АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

УДК 616-006.6

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ. ПЕРСПЕКТИВЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ

[1]М.Н.Сергеев, [1]А.Г.Шевалдин, [2,3]А.Г.Рахманова, [4]С.С.Слепцова, [2]Е.А.Ляшенко, [5]В.В.Шаройко
[1]Городская поликлиника № 74, г. Кронштадт, Россия
[2]Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П.Павлова, Россия
[3]Санкт-Петербургский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Россия
[4]Северо-Восточный Федеральный университет им. М.К. Аммосова, г. Якутск, Россия
[5]Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, Россия

MOLECULAR MARKERS OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA. PERSPECTIVES OF EARLY DIAGNOSTICS

[1]M.N.Sergeev, [1]A.G.Shevaldin, [2,3]A.G.Rakhmanova, [4]S.S.Sleptsova, [2]E.A.Lyashenko, [5]V.V.Sharoyko
[1]Saint-Petersburg Municipal out-patients' clinic № 74, Russia
[2]First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg, Russia
[3]Saint-Petersburg Center for Control of AIDS and Infectious Diseases, Russia
[4]Ammosov M.K. North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia
[5]Saint-Petersburg State University, Institute of Chemistry, Saint-Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2014 г.

Гепатоцеллюлярная карцинома является одной из наиболее распространенных злокачественных опухолей, характеризующаяся неблагоприятным жизненным прогнозом при отсутствии своевременного и адекватного лечения. Таким образом, ранняя диагностика гепатоцеллюлярной карциномы имеет решающее значение для улучшения качества и увеличения продолжительности жизни. Измерение концентрации α-фетопротеина и ультразвуковое исследование печени используются для ранней диагностики рака печени. Однако, чувствительность и специфичность измерения α-фетопротеина в скрининге рака печени не всегда являются удовлетворительными. Достижения биохимии, молекулярной генетики и системной биологии в интегративном анализе опухолей и их окружения привели к идентификации новых молекулярных маркеров гепатоцеллюлярной карциномы, которые могут быть перспективными инструментами для улучшения имеющихся алгоритмов диагностики и лечения гепатоцеллюлярной карциномы.
Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома, маркеры, альфа-фетопротеин, цирроз, вирусный гепатит.

Hepatocellular carcinoma is one of the most common malignant tumors with a high rate mortality of patients without adequate therapy. Thus, early diagnosis of hepatocellular carcinoma is crucial for improving the quality of life and the survival rate for patients. Measuring the concentration of α-fetoprotein and liver ultrasound are commonly used in the early diagnosis of liver cancer. However, the sensitivity and specificity of measuring α-fetoprotein in liver cancer screening is not always satisfactory. Achievements of biochemistry, molecular genetics and systems biology in the integrative analysis of tumors and their environment led to the identification of new molecular markers of hepatocellular carcinoma, which may be promising tools to improve the existing algorithms of diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma.
Key words: hepatocellular carcinoma marker alpha-fetoprotein, cirrhosis, viral hepatitis.

Введение. Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) занимает пятое место среди наиболее распространенных в мире видов злокачественных опухолей и второе место как причина смертности среди пациентов с опухолями [1]. Ежегодно погибает более 600 тысяч пациентов и регистрируется ежегодно во всем мире более 700 тысяч новых диагнозов ГЦК [2]. В большинстве случаев ГЦК диагностируется на поздней стадии, поэтому прогноз больных с ГЦК, как правило, неблагоприятный и 5-летняя выживаемость составляет менее 5%.

Разработаны критерии, согласно которым проводится наблюдение определенных групп населения для ранней диагностики онкологических заболеваний, в частности, ГЦК [3]. Важнейшим критерием является

формирование группы пациентов для селективного скрининга, которые подвержены наибольшему риску развития ГЦК (табл. 1). В эту группу входят пациенты с циррозом, хроническим вирусным гепатитом В (ВГВ), хроническим вирусным гепатитом С (ВГС), алкогольным циррозом печени, неалкогольной жировой болезнью печени и другими метаболическими заболеваниями печени [4, 5]. В настоящее время рекомендуемая стратегия скрининга для пациентов с циррозом печени включает в себя определение уровня сывороточного α-фетопротеина (АФП) и ультразвуковое исследование (УЗИ) печени каждые шесть месяцев для выявления ГЦК на более ранней стадии заболевания [6].

Таблица 1

Группы высокого риска по развитию ГЦК

Носители ВГВ	Не ВГВ цирроз	Другие
Мужчины азиаты >40 лет	ВГС	Дефицит альфа-1 химотрипсина
Женщины азиаты >50 лет	Алкоголь	Неалкогольная жировая болезнь печени
Цирроз	Наследственный	Аутоиммунный гепатит
ГЦК у кровных родственников	гемохроматоз	Наследственная тирозинемия
Без цирроза: зависит от генотипа вируса, активности вирусной репликации, интенсивности воспалительного процесса	Первичный билиарный цирроз Афлатоксин	Болезнь Вильсона-Коновалова

Анализ публикаций базы данных PubMed по ключевым словам «маркеры и ГЦК» показал, что за последние 35 лет опубликовано более трех тысяч статей, посвященных исследованию маркеров ГЦК. Несмотря на большое количество проведенных исследований, посвященных поиску молекулярных маркеров для ранней диагностики ГЦК, на сегодняшний день не существует идеального высокочувствительного и высокоспецифичного маркера ГЦК с универсальной диагностической полезностью. Остановимся на отдельных наиболее перспективных с клинико-диагностической точки зрения молекулярных маркерах, которые применяются в клинической практике для диагностики ГЦК или могут рассматриваться как потенциальные маркеры для внедрения в клинико-лабораторную диагностику ГЦК.

