

На правах рукописи

Малов Сергей Игоревич

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ  
ЗНАЧЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ ПРИ ГЕПАТИТЕ С  
И АССОЦИИРОВАННЫХ С НИМ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

3.1.22 – Инфекционные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный консультант:**

Академик РАН,  
доктор медицинских наук, профессор

**Ющук Николай Дмитриевич**

**Официальные оппоненты:**

**Жданов Константин Валерьевич** – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, начальник кафедры инфекционных болезней ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

**Никитин Игорь Геннадьевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии им. академика Сторожакова Г.И. лечебного факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Фазылов Вильдан Хайруллаевич** – доктор медицинских наук, профессор кафедры инфекционных болезней Казанской государственной медицинской академии – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Ведущая организация**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 г. в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 64.1.010.01 в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и на сайте [www.crie.ru](http://www.crie.ru).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук

**Николаева Светлана Викторовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Успехи в лечении гепатита С (ГС) препаратами прямого противовирусного действия (ПППД) позволили Всемирной организации здравоохранения сформулировать концепцию элиминации этого заболевания к 2030 г. [Global Health Sector Strategy on Viral Hepatitis 2016–2021]. По экспертным оценкам, обеспечение нуждающихся в лечении пациентов ПППД в Европе и Северной Америке позволило снизить общее количество больных со 150 до 71 млн человек [Global hepatitis report 2017]. Однако в странах Азиатско-Тихоокеанского региона ситуация улучшилась незначительно. Не является исключением и территория Северо-Восточной Азии, включая регионы Азиатской части России и Монголии. Предполагается, что в развивающихся странах с ограниченными финансовыми ресурсами показатели заболеваемости ГС в обозримом будущем останутся на высоком уровне [Blach S. et al., 2017; Чуланов В. П. и др., 2021]. Соответственно, через 15–30 лет в этих странах следует ожидать роста числа случаев заболеваний, ассоциированных с вирусом гепатита С (HCV, hepatitis C virus) [Roudot-Thoraval F., 2021]. В настоящее время стало очевидным, что элиминация вирусных гепатитов в большинстве стран мира, включая Российскую Федерацию (РФ), отодвигается на неопределенный срок [Razavi H. et al., 2020; Эсауленко Е. В. и др., 2021]. В РФ существенными препятствиями в достижении целевых показателей к 2030 г. являются низкий охват нуждающихся в терапии, рост кумулятивных случаев хронического гепатита С (ХГС), преобладание вновь выявленных случаев над количеством пролеченных больных [Юшук Н. Д. и др., 2020; Чуланов В. П. и др., 2021; Эсауленко Е. В. и др., 2021].

Несмотря на существенные достижения в создании эффективных противовирусных лекарственных средств, HCV остается одной из ведущих причин цирроза печени (ЦП) и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) [Чуланов В. П. и др., 2021; Cuesta-Sancho S. et al., 2022]. По данным многолетних наблюдений за больными ХГС, после достижения устойчивого вирусологического ответа (УВО) у 10–27 % сохраняются или даже нарастают фибротические изменения в печени [Negro F., 2020; Fahmy D. M. et al., 2021; Rockey D. C. et al., 2021]. У больных с субкомпенсированным и декомпенсированным ЦП после успешной элиминации вируса улучшение печеночной функции происходит только в 1/3 случаев [Tag-Adeen M. et al., 2017; Verna E. et al., 2020].

Другим неблагоприятным исходом ХГС является ГЦК. Ежегодно в мире регистрируется около 700 тысяч заболеваний ГЦК, из которых 40 % ассоциированы с HCV [Малинина Н. А. и др., 2019; Kanda T. et al., 2019; Llovet J. M. et al., 2021]. По распространенности среди онкологических заболеваний рак печени занимает 5-е место [Vertuccio P. et al., 2017; Llovet J. M. et al., 2021], а среди причин смертности онкологических больных в последние

годы ГЦК переместилась с 3-го на 2-е место [Duarte-Salles T. et al., 2016; Russo F. P. et al., 2022]. Патогенез ГЦК, ассоциированной с HCV, предполагает в качестве первого этапа развитие ЦП, на фоне которого риски возникновения рака печени многократно увеличиваются [Russo F. P. et al., 2022]. Так, даже после элиминации вируса в результате противовирусной терапии у больных сохраняется риск возникновения ГЦК, который при ЦП класса А по шкале Чайлда – Пью составляет 2,1 % в год, при ЦП класса В – 7,8 % в год [Calvaruso V. et al., 2018]. В РФ более половины больных раком печени выявляются на IV стадии болезни, поэтому в течение года с момента установления диагноза умирают 70–80 % [Бредер В. В. и др., 2016]. В то же время в случае ранней диагностики и проведения локальной деструкции опухоли 5-летняя выживаемость достигает 70 % [Tsuchiya N. et al., 2015; Tani J. et al., 2020].

Как известно, существуют гендерные различия в клинических проявлениях ГС и ГЦК. У мужчин ГЦК встречается в среднем в 3 раза чаще, чем у женщин [Ette A. I. et al., 2017; Llovet J. M. et al., 2021; Russo F. P. et al., 2022]. При анализе половых особенностей ГС и его исходов необходимо учитывать, что у мужчин гены, расположенные на X-хромосоме, наиболее подвержены влиянию однонуклеотидных полиморфизмов (SNP, single-nucleotide polymorphism) на функции противовирусного иммунитета и онкологического контроля по причине отсутствия второго аллеля. Кроме этого, существуют значительные отличия в распространенности ГЦК у представителей различных рас [Thylur R. P. et al., 2020]. Монголоиды болеют в 2 раза чаще, чем негроиды, а латиноамериканцы – в 2 раза чаще, чем белые американцы [Chávez-López M. G. et al., 2016; De Re V. et al., 2019]. В этнической группе якутов и монголов такие генетические исследования до настоящего времени не проводились.

Как правило, влияние генетических факторов реализуется через функциональные и структурные гены, кодирующие реакции врожденного и приобретенного иммунитетов, воспаления, регенерации, канцерогенеза [Castellote J. et al., 2019; Koike K. et al., 2021]. В этом направлении в последнее время активно изучается роль SNP, кодирующих синтез цитокинов, интерферонов и адаптерных молекул врожденного иммунитета [Maglione P. J. et al., 2015; Al-Anazi M. R. et al., 2017; Fang M. Z. et al., 2020]. Ярким проявлением значения генетических факторов при HCV является различная частота спонтанной элиминации вируса у представителей различных этнических групп [Thomas D. L. et al., 2009; Maor Y. et al. 2013; Малов И. В. и др., 2017; Jordovic J. et al., 2019]. Однако молекулярно-генетические механизмы, определяющие этнические особенности течения и исходы ГС, до настоящего времени не выяснены.

Патологические состояния, ассоциированные с ГС, имеют все черты мультифакториальных заболеваний [Власенко Н. В. и др., 2021]. Исследование внешних факторов риска неблагоприятного течения ГС и поиск прогностических генетических маркеров должны стать основой для персонализированного

ведения больных, разработки методов превентивной медицины, снижения смертности и инвалидизации больных [Jilkova Z. M. et al., 2021].

Включение в настоящее исследование нескольких этнических групп, проживающих на территории Северо-Восточной Азии, позволяет оценить значение генетических факторов при ГС на индивидуальном, гендерном и расовом уровнях.

### **Степень разработанности темы исследования**

Поиск биомаркеров различных заболеваний лежит в основе превентивной персонализированной медицины. Это особенно актуально для заболеваний мультифакториальной природы, к которым относятся патологические состояния, ассоциированные с HCV-инфекцией. На сегодняшний день исследования осуществляются в трех принципиальных направлениях: поиск белковых маркеров (протеомика); поиск нуклеиновых кислот и их полиморфизмов (геномика); определение метаболитов обмена веществ в крови и моче (метаболомика) [Llovet J. M. et al., 2017; Sengupta S. et al., 2017; Zhao S. et al., 2017; Torres-Mena J. E. et al., 2018]. Среди общего массива работ существенную долю занимают исследования SNP, свободно циркулирующих дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК), эндосомальных рибонуклеиновых кислот (РНК) и их значения в патогенезе различных заболеваний [Jin Y. et al., 2019; Mahmoudian-Sani M. R. et al., 2019; Loureiro D. et al., 2020; Schmerer N. et al., 2021; Hu Z. et al., 2021].

Широкомасштабные исследования в рамках проекта «1000 геномов» [Belsare S. et al., 2019] обошли стороной регионы Северо-Восточной Азии, хотя именно здесь сосредоточено более 50 % всех людей, инфицированных HCV [Sarin S. K. et al., 2020], а кумулятивный прирост случаев ХГС опережает количество больных, получающих ПППД. Как показывают многочисленные исследования, исход болезни во многом определяется влиянием внешних факторов, включая коморбидные состояния, и генетическим портретом больного [Castellote J. et al., 2019; Koike K. et al., 2021]. Территория Северо-Восточной Азии населена представителями различных этнических групп, существенно отличающихся на генетическом уровне. Однако молекулярно-генетические механизмы, определяющие этнические особенности течения и исходы ГС, остаются малоизученными. Особое внимание уделяется поиску маркеров, которые позволили бы с высокой степенью вероятности диагностировать наличие опухоли, ассоциированной с ГС, на ранних стадиях, когда инструментальные методы еще малоэффективны [Farvardin S. et al., 2017; Simmons O. et al., 2017].

### **Цель работы**

На основании исследования клиничко-патогенетического и прогностического значения биомаркеров при гепатите С усовершенствовать прогнозирование течения и исхода HCV-инфекции и оптимизировать тактику ведения больных в условиях применения препаратов прямого

противовирусного действия на примере этнических групп Северо-Восточной Азии.

### **Задачи исследования**

1. Дать клинико-лабораторную характеристику хронического течения гепатита С и гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированной с вирусом гепатита С, у представителей этнических групп, проживающих на территории Северо-Восточной Азии.

2. Определить распространенность некоторых однонуклеотидных полиморфизмов в вариабельных сайтах генов, участвующих в реакциях врожденного иммунитета, регуляции обмена веществ, клеточной дифференцировке и пролиферации в популяции здоровых лиц.

3. Установить частоту спонтанной элиминации вируса гепатита С в исследуемых этнических группах. Определить генетические предикторы, влияющие на течение и исход гепатита С, в разрезе половой и этнической принадлежности.

4. Изучить факторы риска и генетические предикторы прогрессирования фиброза печени и развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных хроническим гепатитом С после успешной элиминации вируса.

5. Определить патогенетическое и прогностическое значение miR-122 при остром и хроническом течении гепатита С и ассоциированной с ним гепатоцеллюлярной карциноме.

6. По совокупности диагностических характеристик определить наиболее эффективные сывороточные онкомаркеры, проверить в эксперименте возможность их использования для ранней диагностики гепатоцеллюлярной карциномы и разработать алгоритм прогнозирования развития рака печени у больных хроническим гепатитом С после достижения устойчивого вирусологического ответа.

7. Разработать научно обоснованные рекомендации по применению биомаркеров в персонализированном ведении больных гепатитом С и прогнозировании гепатоцеллюлярной карциномы.

### **Научная новизна исследования**

В разрезе этнических групп дана клинико-эпидемиологическая характеристика ХГС и ГЦК, ассоциированной с HCV. Выявлены модифицируемые факторы риска прогрессирования ФП, которые включают в себя сахарный диабет 2 типа и избыточный вес. Прогрессирование ФП у больных с сопутствующим сахарным диабетом наблюдается почти в 3 раза чаще, чем у больных без диабета, что дает основание отнести диабет к факторам риска. Установлено, что из лабораторных предикторов в прогнозе ФП доказательное значение имеют активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и уровень остеопонтина (OPN) в крови на момент начала терапии. Выявлены общие, независимые от этнической принадлежности, закономерности развития ГЦК, ассоциированной с HCV: возраст старше 60 лет, преобладание

представителей мужского пола, развитие преимущественно на фоне ЦП, редкая диагностика ГЦК на ранней стадии болезни (менее 10%).

Впервые проведено комплексное исследование клинико-патогенетического и прогностического значения биомаркеров при гепатите С, циррозе печени и ГЦК, ассоциированной с HCV, в этнических группах европеоидов, монголоидов и тюркоязычного населения Северо-Восточной Азии. Установлено, что частота встречаемости генотипов и аллелей SNP генов, участвующих в патогенезе гепатита С существенно отличается среди представителей русских, монголов и якутов. Выявлены новые SNP группы генов интерферона (*IFN*), Toll-подобных рецепторов (*TLR*, Toll-like receptors), ассоциированные со СК HCV. Rs13126816 *TLR3* универсален и применим для прогноза спонтанного клиренса HCV во всех исследуемых этнических группах, остальные имеют определенную гендерную и этническую избирательность. В этнической группе русских выявлен SNP rs11077 гена экспортина-5 (*XPO5*) AA-генотип которого может использоваться с прогностической целью развития ГЦК у представителей обоих полов (OR = 2,37). В этнической группе якутов мужского пола обнаружен SNP в локусе rs2267531 гена глипикана-3 (*GPC3*) С-аллель которого ассоциирована с повышенным риском развития ГЦК у больных ХГС (OR = 2,58). В рецессивной модели наследования обнаружено, что прогрессирование ФП у европеоидов ассоциировано с носительством минорного AA-генотипа rs4812829 гена ядерного фактора гепатоцитов 4а (*HNF4a*). Расчетные показатели вероятности прогресса ФП у носителей этого полиморфизма в 3 раза выше, чем у носителей других аллельных вариантов.

Установлено, что определение относительного уровня miR-122 в крови отражает степень цитолиза гепатоцитов и может служить критерием тяжести течения гепатита. Кроме этого, получены данные, подтверждающие возможность использования показателей экспрессии miR-122 для оценки прогнозирования скорости ФП. Показано, что развитие ГЦК сопровождается более выраженным, чем при ЦП угнетением экспрессии miR-122, что делает этот маркер перспективным в качестве предиктора прогресса ФП и развития ГЦК.

По данным эксперимента и клинических наблюдений установлена комбинация сывороточных онкомаркеров, включающая альфа-фетопротеин (AFP), OPN и GPC3, показавшая высокую эффективность для прогнозирования ГЦК, ассоциированной с HCV, на ранней стадии болезни. При таком подходе у больных на ранней стадии ГЦК (I-IIIa по по международной классификации стадий злокачественных новообразований (TNM)) чувствительность метода составляет 89,1%, специфичность – 90,9%, диагностическая точность – 90,0%.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Результаты исследований дополняют представления о патогенезе гепатита С и ассоциированных с ним заболеваний и могут быть использованы в учебном процессе при подготовке специалистов по программам медицинского образования уровня специалитета, ординатуры и дополнительного профессионального образования. На основании полученных данных

сформулирована гипотеза о взаимосвязи между полиморфизмом гена экспортина *XPO5*, нарушением транспорта премикроРНК-122 из ядра в цитоплазму гепатоцита и повышенным риском развития ГЦК у больных ХГС после успешной элиминации вируса.

