012. g. proučavali su polimorfizam IGF2R domene 11 (rs629849) u pacijenata s potvrđenim oralnim karcinomom pločastih stanica te su zaključili da je povezan s lošijom funkcijom IGF2 receptora što doprinosi napretku i stvaranju udaljenih metastaza oralnog PCC (trostruko veći rizik uznapredovalog oralnog PCC u pacijenata s alelom A u usporedbi s alelom G).

Rezultati imunohistokemijske analize našeg istraživanja na uzorcima oralnog karcinoma pločastih stanica, oralnog lihena i leukoplakije i zdrave sluznice pokazali su statistički značajnu razliku u postotku ekspresije IGF2 i intenzitetu ekspresije IGF2R u populaciji zdravih u odnosu na pacijente s potencijalno zloćudnim lezijama oralnog lihena i leukoplakije

te oralnim karcinomom pločastih stanica. Što se tiče postotka ekspresije IGF2 ovakvi rezultati jedinstveni su u literaturi. Naime, rezultati drugih autora pokazali su pojačanu ekspresiju IGF2 u staničnim linijama i tkivu karcinoma pločastih stanica glave i vrata (122) ili tkivu karcinoma pločastih stanica jednjaka (123). Brady i sur. (122) uz pomoć imunohistokemije pokazali su jaču izraženost IGF2, IGF1 i IGF1R u tkivu karcinoma pločastih stanica glave i vrata u usporedbi sa zdravim tkivom, dok su mjerenjem ekspresije IGF2 u staničnim linijama karcinoma pločastih stanica jezika, ždrijela i obrazne sluznice te zdrave sluznice uz pomoć RT-PCR (lančane reakcije polimeraze uz pomoć reverzne transkriptaze) pronašli više razine IGF2 mRNA u staničnim linijama karcinoma jezika u usporedbi sa staničnim linijama karcinoma ždrijela i obrazne sluznice te zdrave sluznice. Rezultati imunohistokemijske analize Chave i sur. (123) u kojoj su evaluirali izraženost IGF2, FHIT-a i p53 u karcinomu pločastih stanica jednjaka, adenokarcinomu, displaziji pločastog epitela i zdravoj sluznici također su pokazali pojačanu ekspresiju IGF2 u 81% karcinoma pločastih stanica, 100 % adenokarcinoma, 75% displazija oralnog epitela i 50% zdravih sluznica, što je samo djelomično u skladu s našim rezultatima koji pokazuju pojačanu ekspresiju u zdravim sluznicama.

Naši rezultati koji se tiču ekspresije IGF2 donekle su usporedivi s istraživanjem Zhi i sur. (89) koji su proučavali ekspresiju gena za IGF2, IGF1, E2F3 i IGFBP3 u tkivu karcinoma pločastih stanica grkljana, usne šupljine i ždrijela i pripadajućem okolnom zdravom tkivu te zaključili da nema promjene u ekspresiji gena za IGF2, IGF1 i E2F3 u tkivu karcinoma u usporedbi sa zdravim tkivom. Zanimljivo je da su primijetili pojačanu ekspresiju IGFBP3 u tkivu karcinoma u usporedbi sa zdravim tkivom, i to karcinoma grkljana, ali ne i ždrijela niti usne šupljine. IGFBP3 vezanjem za IGF1 produžava njegovo vrijeme poluraspada čime pojačava njegovo mitotičko odnosno anti-apoptotičko djelovanje. Ovakvi rezultati mogli bi upućivati na različitu biologiju tumora glave i vrata na različitim lokalizacijama, ali i da bi u budućim studijama u obzir trebalo uzeti i cirkulacijsku razinu čimbenika rasta te razinu IGF1 i IGF2 u tumorskom tkivu i u serumu.

Iz svega ovoga možemo zaključiti kako ovakav rezultat postotka ekspresije IGF2 u populaciji osoba sa zdravom sluznicom možemo objasniti na nekoliko načina. S obzirom da se radi o arhivskim uzorcima zdrave sluznice, moguće je da su pacijenti ipak imali neke nedijagnosticirane potencijalno zloćudne ili zloćudne promjene na sluznici usne šupljine. Također, kao u istraživanju Zhi i suradnika (89), moguće je da IGF2 nije bio značajno povišen u karcinomima u odnosu na potencijalno zloćudne lezije i zdravu sluznicu zbog različitih mehanizama uključenih u tumorigenezu karcinoma pločastih stanica glave i vrata na različitim lokalizacijama, zbog

čega bi ovakve rezultate trebalo potvrditi na većem broju uzoraka. Također, iz statističke analize korelacije postotka i intenziteta ekspresije IGF2 i IGF2R u pojedinim skupinama pacijenata, samo u populaciji zdravih osoba je korelacija postotka i intenziteta ekspresije IGF2 umjerena, prilikom čega je baš tu korelacija granično neznčajna tj.  $p=0.0518$  što je  $> 0.05$ . Čini se da su iz nekog razloga prilikom očitavanja imunohistokemijskog bojenja pacijenti u zdravoj skupini češće ocijenjeni sa visokim postotkom obojenja (postotak ekspresije), ali ne i samog intenziteta obojenja (intenzitet ekspresije) što je možda moglo utjecati na naš rezultat.

Među skupinama pacijenata s oralnim lihenom, leukoplakijom i oralnim karcinomom nije bilo statistički značajne razlike u postotku niti intenzitetu ekspresije IGF2 i IGF2R, po čemu bi mogli zaključiti da bi potencijalno zloćudne lezije lihena i leukoplakije mogle imati dijelom slične mehanizme stanične transformacije kao i oralni karcinomi pločastih stanica. Ove rezultate bi trebalo potvrditi na većem broju pacijenata, uzimajući u obzir lokalizaciju lezija, rizične čimbenike za nastanak karcinoma i druge moguće mehanizme karcinogeneze.

Što se tiče statistički značajne razlike u intenzitetu ekspresije IGF2R u populaciji zdravih osoba, naši rezultati su u skladu s literaturom s obzirom da je IGF2R aktivan u zdravoj sluznici i ima tumor supresorsku ulogu, a njegova mutacija povezuje se s povećanim rizikom od karcinoma pločastih stanica glave i vrata (65, 121).

## **5.2. Proteomska analiza oralnog lihena i karcinoma**

Globalna proteinska ekspresija pojedinih vrsta lezija pomaže nam u izdvajanju onih proteina - biomarkera koji bi mogli biti specifični za određeno patološko stanje ili zdravlje. Na taj način bilo bi moguće praćenjem zastupljenosti određenih proteina utvrditi fazu bolesti, tijek bolesti ili pak odgovor na terapiju. Drugi cilj ove disertacije, nakon imunohistokemijske analize ekspresije inzulinu sličnog čimbenika 2 i njegovog receptora, bilo je profiliranje proteinskog sastava tkiva oboljelih od oralnog lihena i oralnog karcinoma što je u ovom istraživanju provedeno uz pomoć sofisticirane tehnologije tekućinske kromatografije spregnute s masenom spektrometrijom (LC-MS/MS). Metoda je izuzetno osjetljiva i koristi se kao standardna metoda u sličnim istraživanjima, a dobiveni su rezultati pokazali veliki broj identifikacija, čak 5011 proteina, od čega je identificirano 93 proteina zajedničkih svim uzorcima tkiva promijenjene sluznice pacijenata s lihenom; 110 proteina zajedničkih svim uzorcima tkiva promjenama nezahvaćene sluznice u pacijenata s lihenom; 119 proteina zajedničkih svim uzorcima promijenjene sluznice pacijenata

s karcinomom pločastih stanica glave i vrata, 184 proteina zajedničkih svim uzorcima promjenama nezahvaćene sluznice pacijenata s karcinomom te 70 proteina zajedničkih svim uzorcima zdrave sluznice (prilog disertacije).

Diferencijalno eksprimirani proteini svrstani su u nekoliko skupina (tablice 9 – 13) i ukazuju na (1) razlike lezija promijenjene i zdrave sluznice pacijenata s dijagnozom oralnog lihenaa ili oralnog karcinoma pločastih stanica, (2) razlike u lezijama lihenaa u odnosu na karcinom te (3) razlikama u nepromijenjenoj sluznici pacijenata s lihenom i karcinomom u odnosu na sluznice zdravih kontrolnih ispitanika. Diferencijalno eksprimirani proteini očekivano pripadaju skupinama proteina koji reguliraju važne biološke procese poput transkripcije, organizacije citoskeleta, imunološkog odgovora, organizacije i degradacije izvanstaničnog matriksa, apoptoze, onkogene transformacije, epitelno-mezenhimalne tranzicije i signalizacije.

Podatci o proteomskim analizama oralnih potencijalno zloćudnih promjena u znanstvenoj literaturi su oskudni. Pronašli smo samo jedno istraživanje s rezultatima proteomskog profiliranja leukoplakije i oralnog karcinoma pločastih stanica koje je identificiralo 85 proteina čija ekspresija je bila promijenjena u svih 12 analiziranih uzoraka (92). Nekoliko autora međutim, istraživalo je globalne proteomske ili genske markere karcinoma pločastih stanica glave i vrata. Budući da smo i mi masenom spektrometrijom identificirali velik broj proteina koji bi mogli sudjelovati u mehanizmu nastanka potencijalno zloćudnih i zloćudnih oralnih promjena, detaljnije ćemo obrazložiti i raspraviti značaj ekspresije proteina izvanstaničnog matriksa u našim uzorcima te proteina koji su s njima u interakciji. Ekspresiju dva proteina izvanstaničnog matriksa, biglikana i lumikana, validirali smo i analizom Western blot.

Među identificiranim proteinima u našim uzorcima nalaze se razni tipovi aneksina i galektina koji su zanimljivi zbog svoje interakcije s proteinima izvanstaničnog matriksa. Aneksini su pripadnici velike obitelji proteina koji vežu kalcij i koji su uključeni u različite biološke procese u jezgri, citoplazmi i izvanstaničnom matriksu (124). Zbog svoje uloge u endo- i egzocitozi, transkripciji, translaciji, staničnoj proliferaciji, oksidativnom stresu i apoptozi, te međudjelovanja s proteinima izvanstaničnog matriksa njihova uloga istražuje se u okviru različitih tumora. Prema našim rezultatima, aneksin I i II su bili diferencijalno eksprimirani u uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata s oralnim karcinomom pločastih stanica u usporedbi s pripadajućom naizgled promijenjenom sluznicom što se slaže s rezultatima Roescha i sur. (125) koji ove oblike aneksina nisu našli u tkivima karcinoma. Roesch i sur. (125) pokušali su korelirati ekspresiju proteina s ekspresijom RNA u uzorcima karcinoma pločastih stanica glave i vrata i

zdrave sluznice jednjaka, prilikom čega su koristili metode mikropostroja cDNA (engl. cDNA microarray), lančanu reakciju polimerazom uz reverznu transkriptazu (RT-PCR) i nekoliko metoda masene spektrometrije, primarno SELDI-TOF-MS (engl. Surface-enhanced laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry). Uspjeli su identificirati proteine kalgranulin A i B i aneksin I i II kao potencijalne biomarkere koji su potisnuti u karcinomu pločastih stanica glave i vrata. U našoj studiji međutim u karcinomu je identificiran još jedan protein iz grupe aneksina, aneksin V, čija uloga i pojačana prisutnost je već ranije dokazana u papilarnom karcinomu štitnjače (126) i u karcinomu gušterače (127). Aneksin V veže se s visokim afinitetom na fosfatidil-serin koji je izražen na staničnoj membrani prilikom stanične smrti (apoptoze, nekroze, autofagije, mitotičkih katastrofa) (128) te bi se stoga njegova ekspresija mogla koristiti za praćenje stanične smrti nakon protutumorske terapije. Svakako bi prilikom takve primjene ekspresije aneksina V trebalo uzeti u obzir da se agresivnost tumora pogrešno ne interpretira kao uspjeh terapije s obzirom da agresivniji tumori imaju bržu izmjenu stanica (128). Naši rezultati masene spektrometrije kojima je aneksin V identificiran samo u skupini promijenjene sluznice uzoraka karcinoma oprečni su rezultatima Wanga i sur. (92) koji su u uzorcima leukoplakije i oralnog karcinoma pločastih stanica pronašli sniženu ekspresiju ovog oblika aneksina. S obzirom da smo ovaj tip aneksina našli jedino u promijenjenoj sluznici pacijenata s karcinomom, mogao bi biti biomarker zloćudnosti za oralne lezije što bi trebalo provjeriti na većem uzorku pacijenata s karcinomom pločastih stanica glave i vrata.

Zanimljivo je kako su u tkivima lihena i karcinoma pronađeni različiti tipovi galektina (galektin-1 u tkivu karcinoma, galektin-7 u tkivu lihena) čija se uloga u karcinomima također istražuje. Galektini su široko rasprostranjeni proteini koji vežu ugljikohidrate i imaju afinitet za oblik glikana koji se nalazi na staničnoj površini i na proteinima izvanstaničnog matriksa (129). Dosad je poznato 15 članova ove obitelji koji imaju različite uloge (130). Naš je rezultat u skladu s literaturnim podacima. Tako je primjerice nedvojbena uloga galektina-1 već utvrđena u procesu angiogeneze (131) koja je ključni korak u brojnim patofiziološkim procesima i u širenju tumora, u upali i koagulaciji (132) te u ometanju imunološkog odgovora posredovanog T limfocitima (133) čime omogućuju opstanak tumora usprkos imunološkom sustavu organizma. Pojačana ekspresija galektina-1 nađena je i u endotelnim stanicama različitih vrsta tumora - oralnog karcinoma (134), karcinoma kolona (135, 136), pluća (137), prostate (138, 139), mozga (140), bubrega (141), cerviksa (142) te dojke (143). Pojačana ekspresija galektina-1 korelira s uznapređovalim stupnjem tumora žučnog mjehura (144) i dojke (143), a povezuje se i s rezistencijom melanoma na kemo- i radioterapiju (145, 146).



Nasuprot galektinu-1, u lihenima smo identificirali galektin-7, koji je u literaturi opisan u kontekstu karcinoma pločastih stanica jednjaka (147), čime bi naš rezultat mogao ići u prilog potencijalnom zloćudnom potencijalu lihena. Literaturni podatci za galektin-7 navode povezanost s povećanim metastatskim potencijalom karcinoma dojke i otpornošću na apoptozu (148). Čini se međutim da je njegova uloga potpuno drugačija s obzirom na vrstu tumora te je primjerice pojačana ekspresija galektina-7 povezana i s boljim odgovorom na radioterapiju karcinoma cerviksa, a time i boljom prognozom (149). Slično, povećana ekspresija galektina-7 povezana je i sa smanjenom proliferacijom i migracijom karcinomskih stanica želuca, dok se snižena ekspresija galektina-7 povezuje s uznapredovalim TNM stadijem karcinoma želuca i lošijim preživljenjem (150). Poznato je da na ekspresiju i lokalizaciju endotelnih galektina mogu utjecati različiti čimbenici kao što je hipoksija (151, 152), komponente izvanstaničnog matriksa, interakcije endotelnih stanica s tumorskim ili upalnim stanicama (153–155) te različiti oblici modifikacije proteinske strukture galektina (156–158). U tom je kontekstu još zanimljiviji proteomski nalaz galektina-1 samo u promijenjenom tkivu karcinoma s obzirom da se radi o proteinu koji veže ugljikohidrate i čija je sekrecija pojačana tijekom hipoksije te je povezana s agresivnošću tumora, angiogenezom i apoptozom T-limfocita (159). Stoga možemo zaključiti kako galektin-1 može biti biomarker malignosti lezije usne šupljine.

Nadalje, čitav niz proteina izvanstaničnog matriksa (tablica 14) koje smo identificirali masenom spektrometrijom, poput primjerice lumikana, biglikana, raznih tipova kolagena, dekorina posljednjih godina sve su zanimljiviji u kontekstu razumijevanja maligne transformacije. Radi se o malim proteoglikanima bogatima leucinom (engl. small leucine-rich proteoglycans, SLRP) koji imaju različite biološke funkcije. Sudjeluju u unutarstaničnoj fosforilaciji koja je nužna u prijenosu staničnog odgovora te regulaciji različitih puteva reguliranih članovima koštanih morfogenetskih proteina (engl. bone morphogenetic protein, BMP), transformirajućeg čimbenika rasta (engl. transforming growth factor, TGF), receptorima tirozin-kinaze i Toll-like receptora te receptorom inzulinu sličnog čimbenika rasta (96). Mutacije gena koji kodiraju za ove proteine dovode do niza patoloških promjena poput primjerice fragilnosti kože, osteoporoze, kardiovaskularnih bolesti (160, 161), renalne fibroze (162), poremećaja u razvoju rožnice (163) i drugih bolesti. Smatra se stoga kako važnu ulogu u razvoju tumora imaju upravo promjene u izvanstaničnom matriksu i proteoglikanima.

U našim uzorcima dekorin je pronađen u promijenjenoj sluznici oralnog lihena te promijenjenoj i pripadajućoj naizgled nepromijenjenoj sluznici uzoraka karcinoma. Pretraživanjem literature nismo našli podatke o ekspresiji dekorina u lezijama oralnog lihena planusa pa je ovo originalan

rezultat. Ekspresija dekorina istraživana je u lezijama leukoplakije, oralne submukozne fibroze i karcinoma pločastih stanica te su rezultati pokazali ekspresiju dekorina u 74 % oralnih potencijalno zloćudnih lezija, 51% oralnih karcinoma pločastih stanica i 56% kontrolnih zdravih sluznica (97). Autori su zaključili da smanjena ekspresija dekorina korelira s lošijim preživljenjem od ovog oblika karcinoma. Banerjee i sur. (102) pronašli su aberantnu ekspresiju i lokalizaciju dekorina u displastičnim oralnim potencijalno zloćudnim promjenama i u oralnom karcinomu pločastih stanica. Noviji rezultati navode da je ekspresija dekorina značajno povećana u staničnim linijama oralnog karcinoma pločastih stanica koje su otporne na kemoterapiju. Naime, utišavanjem gena koji kodira za dekorin došlo je do povećane osjetljivosti stanica na predlijek 5-fluorouracila, tegafur (164). Ovakvi podaci mogli bi se primijeniti u određivanju skupine pacijenata pogodnih za određeni oblik kemoterapije, ili pak u poboljšanju odgovora karcinoma na kemoterapiju. S obzirom da je u našim uzorcima dekorin identificiran u oralnom lihenom i karcinomu, no njegova ekspresija nije kvantificirana, na temelju toga nalaza možemo pretpostaviti da se naši pacijenti s karcinomom i s oralnim lihenom ne bi smjeli liječiti 5-fluorouracilom zbog moguće kemorezistencije.

Još jedna od komponenti izvanstaničnog matriksa koju smo identificirali u istraženim lezijama usne šupljine su različiti tipovi kolagena. Diferencijalno eksprimirani tip kolagena u promijenjenoj sluznici lihenom u usporedbi s pripadajućom nepromijenjenom sluznicom bio je (1) kolagen tipa I  $\alpha 1$ ; (2) Kolagen tipa VI  $\alpha 2$  u nepromijenjenoj sluznici pacijenata s lihenom; (3) Kolagen XIV  $\alpha 1$  u tkivu karcinoma za razliku od tipa kolagena VI  $\alpha 3$  u pripadajućoj nepromijenjenoj sluznici; (4) u uzorcima zdrave sluznice u usporedbi s nepromijenjenom sluznicom pacijenata s lihenom i karcinomom kolagen tipa VI  $\alpha 3$ ; (5) u nepromijenjenoj sluznici lihenom i karcinoma utvrđen kolagen tipa VI  $\alpha 1$  i  $\alpha 2$ , te (6) u svim uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom u usporedbi s promijenjenom sluznicom pacijenata s lihenom kolagen tipa I  $\alpha 2$ , VI  $\alpha 1$  i  $\alpha 2$  te XIV  $\alpha 1$ .

Prema podacima Natarajana i sur. (93), pojačana ekspresija kolagena tipa I i II već je utvrđena u karcinomu glave i vrata što je u skladu s rezultatima ove studije. O kolagenu tipa VI također postoje podaci u literaturi pa je tako istražena njegova uloga u različitim vrstama tumora. Zbog svog snažnog stimulativnog učinka na rast povezuje se s agresivnim ponašanjem tumora (165). Kolagen tipa VI ima važnu ulogu u očuvanju integriteta tkiva s obzirom da zbog svoje strukture može ulaziti u interakcije s ostalim komponentama matriksa kao što su biglikan, dekorin, hijaluronska kiselina, heparin sulfat te tipovi kolagena I i IV (166). Pretpostavlja se kako je interakcija kolagena VI s dekorinom odgovorna za nastanak otpornosti karcinoma na kemotera-

piju (165). Pojačana ekspresija ovog tipa kolagena zamijećena je u adenokarcinomu i karcinomu pločastih stanica pluća (166) te u karcinomu pločastih stanica jednjaka (167) i u karcinomima gušterače (168) što možemo povezati s našim nalazom kolagena tipa VI u svim uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom u usporedbi s promijenjenom sluznicom pacijenata s lihenom. Pojačana ekspresija alfa-1 lanca kolagena tipa VI koji je u našim uzorcima diferencijalno eksprimiran u karcinomima i pripadajućoj nepromijenjenoj sluznici povezuje se s lošijim ishodom i uznapređovanim stupnjem glioblastoma (169). Ovaj bi oblik kolagena mogao biti dobar novi marker zloćudnog potencijala oralnog karcinoma. Pojačana ekspresija alfa-3 lanca kolagena tipa VI koji je u našim uzorcima izoliran u tkivu lihena i pripadajućoj nepromijenjenoj sluznici, nepromijenjenoj sluznici karcinoma i zdravoj sluznici povezuje s uznapređovanim stupnjem karcinoma gušterače (168). Naši rezultati pokazali su prisutnost kolagena tipa XIV  $\alpha 1$  u uzorcima karcinoma, no uloga ovog tipa kolagena u karcinogenezi je slabo istražena te možemo samo pretpostaviti kako je identifikacija ovog kolagena u vezi s malignošću lezije ili patoloških promjenama tkiva. Naime, Paolo i sur. (170) identificirali su ovaj tip kolagena u dva od tri uzorka kroničnog pankreatitisa, a povišena ekspresija ovog tipa kolagena zamijećena je i u fibrozi jetre (171, 172).

Nadalje, u našim uzorcima biglikan je masenom spektrometrijom identificiran samo u naizgled nepromijenjenoj sluznici uzoraka karcinoma, dok je pomoću metode Western blot identificiran u gotovo svim uzorcima, osim u jednom uzorku zdrave sluznice i u dva uzorka promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom. Ovi rezultati pokazuju i prednosti i mane korištenih metoda koje smo koristili prilikom istraživanja; naime, masena spektrometrija detektira proteine na razini peptida i izoformnih oblika pa stoga nisu uvijek prepoznati proteini koji su detektibilni drugim metodama. U ostalim uzorcima primjenom Western blota najveći intenzitet biglikana primijećen je u promijenjenoj i naizgled nepromijenjenoj sluznici pacijenata s oralnim lihenom planusom. S obzirom da pretraživanjem literature nisu nađeni podatci o prisutnosti i ulozi biglikana u oralnim potencijalno zloćudnim promjenama niti u ostalim potencijalno zloćudnim promjenama, ovaj nalaz možemo povezati s ulogom biglikana u upalnim procesima koja je već istraživana u literaturi. Naš nalaz biglikana možemo povezati s upalnim procesima za koje je poznato da su prisutni u lihenu, a s obzirom na ekspresiju biglikana u tri uzorka zdrave sluznice, moguće je zaključiti o početnim upalnim procesima u ta tri uzorka zdrave sluznice. Biglikan sudjeluje u regulaciji upalnih procesa, vezanjem na unutrašnje imunološke receptore 2 i 4 (engl. Toll-like receptor 2 i 4) u makrofazima čime potiče ekspresiju upalnih medijatora TNF $\alpha$  i analoga murinskog interleukina-8 (MIP2) (173). Njegova uloga istražena je u upalnim procesima

bubrega i pluća (174). Sintetiziraju ga i izlučuju aktivirani makrofazi. Smatra se potencijalnim biomarkerom ili potencijalnom metom lijekova u liječenju upalnih bolesti, s obzirom da se pokazalo da povišena koncentracija biglikana u cirkulaciji i tkivu bubrega korelira s lošijom bubrežnom funkcijom i lošijim ishodom upalnih bubrežnih bolesti (175).

