

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И МАРКЕРЫ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ КАРЦИНОМ

Шапошников А.В., Кит О.И., Кутилин Д.С., Юрьева Е.А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: k.denees@yandex.ru

Для увеличения частоты ранней диагностики гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) необходимы биомаркеры с более высокой чувствительностью и специфичностью. В новую эру молекулярной онкологии генетические показатели становятся ядром маркеров злокачественных новообразований. Чтобы сделать доступной для клинических экспертов информацию об известных генетических и эпигенетических маркерах ГЦК, мы провели системный обзор подобных показателей, применимых для ранней диагностики, прогноза, лечения и послеоперационного мониторинга ГЦК. В обзоре подробно рассмотрены этиология и патогенез ГЦК, молекулярные особенности безалкогольной жировой болезни печени и безалкогольного стеатогепатита, молекулярные особенности ГЦК, ассоциированных с инфекцией вирусом гепатита В и С, а также с употреблением алкоголя. В обзоре подробно рассмотрены современные системы стадирования ГЦК и оценки функционального состояния печени. Рассмотрены данные многочисленных исследований, описывающих потенциал различных соматических мутаций, метилирования ДНК, aberrантной экспрессии генов и микроРНК в качестве маркеров ранней диагностики ГЦК, маркеров таргетной и иммунной терапии. Анализ литературы и медицинских баз данных показал, что пациенты с ГЦК часто имеют различные генетические профили, и эти различия могут быть применены для раннего скрининга и прогнозирования течения заболевания, а также могут использоваться для прогнозирования реакции на лекарства. Более того, генетические маркеры можно задействовать в послеоперационном наблюдении за ГЦК для выявления рецидива опухоли в бессимптомном периоде. Проведенный анализ литературных источников и баз данных также показал, что, несмотря на широкий спектр возможного применения генетических и эпигенетических маркеров при ГЦК, вопрос о возможности их использования для оценки функционального состояния печени абсолютно не рассмотрен, что открывает новые перспективы исследований в этом направлении.

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома, соматические мутации, микроРНК, метилирование, функциональное состояние печени, вирусы, биомаркеры.

GENETIC AND EPIGENETIC FEATURES AND MARKERS OF HEPATOCELLULAR CARCINOMAS

Shaposhnikov A.V., Kit O.I., Kutilin D.S., Yurieva E.A.

National Medical Research Centre for Oncology, Russian Federation, Rostov-on-Don, e-mail: k.denees@yandex.ru

Biomarkers with higher sensitivity and specificity are needed to increase the rate of early diagnosis of HCC. In the new era of molecular oncology, genetic indicators are becoming the core of cancer markers. To make available to clinical experts information on known genetic and epigenetic markers of HCC, we conducted a systematic review of such indicators applicable for early diagnosis, prognosis, treatment, and postoperative monitoring of HCC. The review details the etiology and pathogenesis of HCC, the molecular features of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis, the molecular features of HCC associated with hepatitis B and C virus infection, and alcohol consumption. The review details modern HCC staging systems and liver function assessment. The data of numerous studies describing the potential of various somatic mutations, DNA methylation, aberrant gene and microRNA expression as markers of early diagnosis of HCC, markers of targeted and immune therapy are considered. Analysis of the literature and medical databases has shown that patients with HCC often have different genetic profiles, and these differences can be used for early screening and predicting the course of the disease, and can also be used to predict drug response. Moreover, genetic markers can be used in postoperative monitoring of HCC to detect tumor recurrence in the asymptomatic period. The analysis of literature sources and databases also showed that, despite the wide range of possible applications of genetic and epigenetic markers in HCC, the question of their use for assessing the functional state of the liver has not been considered at all, which opens up new prospects for research in this direction.

Keywords: hepatocellular carcinoma, somatic mutations, microRNA, methylation, liver function, viruses, biomarkers.

Рак печени является четвертым по летальности онкологическим заболеванием в мире, а гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) составляет 75–85% случаев рака печени [1]. Помимо высокой смертности, прогноз и лечение ГЦК неоптимальны, у большинства пациентов злокачественное новообразование прогрессирует в течение года после постановки диагноза [2]. По данным Американского Онкологического Общества (ASCO), статистика выживаемости с 2008 по 2021 гг. была следующей: общая 5-летняя выживаемость составила 18% для пациентов с раком печени, а 5-летняя выживаемость для пациентов с отдаленными метастазами – всего 2%. Напротив, среди пациентов с ранней стадией ГЦК, которых диагностировали и лечили до внепеченочных метастазов, 5-летняя выживаемость увеличивалась до 31%.

Чтобы повысить частоту ранней диагностики ГЦК, необходимы биомаркеры с более высокой чувствительностью и специфичностью. Послеоперационный мониторинг, который направлен на оценку прогрессирования заболевания и прогнозирование рецидива рака, также в значительной степени зависит от исследования биомаркеров ГЦК. Биомаркеры также играют важную роль в разработке индивидуальных планов лечения. В новую эру молекулярной онкологии генетические маркеры становятся ядром биомаркеров злокачественных новообразований. Чтобы сделать доступной для клинических экспертов информацию об известных генетических и эпигенетических маркерах ГЦК, мы провели системный обзор подобных биомаркеров, применимых для ранней диагностики, прогноза, лечения и послеоперационного мониторинга ГЦК.