В результате анализа варибельных сайтов генов иммунного ответа в этнических группах европеоидов, монголоидов и тюркоязычного населения Северо-Восточной Азии предложены маркеры для прогнозирования СК (rs12979860 и rs8099917 *IFNL3*; rs368234815 *IFNL4*; rs13126816 *TLR3*, rs179008 *TLR7*), прогрессирования ФП (rs4812829 *HNF4a*) и развития ГЦК (rs11077 *XPO5*; rs2267531 гена *GPC3*). Использование протеомных и геномных маркеров позволяет применять персонализированную траекторию наблюдения за больными ХГС.

Усовершенствован способ определения генотипа человека, связанного с ацелированием ксенобиотиков (Патент РФ № 2756203).

Разработаны рекомендации по прогнозированию риска развития и ранней диагностики гепатоцеллюлярной карциномы у больных вирусными гепатитами, (Регистрационный номер рецензии Министерства науки и высшего образования 652/05.03-18 от 30 ноября 2020 года), которые рекомендованы Координационным советом по области образования «Здравоохранение и медицинские науки» в качестве учебного пособия. Разработана методика персонализированного прогноза развития ГЦК, ассоциированной с HCV, путем определения биомаркеров в сыворотке крови пациента. Методика устанавливает порядок выполнения анализов на выявление AFP, OPN и GPC3 в крови больных вирусными гепатитами и трактовку полученных результатов (Патент РФ № 2749117).

На основании полученного патента РФ №2723891 «Способ определения риска развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных хроническим гепатитом С» разработана и осуществлена государственная регистрация программы для ЭВМ № 2021611780 «Расчет риска развития гепатоцеллюлярной карциномы».

Разработанные подходы могут быть использованы при диспансеризации населения в работе амбулаторно-поликлинической сети учреждений здравоохранения, инфекционных больниц и отделений.

Основным потребителем результатов диссертационной работы является система здравоохранения, а именно медицинские учреждения инфекционного и онкологического профиля.

### **Методология и методы исследования**

По типу построения и дизайну научного исследования настоящая диссертационная работа относится к категории нерандомизированного открытого исследования с использованием эпидемиологических, клинико-лабораторных и статистических данных. Раздел работы, касающийся установления роли SNP генов, выполнен как ретроспективное исследование по типу «случай-контроль» с определением вероятности развития события (отношение шансов). Исследование выполнено в два этапа. Первый этап



включал сбор биоматериала, анализ медицинской документации и проведение лабораторных исследований SNP, miR-122, белковых онкомаркеров, построения моделей наследования. Кроме этого, с целью детализации предварительных клинических данных выполнен эксперимент на лабораторных животных по идентификации эффективных онкомаркеров ГЦК на ранних этапах развития опухоли. На втором этапе была осуществлена всесторонняя статистическая обработка результатов с использованием пакета программ генетического анализа, экспрессии miR-122, ROC-анализа. Предметом исследования явилось изучение биомаркеров при гепатите С и ассоциированных с ним фиброзе, циррозе печени и ГЦК.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Клинические проявления хронического гепатита С и гепатоцеллюлярной карциномы не имеют принципиальных отличий в этнических группах европеоидов, монголоидов и тюркоязычного населения Северо-Восточной Азии. Частота спонтанного клиренса вируса гепатита С зависит от этнической принадлежности индивидуума. Шансы спонтанного клиренса вируса среди монголов в 1,97 раза выше, чем в этнической группе русских, что обусловлено отличиями в распространенности благоприятных генотипов генов, связанных с реакциями врожденного иммунитета.

2. Риск прогрессирования фиброза печени и развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных гепатитом С после успешной элиминации вируса обусловлен сочетанием как генетических, так и модифицируемых внешних факторов, что позволяет отнести эти патологические состояния к мультифакториальным заболеваниям. Выявлены универсальные и характерные для отдельных этнических групп генетические маркеры, ассоциированные со спонтанным клиренсом вируса гепатита С, развитием гепатоцеллюлярной карциномы и прогрессированием фиброза печени после успешной элиминации вируса.

3. Уровень экспрессии miR-122, исследуемый в динамике, является лабораторным критерием тяжести течения острого гепатита С, предиктором прогрессирования фиброза печени у больных хроническим гепатитом С и характеризует степень риска развития гепатоцеллюлярной карциномы.

4. Комбинированное определение альфа-фетопротеина, остеопонтина и глипикана-3 в крови больных хроническим гепатитом С обладает наибольшим набором диагностических преимуществ и позволяет прогнозировать риск развития гепатоцеллюлярной карциномы на ранней стадии с уровнем эффективности по данным ROC-анализа – 0,87 (AUC).

### **Личный вклад автора**

Автором проведен анализ отечественных и зарубежных источников литературы, организован сбор биологического материала в исследуемых регионах России и Монголии, осуществлено планирование и проведение исследований, сформулированы цель и задачи, разработан дизайн, обеспечено ведение клинико-лабораторных информационных карт. Автор лично проводил

клинический осмотр пациентов, осуществлял эластографию печени, анализировал клинические данные, обобщил и статистически обработал полученные результаты, сформулировал выводы, подготовил публикации и практические рекомендации.

### **Внедрение в практику**

Рекомендации по прогнозированию риска развития и ранней диагностики ГЦК и методика персонализированного прогноза развития ГЦК у больных вирусными гепатитами путем определения сывороточных онкомаркеров внедрены в практическую работу Иркутской областной инфекционной клинической больницы, Иркутском областном онкологическом диспансере, Якутской городской клинической больнице, республиканской клинической инфекционной больницы (Республика Бурятия).

Методика персонализированного прогноза развития ГЦК и калькулятор оценки риска развития печеночно-клеточного рака на основе IBM-PC – совместимых ПК и Android представлены на VII Ежегодной национальной выставке «ВУЗПРОМЭКСПО-2020» (Москва). Для пользователей программа представлена в открытом доступе в «Google play» [[https://play.google.com/store/apps/details?id=ru.geekbase.carcinomacalc&hl=en\\_US&gl=US](https://play.google.com/store/apps/details?id=ru.geekbase.carcinomacalc&hl=en_US&gl=US)].

На региональном уровне разработаны методические рекомендации «Улучшение качества вторичной профилактики развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных хроническим гепатитом С и специализированной медицинской помощи больным гепатоцеллюлярным раком на территории Иркутской области». По итогам внедрения результатов исследования в практическое здравоохранение автор диссертации отмечен дипломом лауреата областного конкурса в сфере науки и техники 2021 года в номинации «За значительный вклад в решение социально-экономических проблем Иркутской области» за работу «Оптимизация мероприятий по оказанию медицинской помощи населению Иркутской области при ВИЧ-инфекции, туберкулезе и парентеральных вирусных гепатитах».

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Достоверность полученных результатов обусловлена тщательным подбором групп сравнения, репрезентативностью выборок, применением адекватных задачам методов статистического анализа.

Материалы диссертации используются при чтении лекций и проведении практических занятий с обучающимися на кафедрах инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России и ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедре туберкулеза и инфекционных болезней Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, кафедре инфекционных болезней, фтизиатрии и дерматовенерологии Медицинского института

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова».

Результаты исследований по теме диссертации доложены и обсуждены на следующих научно-практических мероприятиях: III межрегиональный форум специалистов с заседанием профильной комиссии по специальности «Инфекционные болезни» Министерства здравоохранения РФ (Санкт-Петербург, 25–26 апреля 2018 г.); научно-практическая конференция с международным участием «Туберкулез и другие социально-значимые инфекции: научные достижения и особенности медицинской тактики (п. Листвянка, Иркутская область, 29–31 августа 2018 г.); V Всероссийская междисциплинарная научно-практическая конференция с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (Сочи, 30 октября – 2 ноября 2018 г.); научно-практическая конференция «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России» (Краснодар, 30–31 мая 2019 г.); научно-практическая конференция «Хронические вирусные гепатиты: достижения и перспективы» (Улан-Удэ, 20 сентября 2019 г.); XI Ежегодный Всероссийский конгресс по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (1–3 апреля 2019 г.); XII Всероссийская конференция «Вирусные гепатиты – достижения и новые перспективы» (Москва, 19–20 сентября 2019 г.); Международный симпозиум «Современные технологии в диагностике и лечении гепатоцеллюлярной карциномы» (Иркутск, 2 октября 2019 г.); XXIX Ежегодная конференция Азиатско-Тихоокеанской ассоциации по изучению печени (APASL) (Бали, Индонезия, 4–8 марта 2020 г.); VI конгресс Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 20–21 мая 2020 г.); XII Ежегодный Всероссийский интернет-конгресс по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 7–9 сентября 2020 г.); первый конгресс инфекционистов Сибирского федерального округа (Новосибирск, 8–9 октября 2020 г.); международная онлайн-конференция «Эволюция вирусных гепатитов в рак печени» (Иркутск, 10 декабря 2020 г.); VIII Всероссийская междисциплинарная научно-практическая конференция с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (Сочи, 26–29 октября 2021 г.); VII внеочередной онлайн конгресс Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 19–21 мая 2021 г.); XIII Ежегодный Всероссийский конгресс по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского (Москва, 24–26 мая 2021 г.); XIV Ежегодный Всероссийский конгресс по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского (Москва, 28–30 марта 2022 г.); XXXI Ежегодная конференция Азиатско-Тихоокеанской ассоциации по изучению печени (APASL) (Сеул, Корея, 30 марта – 3 апреля 2022 г.).

## **Соответствие паспорту специальности**

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.22 – Инфекционные болезни, а именно пункту 2 в части изучения клинических проявлений инфекционного процесса и прогнозирования течения инфекционного заболевания и его исходов и пункту 3 в части диагностики инфекционных болезней с использованием клинических, генетических, иммунологических, биохимических, инструментальных и других методов исследования.

## **Публикации**

По результатам исследования опубликовано 34 работы, в том числе 23 – в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки, из них – 17 в журналах, индексируемых в международных реферативных базах Scopus, 6 – в журналах, индексируемых в Web of Science. Получено 3 патента на изобретение, 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

## **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 245 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы, четырех глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, а также списка литературы, содержащего 44 отечественных и 319 зарубежных источников. Представленный материал иллюстрирован 46 таблицами, 10 графиками и диаграммами, 8 клиническими примерами. Раздел диссертации, связанный с изучением генетических маркеров, выполнен при поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований № 16-54-44047 «Сравнительное исследование генетического полиморфизма больных вирусным гепатитом С в этнически близких популяциях Монголии и Бурятии с целью объяснения феномена преобладания 1b генотипа на территории Монголии» и № 18-415-140001 «Персонализированный прогноз клинического течения и исхода вирусного гепатита С в первичный рак печени в популяции якутов-мужчин в зависимости от полиморфизма генов, расположенных на X хромосоме и вовлеченных в TLR7-опосредованный путь передачи сигнала».

Тема диссертации утверждена Ученым советом ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 2 от 29.10.2020). Обсуждение работы по месту ее выполнения проведено на заседании профильной проблемной комиссии «Инфекционные болезни, микробиология, эпидемиология» ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 1 от 08.06.2022).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Исследования проводились на территории Иркутской области (Российская Федерация), Республики Саха (Якутия) (Российская Федерация) и Монголии. Иркутская область, Республика Саха (Якутия) и Монголия географически расположены в Северо-Восточной Азии и характеризуются большой площадью и низкой плотностью населения. Представленные субъекты являются сопредельными регионами, сопоставимыми по демографическим показателям, однако существенно отличаются по этническому составу. На территории Иркутской области, по данным переписи населения, преобладают европеоиды – более 90 % [Приангарье от переписи до переписи]. Основное население Республики Саха (Якутия) представлено якутами и русскими. В центральной зоне Республики, где проводилось исследование, 90 % населения составляют якуты [Слепцова С. С., 2017]. В Монголии представители монголоидов составляют достаточно однородную популяцию (96,0 %) [Кручкин Ю. Н., 2011]. Протоколы исследований соответствовали Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» [World Medical Association Declaration of Helsinki, 2014]. Проведение настоящей работы было одобрено комитетом по этике ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 4 от 06.04.2017). Информированное согласие было получено от каждого участника исследования. Обследуемые лица дали отдельное согласие на проведение генетического исследования.

Для сравнительного анализа клинических и лабораторных проявлений ГС и ГЦК использовали метод анкетирования и ретроспективный анализ медицинской документации. Всего было обследовано 2227 человек, в том числе больных острым гепатитом С (ОГС) – 17, ХГС – 633, ГЦК – 419, пациентов со спонтанным клиренсом (СК) вируса – 228 (Таблица 1). Контрольную группу составили 868 практически здоровых лиц и 62 больных ЦП неинфекционной этиологии. По этническому составу представителей европеоидов было 849 человек, монголоидов – 764, тюркоязычного населения Северо-Восточной Азии – 614. Все обследуемые самоидентифицировали себя как русские, якуты или монголы и постоянно проживали на своих территориях.

По половозрастному составу статистически значимых отличий между опытными и контрольными группами, а также между исследуемыми этническими группами не обнаружено.

Диагноз ГС устанавливали в соответствии с рекомендациями на основании данных анамнеза, клинического обследования, определения активности печеночных трансаминаз, анти-HCV IgG и РНК HCV [Ивашкин В. Т. и др., 2015; EASL recommendations on treatment of hepatitis C, 2015; Ющук Н. Д. и др., 2021]. Стадию ФП у больных ХГС определяли с помощью аппарата «Echosens FibroScan-502» (Франция). Фиброз оценивали

по шкале METAVIR [Bedossa P. et al., 1996]. ЦП был диагностирован на основании клинико-лабораторных данных, эластометрии печени, результатов ультразвукового исследования (УЗИ). Степень тяжести ЦП определяли по шкале Чайлда – Пью [Child C. G. et al., 1964; Pugh R. N. H. et al., 1973].

Таблица 1 – Характеристика больных, включенных в исследование

Группа		Иркутская область (русские)	Республика Саха (Якутия) (якуты)	Монголия (халха-монголы)
Больные ХГС	Всего	238	199	196
	Мужчины (%)	119 (50,0)	99 (49,8)	81 (41,3)
	Женщины (%)	119 (50,0)	100 (50,2)	115 (48,7)
	Средний возраст	46,3 ± 13,9	47,0 ± 18,3	44,0 ± 12,6
Больные ОГС	Всего	17	0	0
	Мужчины (%)	9 (52,9)	–	–
	Женщины (%)	8 (47,1)	–	–
	Средний возраст	37,1 ± 8,3	–	–
Пациенты со СК вируса	Всего	70	96	62
	Мужчины (%)	36 (51,4)	48 (50,0)	28 (45,2)
	Женщины (%)	34 (48,6)	48 (50,0)	34 (54,8)
	Средний возраст	43,3 ± 15,1	42,1 ± 19,6	46,3 ± 11,0
Больные ГЦК, ассоциированной с HCV	Всего	105	119	195
	Мужчины (%)	55 (52,4)	75 (63,0)	108 (55,4)
	Женщины (%)	50 (47,6)	44 (37,0)	87 (44,6)
	Средний возраст	63,1 ± 7,2	61,7 ± 10,9	63,6 ± 12,6
Контроль: здоровые люди	Всего	357	200	311
	Мужчины (%)	149 (41,7)	100 (50,0)	134 (43,1)
	Женщины (%)	208 (58,3)	100 (50,0)	177 (56,9)
	Средний возраст	43,4 ± 22,7	44,8 ± 18,4	41,4 ± 21,2
Контроль: ЦП неинфекционной этиологии	Всего	62	0	0
	Мужчины (%)	32 (51,6)	–	–
	Женщины (%)	30 (48,4)	–	–
	Средний возраст	54,6 ± 10,2	–	–

У больных ХГС первый генотип вируса был выявлен в 461 (72,8 %) случае, второй – в 42 (6,6 %), третий – в 123 (19,5 %). Сочетание нескольких генотипов вируса обнаружено у 7 (1,1 %) человек. Сравнительный анализ клинической картины в исследуемых этнических группах проводили на момент первого обращения больных, до проведения противовирусной терапии. Противовирусное лечение осуществляли комбинацией омбитасвир + паритапревир + ритонавир + дасабувир (генотип 1) или софосбувир + даклатасвир (генотипы 1, 2, 3). У всех больных был достигнут вирусологический ответ, а через 24 недели констатирован УВО. Диспансерное наблюдение за пациентами ХГС осуществлялось 1 раз в 6 месяцев и включало осмотр, общеклинические и биохимические анализы, эластометрию печени, УЗИ органов брюшной полости. При необходимости выполнялась компьютерная или магнитно-резонансная томография печени.

