

# 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: **2024-11-23**



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<br>sluznice u svih pacijenata s dijagnosticiranim lihenom.....                                 | 41        |
| 4.3.2. Rezultati masene spektrometrije promijenjene i nepromijenjene<br>sluznice u svih pacijenata s dijagnosticiranim oralnim karcinomom<br>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. UVOD

## 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).

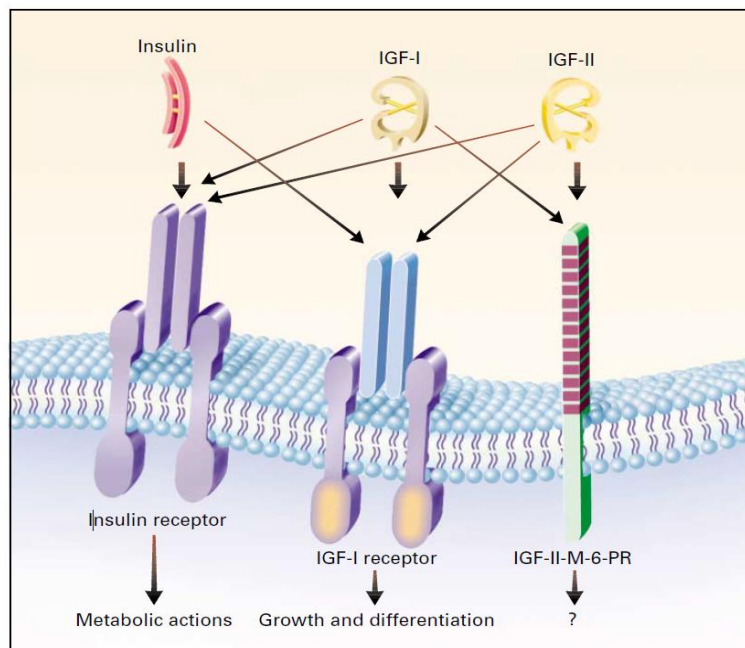
Karcinom ždrijela obično se javlja u području mekog nepca i tonzilarnoj regiji ili na bazi jezika (45). Najčešći simptomi zbog kojih pacijenti s karcinomom usne šupljine i ždrijela traže pomoć su otežano gutanje (disfagija), odbojnost prema jelu (odinofagija), bol u uhu (otalgija), ograničena pokretljivost 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 visokim afinitetom s vezujućim proteinom IGF BP te se tako prenose krvnim optokom i reguliraju raspoloživost IGF prema specifičnim receptorima.



**Slika 1.** Vežanje 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 inhibirajući rezultati na *in vivo* rast 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 lihenusa, 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 analizator 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.

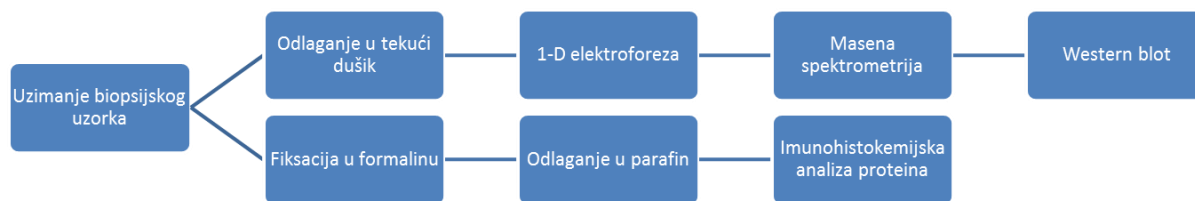
| Dijagnoza                                | Broj ispitanika | Srednja dob   | Spol (Ž-žene, M-muškarci) |
|--|-----------------|---------------|---------------------------|
| Oralni lihen planus                      | 3               | 70 (62-74)    | Ž                         |
| Karcinom pločastih 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 µl 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™ Fluorometer, Invitrogen™, Life technologies™; 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**

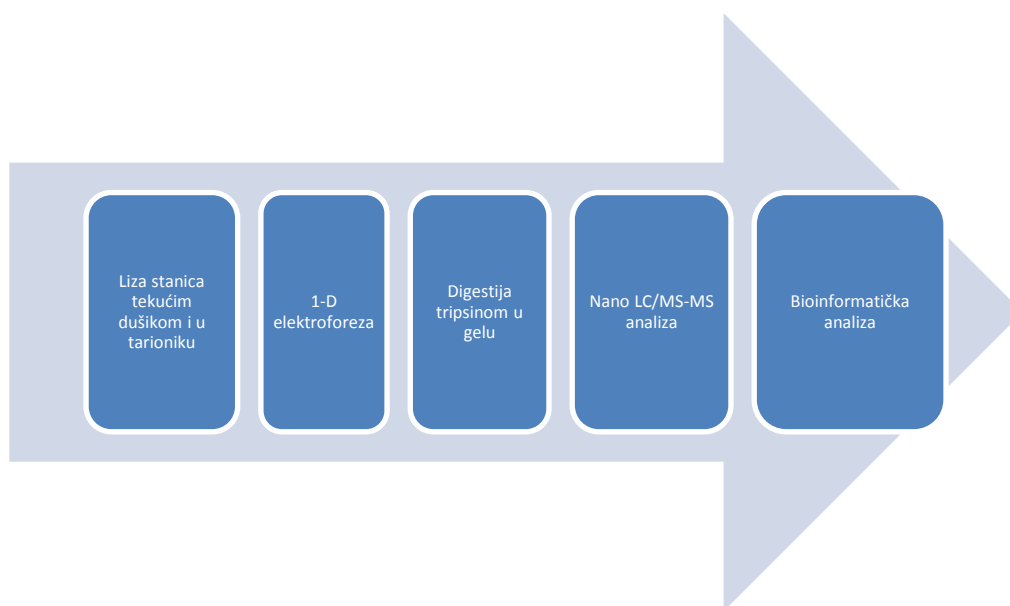
Identifikacija proteina u digestima provedena je uz pomoć masene spektrometrije u proteomskom centru „Proteomics Core, COBRE Center for Cancer Research Development“, Rhode Island Hospital, SAD.