Этиология и патогенез ГЦК

Основными факторами риска ГЦК являются хронический гепатит В (ВГВ, HBV) и вирусная инфекция гепатита С (ВГС, HCV), потребление алкоголя, неалкогольная жировая болезнь печени, воздействие афлатоксина, генетический гемохроматоз и нарушения обмена веществ [3]. Возникающее под действием этих факторов хроническое воспаление печени может развиваться в тяжелый фиброз и цирроз печени, которые предрасполагают к развитию ГЦК. Известно, что до 90% случаев ГЦК возникают на фоне цирроза или фиброза печени [4]. Установлено, что повышенная продукция активных форм кислорода (АФК) вызывает накопление окислительного стресса и нестабильность ДНК, которые сопровождаются пролиферацией гепатоцитов, укорочением теломер и хромосомными изменениями. Согласно ранним исследованиям, эти процессы были связаны с развитием опухоли при фиброзе [4]. Интересно, что каждый фактор риска развития ГЦК связан с различными сигнальными путями канцерогенеза, поэтому пациенты с ГЦК часто демонстрируют различные профили геномных изменений.

Инфекция вирусом гепатита В. В эндемичных по ВГВ регионах, таких как Азиатско-Тихоокеанский регион и Африка, на инфекцию ВГВ приходится 75–90% случаев ГЦК [5]. Попад в клетку-хозяина с ДНК, HBV транскрибируется 4 вирусных мРНК для 7 белков [6], одним из которых является полипептид HBV X (HBx) 17 кДа, который регулирует пролиферацию и апоптоз клеток путем модуляции экспрессии Wnt/ β -катенина. Сверхэкспрессия HBx может также активировать NF- κ B и блокировать фактор некроза опухоли- α (TNF α) и апоптоз. Кроме того, как HBV, так и HCV могут вызывать митохондриальный стресс и повышать уровни активных форм кислорода (АФК), что вызывает стресс эндоплазматического ретикулума и развернутый белковый ответ, что приводит к аутофагии, способствующей выживанию клеток и персистенции вируса [7].

В ряде исследований был проведен скрининг биомаркеров HBV-индуцированной ГЦК и выявлено 7 генов с повышенной экспрессией у этих пациентов, включая гены *RPS5*, *KRT8*, *CFLAR*, *ATP5F1*, *IGFBP2*, *MAP3K5* и *MMP9* [8]. Позже было показано, что *CCND1* [9], *BCL2*, *Mcl-1* [10], *NFKB1* [11] и *SOCE* [12] также активируются при HBV-индуцированной ГЦК. Результаты полноэкзомного секвенирования показали, что мутации в генах *TP53*, *CTNNB1*, *RBI*, *AXIN1*, *SELPLG* и *FGF19*, по-видимому, являются драйверными для HBV-индуцированной ГЦК [13]. Уникальный геномный профиль ГЦК, вызванной HBV, может быть применен для ранней диагностики ГЦК и корректировки терапевтических схем, что способно повысить выживаемость пациентов.

Инфекция вирусом гепатита С. Инфекция HCV является второй по частоте причиной ГЦК во всем мире и служит причиной не менее 10% случаев ГЦК [14]. Инфекция ВГС служит основной причиной ГЦК в западных странах, Африке и Японии [15]. Было показано, что основные белки HCV, такие как E2, NS5A и NS5B, взаимодействуют с сигнальными путями E2F1 RAF/MAPK/ERK, с помощью которых они могут модулировать пролиферацию клеток и развитие опухоли [16]. Другой белок, продуцируемый HCV, NV5a, ингибирует сигнальный путь p53, который модулирует клеточный цикл. ГЦК, индуцированную ВГС, можно отличить от ГЦК, индуцированной ВГВ, на основании геномного профиля пациентов. В одном из ранних исследований сравнивали паттерн экспрессии генов HCV и HBV-индуцированной ГЦК и пришли к выводу, что разные гены активируются при двух разных сценариях [8]. В отличие от инфицирования HBV, гены *VIM*, *ACTB*, *GAPD* и *CD58* были сверхэкспрессированы в случаях HCV-индуцированной ГЦК. Более поздние исследования выявили 40 активируемых генов в случаях ГЦК, вызванных HCV, по сравнению с контролем, включая *RYBP*, *ATP1B3*, *TMC*, *ZNF567*, *GPR108*, *CD19* [17]. Эти исследования выявили потенциальные биомаркеры ГЦК, вызванной ВГС, которые имеют решающее значение для разработки стратегии лечения.

Употребление алкоголя. Цирроз, связанный с алкоголем, является третьей наиболее частой причиной ГЦК во всем мире. Употребление алкоголя может увеличить выработку железо-индуцированных активных форм кислорода (АФК), которые будут мешать механизмам восстановления ДНК. Более того, ацетальдегид, образующийся при метаболизме этанола, отрицательно влияет на ДНК и белки [18].