Biglikan, kao i ostali pripadnici obitelji malih proteoglikana bogatih leucinom, ima različite uloge u različitim tkivima. Nužan je i u pravilnom razvoju kolagenih vlakana i diferencijaciji stanica kostura, sudjeluje u aktivnosti receptora koštanog morfogenetskog proteina (BMP) i transformirajućeg čimbenika rasta (TGF) (176). Izražen je u periodontalnom ligamentu, alveolarnoj kosti i veznom mjestu periodontalnog ligamenta na cement. Njegova uloga u razvoju ovih tkiva istražena je uz pomoć genetski modificiranih miševa koji su uz nedostatak biglikana pokazali proširenu parodontnu pukotinu (177). Kombinirani manjak biglikana i nekog od drugih malih proteoglikana bogatih leucinom doveo je i do većih defekata u razvoju potpornih i vezivnih tkiva, kao što je osteoartritis, promjene u kolagenim vlaknima tetiva, ektopična osifikacija tetiva itd. (178). Važno je naglasiti da proteini/članovi obitelji malih proteoglikana bogatih leucinom mogu međusobno nadomještati gubitak funkcije pa tako u odsutnosti nekog proteina, drugi protein iz istog razreda donekle ili potpuno preuzima njegovu ulogu, što možemo vidjeti na primjeru biglikana i dekorina. Također, isti članovi obitelji malih proteoglikana bogatih leucinom mogu imati različite uloge u različitim tkivima ili čak vrstama.

Što se tiče ekspresije lumikana u oralnim potencijalno zloćudnim lezijama, pretraživanjem literature nisu nađeni takvi podatci niti podatci o ekspresiji lumikana u ostalim potencijalno zloćudnim lezijama, stoga rezultat ove studije koji nije pokazao značajnu razliku u ekspresiji lumikana u svim istraženim lezijama i kontrolnim sluznicama govori u prilog tomu da se radi o konstitutivnom proteinu ECM koji možda nadomjesti funkciju biglikana čija se ekspresija mijenja u različitim lezijama oralne sluznice. Literaturni podatci o ekspresiji lumikana u karcinomu glave i vrata su vrlo oskudni. Pronašli smo samo jedan rad u kojem je gen za lumikan jedan od pet identificiranih gena (LUM, PDE3B, PDGF-C, NRG1 i PKD2) koji su najjače diferencijalno eksprimirani u karcinomu pločastih stanica glave i vrata koji je rezistentan na liječenje kemoterapeutikom cisplatinom (179). Zanimljivo je da se pojačana ekspresija tih pet gena, pojedinačna ili grupna, pokazala prediktivnom za odgovor na kombiniranu kemoterapiju karcinoma pločastih stanica glave i vrata temeljenu na cisplatinu, prilikom čega se lumikan pokazao kao potencijalni biomarker za ovu vrstu kemoterapije. Iako je stečena rezistencija na cisplatin višezročna, ovakvi podatci mogu pomoći u razvoju individualizirane kemoterapije karcinoma pločastih stanica glave i vrata i pomoći u razjašnjavanju mehanizama nastanka

rezistencije na kemoterapeutike. Uz pomoć ovog istraživanja mogli bi objasniti prisutnost lumikana u dva od tri uzorka karcinoma i zaključiti da se pacijenti s karcinomom pločastih stanica glave i vrata u kojima je dokazana ekspresija lumikana ne trebali liječiti kemoterapeutikom cisplatinom s obzirom na mogućnost rezistencije na ovu vrstu terapije.

Međutim, prema podacima dobivenim analizom tablica s popisom proteina specifičnih za pojedinu dijagnozu, u patogenezi lihena i karcinoma oralne sluznice izuzetno važnu ulogu pouzdano imaju ostali identificirani strukturni proteini, osobito citoskeletni keratini i vimentin, koji su u literaturi proučavani i u okviru epitelno-mezenhimalne tranzicije u kontekstu tumora.

U našim uzorcima, vimentin je očekivano identificiran kao zajednički protein svim skupinama uzoraka s obzirom da se radi o važnom strukturnom proteinu mezenhimalnih (diferenciranih) stanica. Uloga vimentina u oralnoj sluznici i karcinogenezi oralnih karcinoma međutim, nije razjašnjena iako je njegova uloga zajedno s citokeratinima utvrđena u benignim oralnim lezijama (180). Podatci iz literature govore nam da u karcinomima pločastih stanica glave i vrata ekspresija vimentina može varirati, ovisno o staničnoj liniji karcinoma, što ukazuje da se oralna karcinogeneza može odvijati preko različitih proteinskih puteva. Naime, Sudha i sur. (181) analizirali su proteine dvije stanične linije karcinoma pločastih stanica glave i vrata, SCC-25 i FaDu uz pomoć masene spektrometrije. Izdvojili su 90 peptidnih iona u kojima se, s visokim stupnjem točnosti na temelju razlika u proteomu mogu razlikovati vrste analiziranih staničnih linija. Među identificiranim peptidima, šest peptida odnosi se na vimentin i njegove izoforme, a četiri na aneksin II i njegove fragmente, pri čemu su oba peptida bila jače izražena u staničnoj liniji SCC-25. Poznato je da je pojačana ekspresija vimentina preduvjet za sazrijevanje invadopodija koje potom dovode do degradacije ECM, omogućujući invaziju stanica tijekom metastaziranja (182) te je pojačana ekspresija ovog proteina proučavana kao mogući biomarker EMT u karcinomima dojke (183), jednjaka (184), cerviksa (185) i prostate (186). Pojačana ekspresija vimentina se pak povezuje se s recidivima oralnih karcinoma pločastih stanica (187) te rezultati našeg istraživanja kojima je vimentin identificiran u svim skupinama uzoraka moguće ukazuju na postojeći maligni potencijal svih analiziranih skupina uzoraka ili pak govore o tomu da vimentin ne možemo pouzdano koristiti kao biomarker maligne transformacije.

Što se tiče citoskeletnih keratina koji su u našim uzorcima bili zastupljeni u velikom broju, u tkivu lihena identificirani su citoskeletni keratini 1, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 19 (tip I) te 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 73, 78 (tip II) (tablica 14 i podatci u prilogu disertacije), dok su svim uzorcima

karcinoma bili zajednički citoskeletni keratini 1, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 17 (tip I) te 2, 3, 4, 5, 6B, 78 (tip II) (tablica 14 i podatci u prilogu). U odnosu na pripadajuću nepromijenjenu sluznicu kod lihen su bili eksprimirani citoskeletni keratin 9, 15, 19 (tip I) te 2, 3, 6B, 73, 78 (tip II) (tablica 9), dok su kod karcinoma bili eksprimirani citoskeletni keratin 17 (tip I), 2 i 6B (tip II), a u pripadajućoj nepromijenjenoj sluznici citoskeletni keratin 1 i 19 (tip I) i 73 (tip II) (tablica 10). Naš rezultat stoga se dijelom podudara s rezultatom Bakera i sur. (188) koji su prilikom usporedbe ekspresije proteina u pet uzoraka karcinoma pločastih stanica jezika i pripadajuće zdrave sluznice pokazali smanjenu ekspresiju staničnih strukturalnih proteina kao što su citoskeletni keratini 13, 19 i 6c u uzorcima karcinoma u odnosu na pripadajuću zdravu sluznicu, što su potvrdili i rezultati drugih autora. Smatra se da smanjena ekspresija citoskeletnih keratina korelira sa slabijom diferencijacijom karcinoma pločastih stanica (189). Svoja zapažanja ovi autori su potvrdili genskom analizom uzoraka pločastog karcinoma glave i vrata, gdje su primijetili prisutnost mRNA keratina 13 u zdravoj sluznici za razliku od tumorskog tkiva te su zaključili da bi se keratin 13 (i/ili 19) mogao koristiti kao klinički marker za određivanje kirurškog ruba lezije. Naši rezultati su komparabilni s rezultatima Bakera i suradnika (188) u smislu da smo također pronašli diferencijalno eksprimirane keratine 1 i 19 (tip I), uz keratin 73 (tip II), u nepromijenjenoj sluznici pacijenata s karcinomom pločastih stanica glave i vrata u usporedbi s tumorskim tkivom što ukazuje da bi se keratin 19 (tip I) mogao upotrijebiti kao biomarker za određivanje granice kirurškog ruba lezije.

Roesch-Ely i sur. (91) pokazali su da značajke proteomskog profila karcinoma pločastih stanica glave i vrata mogu biti prisutne i u histološki normalnoj sluznici uz tumor te u sluznici udaljenoj od tumora, čime bi nalaz ovakvog profila mogao imati prognostičku ulogu u predviđanju rekurentne bolesti. Naši rezultati proteomske analize također su pokazali sličnosti proteomskog profila promijenjene u usporedbi s pripadajućom naizgled nepromijenjenom sluznicom pacijenata s lihenom i karcinomom. Uzorci liheni pokazali su podudarnost s pripadajućom nepromijenjenom sluznicom u raznim oblicima citoskeletnih keratina i kolagena, prisutnosti lumikana, vimentina i aneksina, proteinima toplinskog šoka, različitim enzimima uključenima u metaboličke procese, proteinima koji vežu masne kiseline, ribosomskim proteinima i histonima. Uzorci karcinoma pokazali su sličnost s pripadajućom nepromijenjenom sluznicom također u raznim oblicima citoskeletnih keratina i kolagena, prisutnosti lumikana, aneksina i galektina-1, proteinima toplinskog šoka, različitim enzimima uključenima u metaboličke procese, proteinima koji vežu masne kiseline, ribosomskim proteinima i histonima.

Proteini toplinskog šoka (engl. heat shock protein, Hsp) identificirani su u uzorcima promijenjene u usporedbi s pripadajućom naizgled nepromijenjenom sluznicom oralnog lihena i karcinoma pločastih stanica. Baker i sur. (188) identificirali su proteine toplinskog šoka Hsp70 kDa i Hsp 90 kDa kao pojačano eksprimirane u tumorskom tkivu za razliku od zdravog tkiva. Naši rezultati pokazuju kako je Hsp70 kDa eksprimiran u tkivu lihena i karcinoma te pripadajuće nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom i karcinomom (tablica 14. i prilog disertacije) dok je Hsp 90 kDa eksprimiran u svim analiziranim skupinama uzoraka (tablica 14. i prilog disertacije). Stoga se prisutnost ovih proteina ne može koristiti kao indikacija malignosti ili promjene tkiva, no ukazuje na moguća promijenjena stanja homeostaze u tkivima općenito. Zanimljivo je kako smo u ovoj studiji identificirali i Hsp  $\beta$ 1 (tablica 14. i prilog disertacije) koji je bio eksprimiran u tkivima karcinoma i okolnoj nepromijenjenoj sluznici te nepromijenjenoj sluznici pacijenata s lihenom i u zdravoj sluznici, ali ne i u tkivima lihena. Hsp $\beta$ 1 je uključen u procese zaštite od stresa i citoskeletne promjene (190). Literaturni podatci pokazali su da pojačana ekspresija ovog proteina u tumorskom tkivu štiti od apoptoze i potiče proliferaciju (191), potiče stvaranje metastaza (192) i otpornost na kemoterapiju (193–195). Choi i sur. (196) pokazali su da je ekspresija ovog proteina izravno povezana s otpornošću kolorektalnog karcinoma na kemoterapiju irinitekanom te da se njegovom inhibicijom može smanjiti rezistencija tumorskih stanica na terapiju. Nekoliko autora istraživalo je ulogu ovog proteina u fibrogenezi. Pojačana ekspresija Hsp  $\beta$ 1 dokazana je u plućnoj fibrozi (197) te su autori zaključili da je njegova aktivacija povezana s proliferacijom i migracijom epitelnih stanica koja se događa tijekom nastanka plućne fibroze, za razliku od drugih autora koji su uočili pojačanu ekspresiju Hsp $\beta$ 1 u bubrežnoj fibrozi (198) te su zaključili da pojačana ekspresija ovog proteina ima zaštitnu ulogu protiv fibroze, usporavajući njen razvoj i epitelno-mezenhimalnu tranziciju. Rezultati Vidyasagara i sur. (198) mogli bi ići u prilog našim rezultatima, odnosno mogli bismo pretpostaviti da izostanak identifikacije ovog proteina u uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s lihenom možemo povezati s pojačanom keratinizacijom tkiva lihena. Također, s obzirom na ranije pokazanu aktivnost apoptotičnih proteina u tkivima lihena, možemo zaključiti da je, s obzirom na anti-apoptotičnu aktivnost Hsp  $\beta$ 1, i to razlog što nije identificiran u ovim uzorcima.

Također, u promijenjenoj i naizgled nepromijenjenoj sluznici pacijenata s lihenom te u naizgled nepromijenjenoj sluznici pacijenata s karcinomom identificiran je i biomarker patološkog stresa alfa-enolaza. To je višefunkcijski protein čija pojačana ekspresija je primijećena u različitim oblicima karcinoma (pluća (199), kolona (200), akutnoj mijeloičnoj leukemiji (201)), ali i u nekim kroničnim autoimunim bolestima (npr. reumatoidnom artritisu (202), sistemskoj sklerozi

(203), primarnim nefropatijama (204)). Jedna od istraženih uloga alfa-enolaze je aktivacija sustava plazminogena čime potiče aktivnost izvanstaničnih proteaza i preoblikovanje izvanstaničnog matriksa, omogućujući time migraciju, adheziju i proliferaciju tumorskih stanica (205). Alfa-enolaza je i ključni glikolitički enzim čija aktivacija omogućuje promjenu metabolizma glukoze u anaerobnim uvjetima, tzv. Warburgov efekt (205). Pojačana ekspresija alfa-enolaze u karcinomu glave i vrata povezuje se i s lošijom prognozom ove vrste tumora (206), stoga bi odsutnost ekspresije alfa-enolaze u tkivu naših pacijenata s karcinomom glave i vrata mogli smatrati dobrim prognostičkim čimbenikom. Dokumentirano je da smanjena ekspresija alfa-enolaze povećava osjetljivost karcinoma na određene kemoterapeutike (207) i smanjuje invazivnost stanica folikularnog karcinoma štitnjače (208). Naš nalaz alfa-enolaze u tkivu pacijenata s lihenom mogao bi se usporediti s primijećenom pojačanom ekspresijom alfa-enolaze u drugim autoimunim kroničnim bolestima gdje, kao i neki drugi glikolitički enzimi poput glukoza-fosfat izomeraze i aldolaze, djeluje kao autoantigen potičući autoimunu reakciju (209). Autoantitijela na alfa-enolazu mogu se vrlo rano otkriti u serumu pacijenata s reumatoidnim artritisom te imaju potencijalnu dijagnostičku i prognostičku ulogu (210).

Svi ovi rezultati koji uključuju i identificirane proteine u naizgled nepromijenjenoj oralnoj sluznici oko lezija, jasno ukazuje na fiziološku vezu koja postoji između tumora i okolnog tkiva i koju bi trebalo uzeti u obzir kod procjene razvoja bolesti i prognoze.

Nasuprot sličnostima između promijenjenog tkiva i okolnog, promjenama nezahvaćenog tkiva, diferencijalno eksprimirani proteini u promijenjenoj sluznici pacijenata s lihenom jasno ukazuju na citoskeletne promjene (npr. keratin, miozin, plektin), keratinizaciju (npr. involucrin, periplakin, mali protein bogat prolinom), morfogenezu (npr. periplakin), apoptozu (npr. prelamin, galektin-7), staničnu signalizaciju (npr. dekorin, plakoglobin, profilin, miozin), osobito preko kalcijevih iona (npr. kalmodulin), za razliku od promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom gdje je, osim citoskeletnih promjena i promjena u keratinizaciji, potaknut i odgovor na stres na što ukazuju proteini toplinskog šoka te je vidljiva promjena u metabolizmu ugljikohidrata na što ukazuju metabolički enzimi poput primjerice gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaze i dekarboksilirajuće-6-fosfoglukonat dehidrogenaze, promjena u procesima prijenosa željeza (npr. sero-transferin, hemoglobin) i promjena u ekspresiji proteina uključenih u epitelno-mezenhimalnu tranziciju (npr. citoskeletni keratini, kolagen, lumikan). Vrlo važna razlika u nepromijenjenoj sluznici koje okružuje lihene u odnosu na nepromijenjenu sluznicu pacijenata s karcinomom je upravo prisutnost protu-apoptotičkih proteina odnosno proteina koji sudjeluju u staničnoj proliferaciji (glutation-S-transferaza, alfa-aktinin, aktin, endoplazmin) te prisutnost proteina



angiogeneze (inhibitor ribonukleaze, apolipoprotein, aneksin) i proteina epitelno-mezenhimalne tranzicije (aneksin, citoskeletni keratin, kolagen). Ovo je i glavna razlika između liheni i karcinoma- u lihenima je vidljiva aktivnost proteina uključenih u apoptozu čime je i zloćudni potencijal liheni manji, za razliku od karcinoma gdje je vjerojatno potaknuta aktivnost protu-apoptičnih proteina koji potiču proliferaciju.

Usporedbom ekspresije proteina u uzorcima promijenjene sluznice, pripadajućeg kontrolnog tkiva i zdrave sluznice pacijenata bez oralnih promjena identificirali smo široki spektar proteina koji bi mogli pridonijeti razumijevanju molekularnih puteva oralne karcinogeneze, no za eventualni pronalazak biomarkera potrebna su daljnja istraživanja i potvrda rezultata na većem broju uzoraka. Rezultati našeg istraživanja su pokazali kako korištenje metoda proteomike može doprinijeti prepoznavanju kliničkih molekularnih markera za bolesti i novih potencijalnih terapijskih ciljeva za potencijalno zloćudne i zloćudne promjene.



1. Imunohistokemijska analiza ekspresije IGF2 i IGF2R pokazala je statistički značajnu razliku u postotku ekspresije IGF2 i intenzitetu ekspresije IGF2R u populaciji zdravih u odnosu na pacijente s potencijalno zloćudnim lezijama oralnog lihena i leukoplakije te rakom pločastih stanica glave i vrata. Rezultati koji se tiču postotka ekspresije IGF2 su jedinstveni u literaturi. Postotak ekspresije IGF2 mogao bi se koristiti kao biomarker za procjenu odsutnosti zloćudnih promjena.
- 2a. Proteomsko profiliranje lezija oralnog lihena i karcinoma usne šupljine pločastih stanica pokazalo je djelomično preklapanje proteomskog profila ekspresije na što ukazuje zajednička ekspresija 88 proteina uzoraka karcinoma te 62 proteina uzoraka lihena u odnosu na pripadajuću naizgled nepromijenjenu sluznicu istih pacijenata, te 39 proteina zdrave sluznice i naizgled nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom i karcinomom.
- 2b. U uzorcima lihena diferencijalno su eksprimirani proteini: citoskeletnih promjena (keratin 9, 15, 19 (tip I) i 2, 3, 6B, 73, 78 (tip II); miozin 9 i 11, plektin), keratinizacije (involukrin, periplakin, mali protein 3 bogat prolinom), morfogeneze (periplakin), stanične signalizacije (dekorin, plakoglobin, profilin, miozin) i indukcije apoptoze (prelamin, galektin-7). Ekspresija pro-apoptičkih proteina upućuje na manji zloćudni potencijal lihena, za razliku od tkiva karcinoma.
- 2c. U uzorcima karcinoma diferencijalno su eksprimirani proteini: regulatori odgovora stanice na stres (proteini toplinskog šoka 60 kDa, 71 kDa, beta-1, 90-alfa), metabolički enzimi (enzimi metabolizma ugljikohidrata – gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza, dekarboksilirajuća-6-fosfoglukonat dehidrogenaza), prijenosni proteini željeza (serotransferin, hemoglobin), proteini uključeni u epitelno-mezenhimalnu tranziciju (citoskeletni keratini 17 (tip I), 2, 3, 6B (tip II), kolagen tipa XIV alfa-1, kolagen tipa I alfa-2, kolagen tipa VI alfa-1, lumikan) te protu-apoptički proteini (glutation-S-transferaza, alfa-aktinin, aktin, endoplazmin) koji sudjeluju u staničnoj proliferaciji i reguliranju angiogeneze (inhibitor ribonukleaze, apolipoprotein, aneksin V) što ukazuje na veći zloćudni potencijal ovih lezija.
- 2d. Aneksin V i galektin-1 u našem istraživanju pokazali su se kao mogući biomarkeri oralnog karcinoma, s obzirom da su identificirani samo u promijenjenom tkivu karcinoma u usporedbi s ostalim skupinama uzoraka.

- 2e. Alfa-1 lanac kolagena tipa VI koji je u našim uzorcima diferencijalno eksprimiran u promijenjenoj i pripadajućoj nepromijenjenoj sluznici pacijenata s karcinomom mogao bi biti novi marker zloćudnog potencijala oralnog karcinoma.
3. Western blot se pokazao kao osjetljivija metoda od masene spektrometrije za dokazivanje ekspresije nekih proteina.

## **7. LITERATURA**

1. Feinberg A, Ohlsson R, Henikoff S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat Rev Genet.* 2006;7(1):21–33.
2. Pavelic K. Molekularno-genetička osnova raka. U: Šamija M i sur, urednik. *Onkologija.* Medicinska naklada; 2000. p. 19–25.
3. Rhiner C, Moreno E. Super competition as a possible mechanism to pioneer precancerous fields. *Carcinogenesis.* 2009;30(5):723–8.
4. Kaiser M, Johnson D, Wu P, Walker B, Brioli A, Mirabella F, i sur. Global methylation analysis identifies prognostically important epigenetically inactivated tumor suppressor genes in multiple myeloma. *Blood.* 2013;122(2):219–26.
5. Tian X, Zhang S, Liu H, Zhang Y, Blair C, Mercola D, i sur. Histone Lysine-Specific Methyltransferases and Demethylases in Carcinogenesis: New Targets for Cancer Therapy and Prevention. *Curr Cancer Drug Targets.* 2013;13(5):558–79.
6. Epstein J. Oral cancer. U: Edition T, urednik. *Burket's Oral medicine, Diagnosis and treatment.* Medicinska naklada; 2006. p. 194–234.
7. Kraljevic Pavelic S, Sedic M, Bosnjak H, Spaventi S, Pavelic K. Metastasis: new perspectives on an old problem. *Mol Cancer.* 2011;10:22.
8. Suvà M, Riggi N, Bernstein B. Epigenetic reprogramming in cancer. *Science (80- ).* 2013;339:1567–70.
9. Menendez J, Joven J, Cufí S, Corominas-Faja B, Oliveras-Ferraros C, Cuyàs E, i sur. The Warburg effect version 2.0: metabolic reprogramming of cancer stem cells. *Cell Cycle.* 2013;12(8):1166–79.
10. Menendez J, Alarcón T, Corominas-Faja B, Cuyàs E, López-Bonet E, Martin A, i sur. Xenopatients 2.0: reprogramming the epigenetic landscapes of patient-derived cancer genomes. *Cell Cycle.* 2014;13(3):358–70.
11. Campos- Sánchez E, Cobaleda C. Tumoral reprogramming: plasticity takes a walk on the wild side. *Biochim Biophys Acta.* 2014;pii: S1874–9399(14)00191–6.
12. Cuyàs E, Corominas-Faja B, Menendez J. The nutritional phenome of EMT- induced cancer stem-like cells. *Oncotarget.* 2014;5:3970–82.
13. Friedmann-Morvinski D, Verma I M. Dedifferentiation and reprogramming: origins of cancer stem cells. *EMBO Rep.* 2014;15:244–53.
14. Goding C, Pei D, Lu X. Cancer: pathological nuclear reprogramming? *Nat Rev Cancer.* 2014;14:568–73.
15. Menendez J, Joven J. Energy metabolism and metabolic sensors in stem cells: the metabostemcrossroads of aging and cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2014;824:117–40.