### 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 spektari 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 kemiluminescencijske 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

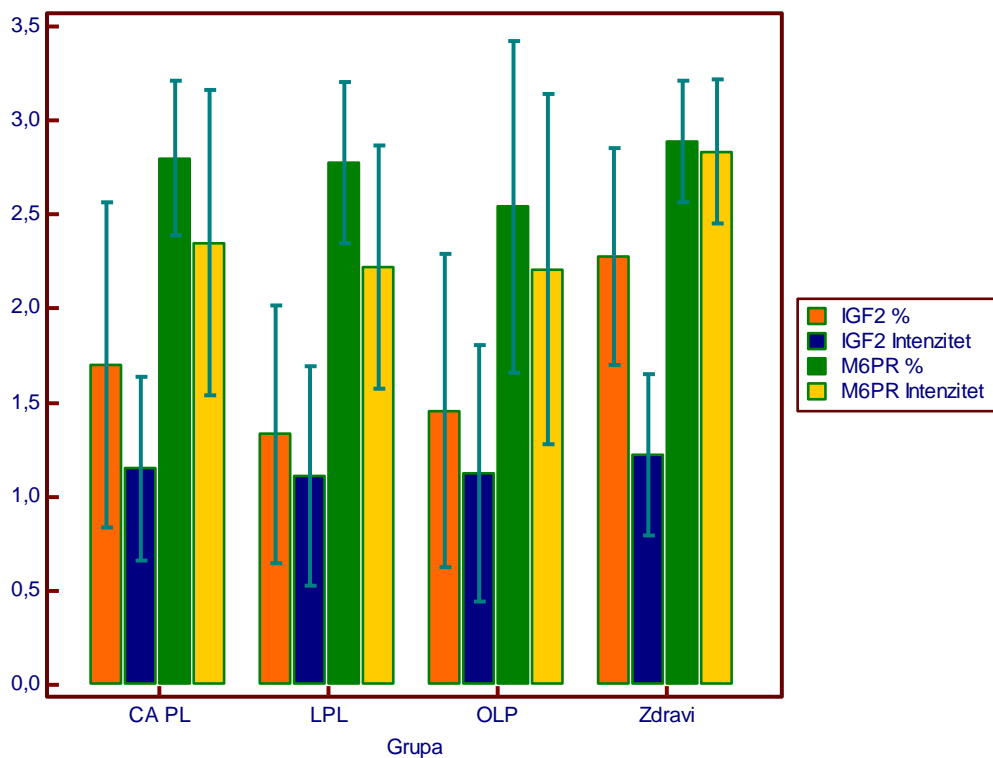
| Redni broj | Spol | Dob | IGF2 binarno | IGF2 % | IGF2 intenzitet | IGF2R binarno | IGF2R % | IGF2R intenzitet |
|------------|------|-----|--------------|--------|-----------------|---------------|---------|------------------|
| 1          | Ž    | 26  | 0            | 1      | 1               | 1             | 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.

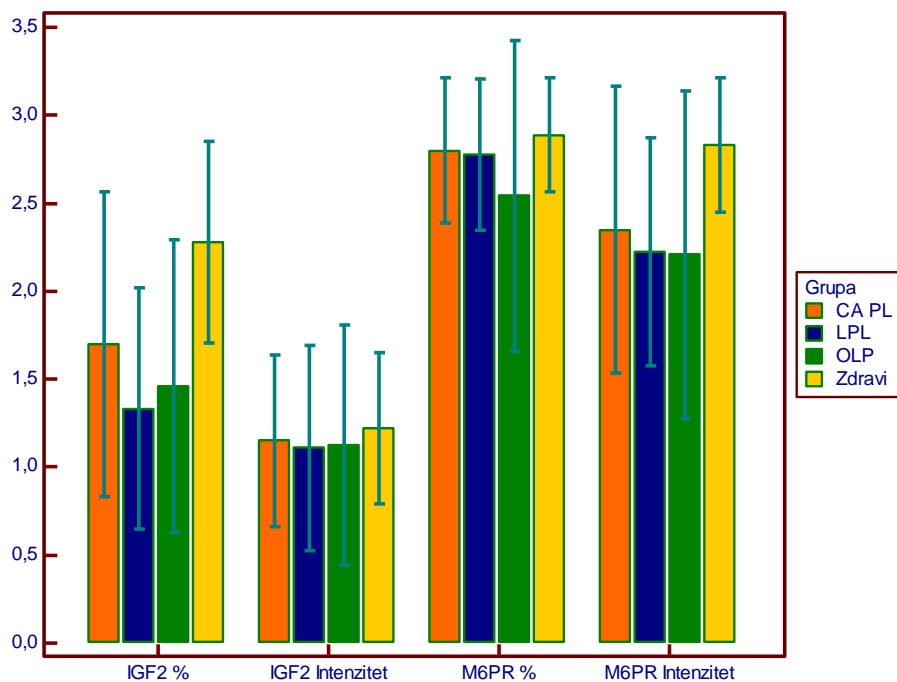
|                | zdravi   |       | Ca pl  |       | LPL      |       | OLP    |       |
|----------------|----------|-------|--------|-------|----------|-------|--------|-------|
| Intenzitet     | IGF2     | IGF2R | IGF2   | IGF2R | IGF2     | IGF2R | IGF2   | IGF2R |
| +              | 4        | 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.

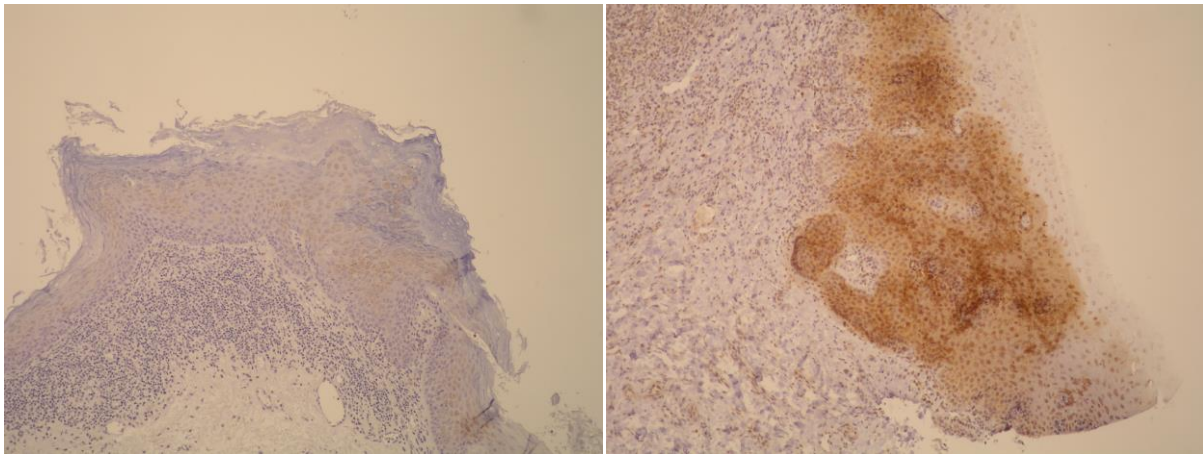
| IGF2 %    |            | IGF intenzitet |            | IGF2R %   |            | IGF2R intenzitet |            |
|-----------|------------|----------------|------------|-----------|------------|------------------|------------|
| zdravi vs |            | zdravi vs      |            | zdravi vs |            | 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)