Пациенты с ГЦК, ассоциированной с алкоголем, также обладают уникальным генетическим профилем. Сообщалось о наличии мутаций в промоторах генов *TRET*, *CTNNB1*, *ARID1A* в случаях ГЦК, связанных с алкоголем [19]. Недавнее исследование выявило 5 генов с повышенной экспрессией (*CSMD1*, *MAGEA3*, *MAGEA6*, *CSAG1* и *CSAG3*) и 4 гена с пониженной экспрессией (*CD5L*, *UROCI*, *IGF2* и *SLC22A10*), которые были связаны с алкоголь-ассоциированной ГЦК [20].

Воздействие афлатоксина. Воздействие афлатоксина В1 (AFB1) в настоящее время также определяют как фактор риска ГЦК, который распространяется через контаминацию пищевых продуктов. AFB1 и HBV обладают синергическим взаимодействием. Хотя механизм остается неясным, инфекция HBV, по-видимому, повышает чувствительность гепатоцитов к канцерогенным эффектам AFB1. AFB1 может запускать канцерогенез через превращение в афлатоксин-8,9-эктоэпоксид, который взаимодействует с геном-супрессором опухоли p53 и способствует появлению мутации R249S [21, 22]. По сравнению с другими факторами риска ГЦК AFB1 не изучался подробно. В одном из недавних исследований было показано, что частые мутации в генах *ADGRB1*, *AXINI* и *TERT* наблюдались в случаях ГЦК, связанной с AFB [23].

Безалкогольная жировая болезнь печени и безалкогольный стеатогепатит. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – один из наиболее распространенных факторов риска хронического заболевания печени в США, часто связанный с циррозом, который может привести к ГЦК [24]. НАЖБП представляет собой множество хронических заболеваний печени – от стеатоза печени до прогрессирующей и воспалительной формы неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). В частности, с 2002 по 2012 гг. в США заболеваемость ГЦК, связанная с НАСГ, увеличилась на 63% [24]. Исследования показали, что НАЖБП и употребление алкоголя способствовали развитию стеатогепатита. НАЖБП приводит к ГЦК за счет активации гена *TWIST1* в стволовых клетках. При НАЖБП может изменяться экспрессия генов *KCTD17*, *PHLPP2* и *CPT2*, что способствует стеатозу печени, НАСГ и гепатоканцерогенезу [25, 26]. Аналогичным образом миссенс-мутация гена *PNPLA3* способствует ГЦК, ассоциированной с НАЖБП/НАСГ [27]. Более того, идентифицирован 41 генетический маркер для ГЦК, ассоциированной с НАЖБП, включая гены *SAVI*, *SON*, *SLC25A17*, *FBXO11*, *MYO10* и *PTEN*, мутации в которых способствуют фиброгенезу.

Современные системы стадирования ГЦК

Существует ряд систем для прогнозирования течения заболевания у пациентов с ГЦК, учитывающих различные переменные и протестированных на различных популяциях. Общепринятые системы оценки ГЦК – TNM (стадия опухоли, наличие поражения лимфоузла, наличие отдаленных метастазов), система Окуда, система рака печени (BCLC) Барселонской клиники, индекс Итальянской программы рака печени (CLIP), индекс JIS (Japan Integrated Staging), индекс CUPI и система индекса альбумин-билирубина (ALBI) (табл. 1) [28].

Таблица 1

Стадия и система оценки ГЦК [28]

Название	Страна	Стадии
TNM	France	Stage I, II, III
Okuda	Japan	Score A, B, C
BCLC	Spain	Score 0–7
CLIP	Italy	Stage 0, A–D
JIS	Japan	Stage I–IV
CUPI	Hong Kong	Scores Low-High risk
ALBI	Japan	Grade 1, 2, 3

На основании клинических и научных требований были выбраны разные системы баллов. Например, шкала BCLC применялась в клинических испытаниях по оценке сорафениба, и сорафениб рекомендуется в качестве варианта лечения BCLC степени C [28].

Клинические оценочные шкалы функции печени

В отечественной и зарубежной литературе предложено и используется большое количество оценочных шкал, направленных на выявление как структурных, так и функциональных особенностей печени при различных патологических процессах [29].

Сводная таблица наиболее известных шкал приведена ниже (табл. 2).

Таблица 2

Индексная оценка функционального состояния печени при различных заболеваниях [30]

Хронический вирусный гепатит В (HBV)	Хронический вирусный гепатит С (HCV)	Неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD)
Zeng score	Fibrotest®	BARD score
Hui score	Forns Index	NAFLD Fibrosis Score (NFS)
	AST to Platelet Ratio (APRI)	
	FibroSpectII®	
	MP3	
	Enhanced Liver Fibrosis score® (ELF)	
	Fibrosis Probability Index (FPI)	
	Hepascore	
	Fibrometer®	
	Lok index	
	Gotebörg University Cirrhosis Index (GUCI)	

	Virahep-C model	
	Fibroindex	
	HALT-C model	

Очевидна необходимость интегральной оценки функций печени, которая включала бы определенные наборы «знаковых» тестов биохимического ряда или (что лучше) сочетала их с клиническими данными о состоянии пациента. Концепция эта не нова, и на сегодняшний день известно достаточно большое количество методик подобного рода, которые объединяет одно – стремление определить степень изменения той или иной функции в баллах и дать общую оценку выявленных нарушений на основе синтеза имеющихся показателей [31].