Эмбриональный антиген АФП как маркер ГЦК. АФП является гликопротеином с молекулярной массой 70 кДа, состоит из 591 аминокислоты и содержит 4% углеводных остатков. АФП синтезируется во время беременности эмбриональными клетками печени и желудочно-кишечного тракта, а также клетками желточного мешка. АФП осуществляет транспортную функцию — связывает полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) в плаценте и переносит их из крови матери в кровь и клетки эмбриона. ПНЖК затем используются для построения клеточных мембран и синтеза сигнальных молекул эйкозанойдов — простагландинов, лейкотриенов и тромбоксанов [7, 8]. В эмбриогенезе АФП играет важную роль в регуляции роста и дифференцировки тканей плода, в защите плода и матери от встречной атаки иммунных систем, в ограничении влияния эстрогенов матери на плод. По мере завершения органогенеза синтез АФП снижается [9]. В норме концентрация АФП в сыворотке крови мужчин и небеременных женщин находится в концентрации менее 10 мкг/л [10]. В 1962 г. под руководством иммунолога, д.б.н. Г.И.Абелева был открыт синтез АФП опухолевыми клетками [11, 12]. Использование АФП как сывороточного опухолевого маркера впервые было предложено в 1964 г. врачом-биохимиком, д.м.н. Ю.С.Татариновым [13]. Реакция Татаринова-Абелева, альфа-фетопротеиновый иммунохимический тест, используется на протяжении многих лет в качестве сывороточного маркера для выявления ГЦК.

При этом данный тест дает и ложноотрицательные результаты: у 15–30% пациентов с ГЦК его уровень АФП может находиться в пределах референсных значений [14]. С другой стороны, у пациентов с циррозом концентрация АФП в сыворотке значительно повышается даже в отсутствии ГЦК. Кроме того, в ряде клинических исследований АФП, как маркер в программах наблюдений пациентов группы риска по ГЦК, не доказал своей эффективности [15]. Тем не менее, измерение концентрации АФП в сыворотке крови имеет прогностическое значение, если его уровень изначально повышен на этапе диагностики опухоли, и может быть использован как маркер для наблюдения за динамикой опухоли в процессе и после лечения пациентов с ГЦК, продуцирующей АФП [16].

Гликированная изоформа-3 АФП. АПФ существует в трех гликированных изоформах (АФП-L1, АФП-L2 и АФП-L3), которые отличаются аффинностью связывания с лектин-агглютинином пищевой чечевицы. АФП-L1 является основной гликированной формой, которая обнаруживается при различных доброкачественных новообразованиях печени, тогда как АФП-L3 обнаруживается только в сыворотке крови пациентов с ГЦК. Чувствительность и специфичность определения составляет 96,9 и 92%, соответственно. АФП-L3 (%) — это отношение концентрации АФП-L3 сыворотки крови

к концентрации общего АФП сыворотки, выраженное в процентах. АФП-L3(%) используется как онкомаркер для ранненго выявления ГЦК в Японии [17].

Дез-γ-карбоксипротромбин (ДКП). ДКП — это атипичный белок, синтезируемый без участия витамина К. В случае, когда клетки печени подвергаются малигнизации, происходит нарушение витамин К-зависимого карбоксилирования белков. В данном случае отсутствие γ-глутамил карбоксилирования приводит к накоплению ДКП [18]. Уровень ДКП сыворотки пациентов с ГЦК значительно выше, чем у пациентов с циррозом или хроническим гепатитом. Диагностическая чувствительность ДКП выше, чем у АФП независимо от размеров опухоли [19]. Сочетанное использование обнаружение ДКП и АФП может улучшить диагностическую чувствительность и может быть использовано для прогнозирования рецидива ГЦК в течение 6 месяцев после операции [20]. Изменения уровня ДКП тесно коррелируют с размером ГЦК и степенью сосудистой инвазии. В связи с этим ДКП является более информативным маркером, чем АФП и АФП-L3 [21].

Глипикан-3 (GPC3). GPC3 — это семейство гепаран сульфат протеогликанов, которые заякорены в клеточных мембранах посредством гликозилфосфатидилинозитола [22]. GPC3 участвует в регуляции роста, развитии, дифференциации и миграции клеток. Повышение уровня экспрессии GPC3 наблюдалось при ГЦК. Чувствительность и специфичность определения составляла 77 и 96%, соответственно [23]. На основании этих результатов предлагается использовать GPC3 в качестве молекулярного маркера для выявления ГЦК.

Антиген плоскоклеточного рака (АПР). АПР — ингибитор сериновой протеазы, впервые изолирован из карциномы шейки матки; обычно экспрессируется в эпителиальных опухолях и защищает опухолевые клети от апоптоза. Уровень АПР значительно повышается в 93% случаев из всех диагностированных ГЦК именно на ранних стадиях малигнизации [24] Чувствительность и специфичность определения составляла 84 и 46%, соответственно [25]. Высокая чувствительность и низкая специфичность определения АПР соответствует таковой для АФП, поэтому совместное определение концентрации АПР и АФП в сыворотке может быть информативным показателем для выявления ГЦК.

АПР-IgM иммунный комплекс. АПР-IgM ИК — циркулирующий иммунный комплекс, состоящий из АПР и IgM, который не определяется в сыворотке здоровых людей. Однако при хронических гепатитах, циррозе и ГЦК АПР-IgM ИК обнаруживались в 18, 26 и 70% случаев, соответственно [26]. Кроме того, у пациентов с циррозом, прогрессирующим в ГЦК, наблюдалось согласованное повышение концентрации АПР-IgM ИК в сыворотке с большей чувствительностью, по сравнению с таковой для АФП [27].