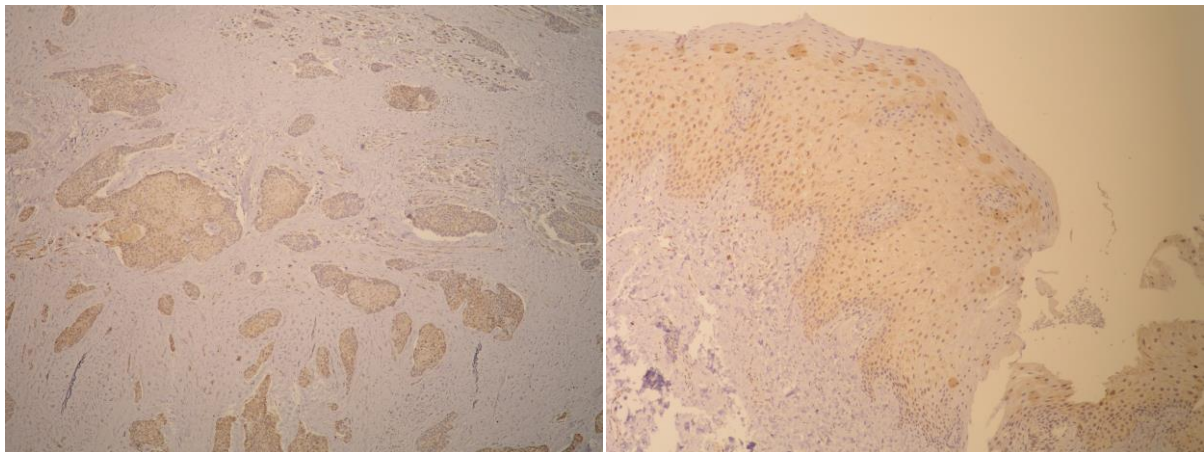
U intenzitetu ekspresije IGF2 i IGF2R nije bilo statistički značajne razlike među spolovima, ali je utvrđena značajna razlika u raspodjeli spolova između skupine uzoraka zdravih pacijenata (devet muškaraca i devet žena) i pacijenata s karcinomom (18 muškaraca i dvije žene) (Fischerov test,  $p = 0,0113$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

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.



**A**

**B**

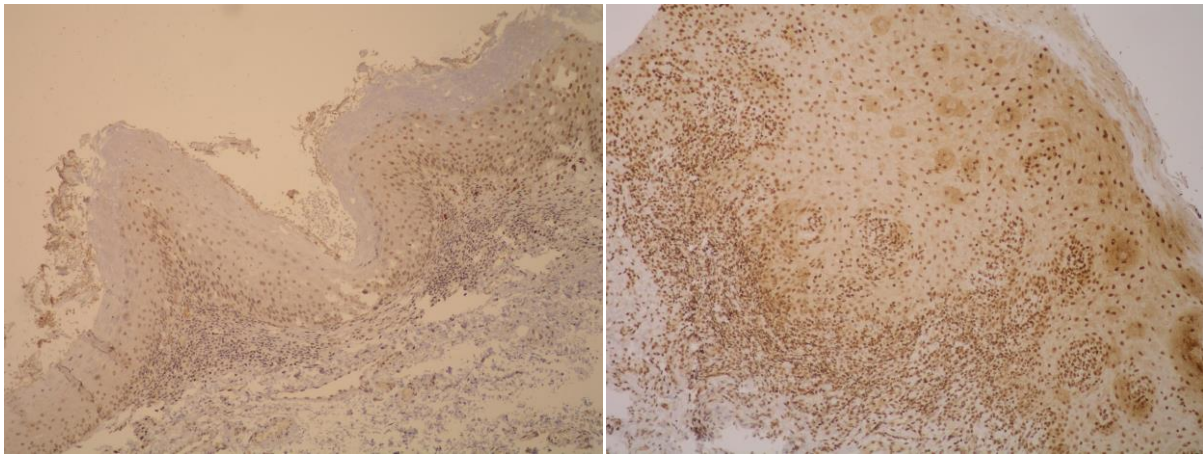


**C**

**D**

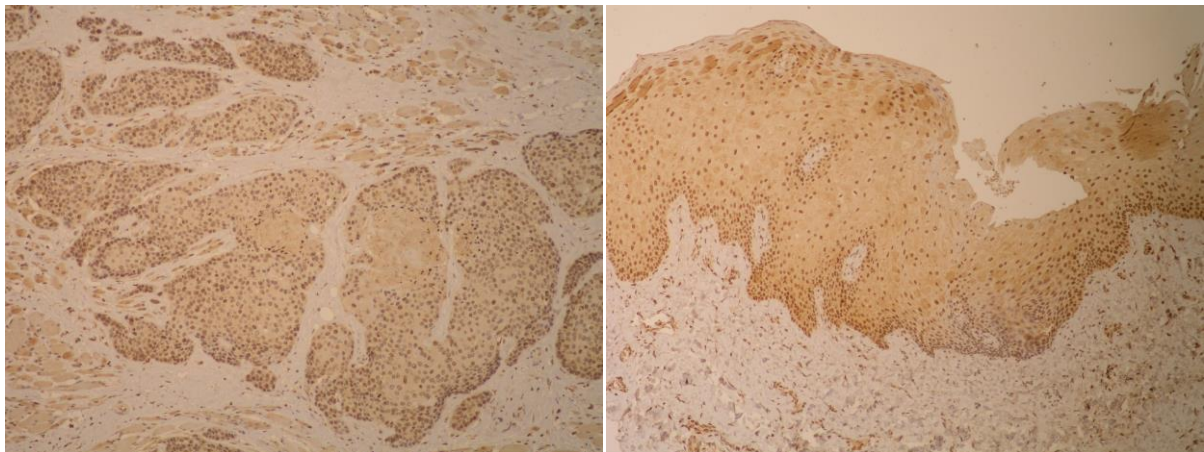
**Slika 6.** Prikaz jako pozitivnog imunohistokemijskog nalaza za IGF2 prema dijagnozama pacijenata: A) leukoplakija, povećanje 200X, obojenje (++) (postotak i intenzitet ekspresije); B) oralni lihen planus, povećanje 200X, obojenje (+++) (postotak i intenzitet ekspresije); C) oralni karcinom pločastih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