Исследование функций печени необходимо для диагностики заболеваний, оценки тяжести поражения органа, определения прогноза заболевания и компенсаторных возможностей функций печени, осуществления контроля над эффективностью лечения. Оценка функционального резерва печени представляет собой сложную клиническую задачу. При этом методы оценки варьируют от относительно простых классификационных систем до сложных измерений функциональных параметров печени, таких как изучение кровотока в печени и исследование ее метаболических возможностей.

В клинической практике используется значительное количество показателей, позволяющих оценить функцию печени, которые можно подразделить на поисковые, диагностические и количественные тесты. Поисковые тесты позволяют выявить заболевание печени, диагностические – этиологию заболевания, а количественные тесты дают возможность определять величину функционального резерва [32].

Функциональный тест печени – это систематически организованное клиническое исследование, используемое для оценки функции печени, тяжести заболевания и оценки реакции на лечение путем измерения уровней различных биомаркеров (белков) в крови. Эти белки отражают различные аспекты нормального функционирования печени. Например, нормальные уровни билирубина отражают адекватную экскрецию анионов, нормальные уровни АСТ или АЛТ указывают на гепатоцеллюлярную целостность, а уровни билирубина или ЩФ обеспечивают понимание адекватного образования и потока желчи и альбумин для синтеза белка [33].

Принято считать, что диагностика на ранней стадии может значительно улучшить выживаемость пациентов. Кроме того, разработка стратегии лечения основана на понимании причины болезни для каждого человека. В этом смысле методы диагностики для начала своевременной терапии должны быть разработаны для выявления ГЦК на очень ранней стадии.

Ранняя диагностика ГЦК

Диагностика на ранней стадии – ключ к повышению показателя выживаемости пациентов с ГЦК. В настоящее время наиболее широко используемым биомаркером для диагностики ГЦК является сывороточный альфа-фетопротеин (AFP), но его чувствительность и специфичность составляют около 50% [34].

Стоит отметить, что в клинической практике в последнее десятилетие получила широкое развитие и стала применяться жидкостная биопсия. Подход основан на обнаружении циркулирующей опухолевой ДНК (цДНК), циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), выделении экзосом и циркулирующей опухолевой РНК (цРНК) в жидкостях организма, включая плазму, мочу и спинномозговую жидкость. Среди них цДНК является наиболее широко применяемым генетическим биомаркером. цДНК происходит из опухолевой ткани и несет соматические мутации, CNV, метилирование ДНК, вирусные последовательности и другие характеристики, связанные с канцерогенезом.

Соматические мутации. Геномный ландшафт ГЦК был выявлен в результате ряда полногеномных исследований с использованием технологии NGS. Три наиболее часто мутирующих гена – это *TERT* (40–60%), *TP53* (31%) и *CTNNB1* (27%). В одном из систематических обзоров были выделены гены с часто встречающимися мутациями при ГЦК, включая гены-супрессоры опухолей *AXIN1* (8%) и *RBI* (4%), гены ремоделирования хроматина *ARID1A* (7%), *ARID2* (5%) и *BAP1* (5%), гены антиоксидантной защиты *NFE2L2* (3%) и ген альбумина (13%) [35]. Эти мутационные особенности были применены при разработке панелей секвенирования для раннего скрининга ГЦК.

Одна исследовательская группа разработала метод жидкой биопсии, названный «скрининг гепатоцеллюлярной карциномы (HCCscreen)», который может обнаруживать ГЦК у бессимптомных ВГС-серопозитивных людей. Анализ одновременно оценивает статус гена *TERT*, *TP53*, *CTNNB1* и *AXIN1*, а также уровень сывороточных AFP, DCP и профиль интеграции HBV. Анализ показал 100%-ную чувствительность и 94%-ную специфичность [36]. В другом исследовании было показано, что мутация TP53 в кодоне 249 может использоваться в качестве биомаркера для выявления ГЦК, вызванного воздействием афлатоксина или инфекцией HBV. Его чувствительность и специфичность достигли 40% и 88% соответственно [37]. Эти результаты были обнадеживающими в том смысле, что они предоставили метод для скрининга ГЦК на очень ранней или даже бессимптомной стадии.

Метилирование ДНК. Изменение статуса метилирования ДНК является ранним событием в канцерогенезе, поэтому оно также рассматривается как потенциальный биомаркер для раннего выявления ГЦК. В одном исследовании была разработана панель маркеров метилирования, специфичных для ГЦК, и построена модель диагностического прогнозирования с 10 маркерами. Чувствительность и специфичность модели составляли 86%

и 94% соответственно (715 пациентов с ГЦК и 560 лиц без ГЦК). Кроме того, модель могла эффективно различать ГЦК, вызванную различными факторами риска [38]. В другом исследовании, проведенном А. Oussalah и соавторами, оценивалось метилирование промотора гена SEPT9. Площадь под ROC-кривой составляла 0,944, что свидетельствует о том, что этот показатель может служить потенциальным биомаркером для диагностики ГЦК [39].