В работе использовали критерии клинико-лабораторного подтверждения СК, регламентированные санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.3112-13 «Профилактика вирусного гепатита С» (постановление от 22.10.2013 № 58, зарегистрировано в Минюсте России 19.03.2014 N 31646). [[http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_160657](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_160657)].

Диагноз ГЦК устанавливали с учетом критериев Европейской ассоциации по изучению болезней печени [EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma, 2018]. У части больных диагноз был верифицирован морфологически путем гистологического исследования биоптата печени. Ассоциация ГЦК с ХГС была подтверждена выявлением анти-НСV и/или РНК НСV. Факторы риска развития ГЦК в исследуемых этнических группах анализировались по результатам анкетирования и анализу медицинской документации. У 41 (9,7 %) больного заболевание было выявлено на I стадии по классификации стадий злокачественных новообразований TNM, у 69 (16,5 %) – на II стадии, у 203 (48,5 %) – на III стадии, у 106 (25,3 %) – на IV терминальной стадии. Для оценки диагностической значимости онкомаркеров была сформирована отдельная группа из 55 больных из числа европеоидов, диагностированных на ранней стадии онкологического процесса (I–IIIА). Для лабораторных исследований использовались пробы крови, полученные до проведения оперативного лечения или процедуры локальной деструкции опухоли.

### **Методы исследования**

После забора крови все образцы центрифугировали и полученную плазму и/или сыворотку хранили в замороженном состоянии при  $-74\div-76$  °С. Выделенную из эпителиальных клеток ДНК сохраняли до проведения анализа при тех же условиях. В опытных группах и группах сравнения были выполнены генетические исследования 24 SNP девятнадцати генов: *IFNL1* (rs30461); *IFNL3* (rs12979860 и rs8099917); *IFNL4* (rs368234815); *CD209* (rs4804803); *TLR3* (rs3775291 и rs13126816); *TLR7* (rs179008 и rs179009); *TLR8* (rs3764879 и rs3764880); *IFITM3* (rs12252); *MyD88* (rs6853); *IFIH1* (rs1990760); *IRAK1* (rs3027898); *HNF4 $\alpha$*  (rs4812829 и rs6031552); *TGFB2R* (rs4522809); *TAB3*

(rs1000129516); *MECP2* (rs1734791); *ELK1* (rs1000619237); *NAT2* (rs1495741); *GPC3* (rs2267531); *XPO-5* (rs11077). При выборе SNP предпочтение отдавалось полиморфизмам генов, кодирующих синтез рецепторов или адаптерных молекул, а также генов, локализованных на X-хромосоме и вовлеченных в TLR7-сигналинг. Кроме этого, в исследование был включен картированный на X-хромосоме ген *GPC3*, продуктом которого является белок гепаран сульфат протеогликан – глипикан-3. Глипикан-3 в разных условиях может выступать в качестве фактора как экспрессии ряда генов, так и супрессии протоонкогенов, в связи с чем играет ключевую роль в регуляции роста раковых клеток [Zhou F. et al., 2018].

Выделение ДНК из эпителиальных клеток буккального соскоба проводили с помощью комплекта реактивов ООО «Литех» (Москва). Генотипирование SNP осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием амплификатора Rotor-Gene Q (Qiagen Hilden, Germany) в режиме реального времени. Анализ генотипов *IFNL3* осуществляли с помощью набора реагентов для определения SNP rs8099917 и rs12979860 «АмплиСенс» производства ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора» (Россия). Для проведения амплификации определённых участков других генов использовали праймеры и зонды собственного дизайна, синтезированные Lumiprobe GmbH, ООО «Биотех-Индустрия», ООО «Литех». Для определения SNP *NAT2* использовался разработанный нами оригинальный метод определения генотипа человека, связанного с ацетилированием ксенобиотиков, основанный на идентификации полиморфизма гена *NAT2* rs1495741 с помощью ПЦР в реальном времени [Патент № 2756203 Рос. Федерация].

Для определения уровня онкомаркеров в крови использовали иммунохимический анализатор с хемилюминисцентной технологией Abbott™ Architect i2000SR и иммуноферментный анализатор PerkinElmer Victor3™ Plate Reader. Производители диагностических наборов и технические характеристики определения онкомаркеров представлены в Таблице 2.

Выделение общей РНК из плазмы крови, содержащей фракцию зрелых микроРНК, проводили с использованием набора «Рибо-преп-100» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с протоколом фирмы-производителя. Количественное определение выделенной РНК осуществляли на флуориметре Qubit-4™ (Invitrogen, США) с использованием набора реактивов Qubit microRNA Assay Kit-100 для количественного определения микроРНК (5–100 нг) (Thermo Fisher Scientific, США). Реакция обратной транскрипции осуществлялась с использованием набора MMLV RT kit (Евроген, Россия) для синтеза кДНК на РНК-матрице и «stem-loop»-праймеров (20 мкМ) к определенным микроРНК-hsa-miR-122, U6snRNA (TaqManmicroRNA Assays, Thermo Fisher Scientific, США). Среднее значение относительного уровня miR-122 определяли после проведения ПЦР в двух экземплярах для каждого образца в режиме «реального времени» на приборе Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия).



Таблица 2 – Технические характеристики тест-систем для определения онкомаркеров, используемых в работе

№	Маркер (его аббревиатура)	Наименование тест-системы, каталожный № (производитель)	Чувствительность (нг/мл)
1	Альфа-фетопротеин (AFP)	Architect AFP, B3p360 (Abbott)	2,00
2	Альфа-фетопротеин-L3 (AFP-L3)	ELISA Kit for Alpha-Fetoprotein Lens Culinaris Agglutinin, SEB117Hu (Cloud-Clone Corp.)	0,239
3	Аннексин А2 (AnnA2)	ELISA Kit for Annexin A2, SEB944Hu (Cloud-Clone Corp.)	0,061
4	Гепарин-связывающий фактор роста Midkine (MDK)	ELISA Kit for Midkine, SEA63Hu (Cloud-Clone Corp.)	0,055
5	Глипикан-3 (GPC-3)	ELISA Kit for Glypican 3, SEA971Hu (Cloud-Clone Corp.)	0,057
6	Дез-гамма-карбокситротромбин (DCP, PIVKA-II)	Human protein induced vitamin K absence or antagonist-II (PIVKA-II) ELISA Kit (CSB-E13343h)	0,312
7	Диккопф-подобный протеин-1 (DKK-1)	ELISA Kit for Dickkopf related protein 1, SEA74Hu (Cloud-Clone Corp.)	0,056
8	Остеопонтин (OPN)	Human Osteopontin Platinum ELISA/BMS 2066 (Affymetrix eBioscience)	0,260
9	Протеин Гольджи-73 (GP73)	ELISA Kit for Gogi protein 73, SEB668Hu (Cloud-Clone Corp.)	0,229

Постановка эксперимента на крысах по моделированию ГЦК проводилась в Институте перспективных биологических исследований Университета Гренобль-Альпы (Франция) при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной целевой программы проведения исследований по приоритетным направлениям с участием научно-исследовательских организаций и университетов российско-французской Партнерской программы Юбера Кюрьена «Колмогоров» (контракт № 14.616.21.0098; уникальный идентификационный номер проекта RFMEFI61618X0098) (автор диссертации – соисполнитель гранта с российской стороны). Эксперимент на животных был одобрен комитетом по этике GIN № 004 Университета Гренобль-Альпы.

Еженедельно подопытным самцам крыс породы Fischer 344 внутрибрюшинно вводили разведенный в оливковом масле диэтилнитрозамин (ДЭН) (Sigma-Aldrich, Германия) в дозе 50 мг/кг веса. Введение препарата осуществляли еженедельно в течение 14 недель с последующим 6-недельным интервалом ожидания (Рисунок 1).

Забор крови для определения онкомаркеров проводили из брюшной аорты. Уровни AFP и OPN в сыворотке крови крыс измеряли с помощью наборов для иммуноферментного анализа для определения крысиного AFP

ELISA (Aviva Systems Biology, ОКЕН00252) и крысиного OPN ELISA (Abscam, ab205076). Контролем служили здоровые крысы, которые не получали инъекции ДЭН. Всего в эксперименте было задействовано 14 животных, в том числе 10 были включены в опытную и 4 – в контрольную группу.



Рисунок 1 – Дизайн эксперимента. Схема стимулирования развития ГЦК у крыс с использованием диэтилнитрозамина

### Методы статистической обработки материала

Статистическую обработку первичных данных проводили с использованием общепринятых методов статистики, включающих в себя сравнение двух выборок и корреляционный анализ. Размер выборки предварительно не рассчитывался. Для анализа различий между группами использовали t-критерий Стьюдента, непараметрический критерий Колмогорова – Смирнова ( $\lambda$ ), критерий Манна – Уитни (U) и хи-квадрат ( $\chi^2$ ). Показатели в таблицах представлены в виде среднего значения со стандартной ошибкой ( $M \pm m$ ) или стандартным отклонением ( $M \pm \sigma$ ). Относительные значения экспрессии miR-122 были рассчитаны по формуле  $2^{-\Delta\Delta CT}$  с использованием U6 snRNA в качестве референсной РНК [Livak K. J. et al., 2001]. Коэффициент корреляции ( $r$ ) использовали для оценки зависимости между уровнем экспрессии miRNA-122 и активностью печеночных трансаминаз. При анализе распространенности SNP в сравниваемых группах использовали программу SNPStats [<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPStats>]. Проводили сравнение показателей встречаемости аллелей и их комбинаций в виде генотипов. Распределение генотипов по каждому локусу проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга [<https://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwal.pl>]. Для каждого SNP статистический анализ был проведен по различным моделям наследования: кодоминантной, доминантной, рецессивной, сверхдоминантной и аддитивной. При этом модель с наименьшим значением информационного критерия Акаике (AIC, Akaike information criterion) для каждого полиморфизма принималась в качестве наиболее вероятной [Akaike H., 1974]. Для исключения случайной ошибки использовали поправку Бонферрони на множественность сравнений. Расчёт отношения шансов (OR, odds ratio) проводили при уровне доверительного интервала 95 % (95% CI, 95 % confidence interval). Расчёт OR при нулевом значении показателя осуществляли по методу Вульфа – Холдейна [Певницкий Л. А., 1988]. При оценке сравнительной диагностической эффективности онкомаркеров

статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Meta Disc 1.4 Software [<https://meta-disc.software.informer.com/1.4>]. Определение порогового значения (cut-off) для каждого онкомаркера проводили путем расчета наибольшего значения индекса Юдена [Старовойтов В. В. и др., 2020]. Оценивали такие показатели, как диагностическая чувствительность (Se), специфичность (Sp), положительное прогностическое значение (PPV, positive predictive value), отрицательное прогностическое значение (NPV, negative predictive value), отношение правдоподобия положительного результата (PLR, positive likelihood ratio) и диагностическую точность (ACC, accuracy). Статистическую значимость различий изучаемых показателей в группах определяли по критерию хи-квадрат ( $\chi^2$ ) и точного метода Фишера для четырехпольных и сопряженных таблиц. Для оценки диагностической эффективности отдельных онкомаркеров использовали ROC-анализ [Старовойтов В. В. и др., 2020]. Расчёт площади под ROC-кривой (AUC, area under curve) проводили при уровне 95% CI. Показатели AUC оценивали по следующим критериям:  $AUC \leq 0,75$  – низкая диагностическая эффективность;  $0,75 < AUC < 0,90$  – средняя диагностическая эффективность;  $AUC \geq 0,90$  – высокая диагностическая эффективность. Все данные были статистически обработаны с использованием пакета программ SPSS Statistics 19 (IBM Corp., США), Microsoft Excel (Microsoft Corp., США). Уровень статистической значимости был принят при вероятности нулевой гипотезы за  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе выполнения работы было исследовано распределение SNP в популяции практически здоровых людей исследуемых этнических групп. Это было необходимо для понимания возможного влияния генетических факторов на течение и исходы ГС, а также частоты СК и риска развития ГЦК у представителей различных рас.

Исследуемые SNP по функциональному назначению генов были распределены на несколько групп:

– гены, кодирующие мембранные клеточные и эндосомальные рецепторы, необходимые для пенетрации HCV в клетку и его распознавания во внутриклеточной эндосоме: *CD209*, *TLR3*, *TLR7*, *TLR8*, *IFITM3*;

– гены, кодирующие цитозольные адаптерные белки, обеспечивающие внутриклеточный сигналинг от паттерн-распознающего рецептора до активатора фактора транскрипции генов иммунного ответа: *MyD88*, *TAB3*, *IFIH1*, *IRAK1*;

– регуляторы и факторы транскрипции генов: *MESP2*, *ELK1*, *HNF4 $\alpha$* , *TGFB2R*;

– гены интерферона- $\lambda$ , обладающего противовирусной активностью: *IFNL1*, *IFNL3*, *IFNL4*;

– ген *NAT2*, кодирующий N-ацетилтрансферазу, активность которой определяет скорость ацетилирования ксенобиотиков в печени (метаболизм II фазы);

– ген *XPO5*, кодирующий белок экспортина-5, который обеспечивает транспорт пре-микроРНК из ядра клетки в цитоплазму;

– ген *GPC3*, кодирующий протеогликан глипикан-3, который регулирует клеточное деление и пролиферацию гепатоцитов и других клеток.

В популяциях здоровых людей в этнических группах русских, якутов и монголов установлены существенные различия во встречаемости SNP *IFNL*, *TLR*, *IFITM3*, *NAT2*, *XPO5*. Эти гены имеют непосредственное отношение к патогенезу HCV-инфекции. Так, кодируемый *IFNL* интерферон- $\lambda$  проявляет биологическую активность аналогичную интерферону- $\alpha$  [Asahina Y. et al., 2013]. Экспрессия генов *IFNL* индуцируется главным образом вирусами, геном которых представлен одноцепочечной РНК. Паттерн-распознающие Толл-подобные рецепторы (TLR, Toll-like receptors) активирует факторы экспрессии NF- $\kappa$ B и IRF7, которые определяют эффективность реакций врожденного иммунитета [Chen Y. et al., 2021]. *IFITM3* кодирует интерферон-индуцируемый мембранный белок, который ингибирует вирусы в цитоплазме инфицированной клетки [Zani A. et al., 2018]. Ген *NAT2* кодирует фермент N-ацетилтрансферазу, играющий важную роль в метаболизме ксенобиотиков в печени [Mitchell S. C., 2020]. *XPO-5* определяет синтез белка экспортина-5, обеспечивающего экспорт пре-микроРНК из ядра в цитоплазму [Wu K. et al., 2018].