Белок Гольджи 73 (GP73). GP73 — мембранный белок (тип II) аппарата Гольджи, уровень которого повышается в сыворотке при заболеваниях печени, в частности ГЦК [28]. В здоровой печени GP73 экспрессируется только в эпителиальных клетках желчных протоков, и практически не обнаруживается в гепатоцитах [29]. Было показано, что у пациентов с ГЦК и инфицированных ВГВ уровень GP73 в сыворотке крови был значительно выше, по сравнению с пациентами-носителями ВГВ без цирроза или здоровыми индивидуумами. Чувствительность определения составляет 76,9% для GP73, тогда как для АФП — только 48,6% [30].

Идентификация фукозилированного GP73 (присутствие остатка углевода фукозы в молекуле GH73; FC-GP73) при ГЦК позволила увеличить чувствительность и специфичность выявления ГЦК до 90–100%, но, однако, при низкой концентрации общего GP73, определение FC-GP73 происходит с большой погрешностью, что затрудняет однозначную интерпретацию результатов [31]. Роль GP73 в развитии ГЦК до конца не выяснена, а также инструментальные ограничения в определении FC-GP73 оставляют нерешенным вопрос введения маркера GP73 в клиническую практику.

Белки теплового шока (БТШ). БТШ — это высококонсервативные белки стрессового ответа. Они защищают клетки и активируют репарацию повреждений, вызванных различными стимулами или стресс-факторами. БТШ экспрессируются при физиологических условиях и в условиях стресса, включая канцерогенез. БТШ70 и БТШ27 были обнаружены в ткани ГЦК [32]. БТШ70 предлагается использовать как индикатор прогноза ГЦК. Повышение уровня его экспрессии наблюдалось в 282 из 392 случаев ГЦК (71,9%) и только в 14 из 115 случаев БТШ70 экспрессировался в нетрансформированной ткани печени [33]. Чувствительность и специфичность определения БТШ70 составляла 57,5 и 85%, соответственно [34]. Экспрессия БТШ27 связана с ГЦК только в случае инфекции ВГВ [35]. Таким образом, БТШ27 и БТШ70 могут рассматриваться как потенциальные маркеры для диагностики ГЦК.

α-Фукозидаза (АФУ). АФУ — лизосомальный фермент, обнаруженный во всех животных клетках, который осуществляет расщепление глюкоконьюгатов, содержащих углевод фукозу. Активность АФУ сыворотки повышена у пациентов с ГЦК по сравнению со здоровыми индивидуумами или пациентами с хроническими заболеваниями печени. Чувствительность и специфичность определения составляют 81,7% и 70,7%, соответственно. Комбинированное использование АФУ с АФП применяется для раннего выявления ГЦК [36]. Активность АФУ также повышена при сахарном диабете, панкреатите и гипотироидизме, а также варьирует в зависимости от этнической принадлежности пациента.

Поэтому клиническая значимость этого фермента требует дальнейших исследований.

Цитокины. Трансформирующий фактор роста-β1 (TGF-β1) участвует в регуляции клеточной пролиферации, дифференциации, эмбриогенезе, ангиогенезе и функционировании иммунной системы. Высокий уровень экспрессии TGF-β1 обнаружен в клетках ГЦК, а также в сыворотке у пациентов с ГЦК [37]. TGF-β1 и мРНК могут использоваться как чувствительные индикаторы диагностики ГКЦ, которая индуцируется ВГВ с чувствительностью и специфичностью 89,5 и 94%, соответственно, когда концентрация TGF-β1 более 1,2 μг/л [38].

Циркулирующие внеклеточные ДНК крови (цирДНК). В последние десятилетия активно изучаются ДНК, циркулирующие в крови, концентрация и состав которых значительно изменяются при развитии онкологических заболеваний. ЦирДНК могут быть перспективными высокочувствительными молекулярными маркерами для ранней диагностики злокачественных новообразований [39, 40]. В организме существует два основных источника цирДНК: 1) фрагментированная ДНК, которая высвобождается в кровоток при гибели клеток вследствие апоптоза или некроза; и 2) секретированная ДНК из метаболически активных клеток. В цирДНК опухолевого происхождения наблюдаются такие специфические изменения молекулярной структуры как мутации, метилирование и микросателлитные аберрации, изменения длин теломерных фрагментов, которые и отличают их цирДНК из нормальных клеток, что может быть надежным диагностическим инструментом для выявления опухоли в организме [41]. Например, уровень цирДНК связан с прогрессированием ГЦК и выживаемостью пациентов с ВГВ. Было показано, что аллельный дисбаланс двух микросателлитных маркеров (D8S258 и D8S264) на коротком плече хромосомы 8 является прогностическим маркером выживаемости пациентов с ГЦК [42].

Другим прогностическим критерием риска развития ГЦК является относительная длина теломер (ОДТ) цирДНК. Анализ ОДТ сывороточной цирДНК у 140 пациентов с ВГВ и ГЦК и 280 пациентов с ВГВ, но без ГЦК показал, что большая длина ОДТ связана с повышенным риском развития ГЦК [43]. Однако, необходимы дополнительные исследования (например, установление референсных значений для ОДТ) для внедрения этого метода в клинико-лабораторную практику.