16. Vicente-Dueñas C, Hauer J, Ruiz-Roca L, Ingenhag D, Rodríguez-Meira A, Auer F, i sur. Tumoral stem cell reprogramming as a driver of cancer: theory, biological models, implications in cancer therapy. *Semin Cancer Biol.* 2014; doi:10.1016/j.semcancer.2014.02.001.
17. Chowdhury R, Yeoh K, Tian Y, Hillringhaus L, Bagg E, Rose N, i sur. The oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases. *EMBO Rep.* 2011;12:463–9.
18. Frezza C, Pollard P, Gottlieb E. Inborn and acquired metabolic defects in cancer. *J Mol Med.* 2011;89:213–20.
19. Yang M, Soga T, Pollard P, Adam J. The emerging role of fumarate as an oncometabolite. *Front Oncol.* 2012;2:85.
20. Yang M, Soga T, Pollard P. Oncometabolites: linking altered metabolism with cancer. *J Clin Invest.* 2013;123:3652–8.
21. Adam J, Yang M, Soga T, Pollard P. Rare insights into cancer biology. *Oncogene.* 2014;33:2547–56.
22. Menendez J, Alarcón T, Joven J. Gerometabolites: the pseudohypoxic aging side of cancer oncometabolites. *Cell Cycle.* 2014;13:699–709.
23. Wu L, Gomes A, Sinclair D. Geroncogenesis: metabolic changes during aging as a driver of tumorigenesis. *Cancer Cell.* 2014;25:12–9.
24. Menendez J, Alarcon T. Metabostemness: a new cancer hallmark. *Front Oncol.* 2014;4:262.
25. WHO. World Health Organization Classification of Tumours. U: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D E, urednici. Pathology & Genetics Head and Neck Tumours. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2005. p. 177–9.
26. Thompson P. Field change and oral cancer: new evidence for widespread carcinogenesis? *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31:262–6.
27. Bremmer J, Braakhuis B, Ruijter-Schippers M, Henrique J, Brink A, Duarte H, i sur. A noninvasive genetic screening test to detect oral preneoplastic lesions. *Lab Invest.* 2005;85(12):1481–8.
28. Warnakulasuriya S, Johnson N, van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med.* 2007; 36(10):575–80.
29. Lončar-Brzak B, Mravak-Stipetić M, Canjuga I, Baricević M, Balicević D, Sikora M, i sur. The frequency and malignant transformation rate of oral lichen planus and leukoplakia--a retrospective study. *Coll Antropol.* 2012;36(3):773–7.
30. Carrozzo M, Thorpe R. Oral lichen planus: a review. *Minerva Stomatol.* 2009;58:519–37.

31. Van der Waal I. Oral lichen planus and oral lichenoid lesions; a critical appraisal with emphasis on the diagnostic aspects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009;14(7):E310–4.
32. McCartan B, Healy C. The reported prevalence of oral lichen planus: a review and critique. *J Oral Pathol Med*. 2008;37:447–53.
33. Ismail S, Kumar S, Zain R. Oral lichen planus and lichenoid reactions : etiopathogenesis, diagnosis, management and malignant transformation. *J Oral Sci*. 2007;49(2):89–106.
34. Eisen D, Carrozzo M, Bagan Sebastian J-V, Thongprassom K. Number V Oral lichen planus: clinical features and management. *Oral Dis*. 2005;11(6):338–49.
35. Eisenberg E. Oral lichen planus: a benign lesion. *J Oral Maxillofac Surg*. 2000;58:1278–85.
36. Mattson U, Jontell M, Holmstrup P. Oral lichen planus and malignant transformation: is a recall of patients justified? *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13(5):390–6.
37. Krutchkoff D, Cutler L, Laskowski S. Oral lichen planus: the evidence regarding potential malignant transformation. *J Oral Pathol Med*. 1978;7:1–7.
38. Scully C, Beyli M, Ferreiro M, Ficarra G, Gill Y, Griffiths M, i sur. Update on oral lichen planus: etiopathogenesis and management. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998;9(1):86–122.
39. Van der Meij, EH, Schepman, K-P, Van der Waal I. The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: A prospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;96:164–71.
40. Rajentheran R, McLean N, Kelly C, Reed M, Nolan A. Malignant transformation of oral lichen planus. *Eur J Surg Oncol*. 1999;25:520–3.
41. Thongprasom K, Mravak-Stipetić M, Luckprom P, Canjuga I, Biočina-Lukenda D, Vidović-Juras D, i sur. Oral lichen planus: a retrospective comparative study between Thai and Croatian patients. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2009;17(1):2–8.
42. Gandolfo S, Richiardi L, Carozzo M, Broccoletti R, Carbone M, Pagano M, i sur. Risk of oral squamous cell carcinoma in 402 patients with oral lichen planus : a follow-up study in an Italian population. *Oral Oncol*. 2004;40(77-83).
43. Van der Waal I, Axell T. Oral leukoplakia: a proposal for uniform reporting. *Oral Oncol*. 2002;38:521–6.
44. Petti S. Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: a systematic review. *Oral Oncol*. 2003;39:770–80.
45. Neville B. Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer J Clin*. 2002;52:195–215.



46. Axell T, Pindborg JJ, Smith CJ, van der Waal I. Oral white lesions with special reference to precancerous and tobacco-related lesions: conclusions of an international symposium held in Uppsala, Sweden, May 18-21 1994. International Collaborative Group on Oral White Lesions. *J Oral Pathol Med.* 1996;25(2):49–54.
47. Bouquot J. Reviewing oral leukoplakia: clinical concepts for the 1990s. *J Am Dent Assoc.* 1991;122(6):80–2.
48. Payne T. Why are white lesions white? Observations on keratin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1975;40(5):652–8.
49. Schepmann K, van der Meij E, Smeele L, van der Waal I. Malignant transformation of oral leukoplakia : a follow up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia from The Netherlands. *Oral Oncol.* 1998;34:270–5.
50. Bhattacharyya I, Cohen D, Silverman JS. Crvene i bijele lezije sluznice usne šupljine. U: Greenberg MS, Glick M, urednici. *Burketova oralna medicina, dijagnoza i liječenje.* 10.izdanje. Medicinska naklada; 2006. str. 85–125.
51. Napier S, Speight P. Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature. *J Oral Pathol Med.* 2008;37:1–10.
52. Reibel J. Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003;14(1):47–62.
53. Warnakulasuriya S. Causes of oral cancer--an appraisal of controversies. *Brit Dent J.* Nature Publishing Group; 2009;207(10):471–5.
54. Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncol.* 2009;45:309–16.
55. Doshi Neena P, Shah Siddharth A, Patel Keyuri B, Jhabuawala Munira F. Histological grading of oral cancer: a comparison of different systems and their relation to lymph node metastasis. *Nat J Community Med.* 2011;2(1):136–42.
56. Huang C, Ou C, Lee W, Hsiao J, Tsai S, Wang J. Life expectancy and expected years of life lost to oral cancer in Taiwan: A nation-wide analysis of 22,024 cases followed for 10 years. *Oral Oncol.* 2015;pii: S1368:doi:10.1016/j.oraloncology.2015.01.001.
57. Gillenwater-Lipman, SM, Sudbo, J, Hong W. Oral cancer prevention and the evolution of molecular-targeted drug development. *J Clin Oncol.* 2005;23:346–56.
58. Banerjee, AG, Bhattacharyya, I, Vishwanatha J. Identification of genes and molecular pathways involved in the progression of premalignant oral epithelia. *Mol Cancer Ther.* 2005;4:865–75.
59. Pulte, D, Brenner H. Changes in survival in head and neck cancers in the late 20th and early 21st century: a period analysis. *Oncologist.* 2010;15(9):994–1001.

60. Peterson P. Oral cancer prevention and control-The approach of the World Health Organization. *Oral Oncol.* 2009;45:454–60.
61. Perry B, Zammit A, Lewandowski A, Bashford J, Dragovic A, Perry E, i sur. Sites of Origin of Oral Cavity Cancer in Nonsmokers vs Smokers: Possible Evidence of Dental Trauma Carcinogenesis and Its Importance Compared With Human Papillomavirus. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2014;141(1):5–11.
62. Scully C. Challenges in predicting which oral mucosal potentially malignant disease will progress to neoplasia. *Oral Dis.* 2014;20(1):1–5.
63. Andreff M, Goodvich D, Pardee A. *Cell Proliferation, Differentiation and Apoptosis. Cancer Medicine.* BC Decker, Canada; 2000.
64. Pavelic K, Buković D, Pavelić J. The role of insulin-like growth factor 2 and its receptors in human tumors. *Mol Med.* 2002;8(12):771–80.
65. Jamieson TA, Brizel DM, Killian JK, Oka Y, Jang H-S, Fu X, i sur. M6P/IGF2R loss of heterozygosity in head and neck cancer associated with poor patient prognosis. *BMC Cancer.* 2003;3:4.
66. Le Roith D. Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center. Insulin-like growth factors. *N Engl J Med.* 1997;336(9):633–40.
67. Zavras A, Pitiphat W, Wu T, Cartos V, Lam A, Douglass C, i sur. Insulin-Like Growth Factor II Receptor-Gene 167 Genotype Increases the Risk of Oral Squamous Cell Carcinoma in Humans. *Cancer Res.* 2003;63:296–7.
68. Kalla Singh, S, Tan, QW, Brito, C, De León, M, De León D. Insulin-like growth factors I and II receptors in the breast cancer survival disparity among African-American women. *Growth Horm IGF Res.* 2010;20(3):245–54.
69. Jang HS, Kang KM, Choi BO, Chai GY, Hong SC, Ha WS, i sur. Clinical significance of loss of heterozygosity for M6P/IGF2R in patients with primary hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2008;14(9):1394–8.
70. Kaur R, Nagpal J, Das B. Polymorphism in IGF-2 as a surrogate marker for predisposition towards tobacco chewing-mediated oral cancer. *Tumour Biol.* 2005;26(3):147–52.
71. Schiller H, Szekeres A, Binder B, Stockinger H, Leksa V. Mannose 6-Phosphate / Insulin-like Growth Factor 2 Receptor Limits Cell Invasion by Controlling alphaVbeta3 Integrin Expression and Proteolytic Processing of Urokinase-type Plasminogen Activator Receptor. *Mol Biol Cell.* 2009;20:745–56.
72. Papa V, Pezzino V, Constantino A, Belfiore A, Giuffrida D, Frittitta L, i sur. Elevated insulin receptor content in human breast cancer. *J Clin Invest.* 1990;86:1503–10.

73. Belfiore A, Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Vigneri R. Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease. *Endocr Rev.* 2009;30(6):586–623.
74. Belfiore A, Malaguarnera R. Insulin receptor and cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2011;18(4):R125–47.
75. Jones H, Gee J, Barrow D, Tonge D, Holloway B, Nicholson R. Inhibition of insulin receptor isoform-A signalling restores sensitivity to gefitinib in previously de novo resistant colon cancer cells. *Brit J Cancer.* 2006;95(2):172–80.
76. Tamburini J, Chapuis N, Bardet V, Park S, Sujobert P, Willems L, i sur. Mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibition activates phosphatidylinositol 3-kinase/Akt by up-regulating insulin-like growth factor-1 receptor signaling in acute myeloid leukemia: rationale for therapeutic inhibition of both pathways. *Blood.* 2008;111(1):379–82.
77. Hofmann F, García-Echeverría C. Blocking insulin-like growth factor-I receptor as a strategy for targeting cancer strategies to interfere with the function of IGF-IR will be discussed . *REVIEWS. Drug Discov Today.* 2005;10(15):1041–7.
78. Scotlandi K. Targeted therapies in Ewing’s sarcoma. *Adv Exp Med Biol.* 2006;587:13–22.
79. Moro-Sibilot, D, Coudurier, M, Lantuejoul S. Targeting insulin-like growth factors in the treatment of cancer. *Rev Mal Respir.* 2010;27:959–63.
80. Disis M, Gad E, Herendeen D, Lai V, Park K, Cecil D, i sur. A multiantigen vaccine targeting neu, IGFBP-2, and IGF-IR prevents tumor progression in mice with preinvasive breast disease. *Cancer Prev Res.* 2013;6(12):1273–82.
81. Miyamoto S, Nakamura M, Shitara K, Nakamura K, Ohki Y, Ishii G, i sur. Blockade of paracrine supply of insulin-like growth factors using neutralizing antibodies suppresses the liver metastasis of human colorectal cancers. *Clin Cancer Res.* 2005;11(9):3494–502.
82. Feng Y, Zhu Z, Xiao X, Choudhry V, Barrett J, Dimitrov D. Novel human monoclonal antibodies to insulin like growth factor (IGF)-II that potently inhibit the IGF receptor type I signal transduction function. *Mol Cancer Ther.* 2006;5:114–20.
83. Gao J, Chesebrough J, Carlidge S, Ricketts S, Incognito L, Veldman-Jones M, i sur. Dual IGF-I/II-neutralizing antibody MEDI-573 potently inhibits IGF signaling and tumor growth. *Cancer Res.* 2011;71(3):1029–40.
84. Singh B, Smith J, Axelrod D, Ameri P, Levitt H, Danoff A, i sur. Insulin-like growth factor-I inhibition with pasireotide decreases cell proliferation and increases apoptosis in pre-malignant lesions of the breast: a phase 1 proof of principle trial. *Breast Cancer Res.* 2014;16(6):463.

85. Boucher, J, Macotela, Y, Bezy, O, Mori, MA, Kriauciunas, K, Kahn C. A kinase-independent role for unoccupied insulin and IGF-1 receptors in the control of apoptosis. *Sci Signal*. 2010;3(151):ra87.
86. Grbesa I, Marinkovic M, Ivkic M, Kruslin B, Novak-Kujundzic R, Pegan B, i sur. Loss of imprinting of IGF2 and H19, loss of heterozygosity of IGF2R and CTCF, and *Helicobacter pylori* infection in laryngeal squamous cell carcinoma. *J Mol Med (Berl)*. 2008;86(9):1057–66.
87. McElholm A, McKnight A, Patterson C, Johnston B, Hardie L, Murray L. A population-based study of IGF axis polymorphisms and the esophageal inflammation, metaplasia, adenocarcinoma sequence. *Gastroenterology*. 2010;139(1):204–12.
88. Ong J, Salomon J, te Morsche R, Roelofs H, Witteman B, Dura P, i sur. Polymorphisms in the insulin-like growth factor axis are associated with gastrointestinal cancer. *PLoS One*. 2014;9(3):e90916.
89. Zhi X, Lamperska K, Golusinski P, Schork N, Luczewski L, Golusinski W, i sur. Expression levels of insulin-like growth factors 1 and 2 in head and neck squamous cell carcinoma. *Growth Horm IGF Res*. 2014;24(4):137–41.
90. Kotsinas A, Evangelou K, Sideridou M, Kotzamanis G, Constantinides C, Zavras AI, i sur. The 3' UTR IGF2R-A2/B2 variant is associated with increased tumor growth and advanced stages in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett*. 2008;259(2):177–85.
91. Roesch-Ely M, Nees M, Karsai S, Ruess A, Bogumil R, Warnken U, i sur. Proteomic analysis reveals successive aberrations in protein expression from healthy mucosa to invasive head and neck cancer. *Oncogene*. 2007;26:54–64.
92. Wang Z, Feng X, Liu X, Jiang L, Zeng X, Ji N, i sur. Involvement of potential pathways in malignant transformation from Oral Leukoplakia to Oral Squamous Cell Carcinoma revealed by proteomic analysis. *BMC Genomics*. 2009;10:383.
93. Natarajan J, Chandrashekar C, Radhakrishnan R. Critical biomarkers of epithelial-mesenchymal transition in the head and neck cancers. *J Can Res Ther*. 2014;10:512–8.
94. Agrawal U, Rai H, Jain A. Morphological and ultrastructural characteristics of extracellular matrix changes in oral squamous cell carcinoma. *Indian J Dent Res*. 2011;22:16–21.
95. Hwang Y, Park K, Cha I, Kim J, Chung W. Role of insulin-like growth factor-II mRNA-binding protein-3 in invadopodia formation and the growth of oral squamous cell carcinoma in athymic nude mice. *Head Neck*. 2012;34(9):1329–39.
96. Schaefer L, Iozzo R. Biological Functions of the Small Leucine-rich Proteoglycans: From Genetics to Signal Transduction. *J Biol Chem*. 2008;283(31):21305–9.

97. Nayak S, Goel M, Bhatia V, Chandra S, Makker A, Kumar S, i sur. Molecular and phenotypic expression of decorin as modulator of angiogenesis in human potentially malignant oral lesions and oral squamous cell carcinomas. *Indian J Pathol Microbiol.* 2013;56(3):204–10.
98. Yamatoji M, Kasamatsu A, Kouzu Y, Koike H, Sakamoto Y, Ogawara K, i sur. Dermatopontin: a potential predictor for metastasis of human oral cancer. *Int J Cancer.* 2012;130(12):2903–11.
99. Zhang S, Liu Q, Liu Z, Hua X. Expression of extracellular matrix glycoprotein tenascin in the laryngeal cancer. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi.* 2002;16(12):643–5.
100. Hindermann W, Berndt A, Borsi L, Luo X, Hyckel P, Katenkamp D, i sur. Synthesis and protein distribution of the unspliced large tenascin-C isoform in oral squamous cell carcinoma. *J Pathol.* 1999;189(4):475–80.
101. Gu M, Guan J, Zhao L, Ni K, Li X, Han Z. Correlation of ECM1 expression level with the pathogenesis and metastasis of laryngeal carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013;6(6):1132–7.
102. Banerjee A, Bhattacharyya I, Lydiatt W, Vishwanatha J. Aberrant expression and localization of decorin in human oral dysplasia and squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 2003;63(22):7769–76.
103. Giannelli G, Milillo L, Marinosci F, Lo Muzio L, Serpico R, Antonaci S. Altered expression of integrins and basement membrane proteins in malignant and pre-malignant lesions of oral mucosa. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2001;15(4):375–80.
104. Monti M, Orru S, Pagnozzi D, Pucci P. Interaction proteomics. *Biosci Rep.* 2005;25(1-2):45–56.
105. Sade W, Dai Z. Pharmacogenetics/genomics and personalized medicine. *Hum Mol Gen.* 2005;14:R207–14.
106. Lescuyer P, Strub J, Luche S, Diemer H, Martinez P, Van Dorsselaer A, i sur. Progress in the definition of a reference human mitochondrial proteome. *Proteomics.* 2003;3(2):157–67.
107. Anderson NL, Anderson N. Proteome and proteomics: new technologies, new concepts, and new words. *Electrophoresis.* 1998;19(11):1853–61.
108. Kraljevic Pavelic S, Pavelic K. Novo doba molekularne medicine : dometi proteomike. *Medicina.* 2009;45(3):208–10.
109. Righetti P, Castagna A, Antonioli P, Boschetti E. Prefractionation techniques in proteome analysis: the mining tools of the third millenium. *Electrophoresis.* 2005;26(2):297–319.
110. Aebersold R, Mann M. Mass spectrometry based proteomics. *Nature.* 2003;422:198–207.

111. Eckerskorn C, Strupat K, Karas M, Hillenkamp F, Lottspeich F. Mass spectrometric analysis of blotted proteins after gel electrophoretic separation by matrix-assisted laser desorption/ionization. *Electrophoresis*. 1992;13:664–5.
112. Sedić M, Kraljević Pavelić S, Vučinić S, Pavelić K. Unravelling new pieces of tumour metastasis puzzle: the role of proteomics. *Med Sci*. 2010;35:13–28.
113. Pavelić K, Kraljević Pavelić S. Personalizirani pristup bolesniku temeljen na visokoprotočnim analitičkim metodama i nanotehnologiji. U: Gnjiđić Ž, urednik. *Tumori lubanjske osnove – sadašnjost i budućnost*. HAZU, Medicinska naklada – Zagreb; 2013. str. 65–83.
114. Pavelić K, Martinović T, Kraljević Pavelić S. Do we understand the personalized medicine paradigm? *EMBO Rep*. 2015;16(2):133–6.
115. Sedić M, Kraljević Pavelić S, Hock K. Using Functional Genomics to Identify Drug Targets: A Dupuytren’s Disease Example. U: Larson RS, urednik. *Bioinformatics and Drug Discovery, Methods in Molecular Biology*. Springer Science+Business Media New York; 2012. p. DOI 10.1007/978-1-61779-965-5\_2.
116. Sedić M, Kraljević Pavelić S. Uloga proteomike u razvoju lijekova-optimizacija uzorka za dvodimenzionalnu gel-elektroforezu. *Medicina*. 2009;45(3):276–85.
117. Steigen S, Schaeffer D, West R, Nielsen T. Expression of insulin-like growth factor 2 in mesenchymal neoplasms. *Mod Pathol*. 2009;22:914–21.
118. Berthe M, Sahlab, Esslimani M, Rogerb P, Gleizesb M, Lemamyb G, Brouilleta J, i sur. Mannose-6-phosphate/insulin-like growth factor-II receptor expression levels during the progression from normal human mammary tissue to invasive breast carcinomas. *Eur J Cancer*. 2003;39:635–42.
119. Várady G, Cserepes J, Németh A, Szabó E, Sarkadi B. Cell surface membrane proteins as personalized biomarkers: where we stand and where we are headed. *Biomark Med*. 2013;7(5):803–19.
120. Xu W, Fan H, He X, Zhang J, Xie W. LOI of IGF2 is associated with esophageal cancer and linked to methylation status of IGF2 DMR. *J Exp Clin Cancer Res*. 2006;25(4):543–7.
121. Yoon A, Zavras A, Chen M, Lin C, Yang S. Association between Gly1619ARG polymorphism of IGF2R domain 11 (rs629849) and advanced stage of oral cancer. *Med Oncol*. 2012;29(2):682–5.
122. Brady G, Crean S, Naik P, Kapas S. Upregulation of IGF-2 and IGF-1 receptor expression in oral cancer cell lines. *Int J Oncol*. 2007;31(4):875–81.
123. Chava S, Mohan V, Manolla M, Vaidya S, Khan I, Waseem G, i sur. Immunohistochemical evaluation of p53, FHIT, and IGF2 gene expression in esophageal cancer. *Dis Esophagus*. 2012;25:81–7.

124. Hitchcock J, Katz A, Schäfer G. Dynamic reciprocity: the role of annexin A2 in tissue integrity. *J Cell Commun Signal.* 2014;8(2):125–33.
125. Roesch E, Nees M, Karsai S, Mägele I, Bogumil R, Vorderwülbecke S, i sur. Transcript and proteome analysis reveals reduced expression of calgranulins in head and neck squamous cell carcinoma. *Eur J Cell Biol.* 2005;84:431–44.
126. Sofiadis A, Becker S, Hellman U, Hultin-Rosenberg L, Dinets A, Hulchiy M, i sur. Proteomic profiling of follicular and papillary thyroid tumors. *Eur J Endocrinol.* 2012;166(4):657–67.
127. Iacobuzio-Donahue, CA Maitra A, Olsen M, Lowe A, van Heek N, Rosty C, Walter K, i sur. Exploration of global gene expression patterns in pancreatic adenocarcinoma using cDNA microarrays. *Am J Pathol.* 2003;162:1151–62.
128. Corsten M, Hofstra L, Narula J, Reutelingsperger C. Counting heads in the war against cancer: defining the role of annexin A5 imaging in cancer treatment and surveillance. *Cancer Res.* 2006;66(3):1255–60.
129. Yang R, Rabinovich G, Liu F. Galectins: Structure, function and therapeutic potential. *Expert Rev Mol Med.* 2008;10:e17.
130. Panjwani N. Role of galectins in re-epithelialization of wounds. *Ann Transl Med.* 2014;2(9):89.
131. Salatino M, Croci D, Laderach D, Compagno D, Gentilini L, Dalotto-Moreno T, i sur. Regulation of galectins by hypoxia and their relevance in angiogenesis: strategies and methods. *Methods Mol Biol.* 2015;1207:293–304.
132. Thijssen V, Griffioen A. Galectin-1 and -9 in angiogenesis: a sweet couple. *Glycobiology.* 2014;24(10):915–20.
133. Cerliani J, Dalotto-Moreno T, Compagno D, Dergan-Dylon L, Laderach D, Gentilini L, i sur. Study of galectins in tumor immunity: strategies and methods. *Methods Mol Biol.* 2015;1207:249–68.
134. Hsieh S, Ying N, Wu M, Chiang W, Hsu C, Wong T, i sur. Galectin-1, a novel ligand of neuropilin-1, activates VEGFR-2 signaling and modulates the migration of vascular endothelial cells. *Oncogene.* 2008;27(26):3746–53.
135. Thijssen V, Hulsmans S, Griffioen A. The galectin profile of the endothelium: altered expression and localization in activated and tumor endothelial cells. *Am J Pathol.* 2008;172(2):545–53.
136. Thijssen V, Postel R, Brandwijk R, Dings R, Nesmelova I, Satijn S, i sur. Galectin-1 is essential in tumor angiogenesis and is a target for antiangiogenesis therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(43):15975–80.