Наибольшие различия выявлены при сравнении распределения генотипов SNP в этнических группах русских и монголов. Обращает на себя внимание отсутствие у монголов минорных гомозигот *HNF4 $\alpha$*  rs6031552, *XPO5* rs11077 и *TLR* rs179008. Меньше статистически значимых отличий зафиксировано при сравнении этнических групп русских и якутов, что отражает историческую длительность их совместного существования и вероятную метисацию.

Отдельный анализ проведен в отношении SNP генов, локализованных на X-хромосоме. Среди женщин значительные отличия выявлены между SNP генов, вовлеченных во внутриклеточный *TLR7*-сигналинг, более выраженные при сравнении этнических групп русских и монголов и якутов и монголов. За исключением *TLR7* rs179008 ( $p = 0,03$ ), среди женщин в этнических группах русских и якутов не было выявлено отличий. У мужчин различия в частоте встречаемости SNP *TLR8*, *MESP2*, *IRAK1* были статистически значимы между представителями этнических групп русских и монголов ( $p = 0,001$ ,  $p = 0,001$  и  $p = 0,001$  соответственно).

Таким образом, вариации в сайтах генов иммунного ответа существенно отличаются в исследуемых популяциях, что может влиять на клинические проявления, толерантность или устойчивость к инфицированию HCV. Кроме этого, различная распространенность SNP генов ацетилирования ксенобиотиков, транспорта микроРНК в гепатоцитах, пролиферации и дифференцировки клеток может детерминировать скорость развития ФП и предрасположенность к развитию ГЦК у больных ХГС в различных этнических группах.

При сравнении клинико-лабораторных характеристик ХГС и ГЦК в исследуемых этнических группах не было обнаружено принципиальных отличий. Примерно у половины больных во всех этнических группах ХГС протекал субклинически. У монголов чаще встречался астеновегетативный синдром, а в этнических группах русских и якутов – диспепсический. Некоторые различия в потенциальных путях передачи инфекции и структуре циркулирующих генотипов отражают социально-экономические и географические особенности территорий. У больных ГЦК во всех группах отмечено преобладание в структуре мужчин и лиц пожилого возраста, что можно отнести к общим факторам риска развития рака печени. Общей закономерностью является низкая выявляемость ГЦК на ранней стадии болезни (менее 10 %). При этом в терминальной, неоперабельной стадии заболевание диагностировали в 1/3–1/4 случаев.

Несмотря на отсутствие принципиальных отличий в клинических проявлениях ХГС и ГЦК, ассоциированной с HCV, частота СК в сравниваемых группах существенно отличалась (Таблица 3).

Таблица 3 – Частота и относительные шансы СК HCV у представителей исследуемых этнических групп

Регион (этническая группа)	Иркутская область OR (95% CI) <i>P</i>	Республика Саха (Якутия) OR (95% CI) <i>p</i>	Монголия OR (95% CI) <i>p</i>
Иркутская область (русские)	Частота СК – 28,2 %	0,73 (0,5–1,06) 0,09	0,51 (0,33–0,78) <b>0,002</b>
Республика Саха (Якутия) (якуты)	1,37 (0,95–1,99) 0,09	Частота СК – 35,0 %	0,70 (0,46–1,05) 0,08
Монголия (монголы)	1,97 (1,28–3,03) <b>0,002</b>	1,44 (0,95–2,17) 0,08	Частота СК – 43,7 %

Примечание: полужирным шрифтом выделены статистически значимые отличия.

Чаще всего СК встречался в популяции монголов (43,7 %), реже – в популяции европеоидов (28,2 %;  $p = 0,002$ ). Аналогичный показатель среди якутов занимал промежуточное положение и статистически значимо не отличался от других этнических групп. Шансы спонтанного выздоровления среди монголов были почти в 2 раза выше, чем в этнической группе русских. Представленные данные на примере этнических групп населения, проживающих на территории Северо-Восточной Азии, подтверждают генетическую детерминированность СК.

Анализ ассоциаций SNP и спонтанной элиминации вируса установил, что из 24 SNP пять статистически значимо отличались по частоте встречаемости в группе пациентов со СК и ХГС. Четыре из них (rs12979860 *IFNL3*; rs8099917 *IFNL3*; rs368234815 *IFNL4*; rs13126816 *TLR3*) показали свою

значимость во всех этнических группах, а rs179008 *TLR7* был ассоциирован со СК только в этнической группе русских женского пола (Рисунок 2).

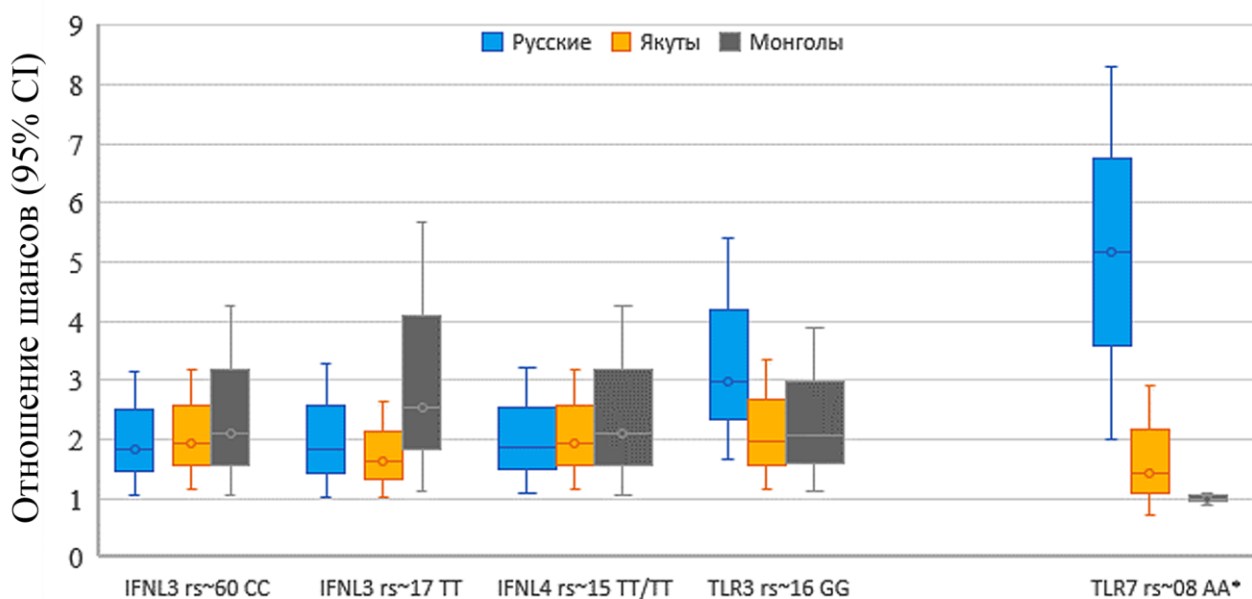


Рисунок 2 – Приоритизация генов, ассоциированных со СК, у представителей исследуемых этнических групп ( $p < 0,05$ ):

\* – ген локализован на X-хромосоме. Продемонстрированы данные у представителей женского пола

Три из пяти SNP находятся в кластере интерферонов III типа *IFNL3/IFNL4*. В историческом плане генотипы переменных сайтов *IFNL3* относятся к числу первых описанных предикторов ответа на лечение препаратами интерферона и СК [Ge D. et al., 2009; Suppiah V. et al., 2009; Tanaka Y. et al., 2009; Rauch A. et al., 2010; da Silva A. M. V. et al., 2021; El-Fattah M. A. et al., 2021]. Позднее был открыт динуклеотидный полиморфизм *IFNL4*, также имеющий отношение к механизмам СК [Prokunina-Olsson L. et al., 2013]. Показано, что люди с делецией гуанина ( $\Delta G\Delta G$ ) в промоторной зоне гена *IFNL4* генетически не способны к самостоятельной элиминации HCV. При этом распределение благоприятных генотипов *IFNL3/IFNL4* существенно зависит от расовой принадлежности, что было показано в отношении европеоидов и негроидов [Prokunina-Olsson L. et al., 2013].

Проведённые нами в этом направлении исследования показали, что благоприятные для СК SNP *IFNL3* и *IFNL4* чаще встречаются в популяции монголов, чем у якутов и европеоидов. Это объясняет более частую встречаемость СК у представителей монголоидной расы в сравнении с представителями европеоидов. По своей предсказательной силе в этнических группах русских и якутов указанные SNP *IFNL3/IFNL4* примерно одинаковы, поэтому для прогнозирования СК может быть использован любой из них. В отличие от этого, у монголоидов предпочтение следует отдавать TT-генотипу rs8099917 *IFNL3*, при наличии которого вероятность СК в 2,5 раза выше, чем у носителей альтернативных генотипов этого SNP (OR = 2,53; 95% CI: 1,13–

5,67;  $p = 0,021$ ). В отношении rs8099917 более сильная ассоциация с частотой СК по сравнению с европеоидами установлена также для популяции жителей Японии и Китая [Zhang Y. et al., 2015; Xie Z. et al., 2018; Nahon P. et al., 2020]. Распределение rs368234815 *IFNL4* в этнических группах показало очень близкие значения с rs12979860 *IFNL3*, что подтверждает возможность сцепленности близкорасположенных генов (Рисунок 2).

Из числа генов Толл-подобных рецепторов обнаружен GG-генотип rs13126816 *TLR3*, который по прогностической силе для якутов и монголоидов сопоставим с SNP *IFNL3/IFNL4* (OR = 1,97; 95% CI: 1,16–3,34;  $p = 0,012$  и OR = 2,07; 95% CI: 1,11–3,87;  $p = 0,021$  соответственно), а для этнической группы европеоидов даже превосходит их (OR = 2,99; 95% CI: 1,65–5,41;  $p = 0,003$ ). *TLR3* локализован внутри эндосомы, куда попадает вирус после интернализации клеточной мембраны. *TLR3* распознает двуспиральную РНК, которая образуется в процессе репликации РНКовых вирусов [Maglione P. J. et al., 2015]. Полиморфизм генов *TLR* может оказывать влияние как на распознавание вируса (процессинг), так и на активацию сигнального пути экспрессии генов иммунного ответа (сигналинг).

Интерес представляет SNP rs179008 *TLR7*, аллельные варианты которого выявлены преимущественно среди якутов и европеоидов и не встречаются среди монголов. *TLR7* распознает в инфицированной клетке односпиральную РНК, что имеет наибольшее значение на стадии интернализации и сборки вирусной частицы [Maglione P. J. et al., 2015]. Ген *TLR7* локализован на X-хромосоме, поэтому его генотипическая структура может быть охарактеризована только у лиц женского пола. У женщин-европеоидов AA-генотип rs179008 *TLR7* показал сильную ассоциацию со СК (OR = 5,17; 95% CI: 1,98–13,5;  $p = 0,001$ ). По своему характеру данный SNP является несинонимическим и характеризуется заменой в кодируемом белке глутамина (Gln) на лейцин (Leu). В результате сигнальный пептид рецептора *TLR7* проявляет функциональную неполноценность [Fakhir F. Z. et al., 2018]. В ответ на синтетические индукторы в дендритных клетках и гепатоцитах носителей минорного T-аллеля rs179008 *TLR7* наблюдается низкая экспрессия мРНК *IFNL1*, *IL-10R $\beta$*  и *IL-28R $\alpha$*  [Askar E. et al., 2010]. Кроме этого, T-аллель ассоциирован с высокой вирусной нагрузкой, плохим ответом на противовирусную терапию и быстрым прогрессированием ВИЧ-инфекции у женщин [Schott E. et al., 2008]. Носители CC-генотипа *TLR7* более восприимчивы к инфекции, вызванной вирусами денге и чикунгунья в Северной и Восточной Индии [Sengupta S. et al., 2021; Singh A. K. et al., 2021].

Таким образом, в сравнительном исследовании выявлены SNP группы генов *IFN* и *TLR*, ассоциированные со СК HCV. Применительно к этническим группам европеоидов, негроидов и латиноамериканцев значение SNP *IFNL3/IFNL4* как предикторов СК было описано ранее. В настоящем исследовании подтверждена их значимость в части прогноза СК в этнических группах русских, якутов и монголов. Кроме этого, обнаружены два SNP генов Толл-подобных рецепторов, причем rs13126816 *TLR3* универсален и применим для прогноза СК во всех исследуемых этнических группах, а rs179008 *TLR7*

может использоваться для прогноза СК HCV только у представителей женского пола в этнической группе русских.

Сравнение вариабельных сайтов генов, ассоциированных с ХГС, выявило альтернативные аллели тех же генов, которые маркировали предрасположенность к СК. Среди больных ХГС во всех этнических группах статистически значимо преобладали носители полиморфных сайтов генов *IFN*: Т-аллеля rs12979860 *IFNL3*, G-аллеля rs8099917 *IFNL3*, ΔG-аллеля rs368234815 *IFNL4*. В настоящем исследовании SNP *IFNL4* в доминантной модели ТТ/ТТ-генотип rs368234815 имел сильную негативную ассоциацию с ХГС во всех этнических группах (OR = 1,85–3,38). Складывается впечатление, что благоприятные генотипы *IFNL3/IFNL4* имеют универсальное прогностическое значение при вирусных инфекциях. Генотипы СС, ТТ и ТТ/ТТ встречаются статистически значимо чаще у больных с исходом COVID-19 в выздоровление, чем у больных с летальным исходом [Rahimi P. et al., 2021]. SNP *IFNL4* ассоциированы с риском инфицирования в Африке детей вирусами респираторных и кишечных заболеваний [Prokunina-Olsson L. et al., 2021].

Кроме различий в распространенности генов *IFN*, у европеоидов и монголоидов чаще встречался А-аллель rs13126816 *TLR3*, а у представителей женского пола этнической группы русских – С-аллель rs179008 *TLR7*. G-аллель и GG-генотип rs13126816 *TLR3* маркируют предрасположенность к СК, а А-аллель и АА-генотип, наоборот, чаще встречаются у больных ХГС, чем у здоровых лиц. Среди генов, локализованных на X-хромосоме, обращает на себя внимание ТТ-генотип rs179008 *TLR7*, который в 3 раза чаще встречается у здоровых женщин европеоидной расы, чем у больных ХГС. В кодоминантной и рецессивной моделях выявлено его протективное действие, проявляющееся в толерантности к ХГС (OR = 0,29; 95% CI: 0,11–0,79;  $p = 0,01$ ). В этнических группах якутов и монголов этот SNP не имел прогностического значения, возможно, ввиду его редкого распространения в этих популяциях. Патогенетическое значение *TLR7* при ХГС подтверждается его выраженной экспрессией в случае достижения УВО в ответ на лечение ПППД [Moustafa H. et al., 2021]. Выявленные ассоциации SNP *TLR7* показали свою значимость только у представителей женского пола, что, очевидно, связано с половыми различиями в функционировании генов, расположенных на X-хромосоме. В отличие от мужчин, у женщин вторая X-хромосома избегает инактивации под действием Xist-РНК, вследствие чего в иммунных клетках женщин присутствует диплоидный набор генов, функциональная активность которых, как правило, выше, чем у мужчин [Gue'ry J. C., 2021].