**A**

**B**



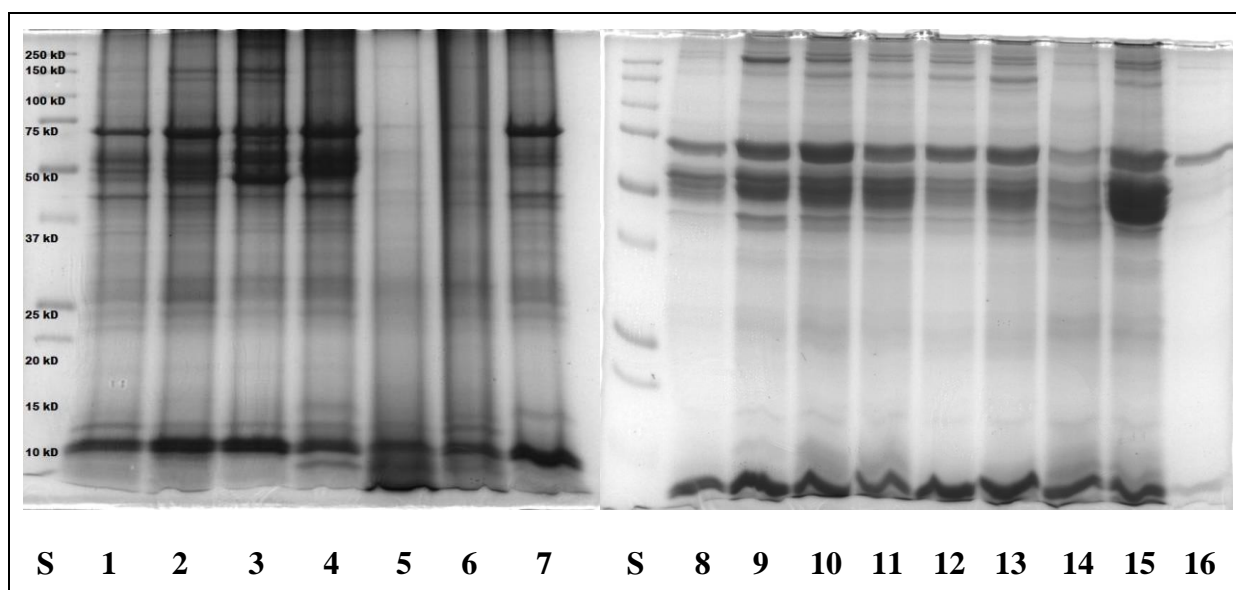
**C**

**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<br>B4DU44           | Involukrin                       | Keratinizacija, vezanje proteina   | Svi OLP-B           |
| 7                                    | O60437<br>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<br>D2JYH7<br>B1PS43 | Miozin-11                        | Kontrakcija stanice  | Svi OLP-B           |
| 13                                   | Q9UBC9<br>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<br>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<br>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<br>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<br>P57053<br>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<br>P07585<br>F8VXZ8           | Protein dekorin                        | Starenje, cijeljenje rana, stanična signalizacija, komponenta izvanstaničnog matriksa         | Svi OLP-B |
| <b>Nepoznata funkcija</b>                       |                                      |  |   |           |
| 31  | Q6PJF2<br>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<br>Q6FHZ0<br>Q0QF37<br>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<br>A8K486                     | Peptidil-prolil cis-trans izomeraza A  | Uloga u grušanju krvi, regulacija staničnih procesa, nabiranje (savijanje) proteina           | Svi OLP-Z |

|   |                            |   |   |           |
|---|----------------------------|---|---|-----------|
| 38  | P30086<br>D9IAI1           | Protein 1 koji veže fosfatidiletanolamin                            | Inhibitor proteaza  | Svi OLP-Z |
| 39  | Q8N6N5<br>Q8IZ29           | Tubulin, beta 2C  | Polimerizacija proteina, komponenta mikrotubula   | Svi OLP-Z |
| 40  | P23396<br>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<br>P59666<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>F5H7U0<br>B4E2U0<br>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<br>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<br>Q5TCU6   | Talin-1  | Uloga u grušanju krvi, kontrakciji stanica, staničnoj signalizaciji  | Svi Ca-B |
| 28   | F5GWP8   | Spojni plakogloblin  | Migracija stanica, morfogenez stanica, uloga u staničnoj signalizaciji                                     | Svi Ca-B |
| 29   | Q99880<br>Q99879<br>Q99877<br>Q93079<br>Q5QNW6<br>P62807<br>P58876 | Histon H2B   | Organizacija kromatina i nukleosoma  | Svi Ca-B |
| <b>Imunološki odgovor</b>                      |  |  |  |          |
| 30   | P10809,<br>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<br>D6RF35   | Protein koji veže vitamin D                                      | Metabolički procesi malih molekula, vitamina D i steroida  | Svi Ca-Z |



|                           |  |   |  |          |
|---------------------------|--|---|--|----------|
| 34                        | Q0QEN7<br>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<br>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<br>Q1L857<br>E9PFZ2<br>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<br>Q6FHZ0<br>P40926<br>P40925<br>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<br>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<br>P12882<br>P60660<br>J3KND3<br>G8JLA2<br>P12883<br>P13535 | Miozin  | Kontrakcija stanica, stanična signalizacija urođeni imunološki odgovor, organizacija membrane  | Svi Ca-Z |
| 50                        | Q5TZZ9<br>P04083<br>P07355<br>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 endotelnih stanica krvnih žila, regulacija staničnih procesa          | Svi Ca-Z |
| 60                               | O60437<br>K7EKI8                               | Periplakin   | Keratinizacija, citoskeletni protein   | Svi Ca-Z |
| 61                               | P22105<br>G5E9A9                               | Tenascin-X   | Citoskeletni protein, stanična adhezija, metabolički procesi   | Svi Ca-Z |
| 62                               | H6VRG2   | Keratin 1  | Citoskeletni protein   | Svi Ca-Z |
| 63                               | P10916<br>F8VWQ7<br>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<br>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<br>Q99878<br>Q96KK5<br>Q16777<br>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<br>P62736<br>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<br>B2RCS5           | Alfa-aktinin 2  | Uloga u grušanju krvi, kontrakciji stanica, adheziji stanica, regulacija apoptoze   | Svi Ca-Z |
| 74  | P62937<br>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<br>Q99879<br>Q99877<br>Q93079<br>Q5QNW6<br>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<br>G3V5I3   | Alfa-1-antikimotripsin  | Upalni odgovor akutne faze, metabolizam lipida i proteina   | Svi OLP-Z           |
| 12                           | P59666<br>Q6EZE9<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>P40926<br>Q75MT9<br>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<br>J3KN86   | 40S ribosomski protein S3  | Regulacija staničnih procesa   | Svi OLP-Z |
| 48  | Q8N6N5<br>Q8IZ29   | Tubulin, beta 2C   | Polimerizacija proteina, komponenta mikrotubula  | Svi OLP-Z |
| <b>Stanične komponente</b>                |  |  |  |           |
| 49  | Q9BTM1<br>Q99878<br>Q96KK5<br>Q6FI13<br>Q16777<br>P20671<br>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<br>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<br>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 antikimotripsinu                                | Komponenta izvanstaničnog prostora/ funkcija nije navedena   | Svi OLP-Z |
| 57  | Q15582<br>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<br>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<br>Q0QEN7   | Pretpostavljeno nekarakterizirani protein MYL1 (Ulomak)       | Kontrakcija srčanog mišića  | Svi Ca-Z |
| 72   | Q53R15   | Laki lanac 1/3 miozina, izoforma skeletnog mišića             | Mišićna kontrakcija   | 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<br>P62736<br>D2JYH4   | Aktin, aortni glatki mišić                                    | Regulacija krvnog tlaka, kontrakcija mišića   | Svi Ca-Z |
| 77   | P23284<br>D2JYH7<br>P35749   | Miozin-11   | Kontrakcija glatkih mišića, razvoj vlakana srčanog mišića   | Svi Ca-Z |
| 78   | P62736   | Aktin, alfa 2, glatki mišić                                   | Regulacija krvnog tlaka, kontrakcija mišića   | Svi Ca-Z |
| 79   | Q9BTM1<br>Q99878<br>Q96KK5<br>Q6FI13<br>Q16777<br>P20671<br>P0C0S8 | Alfa-4 lanac tropomiozina                                     | Kontrakcija 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                                    | Kontrakcija mišića, rast stanice, odgovor na različite spojeve  | Svi Ca-Z |
| 84   | Q8N6N5<br>Q8IWP6   | Beta tubulin  | Polimerizacija proteina, procesi povezani s mikrotubulima   | Svi Ca-Z |
| 85   | P08727   | Keratin, tip I citoskeletni 19                                | Kontrakcija 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<br>Q9UKX2<br>P12882<br>P60660<br>J3KND3<br>G8JLA2<br>P13535<br>D2JYH4<br>O60437<br>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<br>Q5TZZ9<br>P04083<br>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<br>P69905   | Hemoglobin alfa 1  | Prijenos kisika   | Svi Ca-Z |
| 106                         | D1MGQ2   | Lanac alfa-2 globina   | Prijenos kisika   | Svi Ca-Z |