МикроРНК. МикроРНК — короткие (примерно 18–25 пар нуклеотидов) некодирующие двухцепочные молекулы РНК, которые регулируют экспрессию генов за счет изменения активности трансляции мРНК, а также путем активации деградации мРНК или ремоделирования хроматина [44, 45, 46]. МикроРНК играют решающую роль в канцерогенезе, поскольку, контролируя экспрессию генов, они выполняют роль онкогенов или опухолевых супрессоров. Ключевая роль многих микроРНК состоит в контроле клеточной пролиферации и апоптоза, что напрямую связано с их участием в канцерогенезе [47]. Идентифицированы микроРНК, которые участвуют в развитии и прогрессии ГЦК. Хорошо изучена роль микроРНК-122 в поддержании нормального фенотипа печени, но появление полиморфизмов по типу инсерции или делеции на участке связывания микроРНК-122 с нетранслируемым участком гена интерлейкина 1α приводит в увеличению риска развития ГЦК [48]. Анализ профиля экспрессии молекул микроРНК выборки образцов опухолей ГЦК показал, что в этих образцах уровень экспрессии микроРНК-21 был существенно повышен [49]. Соответствующее повышение уровня экспрессии этой же молекулы микроРНК-21 было обнаружено и в сыворотке крови пациентов с ГЦК, который был достоверно выше, чем у пациентов с хроническим гепатитом или здоровых индивидуумов. ROC-анализ выявил, что чувствительность и специфичность определения микроРНК-21 составляет 87,3 и 92%, соответственно, что отличает пациентов с ГЦК от здоровых индивидуумов по уровню экспрессии микроРНК-21. Следовательно, микроРНК-21 может рассматриваться как маркер ГЦК [50].

Сообщается о микроРНК-132 (является опухолевым супрессором), уровень экспрессии которой снижается при развитии ГЦК у пациентов, инфицированных ВГВ. Онкопротеин HBx, кодируемый ВГВ, вызывает гиперметилирование промотора микроРНК-132. Это приводит к снижению уровня экспрессии микроРНК-132 и, как следствие, вызывает активацию фосфатидилинозитол-3-киназа/протеинкиназа B-зависимого сигнального пути, который стимулирует развитее ГЦК. Таким образом, микроРНК-132 может рассматриваться в качестве селективного маркера ГЦК в группе пациентов-носителей ВГВ [51].

Эпигенетические изменения. Эпигенетические изменения являются наследственными изменениями в характере экспрессии генов или фенотипа клетки при участии механизмов, не затрагивающих последовательности геномной ДНК. Эпигенетические изменения модифицируют транскрипцию через потенциально обратимые механизмы: метилирование ДНК, ковалентная модификация гистонов и ремоделирование нуклеосомы. Доказано, что эпигенетические изменения играют решающую роль в развитии и прогрессировании онкологических заболеваний [52]. Полногеномное гипометилирование является частым явлением при раке, в частности при ГЦК, приводящее к нестабильности генома и ассоциировано с более низкой степенью дифференциации и большими размерами опухоли [53]. Кроме того, гипометилирование промоторов приводит к реактивации онкогенов (c-myc или

RAS) в ГЦК [54]. Используя метод логистической регрессии было показано, что гипометилирование LINE-1 (длинные диспергированные повторы в молекуле ДНК) из ДНК лейкоцитов 305 пациентов увеличивает риск развития ГЦК [55].

Алкогольдегидрогеназа (АДГ) и ацетальдегиддегидрогеназа (АльДГ). Нами предприняты усилия по поиску новых молекулярных маркеров для раннего выявления ГЦК у пациентов с хроническими вирусными гепатитами. Одной из ключевых ферментных систем в печени является система АДГ–АльДГ, которые играют важную роль в метаболизме многих физиологически активных веществ, катализируют реакции окисления или восстановления, обладая широкой субстратной специфичностью (рисунок). АДГ и АльДГ защищают организм от избытка токсичных соединений: спиртов, альдегидов, продуктов перекисного окисления липидов, канцерогенов и некоторых экзогенных ксенобиотиков. С другой стороны, в определенных процессах АДГ может продуцировать и повреждающие соединения [56, 57].

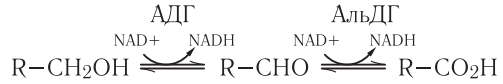

Рисунок. АДГ и АльДГ катализируют окислительно-восстановительные реакции обмена эндо- и экзогенных соединений. Приведен пример окисления спиртов и альдегидов.

В связи с тем, что система АДГ — АльДГ участвует в метаболизме эндо- и экзогенных, в том числе токсичных, соединений, то нарушение ее функционирования в результате инфицирования печени вирусом гепатита, предположительно, может являться показателем злокачественной трансформации клеток печени.

В группе здоровых индивидуумов (коренных и европеоидов), активности АДГ были ниже в 5,3 и 5,7 раза, соответственно, т.е. на фоне хронического ВГВ и развития цирроза происходила активация АДГ. Ранее было показано, что на фоне хронической ВГВ инфекции и фиброза печени увеличивается активность перекисного окисления липидов сыворотки [58]. Таким образом, у пациентов с ВГВ в стадии цирроза компенсаторно повышается активность АДГ для утилизации токсичных продуктов перекисного окисления липидов.

Как видно из данных таблицы 2, у коренных жителей с хроническим ВГВ в стадии цирроза, активность АльДГ составляла 0,85±0,03 мкмоль/л×мин, а у европеоидов с аналогичным диагнозом активность АльДГ была 1,05±0,19 мкмоль/л×мин, тогда как в группах здоровых индивидуумов эти показатели были значительно выше, т.е. в 18,8 и 17 раз, соответственно. Как следует из данных таблицы 2, соотношение активностей АльДГ к АДГ в группах пациентов с хроническим ВГВ в стадии цирроза свидетельствует о повышении концентрации в организме токсичных альдегидов, которые, с одной стороны, подвергая ковалентной модификации белки организма, могут свидетельствовать о развитии аутоиммунных воспалительных процессов в печени, а с другой — обладают генотоксическим действием [59], и их избыточное накопление ассоциируется с повышенным риском злокачественного перерождения клеток печени [60]. В работе W.Jelski с соавторами было показано, что активность АДГ в сыворотке на 44% выше у пациентов без хронического вирусного гепатита с ГЦК по сравнению со здоровыми индивидуумами, в то время как активность АльДГ сыворотки практически не отличалась в вышеупомянутых группах обследуемых [61]. В связи