Таким образом, были выявлены SNP генов *IFN* и *TLR*, одни аллели которых маркируют предрасположенность к СК, а альтернативные аллели ассоциированы с ХГС. Выявленные закономерности применительно к *IFNL3/IFNL4* и *TLR3* не имеют этнических отличий, т. е. универсальны. С учетом данных апробации этих SNP в этнических группах афроамериканцев, латиноамериканцев, европеоидов и азиатов можно предполагать возможность их повсеместного использования как предикторов СК и ХГС [Al-Anazi M. R.



et al., 2017; Sghaier I. et al., 2019; Fang M. Z. et al., 2020; Nahon P. et al., 2020]. Вместе с тем обнаружен SNP *TLR7*, полиморфные варианты которого значимы в качестве прогностических маркеров только для европеоидов. Этот SNP картирован на X-хромосоме и показал статистически значимую связь с ХГС у лиц женского пола европеоидной расы.

Исследования SNP генов иммунного ответа не выявили генетических маркеров, ассоциированных с ГЦК, в исследуемых этнических группах. Однако в этнической группе русских выявлен rs11077 *XPO5*, AA-генотип которого может использоваться с прогностической целью у представителей обоих полов (Таблица 4), а в этнической группе якутов мужского пола обнаружен SNP в локусе rs2267531 гена *GPC3*, С-аллель которого ассоциирован с повышенным риском развития ГЦК у больных ХГС (Таблица 5).

Таблица 4 – Ассоциация SNP *rs11077 XPO5* с вероятностью развития ГЦК, ассоциированной с гепатитом С, у представителей исследуемых этнических групп

Регион (этническая группа)	Группы сравнения	Частоты аллелей А/С	Наилучшая модель по АИС	OR	95% CI	<i>p</i>
Иркутская область (русские)	ГЦК	0,752/0,248	Доминантная	2,37	1,48–3,79	0,005
	ХГС	0,622/0,378				
Монголия (халха-монголы)	ГЦК	0,913/0,087	Аллельная	1,36	0,85–2,17	0,200
	ХГС	0,885/0,115				
Республика Саха (Якутия) (якуты)	ГЦК	0,861/0,139	Аллельная	1,75	0,97–3,17	0,480
	ХГС	0,794/0,206				

Таблица 5 – Ассоциация SNP *rs2267531 GPC3* с вероятностью развития ГЦК, ассоциированной с гепатитом С, у представителей мужского пола в исследуемых этнических группах (ген локализован на X-хромосоме)

Регион (этническая группа)	Группы сравнения	Частоты аллелей G/С	Наилучшая модель по АИС	OR	95% CI	<i>p</i>
Иркутская область (русские)	ГЦК	0,418/0,582	аллельная	2,13	1,11–4,08	0,150
	ХГС	0,605/0,395				
Монголия (халха-монголы)	ГЦК	0,463/0,537	аллельная	2,60	1,42–4,76	0,120
	ХГС	0,691/0,309				
Республика Саха (Якутия) (якуты)	ГЦК	0,373/0,627	аллельная	2,58	1,39–4,79	0,017
	ХГС	0,606/0,394				

Значение SNP *XPO5* при ГС критически важно, поскольку кодируемый этим геном белок экспортин-5 отвечает за транспорт микроРНК, в том числе

miR-122, из ядра в цитоплазму [Wu K. et al., 2018]. Нарушение транспорта miR-122 сопровождается снижением ее онкосупрессивной активности и провокации канцерогенеза [Amr K. S. et al., 2019; Zhang Y. et al., 2019]. Статистически значимые результаты ассоциации AA-генотипа rs11077 с ГЦК были получены только в отношении этнической группы европеоидов, возможно, по причине ограниченного количества больных. Тем не менее, по нашим данным, AA-генотип является доминирующим в популяции монголов, что также наблюдается среди китайцев и корейцев [Patrão S. et al., 2018; Xu F. et al., 2019] и может быть одной из причин наблюдаемой высокой заболеваемости ГЦК у азиатов.

У якутов-носителей С-аллеля *GPC3* вероятность развития ГЦК была в 2,58 раза выше, чем у носителей G-аллеля. Интересно, что эта зависимость была характерна только для представителей мужского пола, в то время как в группе якутов-женщин статистическая значимость не обнаружена. SNP и мутации *GPC3* наследуются по X-рецессивной манере и фенотипически проявляются только у мужчин. Отсутствие второго аллеля ставит в неравные условия представителей мужского пола, поскольку многократно увеличивает вероятность фенотипических проявлений изменений в вариабельных сайтах генов, локализованных на X-хромосоме. Описанный полиморфизм локализован в области промотора гена *GPC3* и связан с экспрессией глипикана [Motawi T. M. K. et al., 2019]. В свою очередь глипикан-3 оказывает влияние на функционирование генов-супрессоров опухолевого роста и активацию протоонкогенов [Montalbano M. et al., 2017]. В отличие от европеоидов и монголоидов, якуты по языковому признаку относятся к тюркской группе, а по этническому происхождению – к центрально-азиатскому антропологическому типу североазиатской расы [Ушницкий В. В., 2014]. По своему генетическому статусу тюркоязычное население Северо-Восточной Азии существенно отличаются от других рас, что могло проявиться в узкой специфичности некоторых генетических онкомаркеров для якутов. Таким образом, специфичным для якутов является rs2267531 *GPC3*, который может использоваться как предиктор риска развития ГЦК у больных ХГС в стадии ЦП.

В настоящем исследовании установлены модифицируемые факторы риска прогрессирования ФП у больных гепатитом С после успешной элиминации вируса, которые включали в себя сахарный диабет 2-го типа (OR = 2,95; 95% CI: 1,17–7,44;  $p = 0,02$ ) и избыточный вес (OR = 2,1; 95% CI: 1,06–4,2;  $p = 0,03$ ). Прогрессирование ФП у больных с сопутствующим сахарным диабетом 2-го типа наблюдалось почти в 3 раза чаще, чем у больных без диабета, что дает основание отнести это заболевание к факторам риска. По общему мнению, сахарный диабет является одним из наиболее распространенных факторов риска [Persico M. et al., 2018; Fernandes F. F. et al., 2019; Negro F., 2021; Vánca S. et al., 2021; Дземова А.А., 2023]. Наличие сахарного диабета 2-го типа у больных вирусным гепатитом сопровождается повышенным риском смерти, декомпенсацией и более низкой выживаемостью больных после трансплантации печени [Bersoux S. et al., 2020]. Комплексное изучение всех компонентов метаболического синдрома выявило, что стеатоз

печени при отсутствии сахарного диабета 2-го типа и нормальной активности печеночных трансаминаз не увеличивает риск ЦП и ГЦК [Natarajan Y. et al., 2020]. В то же время сахарный диабет является независимым фактором риска развития ГЦК у больных ХГС, прошедших эффективный курс лечения ПППД [Váncsa S. et al., 2021].

В отношении влияния избыточной массы тела на скорость прогрессирования ФП мнения не однозначны. В настоящем исследовании индекс массы тела более 28 кг/м<sup>2</sup> статистически значимо чаще встречался у больных с прогрессированием ФП после успешной элиминации вируса (43,2 % против 27,2 %;  $p = 0,03$ ). В то же время S. Versoux et al. (2020) не выявили связи между ожирением и ФП. Сведения о прогностическом значении активности печеночных трансаминаз в качестве предиктора скорости прогрессирования ФП также противоречивы. С одной стороны, установлено, что высокая активность АЛТ в сочетании со стеатозом печени повышает риск развития ЦП [Natarajan Y. et al., 2018]. С другой стороны, повышенная активность печеночных трансаминаз на старте лечения ПППД является благоприятным предиктором регресса ФП после элиминации вируса [Tag-Adeen M. et al., 2018]. В настоящем исследовании выявлена обратная зависимость между активностью АЛТ и риском прогрессирования ФП (OR = 0,46; 95% CI: 0,23–0,90;  $p = 0,02$ ).

В работе J. F. Wu et al. (2018) в качестве предиктора прогрессирования ФП после элиминации вируса описан АФР, повышенный уровень которого в крови ассоциирован с неблагоприятным течением ХГС после УВО. В настоящем исследовании такая зависимость не подтверждена, однако выявлена ассоциативная связь в отношении другого онкомаркера – ОРН. Риск прогрессирования ФП у больных с повышенным уровнем ОРН был почти в 3 раза выше, чем у больных без повышения этого биомаркера (OR = 2,95; 95% CI: 1,17–7,44;  $p = 0,02$ ). Повышение ОРН описано при многих заболеваниях печени, таких как гепатиты, острая печеночная недостаточность, неалкогольная и алкогольная жировая болезнь печени [Chávez-López M. G. et al., 2016; Zhao H. et al., 2018]. У трансгенных мышей с повышенной продукцией ОРН в течение одного года развивается спонтанный ФП [Zhao H. et al., 2018; Bruha R. et al., 2020].

На риск прогрессирования ФП при ХГС значительное влияние оказывают генетические факторы человека. Так, по данным Е. Н. Усыченко и соавт. (2020), у носителей генотипов СС *IL-4* rs2243250, GG *TNF $\alpha$*  rs1800620, СС *SMAD* rs4939827 ФП на фоне ХГС был выражен в меньшей степени. В то же время гомозиготы ТТ *IL-4* rs2243250, АА *TNF $\alpha$*  rs1800620, ТТ *SMAD* rs4939827 обладали профибротическим эффектом и чаще обнаруживались у больных с высокой степенью ФП. В популяции жителей Пакистана установлено, что СС-генотип rs12979860 *IFNL3* связан с риском прогрессирования ФП до стадии ЦП у больных ХГС [Rauff V. et al., 2021]. Стадирование ЦП по классификации Чайлда – Пью коррелирует с уровнем экспрессии *TLR3* и *TLR7* [Kamal A. et al., 2021]. С одной стороны, *TLR* запускают реакции врожденного иммунитета,

а с другой – поддерживают воспаление в печени и прогрессирование фиброза [Gao Y. et al., 2021].

В настоящей работе в рецессивной модели наследования обнаружено, что прогрессирование ФП ассоциировано с носительством минорного АА-генотипа rs4812829 *HNF4a* (Таблица 6). Расчетные показатели вероятности прогресса ФП у носителей этого полиморфизма были в 3 раза выше, чем у носителей других аллельных вариантов.

Таблица 6 – Анализ ассоциации SNP *HNF4a* и прогрессирования фиброза печени у больных ХГС после успешной элиминации вируса

Ген, варибельный сайт	Генотипы, аллели	Характеристика групп сравнения		OR (95% CI)	p	
		Больные ХГС с регрессией фиброза (n = 162), n (%)	Больные ХГС с прогрессированием фиброза (n = 44), n (%)			
<i>HNF4a</i> , rs4812829	GG	105 (64,8)	26 (59,1)	1,0	–	
	GA	49 (30,2)	12 (27,3)	0,99 (0,46–2,12)	0,98	
	AA	8 (5,0)	6 (13,6)	3,03 (0,97–9,49)	0,048	
	G-аллель	259 (79,9)	64 (72,7)	1,49 (0,87–2,57)	0,14	
	A-аллель	65 (20,1)	24 (27,3)			
	Доминантная модель		105 (64,8)	26 (59,1)	1,28 (0,64–2,52)	0,48
			57 (35,2)	18 (40,9)		
	Аддитивная модель	–	–	–	0,13	
	Рецессивная модель		154 (95,0)	38 (86,4)	3,04 (1,00–9,28)	0,042
			8 (5,0)	6 (13,6)		
		7 (4,3)	3 (6,8)			

Ген *HNF4a* играет важную роль в развитии и функциональной активности клеток печени и почек. Продукт гена – белок, ядерный фактор транскрипции 4α – связывается с ДНК и вызывает экспрессию нескольких десятков генов, в том числе гена, регулирующего транскрипцию miR-122, которая принимает активное участие в жизненном цикле вируса гепатита С. Мутации в экзонах гена *HNF4a* ассоциированы с развитием сахарного диабета 2-го типа, нарушением секреции инсулина, метаболического синдрома и дефицита тестостерона [Liu C. C. et al., 2018; Giri D. et al., 2021]. Представляется важным, что этот SNP маркирует предрасположенность к сахарному диабету 2-го типа и метаболическим нарушениям, которые сами по себе являются факторами прогрессирования ФП [Tag-Adeen M. et al., 2017;

Bersoux S. et al., 2020]. SNP *HNF4a* в значительной степени связаны с нарушением функции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы у больных сахарным диабетом 2-го типа [Bonetti S. et al., 2022].

Среди других предикторов в последние годы большое внимание уделяется тканевым и циркулирующим в кровеносном русле микроРНК. Основные биологические функции микроРНК – транскрипционная и посттранскрипционная регуляция экспрессии генов [Musaddaq G. et al., 2019].

В отличие от других кластеров, miR-122 принимает непосредственное участие в патогенезе HCV-инфекции [Sedano C. D. et al., 2015; Thakral S. et al., 2015]. Комплементарная связь двух молекул miR-122 с 5'-нетранслируемой зоной РНК HCV предупреждает ее распознавание внутриклеточными паттерн-распознающими рецепторами и помогает избежать деградации под влиянием внутриклеточных эндонуклеаз [Loureiro D. et al., 2020]. Снижение уровня miR-122 в клетке путем ее связывания антисмысловой РНК приводит к ответному снижению уровня вирусной РНК вплоть до полной авиремии [van der Ree M. H. et al., 2017].

Противоречивость данных о содержании miR-122 в крови больных ХГ обусловлена несовершенством методик ее определения применяемых в начале 2000-х гг. В связи с этим данные разных авторов трудно сопоставимы, так как в исследованиях использовались разнообразные референтные РНК, а результаты определения miR-122 сопоставлены с различными контрольными группами. Кроме этого, имеют значение пробоподготовка и оптимальный выбор стандартной РНК, по отношению к которой оценивается уровень miR-122 в ПЦР [Livak K. J. et al., 2001; Гареев И. Ф. и др., 2017]. Вместе с тем представляется важным сравнительный анализ уровня miR-122 при ГС в динамике на различных этапах развития инфекционного процесса: от острого инфицирования – через стадию хронического течения – к развитию ЦП и ГЦК.

miR-122 обладает выраженной органоспецифичностью и сосредоточена преимущественно в клетках печени [Xu P. et al., 2017]. Обнаруженное в настоящей работе в острый желтушный период болезни существенное повышение уровня miR-122 в крови, по-видимому, отражает цитолиз гепатоцитов. Установлена прямая зависимость между активностью трансаминаз и уровнем экспрессии miR-122. Однако коэффициент корреляции оказался выше при ОГС ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,05$ ), чем при ХГС ( $r = 0,44$ ;  $p < 0,05$ ). В связи с высокой чувствительностью к цитолизу гепатоцитов miR-122 была предложена в качестве маркера лекарственного поражения печени, включая наркотические вещества [Liu Y. et al., 2018]. Передозировка ацитоминофена приводила к токсическому гепатиту, ранним лабораторным подтверждением которого служила miR-122, а ее повышение опережало активность печеночных трансаминаз [Liu Y. et al., 2018].