|     |  |   |  |          |
|-----|--|---|--|----------|
| 107 | P07585<br>Q6FH10                               | Protein dekorin   | Metabolizam ugljikohidrata, odgovor na mehaničke podražaje, organizacija izvanstaničnog matriksa, metabolički procesi malih molekula                   | Svi Ca-Z |
| 108 | Q6B051<br>Q15661<br>J3QTS8<br>H3BMK9<br>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<br>F5GZ12                               | Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp434K0435 (Fragment)                            | Homeostaza energije, razvoj masnog tkiva   | Svi Ca-Z |
| 111 | B3KQT9   | cDNAPSEC0148 fis, klonPLACE1007202, vrlo slična protein disulfidnoj 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<br>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<br>J3KND3<br>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<br>A8K7E0                               | Malat dehidrogenaza   | Uloga u metabolizmu staničnih ugljikohidrata, stanična signalizacija   | Svi Ca-Z |
| 124 | Q6FHZ0<br>Q75MT9<br>P40926<br>P40925<br>B9A041 | Laki polipeptid 6 miozina   | Kontraktacija mišića, katabolizam ATP-a  | Svi Ca-Z |
| 125 | Q53HU6<br>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<br>Q53F89<br>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<br>Q1L857<br>P00450<br>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<br>D6RF35                     | Protein koji veže vitamin D  | Metabolički procesi malih molekula, vitamina D i steroida                         | Svi Ca-Z |
| 143 | Q6IB42<br>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<br>F8VWQ7                     | Izocitratna dehidrogenaza [NADP]   | Metabolički procesi izocitrata, ciklus trikarboksilne kiseline                    | Svi Ca-Z |
| 146 | P00325<br>A8MYN5<br>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<br>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<br>G5E9A9 | Peptidil-proлил cis-trans izomeraza B   | Organizacija izvanstaničnog matriksa  | Svi Ca-Z |
| 160                                       | P21810<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>Q59HF8<br>P31327<br>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<br>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<br>Q8WU19                     | Alfa-1B lanac tubulina   | Stanični proteinski metabolički procesi, polimerizacija proteina | Svi Z               |
| 13                           | Q01469<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>B4DU58   | Protein koji štiti makrofage  | Reverzibilno blokira krajeve aktinskih vlakana  | OLP-Z+ Ca-Z |
| 47                        | Q99878<br>Q96KK5<br>Q6FI13<br>Q16777<br>P20671<br>P0C0S8<br>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<br>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<br>Q53H26<br>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<br>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<br>Q86UA5<br>Q86TM8<br>Q6NZY1<br>Q6FHB8<br>Q6B051<br>Q15661<br>P20231<br>J3QTS8<br>H3BMK9 | Triptaza  | Aktivnost endopeptidaza                                    | Svi Ca-B            |
| 8                                   | P07237<br>I3L2P8<br>H7BZ94<br>F5H8J2   | Protein disulfidna-izomeraza  | Homeostaza staničnih redoks procesa                        | Svi Ca-B            |
| 9                                   | B4DUA5<br>B4DNL5<br>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<br>Q59HF8<br>P31327<br>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<br>E9PNE6                     | Protein srodan proteinu toplinskog šoka 71 kDa   | ATP katabolički procesi, regulacija staničnog ciklusa                 | Svi Ca-B |
| 17                           | P00558,<br>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<br>F5H7U0<br>B4E2U0<br>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<br>G3V0E8<br>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<br>Q5EC54<br>P61978<br>Q6IBN1 | Heterogeni ribonukleoprotein K jezgre  | Vežanje RNA   | Svi Ca-B |
| 26                           | B4DUQ1<br>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<br>P21333<br>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<br>E9PCV6 | Lanac kolagena tipa VI alfa-1                          | Organizacija izvanstaničnog matriksa, stanična adhezija  | Svi Ca-B |
| 34  | P02679<br>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<br>Q96H31<br>Q96C32<br>Q5U5U6<br>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<br>P35998                               | Regulatorna podjedinica 7 proteaze 26S   | Apoptotički procesi, ekspresija gena, ATP-katabolički procesi   | Svi OLP-B |
| <b>Imunološki odgovor</b>            |  |  |   |           |
| 57                                   | P07355<br>H0YN42<br>Q5TZZ9<br>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<br>Q0D2M2<br>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<br>B4DU44                               | Involukrin   | Keratinizacija  | Svi OLP-B |
| 66                                   | O60437<br>K7EKI8                               | Periplakin   | Keratinizacija  | Svi OLP-B |
| 67                                   | Q9UBC9<br>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<br>Q5VTE0<br>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<br>Q96KK5<br>Q93077<br>Q7L7L0<br>Q08AJ9<br>P20671<br>P0C0S8<br>P0C0S8<br>P0C0S8<br>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, dezmozoplakin) 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).

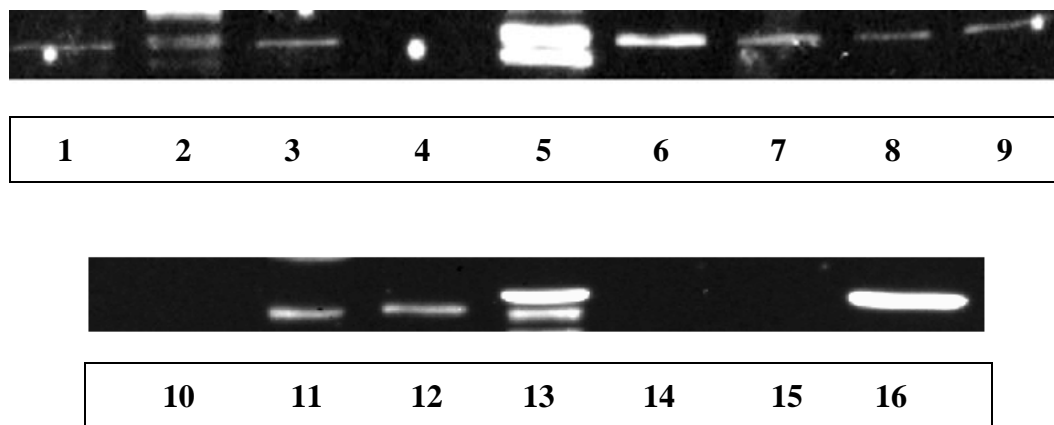
**Tablica 14.** Proteini izvanstaničnog matriksa te proteini koji su s njima u interakciji, a identificirani su masenom spektrometrijom u uzorcima promijenjene i pripadajuće nepromijenjene sluznice pacijenata s lihenom i oralnim karcinomom pločastih stanica te zdrave sluznice.