137. Lotan R, Belloni P, Tressler R, Lotan D, Xu X, Nicolson G. Expression of galectins on microvessel endothelial cells and their involvement in tumour cell adhesion. *Glycoconj J*. 1994;11(5):462–8.
138. Clause N, van den Brûle F, Waltregny D, Garnier F, Castronovo V. Galectin-1 expression in prostate tumor-associated capillary endothelial cells is increased by prostate carcinoma cells and modulates heterotypic cell-cell adhesion. *Angiogenesis*. 1999;3(4):317–25.
139. Laderach D, Gentilini L, Giribaldi L, Delgado V, Nugnes L, Croci D, i sur. A unique galectin signature in human prostate cancer progression suggests galectin-1 as a key target for treatment of advanced disease. *Cancer Res*. 2013;73(1):86–96.
140. Rorive S, Belot N, Decaestecker C, Lefranc F, Gordower L, Micik S, i sur. Galectin-1 is highly expressed in human gliomas with relevance for modulation of invasion of tumor astrocytes into the brain parenchyma. *Glia*. 2001;33(3):241–55.
141. Huang C, Tang S, Chung L, Yu C, Ho J, Cha T, i sur. Galectin-1 upregulates CXCR4 to promote tumor progression and poor outcome in kidney cancer. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(7):1486–95.
142. Kim H, Do I, Jeon H, Cho Y, Park Y, Choi J, i sur. Galectin 1 expression is associated with tumor invasion and metastasis in stage IB to IIA cervical cancer. *Hum Pathol*. 2013;44(1):62–8.
143. Dalotto-Moreno T, Croci D, Cerliani J, Martinez-Allo V, Dergan-Dylon S, Méndez-Huergo S, i sur. Targeting galectin-1 overcomes breast cancer-associated immunosuppression and prevents metastatic disease. *Cancer Res*. 2013;73(3):1107–17.
144. Cindolo L, Benvenuto G, Salvatore P, Pero R, Salvatore G, Mirone V, i sur. Galectin-1 and galectin-3 expression in human bladder transitional-cell carcinomas. *Int J Cancer*. 1999;84(1):39–43.
145. Lefranc F, Mathieu V, Kiss R. Galectin-1-mediated biochemical controls of melanoma and glioma aggressive behavior. *World J Biol Chem*. 2011;2(9):193–201.
146. Mathieu V, de Lassalle E, Toelen J, Mohr T, Bellahcène A, Van Goietsenoven G, i sur. Galectin-1 in melanoma biology and related neo-angiogenesis processes. *J Invest Dermatol*. 2012;132(9):2245–54.
147. Zhu X, Ding M, Yu M, Feng M, Tan L, Zhao F. Identification of galectin-7 as a potential biomarker for esophageal squamous cell carcinoma by proteomic analysis. *BMC Cancer*. 2010;10:290.
148. Champion C, Labrie M, Lavoie G, St-Pierre Y. Expression of galectin-7 is induced in breast cancer cells by mutant p53. *PLoS One*. 2013;8(8):e72468.
149. Tsai C, Sulman E, Eifel P, Jhingran A, Allen P, Deavers M, i sur. Galectin-7 levels predict radiation response in squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol*. 2013;131(3):645–9.



150. Kim S, Hwang J, Ro J, Lee Y, Chun K. Galectin-7 is epigenetically-regulated tumor suppressor in gastric cancer. *Oncotarget*. 2013;4(9):1461–71.
151. Zhao X, Chen T, Xia L, Guo M, Xu Y, Yue F, i sur. Hypoxia inducible factor-1 mediates expression of galectin-1: the potential role in migration/invasion of colorectal cancer cells. *Carcinogenesis*. 2010;31(8):1367–75.
152. Croci D, Salatino M, Rubinstein N, Cerliani J, Cavallin L, Leung H, i sur. Disrupting galectin-1 interactions with N-glycans suppresses hypoxia-driven angiogenesis and tumorigenesis in Kaposi's sarcoma. *J Exp Med*. 2012;209(11):1985–2000.
153. Glinskii OV, Turk JR, Pienta KJ, Huxley VH, Glinsky VV. Evidence of porcine and human endothelium activation by cancer-associated carbohydrates expressed on glycoproteins and tumour cells. *J Physiol*. 2004;554:89–99.
154. Glinsky VV, Glinsky GV, Glinskii OV, Huxley VH, Turk JR, Mossine VV, i sur. Intravascular metastatic cancer cell homotypic aggregation at the sites of primary attachment to the endothelium. *Cancer Res*. 2003;63(13):3805–11.
155. Gil C, La M, Perretti M, Oliani S. Interaction of human neutrophils with endothelial cells regulates the expression of endogenous proteins annexin 1, galectin-1 and galectin-3. *Cell Biol Int*. 2006;30(4):338–44.
156. Heusschen R, Schulkens I, van Beijnum J, Griffioen A, Thijssen V. Endothelial LGALS9 splice variant expression in endothelial cell biology and angiogenesis. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(2):284–92.
157. Nangia-Makker P, Wang Y, Raz T, Tait L, Balan V, Hogan V, i sur. Cleavage of galectin-3 by matrix metalloproteases induces angiogenesis in breast cancer. *Int J Cancer*. 2010;127(11):2530–41.
158. Mazurek N, Sun Y, Price J, Ramdas L, Schober W, Nangia-Makker P, i sur. Phosphorylation of galectin-3 contributes to malignant transformation of human epithelial cells via modulation of unique sets of genes. *Cancer Res*. 2005;65(23):10767–75.
159. Banh A, Zhang J, Cao H, Bouley D, Kwok S, Kong C, i sur. Tumor galectin-1 mediates tumor growth and metastasis through regulation of T-cell apoptosis. *Cancer Res*. 2011;71(13):4423–31.
160. Corsi A, Xu T, Chen X, Boyde A, Liang J, Mankani M, i sur. Phenotypic effects of biglycan deficiency are linked to collagen fibril abnormalities, are synergized by decorin deficiency, and mimic Ehlers-Danlos-like changes in bone and other connective tissues. *J Bone Min Res*. 2002;17(7):1180–9.
161. Heegaard A, Corsi A, Danielsen C, Nielsen K, Jorgensen H, Riminucci M, i sur. Biglycan deficiency causes spontaneous aortic dissection and rupture in mice. *Circulation*. 2007;115(21):2731–8.

162. Danielson K, Baribault H, Holmes D, Graham H, Kadler K, Iozzo R. Targeted disruption of decorin leads to abnormal collagen fibril morphology and skin fragility. *J Cell Biol.* 1997;136(3):729–43.
163. Meij J, Carlson E, Wang L, Liu C, Jester J, Birk D, i sur. Targeted expression of a lumican transgene rescues corneal deficiencies in lumican-null mice. *Mol Vis.* 2007;13:212–8.
164. Kasamatsu A, Uzawa K, Minakawa Y, Ishige S, Kasama H, Endo-Sakamoto Y, i sur. Decorin in human oral cancer: A promising predictive biomarker of S-1 neoadjuvant chemosensitivity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;457(1):71–6.
165. Sherman-Baust C, Weeraratna A, Rangel L, Pizer E, Cho K, Schwartz D, i sur. Remodeling of the extracellular matrix through overexpression of collagen VI contributes to cisplatin resistance in ovarian cancer cells. *Cancer Cell.* 2003;3(4):377–86.
166. Voiles L, Lewis D, Han L, Lupov I, Lin T, Robertson M, i sur. Overexpression of type VI collagen in neoplastic lung tissues. *Oncol Rep.* 2014;32(5):1897–904.
167. Fan N, Gao C, Wang C, Zhao G, Lv J, Wang X, i sur. Identification of the up-regulation of TP-alpha, collagen alpha-1(VI) chain, and S100A9 in esophageal squamous cell carcinoma by a proteomic method. *J Proteomics.* 2012;75(13):3977–86.
168. Arafat H, Lazar M, Salem K, Chipitsyna G, Gong Q, Pan T, i sur. Tumor-specific expression and alternative splicing of the COL6A3 gene in pancreatic cancer. *Surgery.* 2011;150(2):306–15.
169. Turtoi A, Blomme A, Bianchi E, Maris P, Vannozzi R, Naccarato A, i sur. Accessibilome of human glioblastoma: collagen-VI-alpha-1 is a new target and a marker of poor outcome. *J Proteome Res.* 2014;13(12):5660–9.
170. Paolo L, Lee L, Banks P, Steen H, Conwell D. Proteomic analysis of formalin-fixed paraffin-embedded pancreatic tissue using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Pancreas.* 2012;41(2):175–85.
171. Knittel T, Odenthal M, Schuppan D, Schwögler S, Just M, Meyer zum Büschenfelde K, i sur. Synthesis of undulin by rat liver fat-storing cells: comparison with fibronectin and tenascin. *Exp Cell Res.* 1992;203(2):312–20.
172. Meyer D, Krull N, Dreher K, Gressner A. Biglycan and decorin gene expression in normal and fibrotic rat liver: cellular localization and regulatory factors. *Hepatology.* 1992;16(1):204–16.
173. Schaefer L, Babelova A, Kiss E, Hausser H-J, Baliova M, Krzyzankova M, i sur. The matrix component biglycan is proinflammatory and signals through Toll-like receptors 4 and 2 in macrophages. *J Clin Invest.* 2005;115(8):2223–33.
174. Nastase M, Iozzo R, Schaefer L. Key roles for the small leucine-rich proteoglycans in renal and pulmonary patophysiology. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1840(8):2460–70.

175. Hsieh L, Nastase M, Zeng-Brouwers J, Iozzo R, Schaefer L. Soluble biglycan as a biomarker of inflammatory renal diseases. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;54:223–35.
176. Chen X-D, Fisher L, Robey P, Young M. The small leucine-rich proteoglycan biglycan modulates BMP-4-induced osteoblast differentiation. *FASEB J.* 2004;18(9):948–58.
177. Chiu R, Li W, Herber R, Marshall S, Young M, Ho S. Effects of biglycan on physicochemical properties of ligament-mineralized tissue attachment sites. *Arch Oral Biol.* 2012;57(2):177–87.
178. Ameye L, Aria D, Jepsen K, Oldberg A, Xu T, Young M. Abnormal collagen fibrils in tendons of biglycan/fibromodulin-deficient mice lead to gait impairment, ectopic ossification, and osteoarthritis. *FASEB J.* 2002;16(79):673–80.
179. Yamano Y, Uzawa K, Saito K, Nakashima D, Kasamatsu A, Koike H, i sur. Identification of cisplatin-resistance related genes in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2010;126:437–49.
180. Van der Velden L, Manni J, Ramaekers F, Kuijpers W. Expression of intermediate filament proteins in benign lesions of the oral mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1995;256:514–9.
181. Sudha R, Kawachi N, Du P, Nieves E, Belbin TJ, Negassa A i sur. Global proteomic analysis distinguishes biologic differences in head and neck squamous carcinoma. *Lab Invest.* 2007;87:755-6.
182. Vuoriluoto K, Haugen H, Kiviluoto S, Mpindi J, Nevo J, Gjerdrum C, i sur. Vimentin regulates EMT induction by Slug and oncogenic H-Ras and migration by governing Axl expression in breast cancer. *Oncogene.* 2011;30(1436–48).
183. Neve R, Chin K, Fridlyand J, Yeh J, Baehner F, Fevr T, i sur. A collection of breast cancer cell lines for the study of functionally distinct cancer subtypes. *Cancer Cell.* 2006;10:515–27.
184. Kagalwalla A, Akhtar N, Woodruff S, Rea B, Masterson J, Mukkada V, i sur. Eosinophilic esophagitis: epithelial mesenchymal transition contributes to esophageal remodeling and reverses with treatment. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129:1387–96.
185. Lee M-Y, Chou C-Y, Tang M-J, Shen M-R. Epithelial-mesenchymal transition in cervical cancer: correlation with tumor progression, epidermal growth factor receptor overexpression, and snail up-regulation. *Clin Cancer Res.* 2008;14:4743–50.
186. Behnsawy H, Miyake H, Harada K, Fujisawa M. Expression patterns of epithelial-mesenchymal transition markers in localized prostate cancer: significance in clinicopathological outcomes following radical prostatectomy. *BJU Int.* 2013;30–7.
187. Liu L, Jiang X, Zhou X, Wang D, Song X, Jiang H. Upregulation of vimentin and aberrant expression of E-cadherin/beta-catenin complex in oral squamous cell

- carcinomas: correlation with the clinicopathological features and patient outcome. *Mod Pathol.* 2010;23(2):213–24.
188. Baker H, Patel V, Molinolo A, Shillitoe E, Ensley J, Yoo G, i sur. Proteome-wide analysis of head and neck squamous cell carcinomas using laser-capture microdissection and tandem mass spectrometry. *Oral Oncol.* 2005;41:183–99.
189. Real F, Vila M, Skoudy A, Ramaekers F, Corominas J. Intermediate filaments as differentiation markers of exocrine pancreas. II. Expression of cytokeratins of complex and stratified epithelia in normal pancreas and in pancreas cancer. *Int J Cancer.* 1993;54(5):720–7.
190. Bellaye P, Burgy O, Causse S, Garrido C, Bonniaud P. Heat shock proteins in fibrosis and wound healing: Good or evil? *Pharmacol Ther.* 2014;143:119–32.
191. Garrido C, Schmitt E, Cande C, Vahsen N, Parcellier A, Kroemer G. HSP27 and HSP70: potentially oncogenic apoptosis inhibitors. *Cell Cycle.* 2003;2:579–84.
192. Kaigorodova E, Zavyalova M, Bogatyuk M, Tarabanovskaya N, Slonimskaya E, Perelmuter V. Relationship between the expression of phosphorylated heat shock protein beta-1 with lymph node metastases of breast cancer. *Cancer Biomark.* 2014;
193. Hino M, Kurogi K, Okubo M, Murata-Hori M, Hosoya H. Small heat shock protein 27 (HSP27) associates with tubulin/microtubules in HeLa cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;271:164–9.
194. Katoh M, Koninkx J, Schumacher U. Heat shock protein expression in human tumours grown in severe combined immunodeficient mice. *Cancer Lett.* 2000;161:113–20.
195. Li G, Wang H, Lai Y, Chen S, Lin M, Lu G, i sur. Proteomic profiling between CNE-2 and its strongly metastatic subclone S-18 and functional characterization of HSP27 in metastasis of nasopharyngeal carcinoma. *Proteomics* 11. 2011;2911–20.
196. Choi D, Ha J, Lee W, Song J, Kim G, Park J, i sur. Heat shock protein 27 is associated with irinotecan resistance in human colorectal cancer cells. *FEBS Lett.* 2007;581:1649–56.
197. Chilosi M, Zamo A, Doglioni C, Reghellin D, Lestani M, Montagna L, i sur. Migratory marker expression in fibroblast foci of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res.* 2006;7:95.
198. Vidyasagar A, Reese S, Acun Z, Hullett D, Djamali A. HSP27 is involved in the pathogenesis of kidney tubulointerstitial fibrosis. *Am J Physiol Ren Physiol.* 2008;295:F707–16.
199. Chang G, Liu K, Hsieh C, Hu T, Charoenfuprasert S, Liu H, i sur. Identification of alpha-enolase as an autoantigen in lung cancer: its overexpression is associated with clinical outcomes. *Clin Cancer Res.* 2006;12(19):5746–54.

200. Katayama M, Nakano H, Ishiuchi A, Wu W, Oshima R, Sakurai J, i sur. Protein pattern difference in the colon cancer cell lines examined by two-dimensional differential in-gel electrophoresis and mass spectrometry. *Surg Today*. 2006;36(12):1085–93.
201. López-Pedreira C, Villalba J, Siendones E, Barbarroja N, Gómez-Díaz C, Rodríguez-Ariza A, i sur. Proteomic analysis of acute myeloid leukemia: Identification of potential early biomarkers and therapeutic targets. *Proteomics*. 2006;6(1):S293–9.
202. Kinloch A, Tatzer V, Wait R, Peston D, Lundberg K, Donatien P, i sur. Identification of citrullinated alpha-enolase as a candidate autoantigen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(6):R1421–9.
203. Pratesi F, Moscato S, Sabbatini A, Chimenti D, Bombardieri S, Migliorini P. Autoantibodies specific for  $\alpha$ -enolase in systemic autoimmune disorders. *J Rheumatol*. 2000;27(1):109–15.
204. Wakui K, Tanemura M, Suzumori K, Hidaka E, Ishikawa M, Kubota T, i sur. Clinical applications of two-color telomeric fluorescence in situ hybridization for prenatal diagnosis: identification of chromosomal translocation in five families with recurrent miscarriages or a child with multiple congenital anomalies. *J Hum Genet*. 1999;44(2):85–90.
205. Capello M, Ferri-Borgogno S, Cappello P, Novelli F.  $\alpha$ -enolase: a promising therapeutic and diagnostic tumor target. *FEBS J*. 2011;278(7):1064–74.
206. Tsai S, Chien I, Shen W, Kuo Y, Jin Y, Wong T, i sur. ENO1, a potential prognostic head and neck cancer marker, promotes transformation partly via chemokine CCL20 induction. *Eur J Cancer*. 2010;46(9):1712–23.
207. Georges E, Bonneau A, Prinos P. RNAi-mediated knockdown of  $\alpha$ -enolase increases the sensitivity of tumor cells to antitubulin chemotherapeutics. *Int J Biochem Mol Biol*. 2011;2(4):303–8.
208. Trojanowicz B, Winkler A, Hammje K, Chen Z, Sekulla C, Glanz D, i sur. Retinoic acid-mediated down-regulation of ENO1/MBP-1 gene products caused decreased invasiveness of the follicular thyroid carcinoma cell lines. *J Mol Endocrinol*. 2009;42(3):249–60.
209. Chang X, Wei C. Glycolysis and rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2011;14(3):217–33.
210. Saulot V, Vittecoq O, Charlionet R, Fardellone P, Lange C, Marvin L, i sur. Presence of autoantibodies to the glycolytic enzyme alpha-enolase in sera from patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2002;46(5):1196–201.



Proteini koju se se pokazali karakterističnima za pojedino stanje odnosno dijagnozu prikazani su u tablicama 1-6.

**Tablica 1.** Proteini eksprimirani u svim uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s oralnim lihenom (OLP-B). Osjenčana polja označavaju proteine koji su diferencijalno eksprimirani u odnosu na nepromijenjenu sluznicu istih pacijenata (svi OLP-Z, tablica 2).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>Citoskeletni proteini</b>				
1	A1A4E9	Keratin 13	Citoskeletni protein	Svi OLP-B
2	P08779	Keratin, tip I citoskeletni 16	Citoskeletni protein; uloga u staničnoj proliferaciji; negativna regulacija stanične migracije	Svi OLP-B
3	P02533	Keratin, tip I citoskeletni 14	Razvoj epiderma; diferencijacija epitelnih stanica	Svi OLP-B
4	H6VRG2	Keratin 1	Citoskeletni protein	Svi OLP-B
5	P13647	Keratin, tip II citoskeletni 5	Razvoj epiderma; sudjeluje u tvorbi međustaničnih spojeva	Svi OLP-B
6	P35908	Keratin, tip II citoskeletni 2 epidermalni	Keratinizacija, razvoj epiderma	Svi OLP-B
7	P31947	14-3-3 protein sigma	Keratinizacija; pozitivna regulacija staničnog rasta; stanična signalizacija	Svi OLP-B
8	P12035	Keratin, tip II citoskeletni 3	Citoskeletni protein; diferencijacija epitelnih stanica	Svi OLP-B
9	Q1KLZ0	HCG15971, izoforma CRA_a	Aksonogeneza	Svi OLP-B
10	P19013	Keratin, tip II citoskeletni 4	Citoskeletni protein; negativna regulacija proliferacije epitelnih stanica	Svi OLP-B
11	P02538	Keratin, tip II citoskeletni 6A	Citoskeletni protein; uloga u staničnoj diferencijaciji	Svi OLP-B
<b>Apoptotični proteini</b>				
12	P08670	Vimentin	Uloga u apoptotičkim procesima; pozitivna regulacija ekspresije gena	Svi OLP-B
13	Q6UYC3 P02545	Prelamin-A/C	Uloga u apoptotičkim procesima; mitotičkom ciklusu; stanična signalizacija; regulacija stanične migracije	Svi OLP-B
14	Q5I6Y6	Inačica lamina 1 A/C	Uloga u apoptotičkim procesima; mitotičkom ciklusu; stanična signalizacija; regulacija stanične migracije	Svi OLP-B
15	P15924	Dezmoplakin	Uloga u apoptotičkim procesima; razvoj epiderma; cijeljenje rana; diferencijacija keratinocita	Svi OLP-B
16	P63104	14-3-3 protein zeta/delta	Uloga u apoptotičkim procesima; grušanju krvi; odgovoru na lijekove; prijenos signala	Svi OLP-B

17	D0PNI1	Zeta polipeptid za aktivaciju proteina tirozina 3-monooksigenaze/triptofan 5-monooksigenaze	Regulacija stanične smrti; odgovor na lijekove	Svi OLP-B
<b>Anti-apoptotični proteini</b>				
18	P08107 A8K5I0	Protein toplinskog šoka 70 kDa 1A/1B	ATP katabolički procesi; negativna regulacija apoptotičkih procesa, stanične proliferacije, staničnog rasta	Svi OLP-B
<b>Metabolički proteini</b>				
19	D9YZU5 P68871	Hemoglobin, beta	Prijenos kisika	Svi OLP-B
20	P13645	Keratin, tip I citoskeletni 10	Diferencijacija keratinocita; stanični odgovor na kalcijeve ione	Svi OLP-B
21	E9PCV6	Lanac alfa-3 kolagena tipa VI	Funkcija nije navedena	Svi OLP-B
22	P06733	Alfa-enolaza	Metabolizam ugljikohidrata; negativna regulacija staničnog rasta	Svi OLP-B
23	P04406	Gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza	Metabolizam ugljikohidrata; metabolički procesi malih molekula	Svi OLP-B
24	O75369	Filamin-B	Stanična signalizacija; stanična diferencijacija	Svi OLP-B
25	P00915 E5RHP7	Ugljična anhidraza 1	Prijenos bikarbonata; metabolički procesi malih molekula	Svi OLP-B
26	Q5VTE0	Pretpostavljeni čimbenik elongacije 3 nalik alfi-1 3	Biosinteza proteina	Svi OLP-B
27	Q6MZV7	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686C11235	Komponenta stanične membrane	Svi OLP-B
28	A8K5I6	cDNA FLJ78643, vrlo slična ljudskom kornulinu (CRNN), mRNA	Vežanje kalcijevih iona	Svi OLP-B
29	Q59E92	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein (Fragment)	Vežanje ATP-a	Svi OLP-B
30	Q9Y490 Q5TCU6	Talin-1	Uloga u grušanju krvi; metabolizmu proteina	Svi OLP-B
31	Q670S4	Hemoglobin Lepore-Baltimore (Fragment)	Prijenos kisika	Svi OLP-B
32	B4E3A4	cDNA FLJ57283, vrlo slična citoplazmatskom aktinu 2	Vežanje ATP-a; citoskeletni protein; organizacija sarkomera	Svi OLP-B
33	B4E335	cDNA FLJ52842, vrlo slična citoplazmatskom aktinu 1	Vežanje ATP-a; aksonogeneza	Svi OLP-B
34	P02768	Serumski albumin	Grušanje krvi; metabolički procesi malih molekula	Svi OLP-B
35	D1MGQ2	Alfa-2 lanac globina	Prijenos kisika	Svi OLP-B
36	B4DRR0	cDNA FLJ53910, vrlo slična citoskeletnom keratinu 6A, tipa II	Aktivnost strukturnih molekula	Svi OLP-B
37	B4DRW1	cDNA FLJ55805, vrlo slična citoskeletnom keratinu 4, tipa II	Aktivnost strukturnih molekula	Svi OLP-B
38	Q9BTM1 Q99878 Q96KK5 Q7L7L0 Q08AJ9 P20671 P20671 POC0S8	Histon tipa H2A	Vežanje DNA	Svi OLP-B
39	Q75L23	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein PSMC2 (Fragment)	Katabolički procesi proteina	Svi OLP-B