Таблица 2

Активность АДГ и АльДГ в сыворотке крови пациентов с хроническим ВГВ в стадии цирроза и в группе контроля

Группа		Показатели		
		АДГ, мкмоль/л×мин	АльДГ, мкмоль/л×мин	АльДГ/АДГ
ХГВ-ЦП	Коренные, n=35	1,12±0,04	0,85±0,03	0,76
	Европеоиды, n=30	1,14±0,21	1,05±0,19	0,92
Контроль (здоровые лица)	Коренные, n=25	0,21±0,01	16,0±1,5	76,2
	Европеоиды, n=42	0,20±0,07	17,9±2,5	89,5

Нами были измерены активности ферментов АДГ и АльДГ в сыворотке крови пациентов (коренных жителей — якутов — и проживающих на территории Якутии европеоидов) с хроническим ВГВ в стадии цирроза, у которых впоследствии была диагностирована ГЦК (неопубликованные данные). Активности АДГ у пациентов с хроническим ВГВ в стадии цирроза из группы коренных жителей Республики Якутия и группы европеоидов были сопоставимы — 1,12±0,04 мкмоль/л×мин и 1,14±0,21 мкмоль/л×мин, соответственно (табл. 2). с этим, для изучения динамики изменений активностей АДГ и АльДГ, представляется интересным провести сравнительное исследование активностей АДГ и АльДГ как минимум в четырех группах обследуемых: с хроническим вирусным гепатитом без признаков цирроза, с хроническим вирусным гепатитом в стадии цирроза, с хроническим вирусным гепатитом и ГЦК, и здоровых индивидуумов.

Полученные данные будут необходимы для установления роли системы АДГ–АльДГ в патогенезе ГЦК и ва-

лидации теста «АДГ–АльДГ» для использования в качестве молекулярного маркера ранней диагностики ГЦК.

Заключение. Учитывая высокую информативную значимость маркеров для раннего выявления гепатоцеллюлярной карциномы, требуется проведение дальнейших исследований в этой области. Перспективными в этом плане следует считать поиски, направленные на выявление опухолеспецифических нуклеиновых кислот, циркулирующих в крови, которые могут быть обнаружены современными высокочувствительными методами молекулярной биологии. Существенным ограничением данного подхода является относительно высокая стоимость молекулярно-биологических методов. В связи с этим, ведутся исследования по внедрению более дешевых энзимологических методов, в частности, активности АДГ–АльДГ как диагностического маркера гепатоцеллюлярной карциномы. На данном этапе проводится валидация этой методики и формирование референсных интервалов для различных групп обследуемых индивидуумов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Bosch F.X., Ribes J., Cleries R., Diaz M.* Epidemiology of hepatocellular carcinoma // Clin. Liver. Dis.— 2005.— Vol. 9.— P. 191–211.
2. *Jemal A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., Forman D.* Global cancer statistics, CA Cancer // J. Clin.— 2011.— Vol.61.— P. 69–90.
3. *Cole P., Morrison A.S.* Basic issues in population screening for cancer // J. Natl. Cancer. Inst.— 1980.— Vol. 64.— P. 1263–1272.
4. *Marrero J.A., Hussain H.K., Nghiem H.V., Umar R., Fontana R.J., Lok A.S.* Improving the prediction of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with an arterially-enhancing liver mass // Liver Transpl.— 2005.— Vol. 11.— P. 281–289.
5. *Llovet J.M., Burroughs A., Bruix J.* Hepatocellular carcinoma // Lancet.— 2003.— Vol. 362.— P. 1907–1917.
6. *Flores A., Marrero J.A.* Emerging trends in hepatocellular carcinoma: focus on diagnosis and therapeutics // Clin. Med. Insights. Oncol.— 2014.— May.— Vol. 19 (8).— P. 71–76.
7. *Parmelee D.C., Evenson M.A., Deutsch H.F.* The presence of fatty acids in human alpha-fetoprotein // J. Biol. Chem.— 1978.— Vol. 253.— P. 2114–2119.
8. *Iturralde M., Alava M.A., Gonzalez B., Anel A., Pineiro A.* Effect of AFP and albumin on the uptake of polyunsaturated fatty acids byrat hepatoma cells and fetal rat hepatocytes // Biochim Biophys Acta.— 1991.— Vol. 1086.— P. 81–88.
9. *Шмагель К.В., Черешнев В.А.* Альфа-фетопротеин: строение, функции и роль в эмбриогенезе // Акушерство и гинекология.— 2002.— № 5.— С. 6–8.
10. *Johnson P.J.* Tumor markers in primary malignancies of the liver. In: Diamandis E.P., Fritsch H.A, Lilja H., Chan D.W., Schwartz M.K., editors // Tumor Markers – Physiology, pathobiology, technology and clinical applications.— Washington: AACC Press, 2002.— Chapter 22.— P. 269–279.
11. *Абелев Г.И., Перова С.Д., Храмкова Н.И., Постникова З.А., Ирлин И.С.* Эмбриональный сывороточный а-глобулин и его синтез перевиваемыми гепатомами мышей // Биохимия.— 1963.— Vol. 28.— № 4.— С. 625–634.
12. *Abelev G.I., Perova S.D., Khramkova N.I., Postnikova Z.A., Irlin I.S.* Production of embryonic alpha-globulin by the transplantable mouse hepatomas // Transplantation.— 1963.— Vol. 1.— P. 174–180.
13. *Tatarinov Yu.S.* Detection of embryospecific alpha-globulin in serum of patients with primary liver cancer // In I-st All-Union Biochem Cong Abstr Book.— Moscow-Leningrad, 1963.— Vol. 2.— P. 274.
14. *Volk M.L., Hernandez J.C., Su G.L., Lok A.S., Marrero J.A.* Risk factors for hepatocellular carcinoma may impair the performance of biomarkers: a comparison of AFP, DCP, and AFP-L3 // Cancer Biomark.— 2007.— Vol. 3 (1).— P. 79–87.
15. *Daniele B., Bencivenga A., Megna A.S., Tinessa V.* Alpha-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma // Gastroenterology.— 2004.— Nov.— Vol. 127.— 5 Suppl 1.— S. 108–112.
16. *Gomaa A.I, Khan S.A., Leen E.L., Waked I., Taylor-Robinson S.D.* Diagnosis of hepatocellular carcinoma // World J. Gastroenterol.— 2009.— 21 Mar.— Vol. 15 (11).— P. 1301–1314.
17. *Singhal A., Jayaraman M., Dhanasekaran D.N., Kohli V.* Molecular and serum markers in hepatocellular carcinoma: predictive tools for prognosis and recurrence // Crit Rev Oncol Hematol.— 2012.— Vol. 82.— P. 116–140.
18. *Naraki T., Kohno N., Saito H., Fujimoto Y., Ohhira M., Morita T., Kohgo Y.* Gamma-carboxyglutamic acid content of hepatocellular carcinoma-associated des-gamma-carboxy prothrombin // Biochim. Biophys. Acta.— 2002.— Vol. 1586.— P. 287–298.
19. *Baek Y.H., Lee J.H., Jang J.S., Lee S.W., Han J.Y., Jeong J.S., Choi J.C., Kim H.Y., Han S.Y.* Diagnostic role and correlation with staging systems of PIVKA-II compared with AFP // Hepatogastroenterology.— 2009.— Vol. 56.— P. 763–767.
20. *Yamamoto K., Imamura H., Matsuyama Y., Hasegawa K., Beck Y., Sugawara Y., Makuuchi M., Kokudo N.* Significance of alpha-fetopmtein and des-gamma-carbroxy prothrombin in patients with hepatocellular carcinoma undergoing hepatectomy // Ann Surg. Oncol.— 2009.— Vol. 16.— P. 2795–2804.
21. *Yamamoto K., Imamura H., Matsuyama Y., Kume Y., Ikeda H., Norman G.L., Shums Z., Aoki T., Hasegawa K., Beck Y., Sugawara Y., Kokudo N.* AFP, AFP-L3, DCP, and GP73 as markers for monitoring treatment response and recurrence and as surrogate markers of clinicopathological variables of HCC // J Gastroenterol.— 2010.— Vol. 45.— P. 1272–1282.