| 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

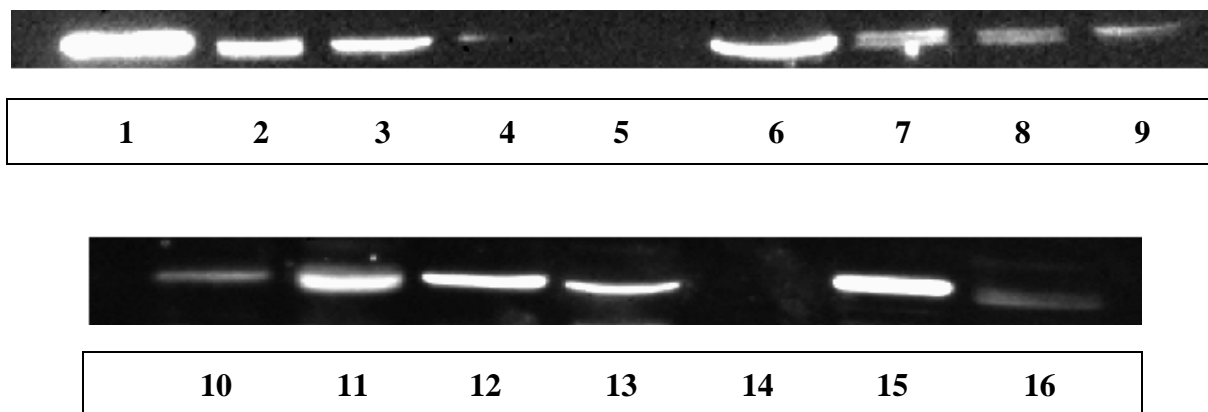
S obzirom da je analiza diferencijalno eksprimiranih proteina ukazala na ulogu izvanstaničnog matriksa (ECM, od engl. extracellular matrix) u razvoju oralnih lezija koje prate i promjene u nekim imunološkim komponentama, uz pomoć metode Western blota željeli smo odrediti izraženost važnih komponenti 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 lihenaa, 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 jednaka 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 lihenaa 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 lihenaa 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 lihenia ili oralnog karcinoma pločastih stanica, (2) razlike u lezijama lihenia 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 uznapređovalim 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 kemoterapiju.

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 nadomješta 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 liheni 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: Gnjidić 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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>Q99878<br>Q96KK5<br>Q7L7L0<br>Q08AJ9<br>P20671<br>P20671<br>POC0S8 | Histon tipa H2A   | Vežanje DNA   | Svi OLP-B |
| 39                               | Q75L23   | Pretpostavljeno nekarakterizirani protein PSMC2 (Fragment)                                  | Katabolički procesi proteina  | Svi OLP-B |



|   |                                      |   |   |           |
|---|--------------------------------------|---|---|-----------|
| 40  | P17066<br>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<br>P02675<br>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<br>Q6GMX3<br>Q567P1<br>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<br>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<br>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<br>Q6GMX0<br>Q5EBM2<br>A0A5E4 | Pretpostavljeno nekarakterizirani protein   | Funkcija nije navedena  | Svi OLP-B |
| <b>Citoskeletni protein</b> |                                      |   |   |           |
| 64                          | DB3KSM6<br>B2R6X5                    | Mali protein 3 bogat prolinom   | Keratinizacija; cijeljenje rana, diferencijacija keratinocita; razvoj epiderma      | Svi OLP-B |
| 65                          | P07585<br>Q6FH10<br>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<br>B4DU44                     | Involukrin  | Keratinizacija; vezanje proteina  | Svi OLP-B |
| 73                          | O60437<br>K7EKI8                     | Periplakin  | Citoskeletni protein; keratinizacija  | Svi OLP-B |
| 74                          | P35579<br>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<br>D2JYH7<br>B1PS43           | Miozin-11   | Kontrakcija stanice   | Svi OLP-B |
| <b>Metabolički proteini</b> |                                      |   |   |           |
| 79                          | I1VZV6<br>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<br>P62805<br>B2R4R0           | Histon tipa H4  | Komponenta nukleosoma   | Svi OLP-B |