40	P17066 P35998	Protein 6 toplinskog šoka 70 kDa	Katabolički procesi ATP-a; stanični odgovor na zagrijavanje	Svi OLP-B
<b>Imunološki odgovor</b>				
41	Q5TZZ9	Aneksin	Diferencijacija T limfocita; signalizacija preko receptora na staničnoj površini; regulacija stanične proliferacije	Svi OLP-B
42	P04083	Aneksin A1	Diferencijacija T limfocita; signalizacija preko receptora na staničnoj površini; regulacija stanične proliferacije	Svi OLP-B
43	Q06830	Peroksiredoksin-1	Stanična proliferacija; citotoksičnost posredovana NK stanicama; razvoj koštanog sustava	Svi OLP-B
44	P01024	C3 komponenta komplemента	Aktivacija komplemента; uloga u regulaciji staničnih procesa	Svi OLP-B
45	Q9UBG3	Kornulin	Odgovor na zagrijavanje; vezanje kalcijevih iona	Svi OLP-B
46	Q32Q6 P02675 D3DP13	Beta lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi; urođenom imunološkom odgovoru; organizaciji izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-B
47	B4E1D3	cDNA FLJ53952, vrlo slična beta lancu fibrinogena	Prijenos signala; aktivacija krvnih pločica; stanični odgovor na interleukin-1	Svi OLP-B
48	Q0D2M2	HIST1H2BC protein	Urođeni imunološki odgovor sluznice; antibakterijski humoralni odgovor	Svi OLP-B
49	Q6IN99 Q6GMX3 Q567P1 Q5FWF9	Protein IGL@	Protein domene imunoglobulina	Svi OLP-B
50	P01860	Lanac imunoglobulina gama-3 regije C	Aktivacija komplemента; urođeni imunološki odgovor	Svi OLP-B
51	P35998 Q75L23	Regulatorna podjedinica proteaze 26S	Prezentacija antigena; mitotički ciklus; katabolički procesi ATP-a	Svi OLP-B
52	Q53GK6	Izoforma beta aktina (Fragment)	Urođeni imunološki odgovor; organizacija međustaničnih spojeva; organizacija membrane	Svi OLP-B
53	P02671	Alfa lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi; urođenom imunološkom odgovoru	Svi OLP-B
54	A8K3E4	cDNA FLJ78367, vrlo slična alfa-lancu fibrinogena, mRNA	Uloga u grušanju krvi; urođenom imunološkom odgovoru	Svi OLP-B
55	P63261	Citoplazmatski aktin 2	Urođeni imunološki odgovor, organizacija međustaničnih spojeva, organizacija membrane	Svi OLP-B
56	P60709	Citoplazmatski aktin 1	Urođeni imunološki odgovor; organizacija međustaničnih spojeva; organizacija membrane	Svi OLP-B
57	P26038	Moesin	Pokretanje staničnih komponenti; migracija leukocita	Svi OLP-B
<b>Komponenta izvanstaničnog prostora</b>				
58	P51884 Q53FV4	Lumikan	Metabolizam ugljikohidrata; organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-B
59	B2RBS8	cDNA, FLJ95666, vrlo slična ljudskom albuminu (ALB), mRNA	Komponenta izvanstaničnog prostora	Svi OLP-B
<b>Stanična komponenta</b>				

60	Q6N030	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I15212	Komponenta membrane	Svi OLP-B
<b>Nepoznata funkcija</b>				
61	DQ53FC7	cDNA FLJ36606 fis, klon TRACH2015654, vrlo slična proteinu 6 toplinskog šoka 70 kDa	Funkcija nije navedena	Svi OLP-B
62	DP17066	cDNA, FLJ93166, vrlo slična ljudskom proteinu 6 toplinskog šoka 70kDa, mRNA	Funkcija nije navedena	Svi OLP-B
63	Q8TCD0 Q6GMX0 Q5EBM2 A0A5E4	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein	Funkcija nije navedena	Svi OLP-B
<b>Citoskeletni protein</b>				
64	DB3KSM6 B2R6X5	Mali protein 3 bogat prolinom	Keratinizacija; cijeljenje rana, diferencijacija keratinocita; razvoj epiderma	Svi OLP-B
65	P07585 Q6FH10 F8VXZ8	Protein dekorin	Starenje; cijeljenje rana; stanična signalizacija	Svi OLP-B
66	Q01546	Keratin, tip II citoskeletni 2	Citoskeletni protein	Svi OLP-B
67	P08727	Keratin, tip I citoskeletni 19	Kontrakcija stanica; citoskeletni protein; diferencijacija stanica	Svi OLP-B
68	P07737	Profilin-1	Citoskeletni protein; stanična signalizacija; uloga u grušanju krvi	Svi OLP-B
69	P04259	Keratin, tip II citoskeletni 6B	Razvoj ektoderma	Svi OLP-B
70	D3DTX7	Kolagen, tip I, alfa 1, izoforma CRA_a	Komponenta izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-B
71	Q86Y46	Keratin, tip II citoskeletni 73	Keratinizacija dlaka/kose	Svi OLP-B
72	P07476 B4DU44	Involukrin	Keratinizacija; vezanje proteina	Svi OLP-B
73	O60437 K7EKI8	Periplakin	Citoskeletni protein; keratinizacija	Svi OLP-B
74	P35579 Q60FE2	Miozin-9	Citoskeletni protein; regulacija staničnog oblika; stanična signalizacija	Svi OLP-B
75	P35527	Keratin, tip I citoskeletni 9	Citoskeletni protein	Svi OLP-B
76	P19012	Keratin, tip I citoskeletni 15	Citoskeletni protein; razvoj epiderma	Svi OLP-B
77	Q15149	Plektin	Citoskeletni protein; sudjeluje u apoptotičkim procesima	Svi OLP-B
78	P35749 D2JYH7 B1PS43	Miozin-11	Kontrakcija stanice	Svi OLP-B
<b>Metabolički proteini</b>				
79	I1VZV6 P69905	Hemoglobin alfa 1	Prijenos kisika	Svi OLP-B
80	P13639	Čimbenik elongacije 2	Metabolički procesi; stanična smrt	Svi OLP-B
81	P27482	Protein 3 nalik kalmodulinu	Može se natjecati s kalmodulinom za različita vezna mjesta; vezanje kalcijevih iona	Svi OLP-B
82	Q0VAS5 P62805 B2R4R0	Histon tipa H4	Komponenta nukleosoma	Svi OLP-B

83	P14923 F5GWP8	Spojini plakoglobin	Migracija stanica; morfogeneza stanica; uloga u staničnoj signalizaciji	Svi OLP-B
84	Q14134	Protein koji sadrži tročlani motiv 29	Regulacija metaboličkih procesa	Svi OLP-B
85	B4DRT3 P14618	Piruvat kinaza	Uloga u metaboličkim procesima	Svi OLP-B
86	Q01469 E7D VW5	Protein koji veže masne kiseline	Metabolički procesi glukoze i lipida; razvoj epiderma	Svi OLP-B
87	Q6IPT9 Q53HR5	Čimbenik elongacije 1-alfa	Sudjeluje u biosintezi proteina	Svi OLP-B
88	Q8N1N4	Keratin, tip II citoskeletni 78	Aktivnost strukturnih molekula	Svi OLP-B
89	P04075 J3KPS3	Fruktozno-bisfosfonatna aldolaza	Glikolitički procesi	Svi OLP-B
90	P07355 H0YN42	Aneksin 2	Angiogeneza; metabolički procesi	Svi OLP-B
91	Q99880 Q99879 Q99877 Q93079 Q5QNW6 P62807 P58876 P57053 O60814	Histon tipa H2B	Komponenta nukleosoma; organizacija kromatina; uloga u urođenom imunološkom odgovoru sluznice	Svi OLP-B
<b>Apoptotički procesi</b>				
92	P47929	Galektin-7	Sudjeluje u apoptotičkim procesima	Svi OLP-B
<b>Nepoznata funkcija</b>				
93	Q6P5S8 Q6PJF2	Protein IGK@	Funkcija nije navedena	Svi OLP-B

**Tablica 2.** Proteini zajednički svim uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom (svi OLP-Z). Osjenčana polja označavaju diferencijalno eksprimirane proteine u odnosu na promijenjenu sluznicu istih pacijenata (OLP-B, tablica 1).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>Citoskeletni proteini</b>				
1	P35579	Miozin-9	Citoskeletni protein, regulacija staničnog oblika, stanična signalizacija	Svi OLP-Z
2	P02538	Keratin, tip II citoskeletni 6A	Citoskeletni protein, stanična diferencijacija	Svi OLP-Z
3	B4DRR0	cDNA FLJ53910, vrlo slična citoskeletnom keratinu 6A, tipa II	Citoskeletni protein	Svi OLP-Z
4	A8K2I0	cDNA FLJ78504, vrlo slična ljudskom keratinu 6A, mRNA	Citoskeletni protein	Svi OLP-Z
5	P13647	Keratin, tip II citoskeletni 5	Medustanični spojevi, razvoj epiderma	Svi OLP-Z
6	P02533	Keratin, tip I citoskeletni 14	Organizacija staničnih spojeva, diferencijacija epitelnih stanica	Svi OLP-Z
7	A1A4E9	Keratin 13	Citoskeletni protein	Svi OLP-Z
8	H6VRG2	Keratin 1	Citoskeletni protein	Svi OLP-Z
9	P31947	14-3-3 sigma protein	Keratinizacija; pozitivna regulacija staničnog rasta; stanična signalizacija	Svi OLP-Z
10	P13645	Keratin, tip I citoskeletni 10	Diferencijacija keratinocita, stanični odgovor na kalcijeve ione	Svi OLP-Z
<b>Metabolički proteini</b>				
11	P06396 F5H1A8	Gelsolin	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi OLP-Z
12	B7Z9A0	cDNA FLJ56212, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi OLP-Z
13	B7Z992	cDNA FLJ53698, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi OLP-Z
14	B7Z6N2	cDNA FLJ56154, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi OLP-Z
15	B7Z2X4	cDNA FLJ53327, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi OLP-Z
16	Q59E92	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein (Fragment)	Vežanje ATP-a, vežanje nukleinskih kiselina; aktivnost helikaza ovisna o ATP-u	Svi OLP-Z
17	P02768	Serumski albumin	Grušanje krvi, metabolički procesi malih molekula	Svi OLP-Z
18	P04406	Glicerinaldehid-3-fosfat dehidrogenaza	Metabolizam ugljikohidrata, negativna regulacija translacije, metabolički procesi malih molekula	Svi OLP-Z
19	P06733	Alfa-enolaza	Metabolizam ugljikohidrata, negativna regulacija staničnog rasta	Svi OLP-Z
20	D9YZU5 P68871	Hemoglobin, beta	Prijenos kisika	Svi OLP-Z
21	E9PCV6	Alfa-3 lanac kolagena tipa VI	Odgovor na glukozu	Svi OLP-Z

22	P02675	Beta lanac fibrinogena	Grusanje krvi, organizacija izvanstaničnog matriksa, negativna regulacija apoptotičkih procesa endotelnih stanica, odgovor na kalcijeve ione	Svi OLP-Z
23	P07355	Aneksin A2	Angiogeneza, metabolički procesi	Svi OLP-Z
24	Q5I6Y6	Lamin A/C prijevorna inačica 1	Stanična signalizacija, mitotički procesi	Svi OLP-Z
25	Q6IPT9	Čimbenik elongacije 1-alfa	Sudjeluje u biosintezi proteina	Svi OLP-Z
26	Q5VTE0	Pretpostavljeni čimbenik elongacije 3 nalik alfi-1	Biosinteza proteina	Svi OLP-Z
27	Q53HR5	Čimbenik elongacije 1-alfa (Fragment)	Biosinteza proteina	Svi OLP-Z
28	P04075	Fruktozno-bisfosfonatna aldolaza A	Metabolizam ugljikohidrata, biosintetički procesi ATP-a, organizacija aktinskih vlakana	Svi OLP-Z
29	P62805 B2R4R0	Histon tipa H4	Organizacija kromatina, mitotički ciklus, održavanje telomera	Svi OLP-Z
30	B3KQT9	cDNA PSEC0175 fis, klon OVARC1000169, vrlo sličan proteinu disulfidnoj-izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi OLP-Z
31	B3KQT2	cDNA PSEC0148 fis, klon PLACE1007202, vrlo sličan proteinu disulfidnoj-izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi OLP-Z
32	P69905	Alfa podjedinica hemoglobina	Oksidativno-reduktivni procesi, prijenos kisika	Svi OLP-Z
33	D1MGQ2	Alfa-2 lanac globina	Prijenos kisika	Svi OLP-Z
34	Q6EHZ3	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein STRF8	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi OLP-Z
35	Q658S9	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp666I134 (Fragment)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi OLP-Z
36	P35908	Keratin, tip II citoskeletni 2 epidermalni	Keratinizacija, razvoj epiderma	Svi OLP-Z
37	P00915 E5RHP7	Ugljična anhidraza 1	Prijenos bikarbonata, metabolički procesi malih molekula	Svi OLP-Z
38	Q75L23	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein PSMC2 (Fragment)	Katabolički procesi proteina	Svi OLP-Z
39	P35998	Regulatorna podjedinica 7 proteaze 26S	Metabolički procesi malih molekula, katabolički procesi ATP-a	Svi OLP-Z
40	Q53G83	Izoforma ribosomskog proteina S3 (Fragment)	Sudjeluje u translaciji	Svi OLP-Z
41	P17066 Q53FC7	Protein toplinskog šoka 6, 70 kDa	Katabolički procesi ATP-a, nabiranje proteina, stanični odgovor na zagrijavanje	Svi OLP-Z
42	Q14697 F5H6X6	Neutralna alfa-glukozidaza AB	Metabolički procesi staničnih proteina, nabiranje proteina	Svi OLP-Z
43	B4DJ30	cDNA FLJ61290, vrlo slična neutralnoj alfa-glukozidazi AB	Metabolizam ugljikohidrata, prijenos unutarstaničnih proteina	Svi OLP-Z
44	O75369	Filamin-B	Stanična signalizacija, diferencijacija stanica	Svi OLP-Z
45	Q670S4	Hemoglobin Lepore-Baltimore (Fragment)	Prijenos kisika	Svi OLP-Z
46	Q9Y490 Q5TCU6	Talin-1	Uloga u grušanju krvi; metabolizmu proteina	Svi OLP-Z
47	P40121 B4DU58	Protein koji prekriva makrofage	Prekrivanje nazubljenih krajeva aktinskih niti	Svi OLP-Z

<b>Imunološki odgovor</b>				
48	P02671	Alfa lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru	Svi OLP-Z
49	A8K3E4	cDNA FLJ78367, vrlo slična ljudskom fibrinogenu, A alfa polipeptid (FGA), mRNA	Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru	Svi OLP-Z
50	P02751	Fibronektin	Protein akutne faze, uloga u angiogenezi	Svi OLP-Z
<b>Apoptotički proteini</b>				
51	P08670	Vimentin	Uloga u apoptotičkim procesima; pozitivna regulacija ekspresije gena	Svi OLP-Z
52	P15924	Dezmoplakin	Uloga u apoptotičkim procesima, razvoj epiderma; cijeljenje rana; diferencijacija keratinocita	Svi OLP-Z
53	Q6UYC3 P02545	Prelamin-A/C	Uloga u apoptotičkim procesima, mitotičkom ciklusu; stanična signalizacija; regulacija stanične migracije	Svi OLP-Z
54	P63104	14-3-3 protein zeta/delta	Apoptotički procesi, stanična signalizacija, grušanje krvi	Svi OLP-Z
55	P31946 B5BU24	14-3-3 beta/alfa protein	Apoptotički procesi, stanična signalizacija	Svi OLP-Z
56	D0PNI1	Zeta polipeptid za aktivaciju tirozin 3-monooksigenaze/triptofan 5-monooksigenaze	Regulacija stanične smrti, sekrecija histamina iz mastocita, odgovor na lijekove	Svi OLP-Z
<b>Antiapoptotički proteini</b>				
57	Q8NBS9 Q86UY0	Protein 5 koji sadrži domenu tioredoksina	Homeostaza staničnih redoks procesa, organizacija membrane, negativna regulacija apoptotičkih procesa	Svi OLP-Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
58	K9JA46	Sekretorni protein 52 lumena pasjemenika	Odgovor na stres, nabiranje proteina	Svi OLP-Z
59	P10809 B3GQS7	Mitochondrijski protein toplinskog šoka, 60 kDa	Katabolički procesi ATP-a, aktivacija B i T stanica, nabiranje proteina	Svi OLP-Z
60	P01009	Alfa-1-antitripsin	Odgovor akutne faze upale, grušanje krvi, regulacija proteolize	Svi OLP-Z
61	Q99880 Q99879 Q99877 Q93079 Q5QNW6 P62807	Histon tipa H2B	Komponenta nukleosoma, organizacija kromatina, uloga u urođenom imunološkom odgovoru sluznice	Svi OLP-Z
62	P30101 G5EA52	Protein disulfidna izomeraza A3	Prezentacija antigena, nabiranje proteina, metabolički procesi staničnih proteina	Svi OLP-Z
63	Q5TZZ9	Aneksin	Diferencijacija T-stanica, regulacija stanične proliferacije, signalizacija preko površinskih staničnih receptora	Svi OLP-Z
64	P04083	Aneksin A1	Diferencijacija T-stanica, regulacija stanične proliferacije, signalizacija preko površinskih staničnih receptora	Svi OLP-Z
65	P01024	Komplement C3	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor, stanična signalizacija	Svi OLP-Z

66	P01860	Lanac imunoglobulina gama-3 regije C	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor	Svi OLP-Z
67	B3KSM6	cDNA FLJ36606 fis, klon TRACH2015654, vrlo sličan proteinu 6 toplinskog šoka 70 kDa	Odgovor na stres	Svi OLP-Z
68	B2R6X5	cDNA, FLJ93166, vrlo slična proteinu 6 toplinskog šoka 70 kDa 70kDa protein 6 (HSP70B~) (HSPA6), mRNA	Odgovor na stres	Svi OLP-Z
69	Q9UP60	SNC73 protein	Domena imunoglobulina/ funkcija nije navedena	Svi OLP-Z
70	P26038	Moesin	Pokretanje staničnih komponenti, migracija leukocita	Svi OLP-Z
71	Q06830	Peroksiredoksin-1	Stanična proliferacija, citotoksičnost posredovana NK stanicama; razvoj koštanog sustava	Svi OLP-Z
72	P01011 G3V513	Alfa-1-antikimotripsin	Upalni odgovor akutne faze, metabolizam lipida i proteina	Svi OLP-Z
<b>Komponente izvanstaničnog prostora</b>				
73	E9KL23	Protein koji veže sekretornu spermu pasjemenika Li 44a	Komponenta izvanstaničnog prostora	Svi OLP-Z
74	P12110	Alfa-2 lanac kolagena tipa VI	Stanična adhezija, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-Z
75	P51884 Q53FV4	Lumikan	Metabolizam ugljikohidrata, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-Z
76	B3KS79	cDNA FLJ35730 fis, klon TESTI2003131, vrlo slična alfa-1 antikimotripsinu	Komponenta izvanstaničnog prostora	Svi OLP-Z
<b>Stanična komponenta</b>				
77	Q6MZV7	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686C11235	Komponenta membrane	Svi OLP-Z
78	Q96K68	cDNA FLJ14473 fis, klon MAMMA1001080, vrlo sličan ljudskom proteinu SNC73 (SNC73) mRNA	Komponenta membrane	Svi OLP-Z
79	Q8NCL6	cDNA FLJ90170 fis, klon MAMMA1000370, vrlo sličan alfa-1 lancu regije C imunoglobulina	Komponenta membrane	Svi OLP-Z
80	Q6N030	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I15212	Komponenta membrane	Svi OLP-Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
81	Q6MZW0	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686J11235 (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi OLP-Z
82	F8W7G7	Ugl-Y3	Funkcija nije navedena	Svi OLP-Z
83	Q8TCD0 Q6GMX0 Q5EBM2 A0A5E4 Q8NEJ1	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein	Funkcija nije navedena	Svi OLP-Z
84	B2R9S4	cDNA, FLJ94534, vrlo slična ljudskom proteinu koji prekriva (aktinske niti), nalik gelsolinu(CAPG), mRNA	Funkcija nije navedena	Svi OLP-Z
85	Q8NF17	FLJ00385 protein (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi OLP-Z

<b>Imunološki odgovor</b>				
86	P08238	Protein toplinskog šoka 90-beta	Urođeni imunološki odgovor, nabiranje proteina, stanična signalizacija	Svi OLP-Z
87	P59666 Q6EZE9 P59665	Neutrofilni defenzin 1/3	Sudjeluje u imunološkom odgovoru protiv bakterija, antibiotska, protugljivična i protuvirusna aktivnost	Svi OLP-Z
88	P01876	Alfa-1 lanac regije C imunoglobulina	Sudjeluje u imunološkom odgovoru	Svi OLP-Z
89	P07900	Protein toplinskog šoka 90-alfa	ATP katabolički procesi, metabolički procesi malih molekula, urođeni imunološki odgovor	Svi OLP-Z
90	P00738	Haptoglobin	Imunološki odgovor, regulacija staničnih procesa	Svi OLP-Z
<b>Metabolički procesi</b>				
91	P23396 J3KN86	40S ribosomski protein S3	Regulacija staničnih procesa	Svi OLP-Z
92	Q15582 G8JLA8	Protein ig-h3 induciran transformirajućim čimbenikom rasta beta	Angiogeneza, proliferacija stanica, organizacija izvanstaničnog matriksa, regulacija stanične adhezije	Svi OLP-Z
93	M0QYT0	Nekarakterizirani protein (Fragment)	Katalitička aktivnost, vezanje nukleotida i nukleinske kiseline	Svi OLP-Z
94	P01023	Alfa-2-makroglobulin	Uloga u grušanju krvi, regulacija staničnih procesa	Svi OLP-Z
95	P08123	Alfa-2(I) lanac kolagena	Uloga u grušanju krvi, razvoju krvnih žila, organizaciji staničnog matriksa	Svi OLP-Z
96	P30086 D9IAI1	Protein 1 koji veže fosfatidiletanolamin	Inhibitor proteaza	Svi OLP-Z
97	P05109	Protein S100-A8	Veže kalcij i cink i ima ulogu u upalnim i imunološkim procesima	Svi OLP-Z
98	Q9BTM1 Q99878 Q96KK5 Q6FI13 Q16777 P20671 P0C0S8	Histon H2A tipa 2	Komponenta nukleosoma	Svi OLP-Z
99	P13489	Inhibitor ribonukleaze	Regulacija angiogeneze, negativna regulacija katalitičke aktivnosti	Svi OLP-Z
100	Q8N6N5 Q8IZ29	Tubulin, beta 2C	Polimerizacija proteina, komponenta mikrotubula	Svi OLP-Z
101	P00558	Fosfoglicerat-kinaza 1	Metabolizam ugljikohidrata, glukoneogeneza, glikoliza	Svi OLP-Z
102	P62937 A8K486	Peptidil-prolil cis-trans izomeraza A	Uloga u grušanju krvi, regulacija staničnih procesa, nabiranje (savijanje) proteina	Svi OLP-Z
103	P02647	Apolipoprotein A-I	Uloga u grušanju krvi, migracija endotelih stanica krvnih žila, regulacija staničnih procesa	Svi OLP-Z
104	Q6FHZ0 P40926 Q75MT9 Q0QF37	Malat-dehidrogenaza	Regulacija staničnih procesa, metabolizam ugljikohidrata	Svi OLP-Z



105	Q53H26	Izoforma transferina (Fragment)	Homeostaza i transport (staničnog) željeza	Svi OLP-Z
106	P60174	Triozafosfat izomeraza	Metabolizam ugljikohidrata, glukoneogeneza, glikoliza	Svi OLP-Z
<b>Anti-apoptični proteini</b>				
107	P04792	Protein toplinskog šoka beta-1	Pozitivna regulacija angiogeneze, negativna regulacija apoptoze, stanična signalizacija	Svi OLP-Z
<b>Komponenta izvanstaničnog matriksa</b>				
108	P12109	Alfa-1 lanac kolagena tipa VI	Organizacija izvanstaničnog matriksa, stanična adhezija, odgovor na glukozu	Svi OLP-Z
109	P02679	Gama lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, negativna regulacija apoptoze, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-Z
110	P35555	Fibrillin-1	Organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi OLP-Z

