

Генетический полиморфизм вируса гепатита С и риск развития гепатоцеллюлярной карциномы

С. Н. Маммаев, А. М. Каримова

Кафедра госпитальной терапии № 1 Дагестанской государственной медицинской академии Минздрава России, Махачкала, Российская Федерация

Genetic polymorphism of hepatitis C virus and risk of hepatocellular carcinoma

S.N. Mammayev, A.M. Karimova

Chair of hospital course of internal diseases #1, Dagestan State Medical Academy, Ministry of Healthcare of Russia, Makhachkala, Russian Federation

Цель обзора. Оценить влияние генетического полиморфизма вируса гепатита С на риск развития гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК).

Основные положения. Гепатоцеллюлярная карцинома является одним из наиболее грозных исходов хронических заболеваний печени, в частности хронического гепатита С (ХГС). В настоящее время установлено, что частота развития ГЦК у больных с 1b генотипом вируса гепатита С (ВГС) была достоверно выше, чем с другими генотипами.

При анализе аминокислотных последовательностей у больных с 1b генотипом ВГС выявлены мутации с заменой аргинина на глицин в 70 кодоне (Glu 70) и лейцина на метионин в 91 кодоне (Met 91). При этом обнаружено, что мутантный тип Glu 70 встречается достоверно чаще у пациентов с ГЦК по сравнению с больными ХГС и циррозом печени, в более старших возрастных группах, при повышении уровня гамма-глутамилтранспептидазы и аспартатамино-трансферазы в сыворотке крови. Появление мутантных форм 1b генотипа связано с открытием ранее неизвестного белка ВГС — minicor-протеина, при котором отсутствует N-конец классического Cor-протеина p21.

The aim of review. To estimate effect of genetic polymorphism of hepatitis C virus on risk of *hepatocellular carcinomas* (HCC).

Key points. Hepatocellular carcinoma is one of the most dreadful outcomes of chronic liver diseases, in particular — *chronic hepatitis C* (CHC). Now it is revealed, that frequency of HCC in patients with 1b genotype of *hepatitis C virus* (HCV) was significantly above, than other genotypes.

In aminoacidic sequences analysis in patients with 1b genotype of HCV mutations with substitution of arginine to glycine in codon 70 (Glu 70) and leucine to methionine in codon 91 (Met 91) were revealed. Thus it is revealed, that mutant type Glu 70 is significantly more frequent in patients with HCC in comparison to CHC and liver cirrhosis, in older age groups, at elevation of serum level of gamma-glutamyltranspeptidase and aspartate aminotransferase. Frequency of mutant forms of 1b genotype is related to discovery of previously unknown protein of HCV — minicor-protein with absence of N-terminal of classical Cor-protein p21.

Conclusion. Early detection mutant Glu 70, Met 91 forms of HCV genotype 1b will provide prediction of HCC risk in CHC patients and to begin adequate etiological

Маммаев Сулейман Нураттинович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии № 1 Дагестанской государственной медицинской академии. Контактная информация: hepar-sul-dag@mail.ru; 367000, Республика Дагестан, г. Махачкала, пл. Ленина, д. 1

Mammayev Suleyman N — MD, PhD, professor, head of the chair of hospital course of internal diseases N 1, Dagestan State Medical Academy. Contact information: hepar-sul-dag@mail.ru; 367000, Dagestan Republic, Makhachkala, Lenina sq, 1.

Каримова Аминат Магомедовна — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной терапии № 1 Дагестанской государственной медицинской академии. Контактная информация: k_amina@list.ru; 367000, Республика Дагестан, г. Махачкала, пл. Ленина, д. 1

Karimova Aminat M — MD, assistant-professor, chair of hospital course of internal diseases N 1 Dagestan State Medical Academy. The contact information: k_amina@list.ru; 367000, Dagestan Republic, Makhachkala, Lenina sq, 1.

Заключение. Раннее выявление мутантных Glu 70, Met 91 форм 1b генотипа ВГС позволит прогнозировать риск развития ГЦК у больных ХГС и начать своевременное адекватное этиотропное лечение для профилактики этого грозного осложнения.

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома, хронический гепатит С, генотип 1b вируса гепатита С, мутации.

treatment for preventive maintenance of this dangerous complication intime.

Key words: hepatocellular carcinoma, chronic hepatitis C, genotype 1b hepatitis C virus, mutations.

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) является одним из наиболее неблагоприятных исходов хронических заболеваний печени. Каждый год более чем половине миллиона людей во всем мире выставляется этот диагноз. По данным проекта Всемирной организации здравоохранения (WHO) и Международного агентства по изучению опухолей (IARC) GLOBOCAN 2008 г., ГЦК по частоте развития занимает шестое место в мире среди злокачественных опухолей, восьмое среди женщин, пятое среди мужчин [1, 31]. Почти 85% случаев ГЦК регистрируется в развивающихся странах и преимущественно у мужчин (соотношение мужчин и женщин — 2,4:1). Пик заболеваемости приходится на 70-летний возраст, реже всего он регистрируется среди лиц младше 40 лет. Регионы с наибольшей распространенностью — Восточная и Юго-Восточная Азия, Центральная и Западная Африка, Маеланезия и Полинезия. Самая низкая распространенность в индустриально развитых странах за исключением Южной Европы, где заболеваемость среди мужчин составляет 10,5 на 100 000 населения, что значительно выше, чем в других развитых регионах.