|                            |  |                                       |   |           |
|----------------------------|--|---------------------------------------|---|-----------|
| 83                         | P14923<br>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<br>P14618   | Piruvat kinaza                        | Uloga u metaboličkim procesima  | Svi OLP-B |
| 86                         | Q01469<br>E7D VW5  | Protein koji veže masne kiseline      | Metabolički procesi glukoze i lipida; razvoj epiderma   | Svi OLP-B |
| 87                         | Q6IPT9<br>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<br>J3KPS3   | Fruktozno-bisfosfonatna aldolaza      | Glikolitički procesi  | Svi OLP-B |
| 90                         | P07355<br>H0YN42   | Aneksin 2                             | Angiogeneza; metabolički procesi  | Svi OLP-B |
| 91                         | Q99880<br>Q99879<br>Q99877<br>Q93079<br>Q5QNW6<br>P62807<br>P58876<br>P57053<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>Q53FC7 | Protein toplinskog šoka 6, 70 kDa  | Katabolički procesi ATP-a, nabiranje proteina, stanični odgovor na zagrijavanje  | Svi OLP-Z |
| 42 | Q14697<br>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<br>Q5TCU6 | Talin-1  | Uloga u grušanju krvi; metabolizmu proteina  | Svi OLP-Z |
| 47 | P40121<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>Q99879<br>Q99877<br>Q93079<br>Q5QNW6<br>P62807 | Histon tipa H2B   | Komponenta nukleosoma, organizacija kromatina, uloga u urođenom imunološkom odgovoru sluznice                     | Svi OLP-Z |
| 62                              | P30101<br>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<br>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<br>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<br>Q6GMX0<br>Q5EBM2<br>A0A5E4<br>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<br>Q6EZE9<br>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<br>J3KN86   | 40S ribosomski protein S3                                       | Regulacija staničnih procesa  | Svi OLP-Z |
| 92                         | Q15582<br>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<br>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<br>Q99878<br>Q96KK5<br>Q6FI13<br>Q16777<br>P20671<br>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<br>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<br>A8K486   | Peptidil-proлил 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<br>P40926<br>Q75MT9<br>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<br>P35749<br>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<br>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<br>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<br>P69905                               | Hemoglobin alfa 1   | Prijenos kisika   | Svi Ca-B |
| 29                               | D1MGQ2   | Alfa-2 lanac globina  | Prijenos kisika   | Svi Ca-B |
| 30                               | P04075<br>J3KPS3                               | Fruktozno-bisfosfonatna aldolaza  | Glikolitički procesi  | Svi Ca-B |
| 31                               | Q8N1N4   | Keratin, tipa II citoskeletni 78  | Aktivnost strukturnih molekula  | Svi Ca-B |
| 32                               | Q0VAS5<br>P62805<br>B2R4R0                     | Histon tipa H4  | Komponenta nukleosoma   | Svi Ca-B |
| 33                               | O75369<br>E7EN95                               | Filamin-B   | Stanična signalizacija, stanična diferencijacija  | Svi Ca-B |
| 34                               | Q6NZY1<br>Q6FHB8                               | Protein TPSB2   | Endopeptidazna aktivnost  | Svi Ca-B |
| 35                               | Q6B051<br>Q15661<br>P20231<br>J3QTS8<br>H3BMK9 | Triptaza alfa/beta 1/2  | Endopeptidazna aktivnost  | Svi Ca-B |
| 36                               | B4DUA5<br>B4DNL5<br>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 A3 (EC 5.3.4.1)  | Homeostaza staničnih redoks procesa   | Svi Ca-B |
| 39                               | B3KQT2   | cDNA PSEC0148 fis, klon PLACE1007202, vrlo sličan proteinu disulfidnojizomerazi A3 (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<br>Q5EC54<br>Q6IBN1<br>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<br>G3V0E8<br>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<br>E5RHP7                     | Ugljična anhidraza 1   | Prijenos bikarbonata, metabolički procesi malih molekula                              | Svi Ca-B |
| 50                        | Q5R210<br>Q59HF8<br>P31327<br>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<br>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<br>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 komplekta, 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<br>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<br>I3L2P8<br>H7BZ94<br>F5H8J2<br>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<br>Q8WVW5  | Pretpostavljeno nekarakterizirani protein  | Funkcija nije navedena  | Svi Ca-B |
| <b>Metabolički proteini</b> |   |  |   |          |
| 90                          | Q99880<br>Q99879<br>Q99877<br>Q93079<br>Q5QN6<br>P62807<br>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<br>D9YZU5  | Hemoglobin, beta   | Prijenos željeza  | Svi Ca-B |
| 93                          | Q06AH7<br>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<br>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<br>E9PKE3  | Protein 71 kDa s rodan protein utoplinskog šoka                                  | ATP katabolički procesi, organizacija membrane, regulacija staničnog ciklusa                | Svi Ca-B |
| 101                         | Q9Y490<br>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<br>Q86UA5<br>Q86TM8  | Protein TPSAB1   | Hidrolaza, proteaza, serinska proteaza  | Svi Ca-B |
| 104                         | Q2TSD0<br>P04406  | Gliceraldehid-3-fosfatna dehidrogenaza   | Sudjeluje u metaboličkim procesima glukoze  | Svi Ca-B |
| 105                         | Q60FE6<br>P21333<br>A6NDY9  | Filamin A  | Keratinizacija, citoskeletni protein, pozitivna regulacija staničnog rasta                  | Svi Ca-B |
| 106                         | P02679<br>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<br>P17066                     | Protein toplinskog šoka 6, 70kDa (Fragment)                      | Odgovor na stres   | Svi Ca-B |
| 110                          | P52209<br>F5H7U0<br>B4E2U0<br>B4DQJ8 | Dekarboksilirajuća 6-fosfoglukonat dehidrogenaza                 | Metabolizam ugljikohidrata, oksidoreduktivni procesi, ostali metabolički procesi                         | Svi Ca-B |
| 111                          | P10809<br>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<br>F6KPG5                               | Serumski albumin   | Grušanje krvi, metabolički procesi malih molekula   | Svi Ca-Z            |
| 2                           | P68871   | Hemoglobin beta  | Prijenos željeza  | Svi Ca-Z            |
| 3                           | I1VZV6<br>P69905                               | Hemoglobin alfa 1  | Prijenos kisika   | Svi Ca-Z            |
| 4                           | D1MGQ2   | Lanac alfa-2 globina   | Prijenos kisika   | Svi Ca-Z            |
| 5                           | Q0VAS5<br>P62805<br>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<br>B2RCS5                               | Fosfoglicerat kinaza 1   | Metabolizam ugljikohidrata  | Svi Ca-Z            |
| 8                           | P00915<br>E5RHP7                               | Ugljična anhidraza 1   | Prijenos bikarbonata, metabolički procesi malih molekula  | Svi Ca-Z            |
| 9                           | Q5TZZ9<br>B4DNH8                               | Aneksin  | Metabolički protein, stanična signalizacija   | Svi Ca-Z            |
| 10                          | Q6B051<br>Q15661<br>J3QTS8<br>H3BMK9<br>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<br>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<br>Q6FHB8                               | Protein TPSB2  | Aktivnost endopeptidaze serinskog tipa  | Svi Ca-Z            |
| 19                          | Q9UBC9<br>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<br>J3KND3<br>G8JLA2 | Spojini 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<br>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<br>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<br>D2JYH7<br>P35749 | Miozin-11   | Kontrakcija glatkih mišića, razvoj vlakana srčanog mišića   | Svi Ca-Z |
| 44                           | P35579<br>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<br>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<br>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<br>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<br>Q5TZZ9<br>P04083<br>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<br>B9A041           | Protein toplinskog šoka 6, 70 kDa  | Katabolički procesi ATP-a, stanični odgovor na zagrijavanje  | Svi Ca-Z |
| 95                          | P05976<br>P62937<br>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<br>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<br>Q53F89<br>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<br>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<br>A8MYN5<br>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<br>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<br>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<br>Q1L857<br>P00450<br>A5PL27 | cDNAFLJ58075, vrlo slična ceruloplazminu (EC 1.16.3.1)                | Homeostaza staničnih iona željeza, prijenos iona bakra  | Svi Ca-Z |