**Tablica 3.** Proteini zajednički svim uzorcima promijenjene sluznice pacijenata s karcinomom (svi Ca-B). Osjenčana polja označavaju proteine koji su diferencijalno eksprimirani u odnosu na pripadajuću nepromijenjenu sluznicu (svi Ca-Z, tablica 4).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>Citoskeletni proteini</b>				
1	B4DRR0	cDNA FLJ53910, vrlo slična keratinu, tipa II citoskeletnom 6A	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
2	H6VRG2	Keratin 1	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
3	P19013	Keratin, tipa II citoskeletni 4	Citoskeletni protein, diferencijacija epitelnih stanica, negativna regulacija proliferacije epitelnih stanica	Svi Ca-B
4	P08779	Keratin, tipa I citoskeletni 16	Citoskeletni protein, negativna regulacija stanične migracije	Svi Ca-B
5	B4DRW1	cDNA FLJ55805, vrlo slična keratinu, tipa II citoskeletnom 4	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
6	P35579	Miozin-9	Citoskeletni protein, regulacija staničnog oblika, stanična signalizacija	Svi Ca-B
7	P13645	Keratin, tipa I citoskeletni 10	Diferencijacija keratinocita, stanični odgovor na kalcijeve ione	Svi Ca-B
8	P35527	Keratin, tipa I citoskeletni 9	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
9	Q1KLZ0	HCG15971, izoforma CRA_a	Aksonogeneza	Svi Ca-B
10	P13647	Keratin, tipa II citoskeletnom 5	Međustanični spojevi, razvoj epiderma	Svi Ca-B
11	Q53GK6	Izoforma beta aktina (Fragment)	Pripada obitelji aktina / funkcija nije navedena	Svi Ca-B
12	P31947	14-3-3 sigma protein	Keratinizacija, pozitivna regulacija staničnog rasta, stanična signalizacija	Svi Ca-B
13	P35908	Keratin, tipa II citoskeletni 2 epidermalni	Keratinizacija, razvoj epiderma	Svi Ca-B
14	P19012	Keratin, tip I citoskeletni 15	Citoskeletni protein, razvoj epiderma	Svi Ca-B
15	B1PS43 P35749 D2JYH7	Miozin-11	Kontrakcija stanice	Svi Ca-B
16	P02533	Keratin, tipa I citoskeletni 14	Organizacija staničnih spojeva, diferencijacija epitelnih stanica	Svi Ca-B
17	P12035 J3QST3	Keratin, tip II citoskeletni 3	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
<b>Apoptotički proteini</b>				
18	P08670	Vimentin	Uloga u apoptotičkim procesima; pozitivna regulacija ekspresije gena	Svi Ca-B
19	P02545	Prelamin-A/C	Uloga u apoptotičkim procesima, mitotičkom ciklusu; stanična signalizacija; regulacija stanične migracije	Svi Ca-B
20	P15924	Dezmoplakin	Uloga u apoptotičkim procesima, razvoj epiderma; cijeljenje rana; diferencijacija keratinocita	Svi Ca-B
21	P09382	Galektin-1	Apoptotički procesi, odgovor na lijekove, stanični odgovor na stimulaciju glukozom	Svi Ca-B

<b>Anti-apoptotički proteini</b>				
22	P04792	Protein toplinskog šoka beta-1	Pozitivna regulacija angiogeneze, negativna regulacija apoptoze, stanična signalizacija	Svi Ca-B
23	A8K5I0 P08107	Protein toplinskog šoka 70 kDa 1A/1B	ATP katabolički procesi; negativna regulacija apoptotičkih procesa, stanične proliferacije, staničnog rasta	Svi Ca-B
24	P32119	Peroksiredoksin-2	Stanični odgovor na oksidativni stres, negativna regulacija apoptotičkih procesa	Svi Ca-B
<b>Metabolički proteini</b>				
25	P02768	Serumski albumin	Grušanje krvi, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-B
26	Q5I6Y6	Izoforma lamina A/C 1	Stanična signalizacija, mitotički procesi	Svi Ca-B
27	F5H1A8	Gelsolin	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Ca-B
28	I1VZV6 P69905	Hemoglobin alfa 1	Prijenos kisika	Svi Ca-B
29	D1MGQ2	Alfa-2 lanac globina	Prijenos kisika	Svi Ca-B
30	P04075 J3KPS3	Fruktozno-bisfosfonatna aldolaza	Glikolitički procesi	Svi Ca-B
31	Q8N1N4	Keratin, tipa II citoskeletni 78	Aktivnost strukturnih molekula	Svi Ca-B
32	Q0VAS5 P62805 B2R4R0	Histon tipa H4	Komponenta nukleosoma	Svi Ca-B
33	O75369 E7EN95	Filamin-B	Stanična signalizacija, stanična diferencijacija	Svi Ca-B
34	Q6NZY1 Q6FHB8	Protein TPSB2	Endopeptidazna aktivnost	Svi Ca-B
35	Q6B051 Q15661 P20231 J3QTS8 H3BMK9	Triptaza alfa/beta 1/2	Endopeptidazna aktivnost	Svi Ca-B
36	B4DUA5 B4DNL5 B4DLN6	cDNA FLJ59430, vrlo slična proteinu disulfidnoj-izomerazi (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B
37	B4DF70	cDNA FLJ60461, vrlo slična peroksiredoksinu-2 (EC 1.11.1.15)	Oksidoreduktazna aktivnost	Svi Ca-B
38	B3KQT9	cDNAPSEC0148 fis, klon PLACE1007202, vrlo sličan proteinu disulfidnojizomerazi A 3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B
39	B3KQT2	cDNA PSEC0148 fis, klon PLACE1007202, vrlo sličan proteinu disulfidnojizomerazi A 3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B
40	P08123	Alfa-2 lanac kolagena tipa I	Uloga u grušanju krvi, razvoju krvnih žila, organizaciji staničnog matriksa	Svi Ca-B
41	Q5T6W5 Q5EC54 Q6IBN1 P61978	Heterogeni ribonukleoprotein K jezgre	Vežanje RNA	Svi Ca-B

42	B4DUQ1	cDNA FLJ54552, vrlo slična heterogenom ribonukleoproteinu K jezgre	Vežanje RNA	Svi Ca-B
43	B4DFF1	cDNA FLJ53312, vrlo slična heterogenom ribonukleoproteinu K jezgre	Vežanje RNA	Svi Ca-B
44	H3BRU6 G3V0E8 F8VZX2	Višestruko vežući protein (rC) 2 1	Vežanje RNA	Svi Ca-B
45	B4DRD7	cDNA FLJ54752, vrlo slična višestruko vežućem proteinu(rC) 2	Vežanje RNA	Svi Ca-B
46	Q9UFQ0	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp434K0435 (Fragment)	Homeostaza energije, razvoj masnog tkiva	Svi Ca-B
47	Q96MH4	cDNA FLJ32377 fis, klon SKMUS1000014, vrlo sličan poliubikvitinu 9	Komponenta citoplazme	Svi Ca-B
48	E7ENQ5	Aneksin	Metabolički protein, stanična signalizacija	Svi Ca-B
49	P00915 E5RHP7	Ugljična anhidraza 1	Prijenos bikarbonata, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-B
50	Q5R210 Q59HF8 P31327 J3KQL0	Karbamolifosfat sintetaza 1	Biosintetički procesi karbamoil-sintetaze, vežanje ATP-a	Svi Ca-B
51	A8K134	cDNA FLJ75245, vrlo slična karbamolifosfatnoj sintetazi 1, mitohondrijska (CPS1), mRNA	Biosintetički procesi karbamoil-sintetaze, vežanje ATP-a	Svi Ca-B
52	Q01469	Protein koji veže masne kiseline, epidermalni	Metabolički procesi glukoze i lipida, razvoj epiderma	Svi Ca-B
53	E7D VW5	Protein koji veže masne kiseline 5 (povezan s psorijazom)	Metabolički procesi glukoze	Svi Ca-B
54	Q96C32 Q59EM9	Poliubikvitin-C	Homeostaza energije, razvoj masnog tkiva	Svi Ca-B
55	Q14134	Protein koji sadrži tročlani motiv 29	Regulacija metaboličkih procesa	Svi Ca-B
56	Q5RKT7	Ribosomski protein S27a	Sudjeluje u translaciji	Svi Ca-B
57	P14618	Izoenzimi piruvat kinaze M1/M2	Uloga u metaboličkim procesima	Svi Ca-B
58	E9PCV6	Alfa-3 lanac kolagena tipa VI	Uloga u metabolizmu glukoze	Svi Ca-B
59	P00558 E7ERH5	Fosfoglicerat kinaza 1	Uloga u metabolizmu ugljikohidrata	Svi Ca-B
<b>Imunološki odgovor</b>				
60	P63261	Citoplazmatski aktin 2	Urođeni imunološki odgovor, organizacija međustaničnih spojeva, organizacija membrane	Svi Ca-B
61	P60709	Citoplazmatski aktin 1	Urođeni imunološki odgovor, organizacija međustaničnih spojeva, organizacija membrane	Svi Ca-B
62	B4DI39	cDNA FLJ54328, vrlo slična proteinu 1 toplinskog šoka 70 kDa	Odgovor na stres	Svi Ca-B
63	B3KSM6	cDNA FLJ36606 fis, klon TRACH2015654, vrlo sličan proteinu toplinskog šoka 6, 70kDa	Odgovor na stres	Svi Ca-B

64	B2R6X5	cDNA, FLJ93166, vrlo sličan proteinu toplinskog šoka 6, 70kDa	Odgovor na stres	Svi Ca-B
65	P02671	Alfa lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru	Svi Ca-B
66	A8K3E4	cDNA FLJ78367, vrlo slična ljudskom fibrinogenu, A alfa polipeptid (FGA), mRNA	Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru	Svi Ca-B
67	P01860	Lanac imunoglobulina gama-3 regije C	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor	Svi Ca-B
68	P07900	Protein toplinskog šoka 90-alfa	ATP katabolički procesi, metabolički procesi malih molekula, urođeni imunološki odgovor	Svi Ca-B
69	K9JA46	Sekretorni protein lumena pasjemenika 52	Odgovor na stres, nabiranje proteina	Svi Ca-B
70	P01009	Alfa-1-antitripsin	Odgovor akutne faze upale, grušanje krvi, regulacija proteolize	Svi Ca-B
<b>Komponente izvanstaničnog matriksa</b>				
71	D3DXTX7	Kolagen, tip I, alfa 1, izoforma CRA_a	Komponenta izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-B
72	P12109	Alfa-1 lanac kolagena tipa VI	Organizacija izvanstaničnog matriksa, stanična adhezija, odgovor na glukozu	Svi Ca-B
73	P12110	Lanac alfa-2 kolagena tipa VI	Stanična adhezija, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-B
74	P51884	Lumikan	Metabolizam ugljikohidrata, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-B
75	Q53FV4	Inačica lumikana (Fragment)	Protein izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-B
76	P07585 Q6FH10	Protein dekorin	Metabolizam ugljikohidrata, odgovor na mehaničke podražaje, organizacija izvanstaničnog matriksa, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-B
77	E9KL23	Protein koji veže sekretornu spermu pasjemenika Li 44a	Komponenta izvanstaničnog prostora	Svi Ca-B
<b>Stanične komponente</b>				
78	Q6PYX1	Protein koji veže receptor hepatitis B virusa (Fragment)	Receptor	Svi Ca-B
79	Q6MZV7	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686C11235	Komponenta membrane	Svi Ca-B
80	Q6N030	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I15212	Komponenta membrane	Svi Ca-B
81	Q5U5U6	Ubikvitin B	Komponenta citoplazme	Svi Ca-B
<b>Nepoznata funkcija</b>				
82	P07237 I3L2P8 H7BZ94 F5H8J2 G5EA52	Protein disulfidna-izomeraza	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
83	Q68CT4	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686A1668	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
84	Q96H31	UBC protein (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
85	Q6N093	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I04196 (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B

86	Q9UL91	Promjeniva regija teškog lanca imunoglobulina koja reagira s miozinom (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
87	Q5UGI3	Inačica ubikvitina C	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
88	Q8TCD0 Q8WVW5	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein	Funkcija nije navedena	Svi Ca-B
<b>Metabolički proteini</b>				
90	Q99880 Q99879 Q99877 Q93079 Q5QN6 P62807 P58876	Histon tipa H2B	Organizacija kromatina i nukleosoma	Svi Ca-B
91	Q09666	Protein povezan s diferencijacijom neuroblasta AHNAK	Regulacija aktivnosti kalcijevih kanala, oligomerizacija protein, regulacija cijepanja RNA	Svi Ca-B
92	P68871 D9YZU5	Hemoglobin, beta	Prijenos željeza	Svi Ca-B
93	Q06AH7 Q53H26	Transferin	Prijenos željeza, homeostaza staničnih iona željeza	Svi Ca-B
94	P02787	Serotransferin	Uloga u grušanju krvi, homeostazi staničnog željeza	Svi Ca-B
95	B4E1B2	cDNAFLJ53691, vrlo slabi serotransferinu	Prijenos željeza, homeostaza staničnih iona željeza	Svi Ca-B
96	Q00610	Teški lanac klatrina 1	Regulacija staničnih procesa	Svi Ca-B
97	B4DJ98	cDNAFLJ53558, vrlo slabi protein disulfidnoj izomerazi A 3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-B
98	P02675 D3DP13	Lanac fibrinogena beta, izoforma CRA_e	Uloga u grušanju krvi, stanična signalizacija	Svi Ca-B
99	B4E1D3	cDNAFLJ53952, vrlo slabi lanac fibrinogena beta	Uloga u staničnoj signalizaciji	Svi Ca-B
100	P11142 E9PKE3	Protein 71 kDa s rodan protein utoplinskog šoka	ATP katabolički procesi, organizacija membrane, regulacija staničnog ciklusa	Svi Ca-B
101	Q9Y490 Q5TCU6	Talin-1	Uloga u grušanju krvi, kontrakciji stanica, staničnoj signalizaciji	Svi Ca-B
102	P80723	Protein 1 topiv u moždanoj kiselini	Stanična signalizacija, razvoj crne tvari, ošita, prsnog koša, prednje abdominalne šupljine	Svi Ca-B
103	Q96RZ6 Q86UA5 Q86TM8	Protein TPSAB1	Hidrolaza, proteaza, serinska proteaza	Svi Ca-B
104	Q2TSD0 P04406	Gliceraldehid-3-fosfatna dehidrogenaza	Sudjeluje u metaboličkim procesima glukoze	Svi Ca-B
105	Q60FE6 P21333 A6NDY9	Filamin A	Keratinizacija, citoskeletni protein, pozitivna regulacija staničnog rasta	Svi Ca-B
106	P02679 C9JEU5	Gama lanac fibrinogena	Uloga u staničnoj signalizaciji	Svi Ca-B
107	F5GWP8	Spojni plakoglobin	Stanična signalizacija i migracija stanica	Svi Ca-B

<b>Imunološki odgovor</b>				
108	Q53GZ6	Izoforma proteina 8 izoforme 1 toplinskog šoka 70 kDa (Fragment)	Odgovor na stres	Svi Ca-B
109	Q53FC7 P17066	Protein toplinskog šoka 6, 70kDa (Fragment)	Odgovor na stres	Svi Ca-B
110	P52209 F5H7U0 B4E2U0 B4DQJ8	Dekarboksilirajuća 6-fosfoglukonat dehidrogenaza	Metabolizam ugljikohidrata, oksidoreduktivni procesi, ostali metabolički procesi	Svi Ca-B
111	P10809 B3GQS7	Mitohondrijski protein toplinskog šoka, 60 kDa	Aktivacija B i T limfocita, regulacija staničnih procesa, savijanje (nabiranje) proteina, odgovornostres	Svi Ca-B
<b>Citoskeletni proteini</b>				
112	Q04695	Keratin, tip I citoskeletni 17	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
113	Q15149	Plektin	Citoskeletni protein, sudjeluje u apoptotičkim procesima	Svi Ca-B
114	B4E3A4	cDNAFLJ57283, vrlo slična citoplazmatskom aktinu 2	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
115	B4E335	cDNAFLJ52842, vrlo slična citoplazmatskom aktinu 1	Aksonogeneza	Svi Ca-B
116	Q05707	Lanac alfa-1 kolagena tipa XIV	Citoskeletni protein, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-B
117	P04259	Keratin, tip II citoskeletni 6B	Citoskeletni protein	Svi Ca-B
118	Q01546	Keratin, tip II citoskeletni 2	Keratinizacija, regulacija aktivnosti keratinocita, citoskeletni protein	Svi Ca-B
119	A1A4E9	Keratin 13	Citoskeletni protein	Svi Ca-B

**Tablica 4.** Proteini zajednički svim uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata s karcinomom (svi Ca-Z). Osjenčana polja označavaju proteine koji su diferencijalno eksprimirani u odnosu na pripadajuću promijenjenu sluznicu (Ca-B, tablica 3).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>Metabolički proteini</b>				
1	P02768 F6KPG5	Serumski albumin	Grušanje krvi, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-Z
2	P68871	Hemoglobin beta	Prijenos željeza	Svi Ca-Z
3	I1VZV6 P69905	Hemoglobin alfa 1	Prijenos kisika	Svi Ca-Z
4	D1MGQ2	Lanac alfa-2 globina	Prijenos kisika	Svi Ca-Z
5	Q0VAS5 P62805 B2R4R0	Histon tipa H4	Komponenta nukleosoma	Svi Ca-Z
6	P04406	Gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza	Sudjeluje u metaboličkim procesima glukoze	Svi Ca-Z
7	P35609 B2RCS5	Fosfoglicerat kinaza 1	Metabolizam ugljikohidrata	Svi Ca-Z
8	P00915 E5RHP7	Ugljična anhidraza 1	Prijenos bikarbonata, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-Z
9	Q5TZZ9 B4DNH8	Aneksin	Metabolički protein, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
10	Q6B051 Q15661 J3QTS8 H3BMK9 P20231	Triptaza alfa/beta 1/2	Endopeptidazna aktivnost	Svi Ca-Z
11	P14625	Protein disulfidna-izomeraza	Homeostaza staničnih redoks procesa, metabolizam lipoproteina, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
12	P04075 J3KPS3	Fruktozno-bisfosfonatna aldolaza	Glikolitički procesi	Svi Ca-Z
13	B3KQT9	cDNAPSEC0148 fis, klonPLACE1007202, vrlo slična proteinu disulfidnoj izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-Z
14	P08123	Alfa-2 lanac kolagena tipa I	Uloga u grušanju krvi, razvoju krvnih žila, organizaciji staničnog matriksa	Svi Ca-Z
15	Q5I6Y6	Izoforma 1 lamina A/C	Stanična signalizacija, mitotički procesi	Svi Ca-Z
16	Q96H31	Poliubikvitin-C	Homeostaza energije, razvoj masnog tkiva	Svi Ca-Z
17	Q5U5U6	Ribosomski protein S27a	Sudjeluje u translaciji	Svi Ca-Z
18	Q6NZY1 Q6FHB8	Protein TPSB2	Aktivnost endopeptidaze serinskog tipa	Svi Ca-Z
19	Q9UBC9 F5GZ12	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp434K0435 (Fragment)	Homeostaza energije, razvoj masnog tkiva	Svi Ca-Z
20	B2R892	Protein koji veže masne kiseline, epidermalni	Metabolički procesi ugljikohidrata i lipida, razvoj epiderma	Svi Ca-Z



21	Q01469	Protein koji veže masne kiseline 5 (povezan s psorijazom)	Metabolički procesi ugljikohidrata i lipida	Svi Ca-Z
22	P60660 J3KND3 G8JLA2	Spojni plakoglobin	Stanična signalizacija i migracija stanica	Svi Ca-Z
23	P14618	Izoenzimi piruvat-kinaze M1/M2	Metabolizam ugljikohidrata, programirana stanična smrt	Svi Ca-Z
24	Q96RZ6	Triptaza I	Aktivnost endopeptidaze serinskog tipa	Svi Ca-Z
25	E9PCV6	Lanac alfa-3 kolagena tipa VI	Uloga u metabolizmu glukoze	Svi Ca-Z
<b>Citoskeletni proteini</b>				
26	P19013	Keratin, tip II citoskeletni 4	Citoskeletni protein, diferencijacija epitelnih stanica, negativna regulacija proliferacije epitelnih stanica	Svi Ca-Z
27	B4DRW1	cDNA FLJ55805, vrlo slična citoskeletnom keratinu 4, tipa II	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
28	P13645	Keratin, tip I citoskeletni 10	Stanični odgovor na kalcijeve ione, diferencijacija keratinocita	Svi Ca-Z
29	P13647	Keratin, tip II citoskeletni 5	Međustanični spojevi, razvoj epiderma	Svi Ca-Z
30	P35527	Keratin, tip I citoskeletni 9	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
31	P31947	14-3-3 sigma protein	Keratinizacija, pozitivna regulacija staničnog rasta, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
32	Q53GK6	Beta izoforma aktina (Fragment)	Pripada obitelji aktina / funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
33	Q1KLZ0	HCG15971, izoforma CRA_a	Aksonogeneza	Svi Ca-Z
34	P02538	Keratin, tip II citoskeletni 6A	Citoskeletni protein, uloga u staničnoj diferencijaciji	Svi Ca-Z
35	P19012	Keratin, tip I citoskeletni 15	Citoskeletni protein, razvoj epiderma	Svi Ca-Z
36	P02533	Keratin, tip I citoskeletni 14	Organizacija staničnih spojeva, diferencijacija epitelnih stanica	Svi Ca-Z
37	Q60FE6 P21333	Filamin A	Keratinizacija, citoskeletni protein, pozitivna regulacija staničnog rasta	Svi Ca-Z
38	Q6IN99	Keratin, tip II citoskeletni 3	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
39	P12035	Keratin, tip I citoskeletni 16	Citoskeletni protein, negativna regulacija stanične migracije	Svi Ca-Z
40	P06396 F5H1A8	Gelsolin	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Ca-Z
41	B4DRR0	cDNA FLJ53910, vrlo slična citoskeletnom 6A keratinu, tipa II	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
42	H6VRG2	Keratin 1	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
43	P23284 D2JYH7 P35749	Miozin-11	Kontrakcija glatkih mišića, razvoj vlakana srčanog mišića	Svi Ca-Z
44	P35579 Q60FE2	Miozin-9	Citoskeletni protein, regulacija staničnog oblika, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
45	P63261	Citoplazmatski aktin 2	Urođeni imunološki odgovor, organizacija međustaničnih spojeva, organizacija membrane	Svi Ca-Z
46	P60709	Citoplazmatski aktin 1	Urođeni imunološki odgovor, organizacija međustaničnih spojeva, organizacija membrane	Svi Ca-Z

47	P01009	Alfa-1-antitripsin	Odgovor akutne faze upale, grušanje krvi, regulacija proteolize	Svi Ca-Z
48	P02671	Alfa lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru	Svi Ca-Z
49	A8K3E4	cDNA FLJ78367, vrlo slična fibrinogenu, A alfa polipeptid (FGA), mRNA	Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru	Svi Ca-Z
50	Q6N030	Lanac imunoglobulina gama-3 regije	Aktivacija komplekta, urođeni imunološki odgovor	Svi Ca-Z
51	B4DI39	cDNA FLJ54328, vrlo slična proteinu 1 toplinskog šoka 70 kDa	Odgovor na stres	Svi Ca-Z
52	P04083	Aneksin A1	Diferencijacija T stanica i keratinocita, upalni odgovor, signalizacija preko receptora na staničnoj površini	Svi Ca-Z
<b>Apoptotički proteini</b>				
53	P08670	Vimentin	Uloga u apoptotičkim procesima; pozitivna regulacija ekspresije gena	Svi Ca-Z
54	P02545	Prelamin-A/C	Uloga u apoptotičkim procesima, mitotičkom ciklusu; stanična signalizacija; regulacija stanične migracije	Svi Ca-Z
55	P15924	Dezmoplakin	Uloga u apoptotičkim procesima, razvoj epiderma; cijeljenje rana; diferencijacija keratinocita	Svi Ca-Z
56	P04792	Galektin-1	Stanični odgovor na glukozu i lijekove, apoptotički procesi	Svi Ca-Z
<b>Antiapoptotički proteini</b>				
57	B4DNL5	Protein toplinskog šoka beta-1	Unutarstanični prijenos signala, pokretanje staničnih komponenti, pozitivna regulacija angiogeneze i migracije endotelnih stanica, negativna regulacija apoptoze	Svi Ca-Z
58	P08107 Q59EJ3	Protein toplinskog šoka 70 kDa 1A/1B	Negativna regulacija staničnog rasta i apoptoze, metabolički procesi povezani s RNA	Svi Ca-Z
59	P02679	Gama lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, negativna regulacija apoptoze, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
<b>Komponente izvanstaničnog prostora</b>				
60	P12109	Alfa-1lanac kolagena tipa VI	Organizacija izvanstaničnog matriksa, stanična adhezija, odgovor na glukozu	Svi Ca-Z
61	P12110	Lanac alfa-2 kolagena tipa VI	Stanična adhezija, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
62	E9KL23	Protein koji veže sekretornu spermu pasjemenika Li 44a	Komponenta izvanstaničnog prostora	Svi Ca-Z
63	P51884	Lumikan	Metabolizam ugljikohidrata, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
64	D3DTX7	Kolagen, tip I, alfa 1, izoforma CRA_a	Komponenta izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
65	P07585 Q6FH10	Protein dekorin	Metabolizam ugljikohidrata, odgovor na mehaničke podražaje, organizacija izvanstaničnog matriksa, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-Z