Зависимость между уровнем miR-122 и ФП при неинфекционных поражениях печени была описана ранее [Halász T. et al., 2015; Liu Y. et al., 2018]. В настоящей работе такая закономерность была подтверждена для категории больных ХГС, что, очевидно, обусловлено замещением массы

функционирующих гепатоцитов соединительной тканью, не содержащей miR-122 (Рисунок 3).

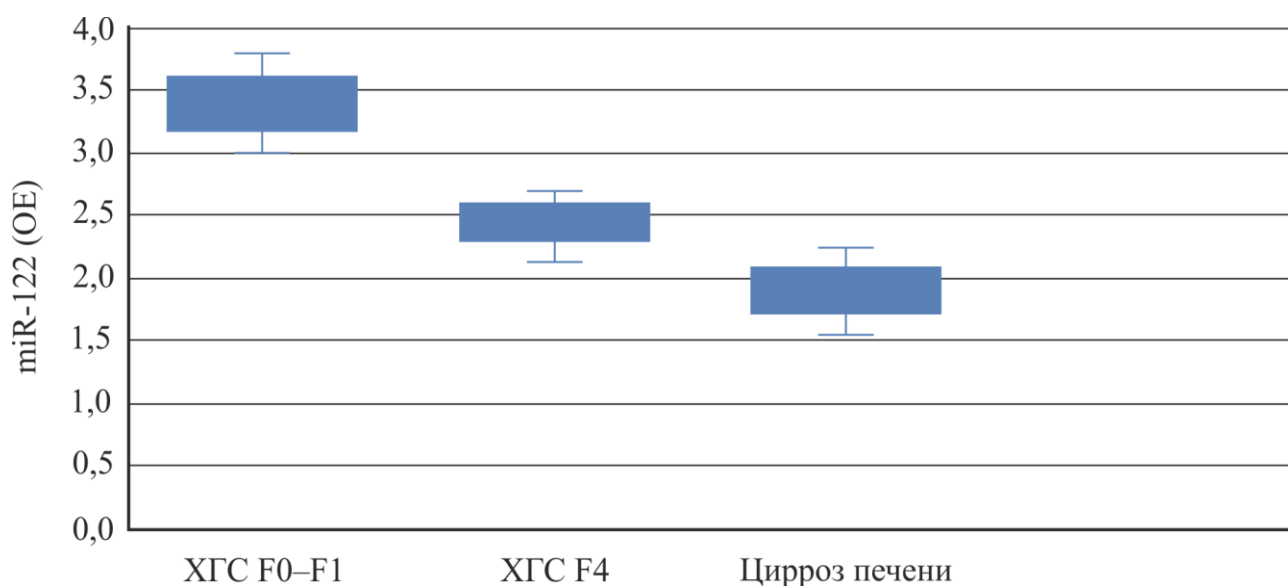


Рисунок 3 – Уровень miR-122 в зависимости от степени фиброза печени у больных ХГС и циррозом печени неинфекционной этиологии

Снижение уровня miR-122 описано также при выраженном ФП на фоне ХГВ, неалкогольном стеатогепатите и аутоиммунном гепатите [Thakral S. et al., 2015; Zhou X. et al., 2019]. На основании этого можно утверждать, что по уровню miR-122, исследованному в динамике, можно судить о скорости прогрессирования ФП любой этиологии. Это особенно актуально для больных с ожирением, наличием асцита и острого воспаления, когда инструментальная эластометрия неинформативна.

В динамике противовирусного лечения у больных ХГС обнаружено прогрессивное снижение уровня miR-122 с наибольшим падением на 4-й неделе (Рисунок 4). У больных с продвинутой ФП (F4) снижение относительного уровня miR-122 было более продолжительным и достигало показателей у здоровых лиц лишь к 12-й неделе терапии. Критическое снижение экспрессии miR-122 открывает возможности для активации протоонкогенов, что многократно увеличивает риски развития ГЦК. В дополнение сочетание таких факторов у больных ХГС, как продвинутая стадия ФП, лечение ПППД и носительство АА-генотипа rs11077 *XPO5*, может стать причиной недостаточности miR-122 и снижения ее онкосупрессивных функций.

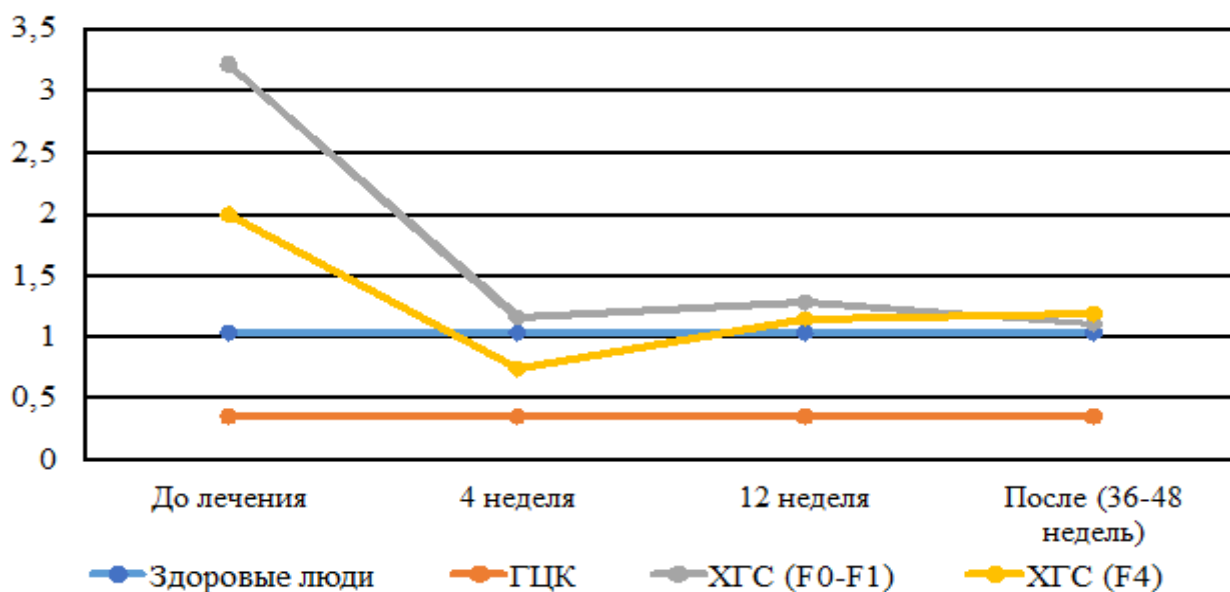


Рисунок 4 – Изменение уровня экспрессии miR-122 в динамике на фоне лечения ХГС ПППД

Полученные в настоящем исследовании данные могут быть использованы для прогнозирования рака печени. С учетом того, что контролем в данном случае является сопоставление уровня miR-122 в динамике у индивидуума, а не показатели у здоровых лиц, при использовании этого маркера необходимо проводить регулярный мониторинг.

К особенностям ГЦК, развивающейся на фоне ХГС или после успешной элиминации вируса, относится отсутствие клинической симптоматики на ранней стадии болезни. В соответствии с клиническими рекомендациями, ранняя диагностика ГЦК основывается на УЗИ печени и определении уровня АФР в крови [Ивашкин В. Т. и др., 2019; EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma, 2018]. УЗИ органов брюшной полости широко распространено в медицинских учреждениях, но его эффективность зависит от класса аппарата, опыта врача и размера опухоли. В создавшихся условиях совершенствование методов раннего обнаружения ГЦК, ассоциированной с HCV, является актуальной задачей современного здравоохранения, решение которой позволит выстроить эффективную систему оказания помощи больным и снизить смертность от этого заболевания.

За последние время для ранней диагностики ГЦК предложено несколько десятков онкомаркеров, находящихся на различных стадиях клинической апробации [Reichl P. et al., 2016; Sengupta S. et al., 2017; Hemken P. M. et al., 2019; Virzi A. et al., 2021]. Как следует из отдельных публикаций, достичь 80%-го уровня Se позволяет использование таких специфических белков, как AnnA2, MDK,  $\alpha$ -1-фукозидаза (AFU), иммунный комплекс IgM – антиген плоскоклеточного рака (SCCA-IgM). Однако при высокой Se диагностическая Sp определения этих онкомаркеров достаточно низкая и варьирует от 50,0 до 70,5 % [Hodeib H. et al., 2017; Junna Z. et al., 2017; Liu C. H. et al., 2018]. И наоборот,

высокоспецифичные белковые маркеры (AFP, AFP-L3, suPAR, DCP) показывают низкую Se [Chounta A. et al., 2015; Reichl P. et al., 2016; Junna Z. et al., 2017; Wu J. et al., 2018]. Таким образом, в настоящее время ни один онкомаркер, взятый по отдельности, не обеспечивает достаточную диагностическую эффективность на ранней стадии ГЦК [Tsuchiya N. et al., 2015].

Задача этого раздела работы заключалась в том, чтобы по совокупности диагностических характеристик определить наиболее эффективные сывороточные онкомаркеры, проверить в эксперименте возможность их использования для ранней диагностики ГЦК и разработать алгоритм прогнозирования развития рака печени у больных ХГС после эффективной элиминации вируса.

Было обследовано 55 больных ХГС в стадии ЦП с верифицированным диагнозом ГЦК. Группу сравнения составили 55 больных ХГС в стадии ЦП без ГЦК, сопоставимых по основным клиническим характеристикам с опытной группой. Исследование включало определение в опытной и контрольной группе AFP, AFP-L3, AnnA2, MDK, GPC-3, DCP, DKK-1, OPN, GP73. Оценивали такие показатели, как Se, Sp, PPV, NPV, PLR, наличие корреляции между AFP и другими онкомаркерами.

Оказалось, что наибольшим набором диагностических преимуществ обладают MDK, GPC3 и OPN (Таблица 7). Наряду с AFP, по отдельности эти онкомаркеры уже были в той или иной степени апробированы в диагностике ГЦК [Tsuchiya N. et al., 2015; Hodeib H. et al., 2017; Sengupta S. et al., 2017; Liu S. et al., 2020]. MDK является фактором роста, стимулирующим пролиферацию и дифференцировку клеток. Содержание MDK в крови больных ГЦК выше, чем у больных ЦП без ГЦК [Hodeib H. et al., 2017]. Однако в связи с тем, что уровень MDK подвержен физиологическим колебаниям, зависящим от пола и гормонального статуса человека [Vongsuvan R. et al., 2016], а его лабораторное определение существующими методами сопряжено с большой гетерогенностью и низкой воспроизводимостью результатов [Zhang Y. et al., 2020], этот онкомаркер был исключен из дальнейшего анализа.

GPC-3 принадлежит к семейству глипиканов-протеогликанов. Повышенный уровень GPC3 выявляется у 50–55 % пациентов с ГЦК и только у 5 % больных с циррозом печени [Montalbano M. et al., 2017; Virzi A. et al., 2021]. По нашим данным, GPC3 отличается от остальных онкомаркеров существенно более высоким показателем PLR, что ставит его в ряд перспективных при комбинированном использовании. OPN представляет собой интегрин-связывающий гликофосфопротеин [Zhao H. et al., 2018]. OPN относится к новым онкомаркерам, изучение которого пока ограничено небольшими исследованиями по типу «случай-контроль» [Duarte-Salles T. et al., 2016]. Тем не менее, большинство исследователей оценивают OPN как перспективный биомаркер, диагностическое и прогностическое значение которого стоит исследовать при различных типах рака [Castello L. M. et al., 2017]. Уровень в крови трех предложенных онкомаркеров не коррелирует между собой, соответственно, каждый белок вносит свой самостоятельный вклад в обеспечение прогностической эффективности (Таблица 7).



Таблица 7 – Показатели диагностической эффективности онкомаркеров

Онкомаркер	Показатель				Сумма показателей диагностических преимуществ
	Отсутствие статистически значимой корреляции с AFP	AUC > 0,75	PLR > 4,0	Более 60 % положительных результатов у больных с уровнем AFP < 16 нг/мл	
AFP	–	–	+	–	–
AFP-L3	–	–	+	–	1
AnnA2	–	+	–	–	1
MDK	+	+	–	+	3
GPC3	+	+	+	–	3
DCP	–	+	+	–	2
DKK-1	+	–	+	–	2
OPN	+	+	–	+	3
GP 73	+	+	–	–	2

Обнадеживающие результаты ROC-анализа послужили основанием для более детального анализа применимости OPN для ранней диагностики ГЦК в экспериментальных условиях. В опытной группе крыс на 20-й неделе эксперимента ГЦК визуализировалась у всех особей, получавших диэтилнитрозамин (Рисунок 5).

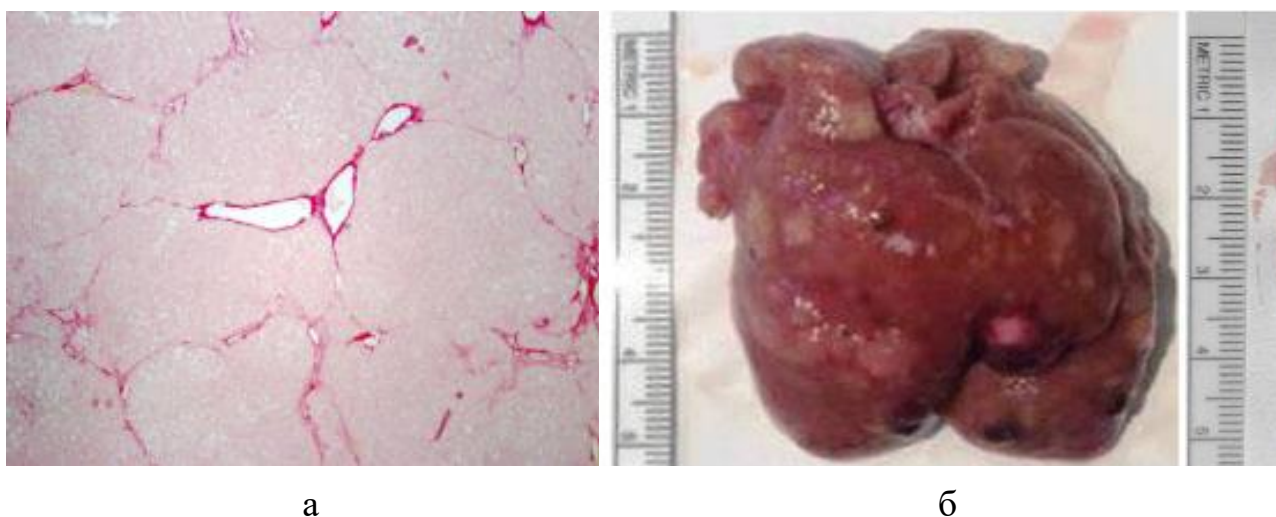


Рисунок 5 – а – Фиброз печени у крыс, получавших ДЭН; окраска сириусом красным; микроскоп Olympus BX41. б – Макроскопическое изображение ГЦК у крысы с визуальной оценкой количества и размеров опухолевых узлов

Средний уровень AFP и OPN в опытной и контрольной группах животных составил  $40,6 \pm 33,9$  и  $8,7 \pm 1,5$  нг/мл,  $44,7 \pm 9,3$  и  $27,9 \pm 10,9$  нг/мл соответственно. При использовании для статистической обработки материала непараметрического критерия Колмогорова – Смирнова ( $\lambda$ ) установлено, что уровень OPN существенно отличался в опытной и контрольной когортах ( $\lambda = 1,46$ ;  $p = 0,028$ ), в то время как в отношении AFP статистически значимых различий обнаружено не было ( $\lambda = 1,01$ ;  $p = 0,26$ ).