22. *Filmus J., Capurro M. and Rast J.* Glypicans // Genome Biol.— 2008.— Vol. 9.— P. 224.
23. *Shirakawa H., Kuronuma T., Nishimura Y., Hasebe T., Nakano M., Gotohda N., Takahashi S., Nakagohri T., Konishi M., Kobayashi N., Kinoshita T., Nakatsura T.* Glypican-3 is a useful diagnostic marker for a component of hepatocellular carcinoma in human liver cancer // Int. J. Oncol.— 2009.— Vol. 34.— P. 649–656.
24. *Guido M., Roskams T., Pontisso P., Fassan M., Thung S.N., Giacomelli L., Sergio A., Farinati F., Cillo U., Rugge M.* Squamous cell carcinoma antigen in human liver carcinogenesis // J. Clin. Pathol.— 2008.— Vol. 61.— P. 445–447.
25. *Giannelli G., Marinosci F., Sgarra C., Lupo L., Dentico P., Antonaci S.* Clinical role of tissue and serum levels of SCCA antigen in hepatocellular carcinoma // Int. J. Cancer.— 2005.— Vol. 116.— P. 579–583.
26. *Beneduce L., Castaldi F., Marino M., Quarta S., Ruvoletto M., Benvegnu L., Calabrese F., Gatta A., Pontisso P., Fassina G.* Squamous cell carcinoma antigen-immunoglobulin M complexes as novel biomarkers for hepatocellular carcinoma // Cancer.— 2005.— Vol. 103.— P. 2558–2565.
27. *Pontisso P., Quarta S., Caberlotto C., Beneduce L., Marino M., Bernardinello E., Tono N., Fassina G., Cavalletto L., Gatta A., Chemello L.* Progressive increase of SCCA-IgM immune complexes in cirrhotic patients is associated with development of hepatocellular carcinoma // Int. J. Cancer.— 2006.— Vol. 119.— P. 735–740.
28. *Shi Y., Chen J., Li L., Sun Z., Zen L., Xu S., Zhang Y., Zhang L.* A study of diagnostic value of golgi protein GP73 and its genetic assay in primary hepatic carcinoma // Technol. Cancer. Res. Treat.— 2011.— Vol. 10.— P. 287–294.
29. *Riener M.O., Stenner F., Liewen H., Soll C., Breitenstein S., Pestalozzi BC, Samaras P, Probst-Hensch N., Hellerbrand C., Müllhaupt B., Clavien P.A., Bahra M., Neuhaus P., Wild P., Fritzsche F., Moch H., Jochum W., Kristiansen G.* Golgi phosphoprotein 2 (GOLPH2) expression in liver tumors and its value as a serum marker in hepatocellular carcinomas // Hepatology.— 2009.— P. 49.— P. 1602–1609.
30. *Zhou Y., Yin X., Ying J., Zhang B.* Golgi protein 73 versus alpha-fetoprotein as a biomarker for hepatocellular carcinoma: a diagnostic meta-analysis // B-C Cancer.— 2012.— Vol. 12.— P. 17.
31. *Drake R.R., Schwegler E.E., Malik G., Diaz J., Block T., Mehta A., Semmes O.J.* Lectin capture strategies combined with mass spectrometry for the discovery of serum glycoprotein biomarkers // Mol. Cell. Proteomics.— 2006.— Vol. 5.— P. 1957–1967.
32. *Joo M., Chi J.G., Lee H.* Expressions of HSP70 and HSP27 in hepatocellular carcinoma // J. Korean. Med. Sci.— 2005.— Vol. 20.— P. 829–834.
33. *Shin E., Ryu H.S., Kim S.H., Jung H., Jang J.J., Lee K.* The clinico-pathological significance of heat shock protein 70 and glutamine synthetase expression in hepatocellular carcinoma // J. Hepatobiliary. Pancreat. Sci.— 2011.— Vol. 18.— P. 544–550.
34. *Tremosini S., Forner A., Boix L., Vilana R., Bianchi L., Reig M., Rimola J, Rodriguez-Lope C., Ayuso C., Sole M., Bruix J.* Prospective validation of an immunohistochemical panel (glypican 3, heat shock protein 70 and glutamine synthetase) in liver biopsies for diagnosis of very early hepatocellular carcinoma // Gut.— 2012.— Vol. 61.— P. 1481–1487.
35. *Luk J.M., Lam C.T., Siu A.F., Lam B.Y., Ng I.O., Hu M.Y., Che C.M., Fan S.T.* Proteomic profiling of hepatocellular carcinoma in Chinese cohort reveals heat-shock proteins (Hsp27, Hsp70, GRP78) up-regulation and their associated prognostic values // Proteomics.— 2006.— Vol. 6.— P. 1049–1057.
36. *Giardina M.G., Matarazzo M., Varriale A., Morante R., Napoli A., Martino R.* Serum alpha-L-fucosidase. A useful marker in the diagnosis of hepatocellular carcinoma // Cancer.— 1992.— Vol. 70.— P. 1044–1104.
37. *Lee D., Chung Y.H., Kim J.A., Lee Y.S., Lee D., Jang M.K., Kim K.M., Lim Y.S., Lee H.C., Lee Y.S.* Transforming growth factor beta 1 overexpression is closely related to invasiveness of hepatocellular carcinoma // Oncology.— 2012.— Vol. 82.— P. 11–18.
38. *Dong Z.Z., Yao D.F., Yao M., Qiu L.W., Zong L., Wu W., Wu X.H, Yao D.B., Meng X.Y.* Clinical impact of plasma TGF-beta1 and circulating TGF-beta1 mRNA in diagnosis of hepatocellular carcinoma // Hepatobiliary. Pancreat. Dis. Int.— 2008.— Vol. 7.— P. 288–295.
39. *Laktionov P.P., Tamkovich S.N., Rykova E.Y., Bryzgunova O.E., Starikov A.V., Kuznetsova N.P., Sumarokov S.V., Kolomiets S.A., Sevostianova N.V., Vlassov V.V.* Extracellular circulating nucleic acids in human plasma in health and disease // Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.— 2004.— Oct.— Vol. 23 (6–7).— P. 879–83.— URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15560076.
40. *Vlassov V.V., Laktionov P.P., Rykova E.Y.* Circulating nucleic acids as a potential source for cancer biomarkers // Curr. Mol. Med.— 2010.— Mar.— Vol. 10 (2).— P. 142–165.
41. *Mittra I., Nair N.K., Mishra P.K.* Nucleic acids in circulation: are they harmful to the host? // J. Biosci.— 2012.— Vol. 37.— P. 301–312.
42. *Ren N., Qin L.X., Tu H., Liu Y.K., Zhang B.H., Tang Z.Y.* The prognostic value of circulating plasma DNA level and its allelic imbalance on chromosome 8p in patients with hepatocellular carcinoma // J. Cancer. Res. Clin. Oncol.— 2006.— Vol. 132.— P. 399–407.
43. *Fu X., Wan S., Hann H.W., Myers R.E, Hann R.S, Au J., Chen B., Xing J., Yang H.* Relative telomere length: a novel non-invasive biomarker for the risk of non-cirrhotic hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B infection // Eur. J. Cancer.— 2012.— Vol. 48.— P. 1014–1022.
44. *Scaggiante B., Dapas B., Farra R., Grassi M., Pozzato G., Giansante C., Fiotti N., Grassi G.* Improving siRNA bio-distribution and minimizing side effects // Curr. Drug. Metab.—2011— Vol. 12.— P. 11–23.
45. *Grassi G., Scaggiante B., Dapas B., Farra R., Tonon F., Lamberti G., Barba A., Fiorentino S., Fiotti N, Zanconati F., Abrami M., Grassi M.* Therapeutic potential of nucleic acid-based drugs in coronary hyper-proliferative vascular diseases // Curr Med Chem.— 2013.— Vol. 20.— P. 3515–3538.