<b>Stanične komponente</b>				
66	Q6MZV7	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686C11235	Komponenta membrane	Svi Ca-Z
67	Q9UFQ0	cDNA FLJ32377 fis, klon SKMUS1000014, vrlo slična poliubikvittinu 9	Komponenta citoplazme	Svi Ca-Z
68	Q5UGI3 Q59EM9	Ubikvitin B	Komponenta citoplazme	Svi Ca-Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
69	Q8WVW5	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
70	Q96C32	Izoforma ubikvitina C	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
71	Q96MH4	UBC protein (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
72	Q8TCD0	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
73	P08238	Protein toplinskog šoka HSP 90-beta	Urođeni imunološki odgovor, stanična signalizacija, pozitivna regulacija vezanja proteina	Svi Ca-Z
74	P30101	Protein disulfidna-izomeraza A3	Prezentacija antigena, homeostaza staničnih redoks procesa, prijenos signala	Svi Ca-Z
75	P60174	Antigen odbijanja tumora (Gp96) 1	Odgovor na stres, savijanje (nabiranje) proteina	Svi Ca-Z
76	P17066	cDNA FLJ36606 fis, klon TRACH2015654, vrlo sličan proteinu toplinskog šoka 6, 70 kDa	odgovor na stres	Svi Ca-Z
77	B3KSM6	cDNA, FLJ93166, vrlo slična proteinu toplinskog šoka 6, 70 kDa (HSP70B~) (HSPA6), mRNA	Odgovor na stres	Svi Ca-Z
78	P07355 Q5TZZ9 P04083 B4DNH8	Aneksin I/II	Diferencijacija T-limfocita, stanična signalizacija, stanični odgovor na različite spojeve, angiogeneza, pupanje membrane	Svi Ca-Z
79	Q06830	Peroksiredoksin-1	Uloga u staničnoj proliferaciji, citotoksičnost posredovana NK stanicama	Svi Ca-Z
80	P01876	Lanac alfa-1 imunoglobulina regije C	Sudjeluje u imunološkom odgovoru	Svi Ca-Z
81	B4DWK5	cDNA FLJ54392, vrlo slična proteinu 1 toplinskog šoka 70 kDa	Odgovor na stres	Svi Ca-Z
82	P68133	Laki regulirajući lanac 2 miozina, izoforma skeletnog mišića	Imunološki odgovor, uloga u razvoju skeletnih mišića	Svi Ca-Z
83	Q96A32	Protein S100-A8	Akutni i kronični imunološki odgovor, urođeni imunološki odgovor, odgovor stanice na različite spojeve	Svi Ca-Z
84	B7Z5Q2	cDNAFLJ76826, vrlo slična feroksidazi ljudskog ceruloplazmina (CP), mRNA	Homeostaza staničnih iona željeza, prijenos iona bakra	Svi Ca-Z

85	P01598	Lanac V-I imunoglobulina kapa regije EU	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor	Svi Ca-Z
86	P01596	Lanac V-I imunoglobulina kapa regije CAR	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor	Svi Ca-Z
87	P13489	Haptoglobin	Odgovor u akutnoj fazi upale, imunološki odgovor	Svi Ca-Z
88	P01024	Komplement C3	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor, uloga u staničnoj signalizaciji	Svi Ca-Z
89	B4DMA2	cDNA FLJ54023, vrlo slična proteinu toplinskog šoka HSP 90-beta	Odgovor na stres, nabiranje proteina	Svi Ca-Z
90	P36952	Čimbenik komplementa B	Uloga u imunološkom odgovoru	Svi Ca-Z
91	P01860	Protein IGL@	Uloga u imunološkom odgovoru	Svi Ca-Z
<b>Metabolički proteini</b>				
92	Q0QEN7	Podjedinica ATP sintaze	Metabolički procesi lipida, transport protona nakon hidrolize i sinteze ATP-a, angiogeneza, biosintetički procesi povezani s ATP-om, transport protona	Svi Ca-Z
93	P00558	Beta podjedinica ATP sintaze (Fragment)	Metabolički procesi peptida, prijenos proteina	Svi Ca-Z
94	P40925 B9A041	Protein toplinskog šoka 6, 70 kDa	Katabolički procesi ATP-a, stanični odgovor na zagrijavanje	Svi Ca-Z
95	P05976 P62937 A8K486	Peptidil-prolil cis-trans izomeraza A	Uloga u grušanju krvi, ulasku u stanicu-domaćina, životnom ciklusu virusa, savijanje (nabiranje) proteina	Svi Ca-Z
96	A8K486	Keratin, tip II citoskeletni 78	Aktivnost strukturnih molekula	Svi Ca-Z
97	D3DUV3	Triozafosfat izomeraza	Uloga u metabolizmu ugljikohidrata, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-Z
98	P12882	Kreatin kinaza M-tipa	Metabolički procesi kreatina i malih molekula	Svi Ca-Z
99	P07237	cDNA FLJ59361, vrlo slična disulfidnoj izomerazi (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Ca-Z
100	P09382 A8K7E0	Malat dehidrogenaza	Uloga u metabolizmu staničnih ugljikohidrata, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
101	Q5RKT7	Delta podjedinica hemoglobina	Uloga u grušanju krvi, prijenos kisika	Svi Ca-Z
102	P06732	cDNA, FLJ93793, vrlo slična ljudskoj kreatin kinazi, mišićna (CKM), mRNA	Vežanje ATP-a, kinazna aktivnost	Svi Ca-Z
103	P02042	Delta globin	Prijenos kisika	Svi Ca-Z
104	P67936	Prijenosna ATP-aza endoplazmatske mrežice	Stanični odgovor na oštećenje DNA, popravak DNA, metabolički procesi proteina	Svi Ca-Z
105	Q9UL91	Protein SLC25A6	Prijenos kroz membranu	Svi Ca-Z
106	Q6I9V5	ADP,ATP prijenosni protein, izoforma jetrene izoforme T2 (Fragment)	Prijenos kroz membranu	Svi Ca-Z
107	Q6UWP8	Inhibitor leukocitne elastaze	Regulacija proteolize, negativna regulacija aktivnosti endopeptidaza	Svi Ca-Z
108	P30740	cDNA FLJ53963, vrlo slična inhibitoru leukocitne elastaze	Negativna regulacija aktivnosti endopeptidaza	Svi Ca-Z
109	B2R9S4	Alfa-1 lanac kolagena tipa I	Uloga u grušanju krvi, razvoju krvnih žila, staničnoj signalizaciji	Svi Ca-Z

110	E7EVA3 Q53F89 P00751	Nekarakterizirani protein	Aktivnost endopeptidaza serinskog tipa	Svi Ca-Z
111	P08779	Hemopeksin	Homeostaza staničnog željeza, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
112	P02790	Protein koji prekriva makrofage	Prekrivanje nazubljenih krajeva aktinskih vlakana	Svi Ca-Z
113	Q5VTE0	Keratin, tip II citoskeletni 73	Aktivnost strukturnih molekula	Svi Ca-Z
114	P06733	Alfa-enolaza	Metabolizam ugljikohidrata, glukoneogeneza, glikoliza, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
115	Q32Q65 P02675	Beta lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, organizaciji izvanstaničnog matriksa, staničnoj signalizaciji	Svi Ca-Z
116	P02647	Apolipoprotein A-I	Uloga u grušanju krvi, migracija endotelnih stanica krvnih žila, regulacija staničnih procesa	Svi Ca-Z
117	P00325 A8MYN5 P00326	Alkohol dehidrogenaza 1B/ 1C	Oksidacija etanola, metabolički procesi malih molekula i ksenobiotika	Svi Ca-Z
118	F5HB16	cDNA FLJ51682, vrlo slična alkoholnoj dehidrogenazi 1B (EC 1.1.1.1)	Oksidoreduktazna aktivnost, vezanje iona cinka	Svi Ca-Z
119	P02774 D6RF35	Protein koji veže vitamin D	Metabolički procesi malih molekula, vitamina D i steroida	Svi Ca-Z
120	B3KT06	cDNA FLJ37398 fis, klon BRAMY2027467, vrlo slična alfa-lancu tubulina	Polimerizacija proteina	Svi Ca-Z
121	P05109	Protein koji sadrži trodijelni motiv 29	Negativna regulacija transkripcije, vezanje cinkovih iona	Svi Ca-Z
122	Q14134	Alfa-1 čimbenik elongacije	Biosinteza proteina	Svi Ca-Z
123	Q6IPT9 Q9NZS6	Pretpostavljeni čimbenik elongacije 3 nalik alfi-1	Biosinteza proteina	Svi Ca-Z
124	B2R6X5	Ceruloplazmin	Homeostaza staničnih iona željeza, prijenos iona bakra, transmembranski transport	Svi Ca-Z
125	E9PFZ2 Q1L857 P00450 A5PL27	cDNAFLJ58075, vrlo slična ceruloplazminu (EC 1.16.3.1)	Homeostaza staničnih iona željeza, prijenos iona bakra	Svi Ca-Z
126	P10916 F8VWQ7	Izocitrat dehidrogenaza [NADP]	Metabolički procesi izocitrata, ciklus trikarboksilne kiseline	Svi Ca-Z
127	P00738	Alfa-aktinin 2	Uloga u grušanju krvi, kontrakciji stanica, adheziji stanica, regulacija apoptoze	Svi Ca-Z
128	Q6IB42 B4E3A8	Laki lanac 2 miozina srčane pretklijetke	Vezanje kalcijevih iona; kontrakcija srčanog mišića, razvoj mišićnih vlakana	Svi Ca-Z
129	P20774	Mimekan	Metabolizam ugljikohidrata, negativna regulacija proliferacije mišićnih stanica	Svi Ca-Z
130	B7Z9A0	cDNA FLJ56212, vrlo slična gelsolinu	Vezanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Ca-Z
131	B7Z992	cDNA FLJ53698, vrlo slična gelsolinu	Vezanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Ca-Z
132	B7Z6N2	cDNA FLJ56154, vrlo slična gelsolinu	Vezanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Ca-Z
133	B7Z2X4	cDNA FLJ53327, vrlo slična gelsolinu	Vezanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Ca-Z

134	P13489	Inhibitor ribonukleaze	Regulacija angiogeneze, negativna regulacija kataboličkih procesa	Svi Ca-Z
135	Q14908	Laki regulirajući lanac 2 miozina, izoforma pretkljetke/srčanogmišića	Razvoj mišićnihvlakana, kontrakcija srčanog mišića	Svi Ca-Z
136	D0PNI1	Zeta polipeptid za aktivaciju tirozin 3-monooksigenaze/triptofan 5-monooksigenaze	Regulacija stanične smrti, sekrecija histamina iz mastocita, odgovor na lijekove	Svi Ca-Z
137	P31949 B2R5H0	cDNA, FLJ92471, vrlo slična ljudskom S100 proteinu koji veže kalcij A11 (calgizzarin) (S100A11), mRNA	Regulacija stanične proliferacije	Svi Ca-Z
138	P13639	Čimbenik elongacije 2	Metabolički procesi staničnih proteina, stanična smrt	Svi Ca-Z
<b>Citoskeletni proteini</b>				
139	P06576 Q0QEN7	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein MYL1 (Fragment)	Kontrakcija srčanog mišića	Svi Ca-Z
140	Q53R15	Laki lanac 1/3 miozina, izoforma skeletnog mišića	Mišićna kontrakcija	Svi Ca-Z
141	P68032 P62736 D2JYH4	Aktin, aortni glatki mišić	Regulacija krvnog tlaka, kontrakcija mišića	Svi Ca-Z
142	P62736	Aktin, alfa 2, glatki mišić	Regulacija krvnog tlaka, kontrakcija mišića	Svi Ca-Z
143	Q6FHZ0 Q75MT9 P40926 P40925 B9A041	Laki polipeptid 6 miozina	Kontrakcija mišića, katabolizam ATP-a	Svi Ca-Z
144	P14923	Periplakin	Keratinizacija, citoskeletni protein	Svi Ca-Z
145	P13535	Tenascin-X	Citoskeletni protein, stanična adhezija, metabolički procesi	Svi Ca-Z
146	Q9BTMQ Q99878 Q96KK5 Q6FI13 Q16777 P20671 P0C0S8	Alfa-4 lanac tropomiozina	Kontrakcija mišića, pokretanje staničnih komponenti	Svi Ca-Z
147	P02452	Serpin B5	Tumor supresor; pokretanje staničnih komponenti, organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
148	E7ETN3	Mali protein 3 bogat prolinom	Razvoj epiderma, keratinizacija, cijeljenje rana	Svi Ca-Z
149	P13646	Keratin, tip I citoskeletni 13	Citoskeletni protein, odgovor na zračenje i na retinoičnu kiselinu	Svi Ca-Z
150	P12883 Q9UKX2 P12882 P60660 J3KND3 G8JLA2 P13535 D2JYH4 O60437 K7EKI8	Miozin- 1/2/6/7/8	Kontrakcija stanica, stanična signalizacija, urođeni imunološki odgovor, organizacija membrane	Svi Ca-Z

151	A8K2I0	cDNA FLJ78504, vrlo slična ljudskom keratinu 6A (KRT6A), mRNA	Citoskeletni protein	Svi Ca-Z
152	P08727	Keratin, tip I citoskeletni 19	Kontrakcija stanica, citoskeletni protein, diferencijacija stanica	Svi Ca-Z
153	P68363	Alfa-1B lanac tubulina	Citoskeletni protein, metabolizam staničnih proteina	Svi Ca-Z
154	A8K5A4	Profilin-1	Citoskeletni protein, uloga u grušanjucrvi, staničnoj smrti	Svi Ca-Z
155	P07737	Aktin, alfa skeletni mišić	Kontrakcija mišića, rast stanice, odgovor na različite spojeve	Svi Ca-Z
156	Q8N6N5 Q8IWP6	Beta tubulin	Polimerizacija proteina, procesi povezani s mikrotubulima	Svi Ca-Z
<b>Anti-apoptotički proteini</b>				
157	Q8N1N4	Aktin, alfa srčani mišić	Negativna regulacija apoptotičkih procesa, pokretanje aktinskih vlakana, odgovor na lijekove, kontrakcija mišića, regulacija krvnog tlaka	Svi Ca-Z
158	Q5CAQ5	Endoplazmin	Negativna regulacija apoptoze, stanična signalizacija	Svi Ca-Z
159	P09211	Glutation S-transferaza	Negativna regulacija apoptotičkih procesa i akutnog upalnog odgovora, regulacija metaboličkih procesa	Svi Ca-Z
160	Q13584	Protein S100-A11	Negativna regulacija stanične proliferacije, prijenos signala	Svi Ca-Z
<b>Apoptotički procesi</b>				
161	Q59EI9	ADP/ATP translokaza 3	Regulacija sekrecije inzulina, metabolizam staničnih proteina, apoptotički procesi, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-Z
162	P63104	14-3-3 zeta/delta protein	Apoptotički procesi, grušanje krvi, organizacija membrane	Svi Ca-Z
<b>Komponente izvanstaničnog prostora</b>				
163	Q53HU6 B1PS43	Biglikan	Metabolizam ugljikohidrata, organizacija izvanstaničnog matriksa, metabolički procesi malih molekula	Svi Ca-Z
164	E7DVW5	Protein alfa-2-makroglobulinu 1, izoforma CRA_b	Protein izvanstaničnog prostora	Svi Ca-Z
165	P21810 A6NLG9	cDNA FLJ55187, vrlo slična biglikanu	Preoblikovanje krvnih žila, povezivanje izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
166	P22105 G5E9A9	Peptidil-prolil cis-trans izomeraza B	Organizacija izvanstaničnog matriksa	Svi Ca-Z
167	P35555	Fibrillin-1	Organizacija izvanstaničnog matriksa, razvoj različitih organa	Svi Ca-Z
<b>Stanične komponente</b>				
168	A0N071	Histon tipa H2A	Sastavni dio nukleosoma	Svi Ca-Z
169	Q8NF17	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686115212	Komponenta membrane	Svi Ca-Z

170	Q96K68	cDNA FLJ14473 fis, klon MAMMA1001080, vrlo sličan ljudskom proteinu SNC73 (SNC73) mRNA	Komponenta membrane	Svi Ca-Z
171	Q8NCL6	cDNA FLJ90170 fis, klon MAMMA1000370, vrlo slična alfa-1 lancu imunoglobulina regije C	Komponenta membrane	Svi Ca-Z
172	B4DI63	cDNA FLJ59205, vrlo slična mimekanu	Komponenta endoplazmatske mrežice	Svi Ca-Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
173	B4DDQ2	cDNA FLJ76911, vrlo slična ljudskom biglikanu (BGN), mRNA	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
174	B1PS43	Izoforma preproteina biglikana (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
175	P55072	Promjenjiva regija teškog lanca imunoglobulina koja reagira s miozinom (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
176	Q6PJF2	Protein IGK@	Funkcija nije poznata	Svi Ca-Z
177	P40121 B4DU58	cDNA, FLJ94534, vrlo slična ljudskom proteinu koji prekriva (aktinske niti), nalik-gelsolinu(CAPG), mRNA	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
178	Q86Y46	FLJ00385 protein (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
179	Q9UP60	Protein SNC73	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
180	Q6MZW0	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686J11235 (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
181	Q6N093	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I04196 (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
182	Q7Z532 A8K0R3	Osteoglicin OG	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
183	A0N5G1	Laki lanac reumatoidnog čimbenika C6 (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z
184	P12236	Suprabazin	Funkcija nije navedena	Svi Ca-Z



**Tablica 5.** Proteini zajednički svim uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata bez promjena na sluznici (svi Z). Osjenčana polja označavaju diferencijalno eksprimirane proteine u odnosu na nepromijenjenu sluznicu pacijenata s lihenom i karcinomom pločastih stanica (OLP-Z+Ca-Z, tablica 6).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>Citoskeletni proteini</b>				
1	P02538	Keratin, tip II citoskeletni 6A	Citoskeletni protein; uloga u staničnoj diferencijaciji	Svi Z
2	B4DRR0	cDNA FLJ53910, vrlo slična citoskeletnom keratinu 6A, tipa II	Citoskeletni protein	Svi Z
3	A8K2I0	cDNA FLJ78504, vrlo slična ljudskom keratinu 6A (KRT6A), mRNA	Citoskeletni protein	Svi Z
4	P02533	Keratin, tip I citoskeletni 14	Razvoj epiderma; diferencijacija epitelnih stanica; odgovor na zračenje	Svi Z
5	P13647	Keratin, tip II citoskeletni 5	Međustanični spojevi; razvoj epiderma	Svi Z
6	Q53GK6	Inačica beta aktina (Fragment)	Pripada obitelji aktina / funkcija nije navedena	Svi Z
7	P13645	Keratin, tip I citoskeletni 10	Diferencijacija keratinocita, stanični odgovor na kalcijeve ione	Svi Z
8	P08670 B0YJC4	Vimentin	Pripada intermedijarnom filamentima, sudjeluje u aktivnosti strukturalnih molekula	Svi Z
9	H6VRG3	Keratin 1	Citoskeletni protein	Svi Z
<b>Metabolički proteini</b>				
10	P02768	Serumski albumin	Grušanje krvi; metabolički procesi malih molekula	Svi Z
11	Q8TBW1	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein (Fragment)	Stanični odgovor na interleukin-4; translacija	Svi Z
12	D1MGQ2	Alfa-2 lanac globina	Prijenos kisika	Svi Z
13	P02675	Beta lanac fibrinogena	Grušanje krvi, organizacija izvanstaničnog matriksa, stanična signalizacija	Svi Z
14	P04406	Gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza	Sudjeluje u metaboličkim procesima glukoze	Svi Z
15	Q6IPT9 Q53HR5	Čimbenik elongacije 1-alfa	Biosinteza proteina	Svi Z
16	Q5VTE0	Pretpostavljeni čimbenik elongacije 3 nalik alfi-1	Biosinteza proteina	Svi Z
17	P00915 E5RHP7	Ugljična anhidraza 1	Prijenos bikarbonata, metabolički procesi malih molekula	Svi Z
18	P00558	Fosfogliceratna kinaza 1	Metabolizam ugljikohidrata; fosforilacija; diferencijacija epitelnih stanica	Svi Z

19	A8K486 P62937	Peptidil-proлил cis-trans izomeraza	Uloga u grušanju krvi, ulasku u stanicu-domaćina, životnom ciklusu virusa, savijanje (nabiranje) proteina	Svi Z
20	P07355	Aneksin A2	Angiogeneza; fosforilacija proteina; organizacija kolagenih vlakana	Svi Z
21	F5GWP8	Spojni plakoglobin	Stanična signalizacija i migracija stanica	Svi Z
22	P06396	Gelsolin	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Z
23	B7Z9A0	cDNA FLJ56212, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Z
24	B7Z992	cDNA FLJ53698, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Svi Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
25	P02671	Alfa lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru	Svi Z
26	A8K3E4	cDNA FLJ78367, vrlo slična ljudskom fibrinogenu, A alfa polipeptid (FGA), mRNA	Grušanje krvi, urođeni imunološki odgovor, stanična signalizacija	Svi Z
27	Q5TZZ9	Aneksin	Diferencijacija T stanica, regulacija stanične proliferacije, odgovor na različite podražaje	Svi Z
28	P04083	Aneksin A1	Diferencijacija T stanica, regulacija stanične proliferacije, odgovor na različite podražaje	Svi Z
29	P01009	Alfa-1-antitripsin	Odgovor akutne faze upale; grušanje krvi; regulacija proteolize	Svi Z
30	P01860	Gama-3 lanac imunoglobulina regije C	Aktivacija komplekta, urođeni imunološki odgovor	Svi Z
<b>Komponente izvanstaničnog matriksa</b>				
31	P35555	Fibrillin-1	Organizacija izvanstaničnog matriksa, razvoj različitih organa	Svi Z
32	E9KL23	Protein koji veže sekretornu spermu pasjemenika Li 44a	Komponenta izvanstaničnog prostora	Svi Z
<b>Apoptotički proteini</b>				
33	P15924	Dezmoplakin	Uloga u apoptotičkim procesima, razvoj epiderma; cijeljenje rana; diferencijacija keratinocita	Svi Z
<b>Anti-apoptotički proteini</b>				
34	P04792	Protein toplinskog šoka beta-1	Unutarstanični prijenos signala; pokretanje staničnih komponenti; pozitivna regulacija angiogeneze i migracije endotelnih stanica; negativna regulacija apoptoze	Svi Z
<b>Stanične komponente</b>				
35	P62805 B2R4R0	Histon tipa H4	Komponenta nukleosoma	Svi Z
36	Q6MZV7	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686C11235	Komponenta membrane	Svi Z
37	Q6N030	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I15212	Komponenta membrane	Svi Z