Предварительный отбор наиболее эффективных онкомаркеров и их исследование в условиях эксперимента позволило рекомендовать комбинацию AFP + OPN + GPC3, которая до настоящего времени не рассматривалась как способ оценки риска ГЦК.

Для изучения диагностической эффективности комбинации AFP + OPN + GPC3 были исследованы сыворотки крови от 55 больных ХГС в стадии ЦП, у которых при диспансерном наблюдении была выявлена ГЦК на ранней стадии развития (I–IIIА), и 55 проб крови больных ХГС в стадии ЦП, у которых при диспансеризации в течение не менее 1 года не обнаружено ГЦК.

Первоначально было осуществлено определение порогового значения для каждого онкомаркера путем расчета наибольшего значения индекса Юдена. Наилучшее пороговое значение (cut-off) для AFP составило 16,0 нг/мл; для GPC3 – 1,0 нг/мл; для OPN – 80,0 нг/мл.

По результатам анализа отдельных онкомаркеров наибольшая Se зафиксирована при использовании OPN, но для него была выявлена относительно низкая Sp. Наилучшая Sp отмечена в отношении AFP и GPC-3 при низком уровне Se в обоих случаях. Сочетанное определение трех онкомаркеров показало существенное преимущество их комбинированного использования (Таблица 8).

Таблица 8 – Результаты оценки показателей диагностической эффективности комбинации AFP + OPN + GPC3 в сравнении с изолированным определением указанных онкомаркеров

№	Онкомаркеры	Se, n (%)	Sp, n (%)	PPV, %	NPV, %	PLR	ACC, %
1	AFP + OPN + GPC3	49 (89,1)	50 (90,9)	90,7	89,2	9,79	90,0
2	AFP	35 (63,6)	44 (80,0)	76,1	68,8	3,18	71,8
3	OPN	46 (83,6)	38 (69,1)	73,0	80,9	2,71	76,4
4	GPC3	36 (65,5)	51 (92,7)	90,0	72,9	9,00	79,1
	$p_{1-2}$	<b>0,002</b>	> 0,05	<b>0,006</b>	<b>0,001</b>	–	<b>0,001</b>
	$p_{1-3}$	> 0,05	<b>0,004</b>	<b>0,001</b>	> 0,05	–	<b>0,01</b>
	$p_{1-4}$	<b>0,003</b>	> 0,05	> 0,05	<b>0,003</b>	–	<b>0,03</b>

Примечание: полужирным шрифтом выделены статистически значимые отличия.

При этом более высокая Se отмечена при сравнении с изолированным определением AFP и GPC3, а Sp в этом случае была лучше, чем у OPN. Во всех случаях такой кумулятивный показатель, как диагностическая точность, был статистически значимо выше при одновременном применении трех онкомаркеров.

Проведение ROC-анализа показало, что площадь под кривой AUC при использовании комбинации AFP + GPC3 + OPN статистически значимо больше, чем при использовании AFP + GPC3 (AUC = 0,879; 95% CI: 0,802–0,933;  $p < 0,001$  и AUC = 0,737; 95% CI: 0,644–0,816;  $p < 0,001$ ) (Рисунок 6).

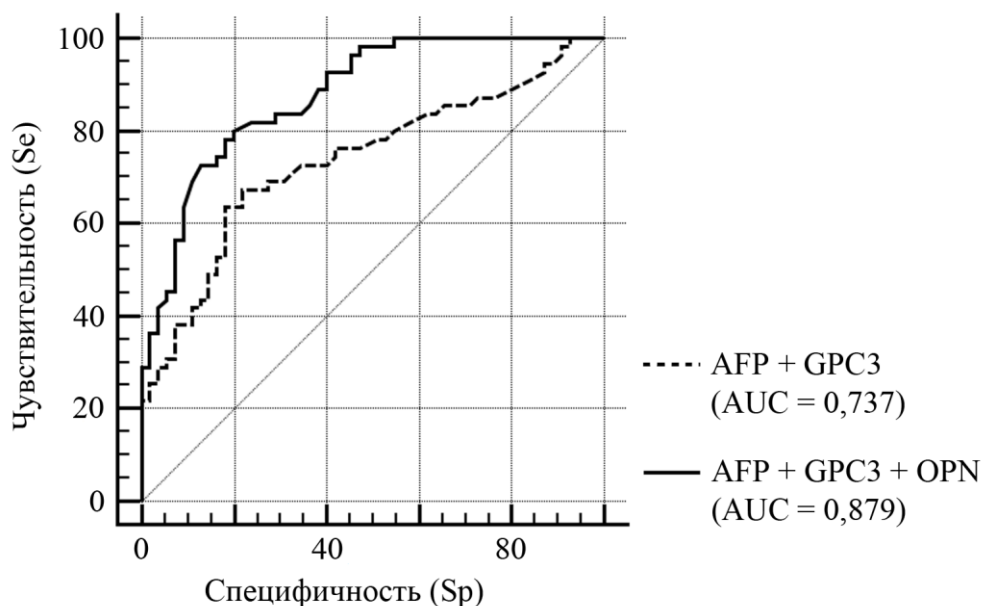


Рисунок 6 – ROC-анализ. Площадь под кривой Se и Sp (AUC) при использовании комбинаций AFP + GPC3 и AFP + GPC3 + OPN

Se способа позволяет выявить максимальное количество пациентов, у которых имеется высокий риск развития ГЦК. При таком подходе у больных на ранней стадии ГЦК (I–IIIА по классификации TNM) Se метода составляет 89,1 %, Sp – 90,9 %, диагностическая точность – 90,0 %. Вероятность положительного теста разработанного способа у больных ХГС в 9,79 раза выше, чем у здоровых лиц, что свидетельствует о его высокой прогностической способности.

Практическое использование комбинации онкомаркеров для оценки риска развития ГЦК у больных ХГС ограничено громоздкостью математических вычислений. Для преодоления этого ограничения был разработан калькулятор оценки риска развития ГЦК на основе IBM-PC-совместимых ПК и мобильных телефонов на основе ОС Android. В настоящее время калькулятор размещен в открытом доступе в Google Play [[https://play.google.com/store/apps/details?id=ru.geekbase.carcinomacalc&hl=en\\_US&gl=US](https://play.google.com/store/apps/details?id=ru.geekbase.carcinomacalc&hl=en_US&gl=US)].

Таким образом, элиминация ГС как социально значимого инфекционного заболевания в будущем будет определяться не только национальными стратегиями, направленными на доступность противовирусной терапии и охватом нуждающихся в лечении больных, но и использованием персонализированного прогноза течения заболевания. Наличие независимых генетических предикторов предоставляет возможность прогноза СК, скорости прогрессирования ФП и риска развития ГЦК в различных этнических группах. Использование комбинации белковых биомаркеров на доклинической стадии развития гепатоцеллюлярного рака у больных ГС позволяет существенно улучшить раннюю диагностику заболевания, расширить возможности для использования локальных методов деструкции опухоли и повысить качество жизни больных.

## ВЫВОДЫ

1. Клинические проявления хронического гепатита С и гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированной с HCV-инфекцией, не имеют принципиальных отличий в этнических группах европеоидов, монголоидов и тюркоязычного населения Северо-Восточной Азии. У больных гепатоцеллюлярной карциномой во всех группах наблюдается преобладание в структуре мужчин и лиц старше 60 лет, что можно отнести к общим факторам риска развития рака печени.

2. Полученные данные на примере этнических групп населения, проживающих на территории Северо-Восточной Азии, подтверждают генетическую детерминированность спонтанного клиренса вируса. Общие генетические маркеры, ассоциированные со спонтанным клиренсом вируса, представлены вариабельными сайтами rs12979860 и rs8099917 *IFNL3*, rs368234815 *IFNL4*, rs13126816 *TLR3*. Для представителей женского пола европеоидной расы прогностическое значение имеет AA-генотип rs179008 *TLR7*. Шансы спонтанного выздоровления среди монголов в 2 раза выше, чем в этнической группе русских, что обусловлено различиями в распространенности благоприятных генотипов в популяциях.

3. Генетическим маркером предрасположенности к развитию гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированной с HCV-инфекцией, в популяции европеоидов обоего пола является AA-генотип rs11077 *XPO5*, а в популяции якутов-мужчин – С-аллель rs2267531 *GPC3*.

4. Риск прогрессирования фиброза печени после успешной элиминации вируса гепатита С значительно выше у людей с избыточной массой тела и сопутствующим сахарным диабетом 2-го типа. Из лабораторных предикторов имеют значение активность АЛТ и уровень остеопонтин в крови на момент начала терапии. У европеоидов установлен вариабельный сайт rs4812829 гена ядерного фактора гепатоцитов-4 $\alpha$ , AA генотип которого ассоциирован с повышенным риском прогрессирования фиброза печени после успешной терапии препаратами прямого противовирусного действия.

5. Уровень экспрессии miR-122 в крови отражает степень цитолиза гепатоцитов и может служить критерием тяжести течения гепатита. Снижение уровня miR-122 по мере прогрессирования фиброза печени носит неспецифический характер и наблюдается как при вирусном, так и при неинфекционном генезе процесса. Развитие гепатоцеллюлярной карциномы сопровождается более выраженным, чем при циррозе печени, угнетением экспрессии miR-122, что делает этот маркер перспективным в качестве предиктора рака печени.

6. Экспериментальная модель рака печени, индуцированная у крыс диэтилнитрозамином, отражает последовательность стадий характерных для гепатоцеллюлярной карциномы у человека: фиброз печени – цирроз – рак. В сравнении с альфа-фетопротеином остеопонтин обладает более мощным диагностическим потенциалом на ранней стадии заболевания, что позволяет

рекомендовать его для комбинированного использования в диагностике гепатоцеллюлярной карциномы.

7. Комбинированное использование альфа-фетопротеина, остеопонтина и глипикана-3 позволяет прогнозировать риск развития гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированной с HCV-инфекцией, с чувствительностью 89,1 %, специфичностью 90,9% и эффективностью (AUC) 0,87.

8. На основании определения онкомаркеров разработана шкала определения риска гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированной с гепатитом С, превосходящая по показателям эффективности существующие аналоги. Разработан и зарегистрирован программный продукт в виде электронного калькулятора оценки риска развития гепатоцеллюлярной карциномы на основе IBM-PC-совместимых ПК и мобильных телефонов на основе ОС Android.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для определения тактики ведения больных при острой HCV-инфекции целесообразно использовать генетические методы прогнозирования спонтанного клиренса вируса. Для всего населения, независимо от расы и пола, высокую вероятность спонтанного выздоровления маркируют CC-генотип rs12979860 *IFNL3*, TT-генотип rs8099917 *IFNL3*, TT/TT-генотип rs368234815 *IFNL4* и GG-генотип rs13126816 *TLR3*.

2. Уровень остеопонтинина в крови выше 80,0 нг/мл является неблагоприятным прогностическим маркером прогрессирования фиброза печени после успешной элиминации вируса. Такая категория больных нуждается в тщательном мониторинге состояния здоровья, включая УЗИ и эластометрию печени, модификации образа жизни и дополнительной терапии.

3. В связи с высокой вероятностью развития ГЦК у больных ХГС в стадии цирроза печени у носителей AA-генотипа rs11077 *XPO5* в этнической группе русских обоих полов и С-аллеля rs2267531 *GPC3* у мужчин в этнической группе якутов рекомендуется более тщательный мониторинг состояния здоровья в виде УЗИ-контроля (1 раз в 3 месяца).

4. Применение шкалы AGE2АО для прогнозирования риска развития ГЦК у больных ХГС после успешной элиминации вируса в формате программного продукта – калькулятора на основе IBM-PC-совместимых ПК и мобильных телефонов на основе ОС Android – позволяет существенно экономить время врача на амбулаторном приеме диспансерных больных, а также использовать ее для самоконтроля пациентами.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Установление генетических маркеров, ассоциированных со спонтанным клиренсом вируса, позволит в дальнейшем исследовать иммунологические механизмы, обеспечивающие толерантность к HCV-инфекции на уровне врожденного и адаптивного иммунитета, и на основании этого определить перспективные направления по созданию вакцины против гепатита С.

2. Возможность управления экспрессией miR-122 нуждается в дальнейшем исследовании, в результате которого просматривается перспектива создания лекарственных препаратов на основе антисмысловых РНК, влияющих на репликацию РНК-содержащих вирусов и активацию генов-онкосупрессоров.

3. Установление маркерных белков, синтезируемых в клетках гепатоцеллюлярной карциномы, позволяет в дальнейшем усовершенствовать таргетную терапию рака печени за счет адресной доставки био- и химиопрепаратов на основе моноклональных антител. В этом направлении наиболее перспективно изучение глипикана-3 и анти-GPC3 антител.



## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### В научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. Малов, И. В. Особенности полиморфизма генов интерферона III типа у больных вирусным гепатитом С на сопредельных территориях России и Монголии / И. В. Малов, О. Баатархуу, О. Б. Огарков, Л. А. Степаненко, П. Нямдава, Ж. Оюнбилэг, **С. И. Малов**, Е. Д. Савилов, Ж. Амарсанаа, Д. Гантулга // Журнал инфектологии. – 2017. – Т. 9, № 3. – С. 46–53.

2. **Малов, С. И.** Роль генетических факторов человека в естественной селекции доминирующего генотипа вируса гепатита С в этнически близких популяциях бурят и халха-монголов / **С. И. Малов**, О. Батархуу, О. Б. Огарков, С. Ариунаа, Ж. Байгалмаа, Б. Давахуу, Д. Мунк-Орших, Ж. Оюнбилэг, Л. А. Степаненко, Е. Д. Савилов, Л. В. Жербанова, Т. А. Сымбелова, И. В. Малов // Современные технологии в медицине. – 2018. – Т. 10, № 3. – С. 21–30.

3. Морозов, В. Г. Риск развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных с хроническим гепатитом С после противовирусной терапии препаратами прямого противовирусного действия: собственные наблюдения / В. Г. Морозов, Е. Г. Тихомолова, **С. И. Малов**, Е. С. Малова, Л. М. Топорнина, Е. В. Жаркова, А. А. Рыбкина, Н. И. Ульянина, Е. Я. Глазкова, Л. М. Хайдарова, А. А. Осокина, А. М. Кальшченко, Ю. Л. Минаев, И. В. Малов // Инфекционные болезни. – 2018. – Т. 16, № 4. – С. 38–47.