46. *Fabian M.R., Sonenberg N.* The mechanics of miRNAmediated gene silencing: a look under the hood of miRISC // Nat. Struct. Mol. Biol.— 2012.— Vol. 19.— P. 586–593.
47. *Wiemer E.A.* The role of microRNAs in cancer: no small matter // Eur J Cancer.— 2007.— Vol. 43.— P. 1529–1544.
48. *Gao Y., He Y., Ding J., Wu K., Hu B., Liu Y., Wu Y., Guo B., Shen Y., Landi D., Landi S, Zhou Y, Liu H.* An insertion/deletion polymorphism at miRNA-122-binding site in the interleukin-1alpha 3' untranslated region confers risk for hepatocellular carcinoma // Carcinogenesis.— 2009.— Vol. 30.— P. 2064–2069.
49. *Volinia S., Calin G.A., Liu C.G., Ambs S., Cimmino A., Petrocca F., Visone R., Iorio M., Roldo C., Ferracin M, Prueitt R.L., Yanaihara N., Lanza G., Scarpa A., Vecchione A., Negrini M, Harris C.C., Croce C.M.* A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets // Proc. Natl. Acad. Sci.—2006.— USA.— Vol. 103.— P. 2257–2261.
50. *Tomimaru Y., Eguchi H., Nagano H., Wada H., Kobayashi S., Marubashi S., Tanemura M., Tomokuni A., Takemasa I., Umeshita K., Kanto T., Doki Y., Mori M.* Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma // J. Hepatol.— 2012.— Vol. 56.— P. 167–175.
51. *Wei X., Xiang T., Ren G, Tan C., Liu R., Xu X., Wu Z.* miR-101 is down-regulated by the hepatitis B virus x protein and induces aberrant DNA methylation by targeting DNA methyltransferase 3A // Cell. Signal.— 2013.— Vol. 25.— P. 439–446.
52. *Ballestar E., Esteller M.* Epigenetic gene regulation in cancer // Adv. Genet.— 2008.— Vol. 61.— P. 247–267.
53. *Calvisi D.F., Ladu S., Gorden A., Farina M., Lee J.S., Conner E.A., Schroeder I., Factor V.M., Thorgeirsson S.S.* Mechanistic and prognostic significance of aberrant methylation in the molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma // J. Clin. Invest.— 2007.— Sep.— Vol. 117 (9).— P. 2713–2722.
54. *Nishigaki M., Aoyagi K., Danjoh I., Fukaya M., Yanagihara K., Sakamoto .H, Yoshida T., Sasaki H.* Discovery of aberrant expression of R-RAS by cancer-linked DNA hypomethylation in gastric cancer using microarrays // Cancer Res.— 2005.— 15 Mar.— Vol. 65 (6).— P. 2115–2124.
55. *Wu H.C., Wang Q., Yang H.I., Tsai W., Chen C.J., Santella R.M.* Global dna methylation levels in white blood cells as a biomarker for hepatocellular carcinoma risk: a nested case–control study // Carcinogenesis.— 2012.— Vol. 33 (7).— P. 1340–1345.
56. *Höög J.O., Hedberg J.J., Stro..mberg P., Svensson S.* http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11173978 Mammalian alcohol dehydrogenase - functional and structural implications // J. Biomed. Sci.— 2001.— Jan-Feb.— Vol. 8 (1).— P. 71–76.
57. *Vasiliou V., Pappa A., Estey T.* Role of human aldehyde dehydrogenases in endobiotic and xenobiotic metabolism // Drug Met Rev.—1994.— Vol. 36.— P. 279–299.
58. *Duygu F., Karsen H., Aksoy N., Taskin A.* Relationship of oxidative stress in hepatitis B infection activity with HBV DNA and fibrosis // Ann Lab Med.— 2012.— Mar.— Vol. 32(2).— P. 113–118.
59. *Seitz H.K., Stickel F.* Acetaldehyde as an underestimated risk factor for cancer development: role of genetics in ethanol metabolism // Genes. Nutr.— 2010.— Jun.— Vol. 5 (2).— P. 121–128.
60. *Wang M., McIntee E.J., Cheng G., Shi Y., Villalta P.W., Hecht S.S.* Identification of DNA adducts of acetaldehyde // Chem. Res. Toxicol.— 2000.— Nov.— Vol. 13 (11).— P. 1149–1157.
61. *Jelski W., Zalewski B., Szmitkowski M.* Alcohol dehydrogenase (ADH) isoenzymes and aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity in the sera of patients with liver cancer // J. Clin. Lab. Anal.— 2008.— Vol. 22 (3).— P. 204–209.