<b>Nepoznata funkcija</b>				
38	Q8NF17	FLJ00385 protein (Fragment)	Funkcija nije navedena	Svi Z
39	Q8TCD0	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein	Funkcija nije navedena	Svi Z
<b>Metabolički proteini</b>				
40	P36578 Q59GY2	60S ribosomski protein L4	Stanični metabolički proteinski procesi, ekspresija gena	Svi Z
41	B4DMJ6	cDNA FLJ50996, vrlo slična 60S ribosomalnom proteinu L4	Sudjeluje u translaciji	Svi Z
42	Q01469 E7DVW5	Protein koji veže masne kiseline, epidermalni	Razvoj epiderma; metabolički procesi ugljikohidrata i lipida	Svi Z
43	P68363 Q8WU19	Alfa-1B lanac tubulina	Stanični proteinski metabolički procesi, polimerizacija proteina	Svi Z
44	Q6EHZ3	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein STRF8	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Z
45	Q658S9	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp666I134 (Fragment)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Svi Z
46	Q5R210 Q59HF8 P31327 J3KQL0	Karbamoilfosfat sintetaza I	Biosintetički procesi karbamoil-fosfata	Svi Z
47	A8K134	cDNA FLJ75245, vrlo slična ljudskoj karbamoil-fosfatnoj sintetazi, mitohondrijska (CPS1), mRNA	Biosintetički procesi karbamoil-fosfata	Svi Z
48	Q53H26	Izoforma transferina (Fragment)	Homeostaza i prijenos staničnog željeza	Svi Z
49	D3DTX7	Kolagen, tip I, alfa 1, izoforma CRA_a	Razvoj krvnih žila, stanični odgovor na različite podražaje	Svi Z
50	I1VZV6 P69905	Hemoglobin alfa 1	Prijenos kisika	Svi Z
51	D9YZU5 P68871	Hemoglobin, beta	Prijenos kisika	Svi Z
52	P12111 E9PCV6 D9ZGF2	Kolagen, tip VI, alfa 3	Odgovor na glukozu	Svi Z
53	B4E3A4	cDNA FLJ57283, vrlo slična citoplazmatskom aktinu 2	Vežanje ATP-a	Svi Z
54	B4E335	cDNA FLJ52842, vrlo slična citoplazmatskom aktinu 1	Vežanje ATP-a	Svi Z
<b>Citoskeletni proteini</b>				
55	Q01546 P35908	Keratin, tip II citoskeletni 2	Organizacija citoskeleta	Svi Z
56	B7Z5V1	cDNA FLJ55934, vrlo slična gelsolinu	Polimerizacija aktinskih vlakana, regeneracija tkiva, apoptotički procesi	Svi Z
57	O75369	Filamin-B	Organizacija citoskeleta, diferencijacija stanice, sudjelovanje u staničnoj signalizaciji	Svi Z
58	P19012	Keratin, tip I citoskeletni 15	Razvoj epiderma	Svi Z

59	P35527	Keratin, tip I citoskeletni 9	Razvoj epiderma, organizacija intermedijarnih filamenata	Svi Z
60	P35579 Q60FE2	Miozin-9	Citoskeletni protein, regulacija staničnog oblika, stanična signalizacija	Svi Z
	Q1KLZ0	HCG15971, izoforma CRA_a	Aksonogeneza	Svi Z
61	P63261	Aktin, citoplazmatski 2	Organizacija adherentnih spojeva, unutrašnji imunol.odgovor, pokretanje staničnih komponenti, agregacija trombocita, organizacija membrane	Svi Z
62	P08779	Keratin, tip I citoskeletni 16	Stanična proliferacija, negativna regulacija stanične migracije, starenje, organizacija citoskeleta, razvoj epiderma	Svi Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
63	Q00610	Teški lanac 1 klatrina	Prezentacija antigena, organizacija membrane, unutarstanični prijenos proteina i željeza	Svi Z
64	B3GQS7 P10809	Izoforma 1 mitohondrijskog proteina 1 toplinskog šoka 60kD	Sudjeluje u nabiranju proteina I odgovoru na stres	Svi Z
65	P07900	Protein toplinskog šoka HSP 90-alfa	Katabolički procesi ATP-a, mitotički ciklus, sudjeluje u prirodnom imunološkom odgovoru I prijenosu signala	Svi Z
66	Q16778	Histon tipa H2B 2-E	Organizacija kromatina, prirodni imunološki odgovor, antibakterijski humoralni odgovor	Svi Z
<b>Apoptotički proteini</b>				
67	B7Z5V1	cDNA FLJ55934, vrlo slična gelsolinu	Polimerizacija aktinskih vlakana, regeneracija tkiva, apoptotički procesi	Svi Z
<b>Anti-apoptotički proteini</b>				
68	Q8NBS9 Q86UY0	Protein 5 koji sadrži domenu tioredoksina	Negativna regulacija apoptoze, čišćenje apoptotičkih stanica, homeostaza staničnih redoks procesa, nabiranje proteina	Svi Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
69	Q6N093	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I04196 (Fragment)	Funkcija nije poznata	Svi Z
70	Q6PJF2	Protein IGK@	Funkcija nije poznata	Svi Z

**Tablica 6.** Proteini zajednički svim uzorcima nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom i karcinomom (Ca-Z i OLP-Z). Osjenčana polja označavaju proteine koji su različiti u odnosu na proteine zajedničke zdravoj sluznici (tablica 5).

Redni broj	Pristupni broj	Ime proteina	Biološka funkcija	Prisutnost u uzorku
<b>Metabolički proteini</b>				
1	P02768	Serumski albumin	Grušanje krvi, metabolički procesi malih molekula	Ca-Z + OLP-Z
2	Q59E92	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein (Fragment)	Vežanje ATP-a, vežanje nukleinskih kiselina; aktivnost helikaza ovisna o ATP-u	Ca-Z + OLP-Z
3	P08670	Vimentin	Uloga u apoptotičkim procesima; pozitivna regulacija ekspresije gena	Ca-Z + OLP-Z
4	P04406	Gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza	Metabolizam ugljikohidrata, negativna regulacija translacije, metabolički procesi malih molekula	Ca-Z + OLP-Z
5	P07355	Aneksin A2	Angiogeneza, metabolički procesi	Ca-Z + OLP-Z
6	P00915 E5RHP7	Ugljična anhidraza 1	Prijenos bikarbonata, metabolički procesi malih molekula	Ca-Z + OLP-Z
7	P06396 F5H1A8	Gelsolin	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Ca-Z + OLP-Z
8	B7Z9A0	cDNA FLJ56212, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Ca-Z+ OLP-Z
9	B7Z992	cDNA FLJ53698, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Ca-Z + OLP-Z
10	B7Z6N2	cDNA FLJ56154, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Ca-Z+ OLP-Z
11	P00558	Fosfoglicerat-kinaza 1	Metabolizam ugljikohidrata, glukoneogeneza, glikoliza	Ca-Z+ OLP-Z
12	D1MGQ2	Alfa-2 lanac globina	Prijenos kisika	Ca-Z + OLP-Z
13	Q6IPT9 Q9NZS6	Čimbenik elongacije 1-alfa	Sudjeluje u biosintezi proteina	Ca-Z + OLP-Z
14	Q5VTE0	Pretpostavljeni čimbenik elongacije 3 nalik alfi-1	Biosinteza proteina	Ca-Z+ OLP-Z
15	P62937 A8K486	Peptidil-prolil cis-trans izomeraza A	Uloga u grušanju krvi, regulacija staničnih procesa, nabiranje (savijanje) proteina	Ca-Z + OLP-Z
16	P02675	Beta lanac fibrinogena	Grušanje krvi, organizacija izvanstaničnog matriksa, negativna regulacija apoptotičkih procesa endotelnih stanica, odgovor na kalcijeve ione	Ca-Z+ OLP-Z
17	P62805 B2R4R0	Histon tipa H4	Organizacija kromatina, mitotički ciklus, održavanje telomera	Ca-Z + OLP-Z

<b>Citoskeletni proteini</b>				
18	P13647	Keratin, tip II citoskeletni 5	Međustanični spojevi, razvoj epiderma	Ca-Z + OLP-Z
19	P02538	Keratin, tip II citoskeletni 6A	Citoskeletni protein, stanična diferencijacija	Ca-Z + OLP-Z
20	B4DRR0	cDNA FLJ53910, vrlo slična citoskeletnom keratinu 6A, tipa II	Citoskeletni protein	Ca-Z+ OLP-Z
21	A8K2I0	cDNA FLJ78504, vrlo slična ljudskom keratinu 6A, mRNA	Citoskeletni protein	Ca-Z + OLP-Z
22	H6VRG2	Keratin 1	Citoskeletni protein	Ca-Z + OLP-Z
23	P13645	Keratin, tip I citoskeletni 10	Diferencijacija keratinocita, stanični odgovor na kalcijeve ione	Ca-Z + OLP-Z
24	P35579	Miozin-9	Citoskeletni protein, regulacija staničnog oblika, stanična signalizacija	Ca-Z + OLP-Z
25	P02533	Keratin, tip I citoskeletni 14	Organizacija staničnih spojeva, diferencijacija epitelnih stanica	Ca-Z+ OLP-Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
26	P01009	Alfa-1-antitripsin	Odgovor akutne faze upale, grušanje krvi, regulacija proteolize	Ca-Z + OLP-Z
27	Q5TZZ9	Aneksin	Diferencijacija T-stanica, regulacija stanične proliferacije, signalizacija preko površinskih staničnih receptora	Ca-Z + OLP-Z
28	P04083	Aneksin A1	Diferencijacija T-stanica, regulacija stanične proliferacije, signalizacija preko površinskih staničnih receptora	Ca-Z + OLP-Z
29	P02671	Alfa lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru	Ca-Z + OLP-Z
30	A8K3E4	cDNA FLJ78367, vrlo slična ljudskom fibrinogenu, A alfa polipeptid (FGA), mRNA	Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru	Ca-Z + OLP-Z
31	P01860	Lanac imunoglobulina gama-3 regije C	Aktivacija komplekta, urođeni imunološki odgovor	Ca-Z + OLP-Z
<b>Komponente izvanstaničnog prostora</b>				
32	E9KL23	Protein koji veže sekretornu spermu pasjemenika Li 44a	Komponenta izvanstaničnog prostora	Ca-Z + OLP-Z
33	P35555	Fibrillin-1	Organizacija izvanstaničnog matriksa	Ca-Z + OLP-Z
<b>Stanične komponente</b>				
34	Q6N030	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I15212	Komponenta membrane	Ca-Z + OLP-Z
35	Q6MZV7	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686C11235	Komponenta membrane	Ca-Z+ OLP-Z

<b>Apoptotički procesi</b>				
36	P15924	Dezmoplakin	Uloga u apoptotičkim procesima, razvoj epiderma; cijeljenje rana; diferencijacija keratinocita	Ca-Z + OLP-Z
<b>Anti-apoptotički proteini</b>				
37	P04792	Protein toplinskog šoka beta-1	Pozitivna regulacija angiogeneze, negativna regulacija apoptoze, stanična signalizacija	Ca-Z+ OLP-Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
38	Q8TCD0	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein	Funkcija nije navedena	Ca-Z + OLP-Z
39	Q8NF17	FLJ00385 protein (Fragment)	Funkcija nije navedena	Ca-Z + OLP-Z
<b>Metabolički proteini</b>				
40	P68871	Hemoglobin, beta	Prijenos kisika	Ca-Z + OLP-Z
41	P12109	Alfa-1 lanac kolagena tipa VI	Organizacija izvanstaničnog matriksa, stanična adhezija, odgovor na glukozu	Ca-Z + OLP-Z
42	P06733	Alfa-enolaza	Metabolizam ugljikohidrata, negativna regulacija staničnog rasta	Ca-Z + OLP-Z
43	P69905	Alfa podjedinica hemoglobina	Oksidativno-reduktivni procesi, prijenos kisika	Ca-Z + OLP-Z
44	Q5I6Y6	Lamin A/C prijevorna inačica 1	Stanična signalizacija, mitotički procesi	Ca-Z + OLP-Z
45	P40121 B4DU58	Protein koji prekriva makrofage	Prekrivanje nazubljenih krajeva aktinskih niti	Ca-Z + OLP-Z
46	P51884	Lumikan	Metabolizam ugljikohidrata, organizacija izvanstaničnog matriksa	Ca-Z + OLP-Z
47	P02647	Apolipoprotein A-I	Uloga u grušanju krvi, migracija endotelnih stanica krvnih žila, regulacija staničnih procesa	Ca-Z + OLP-Z
48	B3KQT9	cDNA PSEC0175 fis, klon OVARC1000169, vrlo sličan proteinu disulfidnoj-izomerazi A3 (EC 5.3.4.1)	Homeostaza staničnih redoks procesa	Ca-Z + OLP-Z
49	P08123	Alfa-2(I) lanac kolagena	Uloga u grušanju krvi, razvoju krvnih žila, organizaciji staničnog matriksa	Ca-Z + OLP-Z
50	D0PNI1	Zeta polipeptid za aktivaciju tirozin 3-monooksigenaze/triptofan 5-monooksigenaze	Regulacija stanične smrti, sekrecija histamina iz mastocita, odgovor na lijekove	Ca-Z + OLP-Z
51	B7Z2X4	cDNA FLJ53327, vrlo slična gelsolinu	Vežanje kalcijevih iona, polimerizacija aktinskih niti, regeneracija tkiva	Ca-Z + OLP-Z
52	P04075	Fruktozno-bisfosfonatna aldolaza A	Metabolizam ugljikohidrata, biosintetički procesi ATP-a, organizacija aktinskih vlakana	Ca-Z + OLP-Z
53	P60174	Triozafosfat izomeraza	Metabolizam ugljikohidrata, glukoneogeneza, glikoliza	Ca-Z + OLP-Z

54	Q6FHZ0 Q75MT9 P40926	Malat dehidrogenaza	Regulacija staničnih procesa, metabolizam ugljikohidrata	Ca-Z + OLP-Z
55	P17066 Q53FC7	Protein toplinskog šoka 6, 70 kDa	Katabolički procesi ATP-a, nabiranje proteina, stanični odgovor na zagrijavanje	Ca-Z + OLP-Z
56	Q8N6N5	Tubulin, beta 2C	Polimerizacija proteina, komponenta mikrotubula	Ca-Z + OLP-Z
57	P13489	Inhibitor ribonukleaze	Regulacija angiogeneze, negativna regulacija katalitičke aktivnosti	Ca-Z + OLP-Z
58	E9PCV6	Alfa-3 lanac kolagena tipa VI	Uloga u metabolizmu glukoze	Ca-Z + OLP-Z
<b>Imunološki odgovor</b>				
59	P01876	Alfa-1 lanac regije C imunoglobulina	Sudjeluje u imunološkom odgovoru	Ca-Z + OLP-Z
60	Q06830	Peroksiredoksin-1	Stanična proliferacija, citotoksičnost posredovana NK stanicama; razvoj koštanog sustava	Ca-Z + OLP-Z
61	P01024	Komplement C3	Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor, stanična signalizacija	Ca-Z + OLP-Z
62	P08238	Protein toplinskog šoka 90-beta	Urođeni imunološki odgovor, nabiranje proteina, stanična signalizacija	Ca-Z + OLP-Z
63	P30101 G5EA52	Protein disulfidna izomeraza A3	Prezentacija antigena, nabiranje proteina, metabolički procesi staničnih proteina	Ca-Z + OLP-Z
64	Q9UP60	SNC73 protein	Domena imunoglobulina	Ca-Z + OLP-Z
65	P00738	Haptoglobin	Imunološki odgovor, regulacija staničnih procesa	Ca-Z + OLP-Z
66	B3KSM6	cDNA FLJ36606 fis, klon TRACH2015654, vrlo sličan proteinu 6 toplinskog šoka 70 kDa	Odgovor na stres	Ca-Z + OLP-Z
67	B2R6X5	cDNA, FLJ93166, vrlo sličan proteinu 6 toplinskog šoka 70 kDa 70kDa protein 6 (HSP70B~) (HSPA6), mRNA	Odgovor na stres	Ca-Z + OLP-Z
68	P05109	Protein S100-A8	Veže kalcij i cink i ima ulogu u upalnim i imunološkim procesima	Ca-Z+ OLP-Z
<b>Citoskeletni proteini</b>				
69	P31947	14-3-3 sigma protein	Keratinizacija; pozitivna regulacija staničnog rasta; stanična signalizacija	Ca-Z + OLP-Z
<b>Komponenta izvanstaničnog matriksa</b>				
70	P12110	Alfa-2 lanac kolagena tipa VI	Stanična adhezija, organizacija izvanstaničnog matriksa	Ca-Z + OLP-Z
<b>Apoptotički proteini</b>				
71	P02545	Prelamin-A/C	Uloga u apoptotičkim procesima, mitotičkom ciklusu; stanična signalizacija; regulacija stanične migracije	Ca-Z + OLP-Z
72	P63104	14-3-3 protein zeta/delta	Apoptotički procesi, stanična signalizacija, grušanje krvi	Ca-Z + OLP-Z



<b>Anti-apoptotički proteini</b>				
73	P02679	Gama lanac fibrinogena	Uloga u grušanju krvi, negativna regulacija apoptoze, organizacija izvanstaničnog matriksa	Ca-Z + OLP-Z
<b>Stanične komponente</b>				
74	Q9BTM1 Q99878 Q96KK5 Q6FI13 Q16777 P20671 P0C0S8	Histon H2A tipa 2	Komponenta nukleosoma	Ca-Z + OLP-Z
75	Q96K68	cDNA FLJ14473 fis, klon MAMMA1001080, vrlo sličan ljudskom proteinu SNC73 (SNC73) mRNA	Komponenta membrane	Ca-Z+ OLP-Z
76	Q8NCL6	cDNA FLJ90170 fis, klon MAMMA1000370, vrlo slična alfa-1 lancu regije C imunoglobulina	Komponenta membrane	Ca-Z + OLP-Z
<b>Nepoznata funkcija</b>				
77	Q6MZW0	Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686J11235 (Fragment)	Funkcija nije navedena	Ca-Z + OLP-Z
78	B2R9S4	cDNA, FLJ94534, vrlo slična ljudskom proteinu koji prekriva (aktinske niti), nalik gelsolinu(CAPG), mRNA	Funkcija nije navedena	Ca-Z + OLP-Z



Božana Lončar Brzak rođena je u Bjelovaru 1983. godine. Nakon završetka VI. gimnazije, 2002. godine upisala je Stomatološki fakultet u Zagrebu.

Kao odličan student tijekom prve i druge godine fakulteta dobila je Državnu stipendiju Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa, a na trećoj, četvrtoj i petoj godini stipendiju Grada Zagreba. Dobitnica je Dekanovih nagrada za postignut uspjeh tijekom studija na prvoj, drugoj, trećoj, četvrtoj i petoj godini studija. Diplomirala je u prosincu 2007. godine, a srednja ocjena postignuta tijekom studija bila joj je 4,86.

Nakon diplome primljena je na mjesto asistenta-znanstvenog novaka na Zavodu za oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, na projektu koji je odobrilo Ministarstvo znanosti, obrazovanja i športa, pod mentorstvom prof. Marinke Mravak Stipetić.

Specijalistički ispit iz oralne medicine položila je 2014. godine.

Autorica je i koautorica više članaka i kongresnih priopćenja. Aktivno sudjeluje u znanstvenom radu i na domaćim i stranim kongresima.

Udana je i majka jednog djeteta.

## POPIS OBJAVLJENIH RADOVA

### Radovi u CC časopisima:

1. **Loncar B**, Mravak-Stipetic M, Matosevic D, Tarle Z. Ozone Application in Dentistry. Arch Med Res 2009; 40: 136-7.
2. **Lončar B**, Mravak-Stipetić M, Baričević M, Risović D. The effect of low-level laser therapy (LLLT) on salivary glands in patients with xerostomia. Photomed Laser Surg 2011;29(3):171-5.
3. Baričević M, Mravak-Stipetić M, Baričević D, Baranović M, **Lončar B**, Majstorović M. Oral mucosal lesions during orthodontic treatment. Int J Paediatr Dent 2011;21(2):96-102.
4. Baričević M, Pavelić SK, Stipetić MM, **Lončar B**, Ratkaj I. Comment on a letter written by Ribeiro DA "Risk assessment of oral cancer in patients with pre-cancerous states of the oral cavity using micronucleus test and challenge assay" [Saran R, Tiwari RK, Reddy PP, Ahuja YR. Oral Oncol 2008;44:354-60]. Oral Oncol 2011; 47(8): 777-8.

5. Baričević M, Ratkaj I, Mladinić M, Želježić D, Kraljević Pavelić S, **Lončar B**, Mravak-Stipetić M. In vivo assessment of DNA damage induced in oral mucosa cells by fixed and removable metal prosthodontic appliances. *Clin Oral Investig* 2012;16(1):325-31.
6. **Lončar Brzak B**, Mravak-Stipetić M, Canjuga I, Baričević M, Baličević D, Sikora M and Filipović-Zore I. The Frequency and Malignant Transformation Rate of Oral Lichen Planus and Leukoplakia – A Retrospective Study. *Coll Antropol* 2012;36(3):773–7.
7. Baričević M, Mravak Stipetić M, Situm M, Marinović B, Seiwerth S, Baričević D, **Lončar B**. Oral bullous eruption after taking lisinopril-case report and literature review. *Wien Klin Wochenschr* 2013;125(13):408-11.

#### **Radovi u SCI časopisima:**

1. Baričević M, Mravak-Stipetić M, Stanimirović A, Blanuša M, Kern J, **Lončar B**, Andabak A, Baričević D. Salivary Concentrations of Nickel and Chromium in Patients with Burning Mouth Syndrome. *Acta Dermatovenerol Croat* 2011;19(1):2-5.
2. Vučićević Boras V, Andabak Rogulj A, Alajbeg I, Škrinjar I, **Lončar Brzak B**, Brailo V, Vidović Juras D, Verzak Ž. Učestalost oralnih lezija u djece u Hrvatskoj. *Paediatr Croat* 2013;57:235-8.

#### **Radovi u ostalim časopisima:**

1. **Lončar, B**; Mravak-Stipetić, M. Utjecaj stomatoloških legura na oralnu sluznicu. *Medix* 2008;75/76:248-50.
2. Canjuga, I; Mravak-Stipetić, M; **Lončar, B**; Kern, J. The prevalence of systemic diseases and medications in patients with oral lichen planus. *Acta stomat Croat* 2010;44(2):96-100.
3. **Lončar, B**; Mravak-Stipetić, M; Skerlev, M; Baričević, M; Makar Aušperger, K. Bullous oral eruptions caused by azythromicin. *Acta stomat Croat* 2011;45(2):120-4.
4. **Lončar Brzak, B**; Canjuga, I; Baričević, M; Mravak-Stipetić, M. Dental students awareness of oral cancer. *Acta stomat Croat* 2012;46(1):50-8.
5. **Lončar Brzak, B**; Vodanović M. Izgradnja hrvatskog anatomskeg i fiziološkog nazivlja-kraj teškoćama s prijevodom? *Vjesnik dentalne medicine* 2013; 21(1):86.
6. **Lončar-Brzak, B**; Mravak-Stipetić, M. Klasifikacije mukozitisa. *Medix* 2014;109/110: 243-6.

7. Mravak-Stipetić, M; **Lončar-Brzak, B**; Bakale-Hodak, I; Sabol, I; Seiwerth, S; Majstorović, M; Grce M. Clinicopathologic Correlation of Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Lesions: A Preliminary Study. *ScientificWorldJournal*. 2014: 746874, doi:10.1155/2014/746874.

**Sažetci u zbornicima skupova:**

1. **Lončar B**, Mravak-Stipetić M, Canjuga I, Baličević D. The prevalence and malignant transformation rate of oral lichen planus and leukoplakia-a retrospective study. Abstracts. *Oral Dis* 2008;14(S1):27.
2. Canjuga I, Mravak-Stipetić M, Kern J, Sikora M, **Lončar B**, Biočina-Lukenda D. The prevalence of systemic disease and medications in Croatian patients with oral lichen planus. Abstracts. *Oral Dis* 2008;14(S1):32.
3. **Lončar B**, Mravak-Stipetić M, Skerlev M, Baričević M, Makar Aušperger K. Allergic reaction to azithromycin-a case report. Abstracts. *Oral Dis* 2010;16(6).
4. Baričević M, Mravak-Stipetić M, **Lončar B**, Majstorović M, Baričević D. Oral mucosal lesions and oral hygiene habits in young orthodontic patients. Abstracts. *Oral Dis* 2010;16(6):555.