ЦОК, экзосомы и некодирующие РНК. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) происходят из опухолевых клеток печени и могут способствовать метастазированию опухоли. По данным метаанализа совокупная чувствительность и специфичность ЦОК для обнаружения опухоли составили 67% и 98% соответственно. Аналогичным образом было показано, что экзосомы опухолевого происхождения, содержащие микроРНК (miR-122, miR-21 и miR192), ряд экзосомных белков и РНК, могут служить биомаркерами ГЦК [40]. Хуанг и соавторы выполнили систематический обзор и метаанализ опубликованных исследований, чтобы оценить полезность микроРНК в ранней диагностике ГЦК. Они проанализировали 50 исследований, которые включали 3423 случая ГЦК, 2403 пациента с хроническим заболеванием печени (ХГ) и 1887 здоровых людей из контрольной группы. Было показано, что микроРНК может использоваться в качестве маркера для дифференциации пациентов с ГЦК от здоровых людей, а чувствительность и специфичность составляют 76% и 75% соответственно [41]. LncRNA (длинные некодирующие РНК) представляют собой некодирующие мРНК-подобные транскрипты, длина которых превышает 200 нуклеотидов [42]. Многие новые LncRNA были предложены в качестве прогностических биомаркеров для диагностики или прогноза рака, включая HULC, HOTAIR, MALAT1 и H19. В случае ГЦК предполагается, что lnc-Myd88 является новой диагностической и терапевтической мишенью для ГЦК, поскольку может увеличивать экспрессию гена Myd88, что, в свою очередь, активирует сигнальные пути NF-κB и PI3K / АКТ [42].

Прогноз и послеоперационный мониторинг ГЦК

Первичная стратегия лечения ГЦК – удаление опухоли хирургическим путем, но после операции может возникнуть рецидив. 5-летняя частота рецидивов ГЦК после операции составляет в среднем 74% [43]. Следовательно, для эффективного лечения рака необходимы послеоперационный мониторинг и точный прогноз. Секвенирование генома может быть альтернативным инструментом послеоперационного мониторинга рака. Например, мутации в гене *ALBI* наблюдаются при рецидивирующем раке печени, и обнаружена в цДНК во время появления рецидива. Уникальная мутация p.V174M также наблюдается при рецидивирующей и метастатической ГЦК. Также генотип TT IL-28B (rs8099917) взаимосвязан с рецидивом ГЦК [44]. Вместе эти факторы могут служить важным инструментом послеоперационного наблюдения за раком печени.

Генетическое тестирование также является полезным инструментом для оценки прогноза ГЦК. В ряде исследований были выявлены биомаркеры, связанные с прогнозом ГЦК, такие как miR-203, *ATXN7* и альфа-1-фукозидаза. Кроме того, установлено, что профиль циркулирующей опухолевой ДНК в образцах крови пациентов с ГЦК может выявить гетерогенность опухолей и контролировать процесс заболевания в режиме реального времени [44].

Биомаркеры для таргетной терапии

Терапевтические эффекты лекарств можно оценить на основе генетических профилей пациентов. В последние годы идентифицировано в общей сложности 1813 геномных вариаций, связанных с чувствительностью к сорафенибу. Эти гены участвуют в абсорбции, распределении и метаболизме лекарств. Также показано, что мутация в *RSK2* приводит к длительной активации *RAS*, что связано с устойчивостью ГЦК к сорафенибу. Teufel и соавторы выявили 9 плазмемных микроРНК и 49 вариантов в 27 генах, которые могут быть использованы для идентификации пациентов с ГЦК, чувствительных к регорафенибу [45]. Таким образом, помимо мутаций и изменения экспрессии микроРНК, эффективным маркером ответа на таргетную терапию может являться показатель копийности генетических локусов – особый вид полиморфизма, обеспечивающий регуляцию транскрипционной активности генов и некодирующих РНК [46].

Биомаркеры для иммунотерапии

Эффективность иммунотерапии также можно предсказать по генетическим маркерам. Недавнее исследование показало, что низкая экспрессия PD-L1 связана с плохим клиническим ответом на иммунотерапию. Объективные клинические ответы наблюдались у 26% пациентов с PD-L1, экспрессируемым по крайней мере в 1% их опухолевых клеток. Напротив, среди пациентов, несущих опухолевые клетки с менее чем 1% экспрессии PD-L1, только 19% ответили на лечение ингибиторами контрольных точек [47]. В более широком масштабе высокая нагрузка опухолевых мутаций (ТМВ) является новым биомаркером, который отражает чувствительность пациентов к ингибиторам иммунных контрольных точек. ТМВ, измеренный с помощью NGS, может предсказать клинические результаты иммунотерапии против PD-1/PD-L1 при многих типах опухолей [47]. Исследования показали, что пациенты с мутациями пути Wnt-β-катенина плохо реагировали на блокаторы иммунных контрольных точек. У всех пациентов наблюдалось прогрессирование заболевания после лечения, и их средняя выживаемость была значительно короче, чем у пациентов без вышеупомянутых мутаций [48]. Несмотря на то что частота высокой микросателлитной нестабильности (MSI-H) при ГЦК оценивается как низкая, FDA одобрило пембролизумаб для лечения поздних

стадий рака с MSI-H [49]. В совокупности эти результаты предполагают, что определенные мутации могут служить биомаркерами для прогнозирования ответа на иммунотерапию.