| 126 | P10916<br>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<br>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<br>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<br>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<br>P62736<br>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<br>Q75MT9<br>P40926<br>P40925<br>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<br>Q99878<br>Q96KK5<br>Q6FI13<br>Q16777<br>P20671<br>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<br>Q9UKX2<br>P12882<br>P60660<br>J3KND3<br>G8JLA2<br>P13535<br>D2JYH4<br>O60437<br>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<br>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<br>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<br>A6NLG9 | cDNA FLJ55187, vrlo slična biglikanu                          | Preoblikovanje krvnih žila, povezivanje izvanstaničnog matriksa   | Svi Ca-Z |
| 166                                       | P22105<br>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<br>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<br>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<br>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<br>Q53HR5 | Čimbenik elongacije 1-alfa                                    | Biosinteza proteina  | Svi Z               |
| 16                           | Q5VTE0           | Pretpostavljeni čimbenik elongacije 3 nalik alfi-1            | Biosinteza proteina  | Svi Z               |
| 17                           | P00915<br>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<br>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<br>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<br>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<br>E7DVW5                     | Protein koji veže masne kiseline, epidermalni  | Razvoj epiderma; metabolički procesi ugljikohidrata i lipida                              | Svi Z |
| 43                           | P68363<br>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<br>Q59HF8<br>P31327<br>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                               | Izoforna transferina (Fragment)  | Homeostaza i prijenos staničnog željeza   | Svi Z |
| 49                           | D3DTX7                               | Kolagen, tip I, alfa 1, izoforna CRA_a   | Razvoj krvnih žila, stanični odgovor na različite podražaje                               | Svi Z |
| 50                           | I1VZV6<br>P69905                     | Hemoglobin alfa 1  | Prijenos kisika   | Svi Z |
| 51                           | D9YZU5<br>P68871                     | Hemoglobin, beta   | Prijenos kisika   | Svi Z |
| 52                           | P12111<br>E9PCV6<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>E5RHP7 | Ugljična anhidraza 1                                 | Prijenos bikarbonata, metabolički procesi malih molekula  | Ca-Z + OLP-Z        |
| 7                           | P06396<br>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<br>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<br>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 endotelih stanica, odgovor na kalcijeve ione | Ca-Z+ OLP-Z         |
| 17                          | P62805<br>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 +<br>OLP-Z |
| 19  | P02538 | Keratin, tip II citoskeletni 6A  | Citoskeletni protein, stanična diferencijacija  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 20  | B4DRR0 | cDNA FLJ53910, vrlo slična citoskeletnom keratinu 6A, tipa II                  | Citoskeletni protein  | Ca-Z+<br>OLP-Z  |
| 21  | A8K2I0 | cDNA FLJ78504, vrlo slična ljudskom keratinu 6A, mRNA                          | Citoskeletni protein  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 22  | H6VRG2 | Keratin 1  | Citoskeletni protein  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 23  | P13645 | Keratin, tip I citoskeletni 10   | Diferencijacija keratinocita, stanični odgovor na kalcijeve ione  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 24  | P35579 | Miozin-9   | Citoskeletni protein, regulacija staničnog oblika, stanična signalizacija   | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 25  | P02533 | Keratin, tip I citoskeletni 14   | Organizacija staničnih spojeva, diferencijacija epitelnih stanica   | Ca-Z+<br>OLP-Z  |
| <b>Imunološki odgovor</b>                 |        |  |   |                 |
| 26  | P01009 | Alfa-1-antitripsin   | Odgovor akutne faze upale, grušanje krvi, regulacija proteolize   | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 27  | Q5TZZ9 | Aneksin  | Diferencijacija T-stanica, regulacija stanične proliferacije, signalizacija preko površinskih staničnih receptora | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 28  | P04083 | Aneksin A1   | Diferencijacija T-stanica, regulacija stanične proliferacije, signalizacija preko površinskih staničnih receptora | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 29  | P02671 | Alfa lanac fibrinogena   | Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 30  | A8K3E4 | cDNA FLJ78367, vrlo slična ljudskom fibrinogenu, A alfa polipeptid (FGA), mRNA | Uloga u grušanju krvi, urođenom imunološkom odgovoru  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 31  | P01860 | Lanac imunoglobulina gama-3 regije C   | Aktivacija komplekta, urođeni imunološki odgovor  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| <b>Komponente izvanstaničnog prostora</b> |        |  |   |                 |
| 32  | E9KL23 | Protein koji veže sekretornu spermu pasjemenika Li 44a                         | Komponenta izvanstaničnog prostora  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 33  | P35555 | Fibrillin-1  | Organizacija izvanstaničnog matriksa  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| <b>Stanične komponente</b>                |        |  |   |                 |
| 34  | Q6N030 | Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686I15212                       | Komponenta membrane   | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 35  | Q6MZV7 | Pretpostavljeno nekarakterizirani protein DKFZp686C11235                       | Komponenta membrane   | Ca-Z+<br>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 prijepisna inačica 1   | Stanična signalizacija, mitotički procesi  | Ca-Z + OLP-Z |
| 45                               | P40121<br>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<br>Q75MT9<br>P40926 | Malat dehidrogenaza   | Regulacija staničnih procesa, metabolizam ugljikohidrata  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 55  | P17066<br>Q53FC7           | Protein toplinskog šoka 6, 70 kDa   | Katabolički procesi ATP-a, nabiranje proteina, stanični odgovor na zagrijavanje                           | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 56  | Q8N6N5                     | Tubulin, beta 2C  | Polimerizacija proteina, komponenta mikrotubula   | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 57  | P13489                     | Inhibitor ribonukleaze  | Regulacija angiogeneze, negativna regulacija katalitičke aktivnosti                                       | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 58  | E9PCV6                     | Alfa-3 lanac kolagena tipa VI   | Uloga u metabolizmu glukoze   | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| <b>Imunološki odgovor</b>                 |                            |   |   |                 |
| 59  | P01876                     | Alfa-1 lanac regije C imunoglobulina  | Sudjeluje u imunološkom odgovoru  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 60  | Q06830                     | Peroksiredoksin-1   | Stanična proliferacija, citotoksičnost posredovana NK stanicama; razvoj koštanog sustava                  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 61  | P01024                     | Komplement C3   | Aktivacija komplementa, urođeni imunološki odgovor, stanična signalizacija                                | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 62  | P08238                     | Protein toplinskog šoka 90-beta   | Urođeni imunološki odgovor, nabiranje proteina, stanična signalizacija                                    | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 63  | P30101<br>G5EA52           | Protein disulfidna izomeraza A3   | Prezentacija antigena, nabiranje proteina, metabolički procesi staničnih proteina                         | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 64  | Q9UP60                     | SNC73 protein   | Domena imunoglobulina   | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 65  | P00738                     | Haptoglobin   | Imunološki odgovor, regulacija staničnih procesa  | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 66  | B3KSM6                     | cDNA FLJ36606 fis, klon TRACH2015654, vrlo sličan proteinu 6 toplinskog šoka 70 kDa                   | Odgovor na stres  | Ca-Z +<br>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 +<br>OLP-Z |
| 68  | P05109                     | Protein S100-A8   | Veže kalcij i cink i ima ulogu u upalnim i imunološkim procesima  | Ca-Z+<br>OLP-Z  |
| <b>Citoskeletni proteini</b>              |                            |   |   |                 |
| 69  | P31947                     | 14-3-3 sigma protein  | Keratinizacija; pozitivna regulacija staničnog rasta; stanična signalizacija                              | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| <b>Komponenta izvanstaničnog matriksa</b> |                            |   |   |                 |
| 70  | P12110                     | Alfa-2 lanac kolagena tipa VI   | Stanična adhezija, organizacija izvanstaničnog matriksa   | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| <b>Apoptotički proteini</b>               |                            |   |   |                 |
| 71  | P02545                     | Prelamin-A/C  | Uloga u apoptotičkim procesima, mitotičkom ciklusu; stanična signalizacija; regulacija stanične migracije | Ca-Z +<br>OLP-Z |
| 72  | P63104                     | 14-3-3 protein zeta/delta   | Apoptotički procesi, stanična signalizacija, grušanje krvi  | Ca-Z +<br>OLP-Z |



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