4. Савилов, Е. Д. Парентеральные вирусные гепатиты в Иркутской области / Е. Д. Савилов, Н. Н. Чемезова, В. А. Астафьев, И. В. Малов, **С. И. Малов**, Т. А. Гаврилова, Т. М. Бурданова, А. В. Владыкина, Е. А. Чубукин // Acta biomedica scientifica. – 2018. – Т. 3, № 5. – С. 148–153.

5. Савилов, Е. Д. Хронический гепатит С в Сибирском федеральном округе: анализ заболеваемости и эволюция генотипов возбудителя / Е. Д. Савилов, **С. И. Малов**, И. В. Малов, О. Б. Огарков, В. А. Астафьев, Н. Н. Чемезова, И. А. Мирошниченко // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2018. – № 4. – С. 56–62.

6. Чемезова, Н. Н. Хронический вирусный гепатит С в Дальневосточном федеральном округе / Н. Н. Чемезова, В. А. Астафьев, **С. И. Малов**, И. В. Малов, Е. Л. Кичигина, Е. Д. Савилов // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2018. – № 3. – С. 58–61.

7. Ющук, Н. Д. Клинико-эпидемиологические проявления гепатоцеллюлярной карциномы в этнических группах европеоидов и монголоидов, проживающих на территории Северо-Восточной Азии / Н. Д. Ющук, И. В. Малов, О. Baatarkhuu, Е. Д. Савилов, **С. И. Малов**, Р. И. Расулов, В. В. Дворниченко, Т. Lkhagva-Ochir, J. Amarsanaa, T. Decaens, P. N. Marche // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – № 6. – С. 25–31.

8. Баатархуу, О. Клинико-эпидемиологические особенности и исходы вирусного гепатита С в этнических группах монголоидов и европеоидов, проживающих на сопредельных территориях Северо-Восточной Азии / О. Баатархуу, Т. Лхагва-Очир, Ж. Амарсанаа, Д. Гантулга, Е. Д. Савилов, **С. И. Малов**, Л. С. Орлова, С. В. Макарова, В. В. Дворниченко, И. В. Малов Н. Д., Ющук // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2019. – Т. 8, № 2. – С. 27–35.

9. **Малов, С. И.** Биомаркеры в диагностике и прогнозировании рецидивирования гепатоцеллюлярной карциномы (обзор) / **С. И. Малов**, И. В. Малов, В. В. Дворниченко, Р. N. Marche, T. Decaens, Z. Masek-Jilkova, Н. Д. Ющук // Современные технологии в медицине. – 2019. – Т. 11, № 2. – С. 183–196.

10. **Малов, С. И.** Генетическая детерминация спонтанного клиренса вируса гепатита С у представителей различных этнических групп / **С. И. Малов**, О. Баатархуу, И. В. Малов, Л. А. Степаненко, О. Б. Огарков, С. Ариунаа, Б. Даваахуу, Ж. Оюнбилэг, Л. В. Жербанова, Т. А. Сымбелова // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2019. – Т. 8, № 2. – С. 8–15.

11. **Малов, С. И.** Применение комбинации альфа-фетопротейна и остеопонтина для ранней диагностики гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированной с гепатитом С / **С. И. Малов**, И. В. Малов, В. В. Дворниченко, Р. И. Расулов, А. Г. Кувшинов, П. Н. Марш, Т. Декан, З. Мацек-Жилкова, Н. Д. Ющук // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64, № 10. – С. 607–612.

12. Слепцова, С. С. Полиморфизм генов, локализованных на X-хромосоме, как маркер предрасположенности к хронизации инфекционного процесса при гепатите С в этнической группе якутов-мужчин / С. С. Слепцова, И. Ф. Билюкина, **С. И. Малов**, С. И. Семенов, Л. А. Степаненко, О. Б. Огарков, Е. Д. Савилов, И. В. Малов // Якутский медицинский журнал. – 2019. – Т. 66, № 2. – С. 64–66.

13. Ющук, Н. Д. Исследование сывороточной микроРНК-122 при гепатите С и ассоциированной с ним гепатоцеллюлярной карциноме / Н. Д. Ющук, **С. И. Малов**, И. В. Малов, В. В. Дворниченко, Р. И. Расулов, П. Н. Марш, Т. Декан, З. Мацек-Жилкова, Л. А. Степаненко, О. Б. Огарков, Л. С. Орлова // Вестник РАМН. – 2019. – Т. 74, № 6. – С. 388–395.

14. **Малов, С. И.** Генетические маркеры риска развития гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированной с гепатитом С, в этнической группе якутов-мужчин / **С. И. Малов**, С. С. Слепцова, Л. А. Степаненко, О. Б. Огарков, С. И. Семенов, В. К. Семенова, Е. Д. Савилов, И. В. Малов, Н. Д. Ющук // Инфекционные болезни. – 2020. – Т. 18, № 2. – С. 14–19.

15. Семенова, В. К. HCV-инфекция в Республике Саха (Якутия) и роль её генотипов в клинических исходах болезни / В. К. Семенова, С. С. Слепцова, **С. И. Малов**, Е. Д. Савилов, С. И. Семенов, И. В. Малов, Л. А. Степаненко, О. Б. Огарков // Acta biomedica scientifica. – 2020. – Т. 5, № 4. – С. 45–50.

16. Слепцова, С. С. Клинико-эпидемиологическая характеристика гепатоцеллюлярной карциномы в Республике Саха (Якутия) / С. С. Слепцова, **С. И. Малов**, Е. Д. Савилов, С. И. Семенов, В. К. Семенова, Л. А. Степаненко, О. Б. Огарков, И. В. Малов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19, № 3. – С. 33–40.
17. Ющук, Н. Д. Оценка внешних факторов риска развития гепатоцеллюлярного рака и маркеров генетической предрасположенности к его развитию в этнической группе якутов-мужчин / Н. Д. Ющук, С. С. Слепцова, **С. И. Малов**, С. И. Семенов, И. Ф. Билюкина, Л. А. Степаненко, О. Б. Огарков, Е. Д. Савилов, И. В. Малов // Терапевтический архив. – 2020. – Т. 92, № 1. – С. 56–61.
18. Macek-Jilkova, Z. Клинико-экспериментальная оценка диагностической значимости альфа-фетопротейна и остеопонтин на ранней стадии развития гепатоцеллюлярного рака / Z. Macek-Jilkova, **С. И. Малов**, К. Kurma, С. Charrat, Т. Decaens, Н. П. Перетолчина, Р. N. Marche, И. В. Малов, Н. Д. Ющук // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 170, № 9. – С. 334–339.
19. **Малов, С. И.** Поиск эффективных сывороточных онкомаркеров для ранней диагностики гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированной с гепатитом С / **С. И. Малов**, И. В. Малов, А. Г. Кувшинов, Р. N. Marche, Т. Decaens, Z. Macek-Jilkova, Н. Д. Ющук // Современные технологии в медицине. – 2021. – Т. 13, № 1. – С. 27–34.
20. Огарков, О. Б. Методика оценки уровня циркулирующей в крови митохондриальной ДНК по генам *ND1* и *ND2* / О. Б. Огарков, Е. А. Орлова, И. В. Малов, С. Н. Жданова, **С. И. Малов**, П. А. Хромова, Л. А. Степаненко, В. В. Синьков, Л. В. Рычкова, Л. И. Колесникова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 172, № 10. – С. 515–518.
21. Baatarkhuu, O. Hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B and C in Mongoloids and Caucasians of North-East Asia / O. Baatarkhuu, **S. I. Malov**, R. I. Rasulov, V. V. Dvornichenko, E. D. Savilov, I. V. Malov, N. D. Yushchuk // Infectious Diseases: News, Views, Education. – 2021. – Vol. 10, N 4. – P. 38–44.
22. Macek-Jilkova, Z. Clinical and experimental evaluation of diagnostic significance of alpha-fetoprotein and osteopontin at the early stage of hepatocellular cancer / Z. Macek-Jilkova, **S. I. Malov**, К. Kurma, С. Charrat, Т. Decaens, N. P. Peretolchina, Р. N. Marche, I. V. Malov, N. D. Yushchuk // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2021. – Vol. 170, N 3. – P. 340–344.
23. **Малов, С. И.** Оценка некоторых предикторов прогрессирования фиброза печени у больных гепатитом с после успешной элиминации вируса / **С. И. Малов**, Л. С. Орлова, Л. А. Степаненко, О. Б. Огарков, И. В. Малов, Н. Д. Ющук // Инфекционные болезни. – 2022. – Т. 20, № 1. – С. 64–73.

### Публикации в других изданиях

24. **Малов, С. И.** Значение однонуклеотидного полиморфизма rs4812829 гена ядерного фактора гепатоцитов HNF4 $\alpha$  при вирусном гепатите С / **С. И. Малов**, И. В. Малов, Л. А. Степаненко, О. Б. Огарков, Л. В. Жербанова, Т. А. Сымбелова // Журнал инфектологии. – 2018. – Т. 10, № 2S1. – С. 73–74.

25. Malov, I. Clinical and epidemiological characteristics of patients with hepatocellular carcinoma in North-East Asia population / I. Malov, O. Baatarkhuu, Ja. Amarsana, L. O. Tovuu, E. D. Savilov, **S. Malov**, R. I. Rasulov, V. V. Dvornichenko // Hepatology International. – 2019. – Vol. 13, N S1. – P. 155.

26. **Malov, S.** Diagnostic efficiency of determination of alfa-fetoprotein and osteopontin for early diagnosis of hepatocellular carcinoma in the output of hepatitis B and C / **S. Malov**, I. Malov, E. D. Savilov, R. I. Rasulov, V. V. Dvornichenko, N. Yuschuk // Hepatology International. – 2019. – Vol. 13, N S1. – P. 155–156.

27. Дворниченко, В. В. Рекомендации по прогнозированию риска развития и ранней диагностики гепатоцеллюлярной карциномы у больных вирусными гепатитами : учебно-методическое пособие / В. В. Дворниченко, Т. Декан, И. В. Малов, **С. И. Малов**, П. Н. Марш, З. Мацек-Жилкова, Л. С. Орлова, Р. И. Расулов, Л. А. Степаненко, Н. Д. Ющук ; под ред. Н. Д. Ющука, И. В. Малова. – М. : МГМСУ, 2020. – 32 с.

28. Савилов, Е. Д. Социально значимые инфекции (туберкулез, ВИЧ-инфекция, парентеральные вирусные гепатиты) при сочетанной патологии / Е. Д. Савилов, С. Н. Шугаева, С. Н. Жданова, **С. И. Малов**, О. Б. Огарков. – Иркутск : РИО ИГМАПО, 2020. – 92 с.

29. Способ определения риска развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных хроническим гепатитом С : Патент № 2723891 С1 Рос. Федерация ; МПК G01N 33/574 (2006.01) ; G01N 33/68 (2006.01) / **Малов С. И.**, Орлова Л. С., Перетолчина Н. П., Дворниченко В. В., Михалевич И. М., Малов И. В. ; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Иркутский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2019129998 ; заявл. 23.09.2019 ; опубл. 18.06.2020. – Бюл. № 17.

30. **Malov, S.** Risk factors for hepatocellular carcinoma in men of Northeast regions of Asia with high, medium and low incidence rates / **S. Malov**, O. Baatarkhuu, S. Sleptsova, E. D. Savilov, R. I. Rasulov, I. Malov // Hepatology International. – 2020. – Vol. 14, S1. – P. 252.

31. Расчёт риска развития гепатоцеллюлярной карциномы : Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2021611780 / Котов И. А., **Малов С. И.**, Михалевич И. М., Перетолчина Н. П. ; правообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России). – № 2020667736 ; заявл. 25.12.2020 ; опубл. 05.02.2021.

32. Способ определения генотипа человека, связанного с ацетилизацией ксенобиотиков : Патент № 2756203 С1 Рос. Федерация ; МПК С12Q 1/68 (2006.01) ; С12N 15/00 (2006.01) / Огарков О. Б., Перетолчина Н. П., **Малов С. И.**, Орлова Е. А., Степаненко Л. А., Хромова П. А. ; патентообладатели Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Иркутский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека». – № 2020137412 ; заявл. 13.11.2020 ; опубл. 28.09.2021. – Бюл. № 28.

33. Способ прогнозирования риска развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных хроническим гепатитом С : Патент № 2749117 С1 Рос. Федерация ; МПК С12Q 1/68 (2006.01) ; С12N 15/00 (2006.01) / **Малов С. И.**, Дворниченко В. В., Декан Т., Малов И. В., Марш П. Н., Мацек-Жилкова З., Степаненко Л. А. ; патентообладатели Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Иркутский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека». – № 2020126856 ; заявл. 10.08.2020 ; опубл. 04.06.2021. – Бюл. № 28.

34. **Malov, S.** Risk factors for progression of liver fibrosis after successful elimination of hepatitis C virus / **S. Malov**, I. Malov, L. Stepanenko, O. Ogarkov, L. Orlova, S. Shugaeva, E. Savilov // *Hepatology International*. – 2022. – Vol. 16, N S1. – P. 321.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
ВИЧ-инфекция	– инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека
ГС	– гепатит С
ГЦК	– гепатоцеллюлярная карцинома
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДЭН	– диэтилнитрозамин
ОГС	– острый гепатит С
ПППД	– препараты прямого противовирусного действия
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РНК	– рибонуклеиновая кислота
РФ	– Российская Федерация
СК	– спонтанный клиренс вируса
УВО	– устойчивый вирусологический ответ
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ФП	– фиброз печени
ХГС	– хронический гепатит С
ЦП	– цирроз печени
95% CI	– 95%-й доверительный интервал (англ. 95% confidence interval)
ACC	– диагностическая точность (англ. accuracy)
AFP	– альфа-фетопротеин
AFP-L3	– гликозилированная L-3 изоформа AFP
AIC	– информационный критерий Акаике (англ. Akaike information criterion)
AnnA2	– аннексин A2
AUC	– площадь, ограниченная ROC-кривой и осью доли ложных положительных классификаций (англ. area under curve)
cut-off	– пороговое значение
DCP	– дез-гамма-карбокситромбин
DKK-1	– диккопф-подобный протеин-1
GPC3	– глипикан-3
HCV	– вирус гепатита С (англ. hepatitis C virus)
IFN	– интерферон
IFN-λ	– интерферон-лямбда
IL	– интерлейкин

miR	– микро-рибонуклеиновая кислота
NPV	– отрицательное прогностическое значение (англ. negative predictive value)
OPN	– остеопонтин
OR	– отношение шансов (англ. odds ratio)
PLR	– отношение правдоподобия положительного результата (англ. positive likelihood ratio)
PPV	– положительное прогностическое значение (англ. positive predictive value)
ROC	– рабочая характеристика приемника для построения ROC-кривой (англ. receiver operating characteristic)
ROC-анализ	– анализ классификаций с применением ROC-кривых
Se	– чувствительность (англ. sensitivity)
SNP	– однонуклеотидный полиморфизм (англ. single-nucleotide polymorphism)
Sp	– специфичность (англ. specificity)
TLR	– толл-подобный рецептор (англ. Toll-like receptor)