Заключение

Пациенты с ГЦК часто имеют различные генетические профили, и эти различия могут быть применены для раннего скрининга и прогнозирования течения заболевания, а также могут использоваться для прогнозирования реакции на лекарства. Более того, генетические маркеры можно задействовать в послеоперационном наблюдении за ГЦК, для выявления рецидива опухоли в бессимптомном периоде. Проведенный анализ литературных источников и баз данных показал, что, несмотря на широкий спектр возможного применения генетических и эпигенетических маркеров при ГЦК, вопрос о возможности их использования для оценки функционального состояния печени абсолютно не рассмотрен, что открывает новые перспективы исследований в этом направлении.

Список литературы

1. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018. V. 68 (6). P. 394-424.
2. Boyle D.A. Hepatocellular carcinoma: implications for Asia-Pacific oncology nurses. *Asia Pac J. Oncol Nurs.* 2017. V. 4 (2). P. 98-103.
3. Balogh J., Victor D. 3rd, Asham E.H., Burroughs S.G., Boktour M., Saharia A., Li X., Ghobrial R.M., Monsour H.P. Jr. Hepatocellular carcinoma: a review. *J. Hepatocell Carcinoma.* 2016. V. 3. P. 41-53.
4. O'Rourke J.M., Sagar V.M., Shah T., Shetty S. Carcinogenesis on the background of liver fibrosis: implications for the management of hepatocellular cancer. *World J. Gastroenterol.* 2018. V. 24 (39). P. 4436-4447.
5. Zhu R.X., Seto W.K., Lai C.L., Yuen M.F. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in the Asia-Pacific region. *Gut Liver.* 2016. V. 10 (3). P. 332-339.
6. Zeisel M.B., Lucifora J., Mason W.S., Sureau C., Beck J., Levrero M., Kann M., Knolle P.A., Benkirane M., Durantel D., Michel M.L., Autran B., Cosset F.L., Strick-Marchand H., Trépo C., Kao J.H., Carrat F., Lacombe K., Schinazi R.F., Barré-Sinoussi F., Delfraissy J.F., Zoulim F. Towards an HBV cure: state-of-the-art and unresolved questions—report of the ANRS workshop on HBV cure. *Gut.* 2015. V. 64 (8). P. 1314-1326.
7. Arzumanyan A., Reis H.M., Feitelson M.A. Pathogenic mechanisms in HBV- and HCV-associated hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Cancer.* 2013. V. 13 (2). P. 123-135.

8. Lee C.F., Ling Z.Q., Zhao T., Lee K.R. Distinct expression patterns in hepatitis B virus- and hepatitis C virus-infected hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2008. V. 14 (39). P. 6072-6077.
9. Patil M.A., Lee S.A., Macias E., Lam E.T., Xu C., Jones K.D., Ho C., Rodriguez-Puebla M., Chen X. Role of cyclin D1 as a mediator of c-Met- and beta-catenin-induced hepatocarcinogenesis. *Cancer Res.* 2009. V. 69 (1). P. 253-261.
10. Hung J.H., Teng Y.N., Wang L.H.C., Su I.-J., Wang C.C.C., Huang W., Lee K.-H., Lu K.-Y., Wang L.-H. Induction of Bcl-2 expression by hepatitis B virus pre-S2 mutant large surface protein resistance to 5-fluorouracil treatment in Huh-7 cells. *PLoS One.* 2011. V. 6 (12). P. e28977.
11. He Y., Zhang H., Yin J., Xie J., Tan X., Liu S., Zhang Q., Li C., Zhao J., Wang H., Cao G. IkappaBalpha gene promoter polymorphisms are associated with hepatocarcinogenesis in patients infected with hepatitis B virus genotype C. *Carcinogenesis.* 2009. V. 30 (11). P. 1916–1922.
12. Lu J.W., Hsia Y., Yang W.Y., Lin Y.I., Li C.C., Tsai T.F., Chang K.W., Shieh G.S., Tsai S.F., Wang H.D., Yuh C.H. Identification of the common regulators for hepatocellular carcinoma induced by hepatitis B virus X antigen in a mouse model. *Carcinogenesis.* 2012. V. 33 (1). P. 209-219.
13. Kan Z., Zheng H., Liu X., Li S., Barber T.D., Gong Z., Gao H., Hao K., Willard M.D., Xu J., Hauptschein R., Rejto P.A., Fernandez J., Wang G., Zhang Q., Wang B., Chen R., Wang J., Lee N.P., Zhou W., Lin Z., Peng Z., Yi K., Chen S., Li L., Fan X., Yang J., Ye R., Ju J., Wang K., Estrella H., Deng S., Wei P., Qiu M., Wulur I.H., Liu J., Ehsani M.E., Zhang C., Loboda A., Sung W.K., Aggarwal A., Poon R.T., Fan S.T., Wang J., Hardwick J., Reinhard C., Dai H., Li Y., Luk J.M., Mao M. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in hepatocellular carcinoma. *Genome Res.* 2013. V. 23 (9). P. 1422-1433.
14. Ghouri Y.A., Mian I., Rowe J.H. Review of hepatocellular carcinoma: epidemiology, etiology, and carcinogenesis. *J. Carcinog.* 2017. V. 16. P. 1.
15. Parkin D.M. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J. Cancer.* 2006. V. 118 (12). P. 3030-3044.
16. Goossens N., Hoshida Y. Hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma. *Clin Mol Hepatol.* 2015. V. 21 (2). P. 105-114.
17. De Giorgi V., Monaco A., Worchech A., Tornesello M., Izzo F., Buonaguro L., Marincola F.M., Wang E., Buonaguro F.M. Gene profiling, biomarkers and pathways characterizing HCV-related hepatocellular carcinoma. *J. Transl Med.* 2009. V. 7. P. 85.
18. Ganne-Carrie N., Nahon P. Hepatocellular carcinoma in the setting of alcohol-related liver disease. *J. Hepatol.* 2019. V. 70 (2). P. 284-293.
19. Schulze K., Nault J.C., Villanueva A. Genetic profiling of hepatocellular carcinoma using next-generation sequencing. *J. Hepatol.* 2016. V. 65 (5). P. 1031-1042.