Статья поступила: *11.08.2014 г.*

Контактная информация: *Шаройко Владимир Владимирович, e-mail: sharoyko@gmail.com*

Коллектив авторов:

Сергеев Михаил Николаевич — к.м.н., терапевт высшей квалификационной категории, главный врач СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 74», г. Кронштадт, ул. Комсомола, 2; e-mail: 4353112@mail.ru;

Шевалдин Анатолий Геннадьевич — к.м.н., врач-инфекционист СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 74», г. Кронштадт, ул. Комсомола, 2, (812) 311-61-22;

Рахманова Аза Гасановна — д.м.н., профессор, главный инфекционист Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга, заместитель руководителя СПб Центра СПИД, профессор кафедры социально-значимых инфекций Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П.Павлова, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8, e-mail: aza.rakhmanova@gmail.com;

Слепцова Снежана Спиридоновна — д.м.н., доцент, зав. курсом инфекционных болезней кафедры инфекционных болезней, фтизиатрии и дерматовенерологии Медицинского института Северо-Восточного федерального университета, г. Якутск, ул. Ойунского, 27, e-mail: sssleptsova@yandex.ru;

Ляшенко Евгений Александрович — врач-эндокринолог, соискатель кафедры факультетской терапии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П.Павлова, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8, e-mail: evgeny.lyashenko@gmail.com;

Шаройко Владимир Владимирович – д.б.н., доктор медицины Каролинского института (Швеция), научный сотрудник лаборатории биомедицинской химии Института химии Санкт-Петербургского государственного университета, Петродворец, Университетский проспект, 26, каб. 4208, +7 950 014-20-90, e-mail: sharoyko@gmail.com.