20. Zhang X., Kang C., Li N., Zhang J., Gao F., Dai L. Identification of special key genes for alcohol-related hepatocellular carcinoma through bioinformatic analysis. *Peer J.* 2019.V.7. P.e6375.
21. Kew MC. Aflatoxins as a cause of hepatocellular carcinoma. *J. Gastrointest Liver Dis.* 2013. V. 22 (3). P. 305–310.
22. Qi L.N., Bai T., Chen Z.S., Wu F.X., Chen Y.Y., De Xiang B., Peng T., Han Z.G., Li L.Q. The p53 mutation spectrum in hepatocellular carcinoma from Guangxi, China: role of chronic hepatitis B virus infection and aflatoxin B1 exposure. *Liver Int.* 2015. V. 35 (3). P. 999-1009.
23. Zhang W., He H., Zang M., Wu Q., Zhao H., Lu L.L., Ma P., Zheng H., Wang N., Zhang Y., He S., Chen X., Wu Z., Wang X., Cai J., Liu Z., Sun Z., Zeng Y.X., Qu C., Jiao Y. Genetic Features of Aflatoxin-Associated Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology.* 2017. V. 153 (1). P. 249–262 e242.
24. Degasperi E., Colombo M. Distinctive features of hepatocellular carcinoma in non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2016. V. 1 (2). P. 156-164.
25. Fujiwara N., Nakagawa H., Enooku K., Kudo Y., Hayata Y., Nakatsuka T., Tanaka Y., Tateishi R., Hikiba Y., Misumi K., Tanaka M., Hayashi A., Shibahara J., Fukayama M., Arita J., Hasegawa K., Hirschfield H., Hoshida Y., Hirata Y., Otsuka M., Tateishi K., Koike K. CPT2 downregulation adapts HCC to lipid-rich environment and promotes carcinogenesis via acylcarnitine accumulation in obesity. *Gut.* 2018. V. 67 (8). P. 1493-1504.
26. Kim K., Ryu D., Dongiovanni P., Ozcan L., Nayak S., Ueberheide B., Valenti L., Auwerx J., Pajvani U.B. Degradation of PHLPP2 by KCTD17, via a glucagon-dependent pathway, promotes hepatic steatosis. *Gastroenterology.* 2017. V. 153 (6). P. 1568-1580.
27. Kodama T., Yi J., Newberg J.Y., Tien J.C., Wu H., Finegold M.J., Kodama M., Wei Z., Tamura T., Takehara T., Johnson R.L., Jenkins N.A., Copeland N.G. Molecular profiling of nonalcoholic fatty liver disease-associated hepatocellular carcinoma using SB transposon mutagenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018. V. 115 (44). P. E10417-E10426.
28. Jun C.H., Yoon J.H., Cho E. Barcelona clinic liver cancer-stage C hepatocellular carcinoma: a novel approach to subclassification and treatment. *Medicine (Baltimore).* 2017. V. 96 (17). P. e6745.
29. Cox-North P.P. The relationship of hepatitis antibodies and elevated liver enzymes with impaired fasting glucose and undiagnosed diabetes. *J. Am Board Fam Med.* 2009 .V. 22 (3). P. 339.
30. Castera L., Friedrich-Rust M., Loomba R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* 2019. V. 156 (5). P. 1264-1281.e4.
31. Шапошников А.В. Интегральный подход к оценке функций печени при циррозах и опухолях печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.*

2005. Т. 15. № 4. С. 88-92.

32. Краснов О.А., Павленко В.В., Краснов К.А., Краснов А.О., Пельц В.А., Старцев А.Б., Аминов И.Х., Сохарев А.С., Керопян С.Е. Современные методы оценки функционального резерва печени в резекционной хирургии органа. Медицина и образование в Сибири. 2014. № 6. С. 37.
33. Rahmioglu N., Andrew T., Cherkas L., Surdulescu G., Swaminathan R., Spector T., Ahmadi K.R. Epidemiology and genetic epidemiology of the liver function test proteins. PLoS One. 2009. V. 4 (2). P. e4435.
34. Bruix J., Sherman M. American Association for the Study of Liver D. Management of hepatocellular carcinoma: an update. Hepatology. 2011. V. 53 (3). P. 1020-1022.
35. Zucman-Rossi J., Villanueva A., Nault J.C., Llovet J.M. Genetic landscape and biomarkers of hepatocellular carcinoma. Gastroenterology. 2015. V. 149 (5). P. 1226–1239 e1224.
36. Qu C., Wang Y., Wang P., Chen K., Wang M., Zeng H., Lu J., Song Q., Diplas B.H., Tan D., Fan C., Guo Q., Zhu Z., Yin H., Jiang L., Chen X., Zhao H., He H., Wang Y., Li G., Bi X., Zhao X., Chen T., Tang H., Lv C., Wang D., Chen W., Zhou J., Zhao H., Cai J., Wang X., Wang S., Yan H., Zeng Y.X., Cavenee W.K., Jiao Y. Detection of early-stage hepatocellular carcinoma in asymptomatic HBsAg-seropositive individuals by liquid biopsy. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019. V. 116 (13). P. 6308-6312.
37. Brahmer J., Reckamp K.L., Baas P. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer. N Engl J. Med. 2015. V. 373 (2). P. 123-135.
38. Xu R.H., Wei W., Krawczyk M., Wang W., Luo H., Flagg K., Yi S., Shi W., Quan Q., Li K., Zheng L., Zhang H., Caughey B.A., Zhao Q., Hou J., Zhang R., Xu Y., Cai H., Li G., Hou R., Zhong Z., Lin D., Fu X., Zhu J., Duan Y., Yu M., Ying B., Zhang W., Wang J., Zhang E., Zhang C., Li O., Guo R., Carter H., Zhu J.K., Hao X., Zhang K. Circulating tumour DNA methylation markers for diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma. Nat Mater. 2017. V. 16 (11). P. 1155-1161.
39. Oussalah A., Rischer S., Bensenane M., Conroy G., Filhine-Tresarrieu P., Debard R., Forest-Tramoy D., Josse T., Reinicke D., Garcia M., Luc A., Baumann C., Ayav A., Laurent V., Hollenbach M., Ripoll C., Guéant-Rodriguez R.M., Namour F., Zipprich A., Fleischhacker M., Bronowicki J.P., Guéant J.L. Plasma mSEPT9: a novel circulating cell-free DNA-based epigenetic biomarker to diagnose hepatocellular carcinoma. EBioMedicine. 2018. V. 30. P. 138-147.
40. Sun C., Liao W., Deng Z. The diagnostic value of assays for circulating tumor cells in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. Medicine (Baltimore). 2017. V. 96 (29). P.e7513.
41. Huang J.T., Liu S.M., Ma H., Yang Y., Zhang X., Sun H., Zhang X., Xu J., Wang J. Systematic review and meta-analysis: circulating miRNAs for diagnosis of hepatocellular carcinoma. J. Cell Physiol. 2016. V. 231 (2). P. 328-335.

42. Kutilin D.S., Gusareva M.A., Kosheleva N.G., Zinkovich M.S., Gvaramiya A.K., Gappoeva M.A., Fatkina N.B., Krokhal J.N., Vasilieva E.O., Karnauhova E.A., Donskaya A.K., Rozenko L.Ya., Legostaev V.M., Shlyakhova O.V., Lyman N.A., Balitsky G.V., Kravchenko A.B., Nosov V.A., Babenkov O.Y. Differential expression of long noncoding RNAs in patients with metastatic and nonmetastatic colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2021. V. 39 (15).
43. Kim D.S., Kim B.W., Hatano E., Hwang S., Hasegawa K., Kudo A., Ariizumi S., Kaibori M., Fukumoto T., Baba H., Kim S.H., Kubo S., Kim J.M., Ahn K.S., Choi S.B., Jeong C.Y., Shima Y., Nagano H., Yamasaki O., Yu H.C., Han D.H., Seo H.I., Park I.Y., Yang K.S., Yamamoto M., Wang H.J. Surgical outcomes of hepatocellular carcinoma with bile duct tumor thrombus: a Korea-Japan multicenter study. *Ann Surg*. 2020. V. 271 (5). P. 913-921.
44. Cai Z.X., Chen G., Zeng Y.Y. Circulating tumor DNA profiling reveals clonal evolution and real-time disease progression in advanced hepatocellular carcinoma. *Int J. Cancer*. 2017. V. 141 (5). P. 977-985.
45. Teufel M., Seidel H., Kochert K., Meinhardt G., Finn R.S., Llovet J.M., Bruix J. Biomarkers associated with response to regorafenib in patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2019. V. 156 (6). P. 1731-1741.
46. Кутилин Д.С. Регуляция экспрессии генов раково-тестикулярных антигенов у больных колоректальным раком. *Молекулярная биология*. 2020. Т. 54. № 4. С. 580-595.
47. El-Khoueiry A.B., Sangro B., Yau T. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040). P. an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. *Lancet*. 2017. V. 389 (10088). P. 2492-2502.
48. Pinyol R., Sia D., Llovet J.M. Immune exclusion-Wnt/CTNNB1 class predicts resistance to immunotherapies in HCC. *Clin Cancer Res*. 2019. V. 25 (7). P. 2021–2023.
49. Marcus L., Lemery S.J., Keegan P., Pazdur R. FDA approval summary: pembrolizumab for the treatment of microsatellite instability-high solid tumors. *Clin Cancer Res*. 2019. V. 25 (13). P. 3753-3758.