По частоте причин смерти от рака ГЦК занимает третье место в мире, уступив лишь раку легких и желудка. В некоторых районах Африки и Азии это — самое распространенное злокачественное новообразование [31]. По меньшей мере, 300 000 из 600 000 смертей от ГЦК приходятся на Китай, остальные — на страны с ограниченными ресурсами субсахарского региона Африки, где рак печени занимает первое место среди причин смерти от онкологических заболеваний [1].

В США выявляется более 15 тыс. новых случаев ГЦК ежегодно [18, 31], за последние сорок лет частота обнаружения выросла в 3 раза, что частично объясняется улучшением диагностических возможностей и внедрением компьютерной томографии, в то время как 5-летняя выживаемость остается все еще очень низкой [6, 42]. В нашей стране, по данным GLOBOCAN (2008 г.), ежегодно диагностируется около 2815 случаев злокачественных опухолей печени, причем смертность от них составляет 3628 в год, а 5-летняя выживаемость — всего 0,4% [31].

ГЦК, как правило, является исходом целого ряда хронических самостоятельных заболеваний

печени (вирусные гепатиты, аутоиммунный гепатит, неалкогольная жировая болезнь печени) и заболеваний, при которых печень поражается вторично — *сахарный диабет* (СД) 2-го типа, системные заболевания соединительной ткани, а также влияния различных токсических агентов — алкоголя, афлатоксина и др.

Специалисты Всемирной гастроэнтерологической организации (WGO, 2009) к основным факторам риска развития ГЦК относят: хроническую инфекцию *вирусами гепатита В и С* (ВГС и ВГВ), алкогольный цирроз, неалкогольный стеатогепатит, СД (метаболический синдром), контакт с афлатоксином, табакокурение, генетические факторы (тирозиноз, гемахроматоз), дефицит α 1-антитрипсина, аутоиммунный хронический гепатит, первичный билиарный цирроз, *цирроз печени* (ЦП) вне зависимости от этиологии [1].

Среди заболеваний, приводящих к развитию ГЦК, во всем мире лидирующие позиции занимают *хронические гепатиты С и В* (ХГС и ХГВ). При инфицировании ВГВ факторами, повышающими риск развития такой опухоли, являются: высокая вирусная нагрузка и С генотип, длительность инфицирования, мужской пол, пожилой возраст, отягощенный наследственный анамнез по ГЦК, контакт с афлатоксином, употребление алкоголя и табакокурение, коинфекция с ВГС и дельта-вирусом гепатита, проживание в Азии, Африке и некоторых странах Восточной Европы [9, 31, 44].

По данным Американской ассоциации по изучению заболеваний печени (AASLD, 2010), при ХГС факторами риска развития ГЦК являются: 1-й генотип, более взрослый возраст на момент инфицирования, длительность заболевания, мужской пол, ЦП, коинфекция с ВГВ и вирусом иммунодефицита человека [23], употребление алкоголя (более 20–50 г в сутки) [12], изофлавоноидов (содержащихся в сое) [35], а также ожирение, СД и метаболический синдром [18, 22, 37]. Большинство этих факторов приводит к формированию и прогрессированию ЦП, который наблюдается у 80–90% больных с ГЦК: 5-летний кумулятивный риск развития опухоли у пациентов с ЦП варьирует в пределах от 5 до 30% в зависимости от этиологии (чаще при ХГС), от региона или этнической принадлежности (выше у азиатов)

и стадии цирроза [15]. Некоторые исследования, проведенные в Японии и Южной Европе, показали, что снижает риск развития ГЦК употребление кофе [23, 28].

В 2007 г. S. A. Raza и соавт. продемонстрировали удельный вес ВГВ и ВГС среди причин ГЦК в различных странах мира [40]. Так, если в Китае причиной ее формирования в подавляющем большинстве случаев был ХГВ (почти в 60%) и в 2 раза чаще коинфекция ВГВ и ВГС, чем только ВГС, то в США, Японии, Египте и в странах Европы (Италии, Испании, Австрии и Германии) значительно чаще к ее развитию приводил ХГС (в 22, 68, 69, 43, 48, 37 и 26% соответственно). Как видно, в Японии и Египте частота ГЦК при наличии ХГС оказалась более чем в 2 раза выше, чем в США и Германии. В США среди пациентов, которым был выставлен диагноз ХГС в период с 1996 по 2006 г., отмечалось 20-кратное увеличение заболеваемости ГЦК [24].

Преобладание ХГС у пациентов с ГЦК привлекло внимание ученых всего мира. Большое количество исследований было призвано изучить влияние ВГС на процесс формирования опухоли, оценить влияние факторов организма-хозяина, особенностей микроорганизма, а также действие противовирусной терапии ХГС на частоту развития этого злокачественного новообразования.

Механизмы онкогенных влияний ВГС до конца не выяснены. По мнению ученых, ХГС может повысить риск развития ГЦК путем переключения передачи сигнала трансформирующего фактора роста гепатоцитов- β с подавления опухолеобразования на фиброгенез [32]. Согласно полученным данным, ГЦК, как правило, развивается после ЦП, что указывает на важную роль длительных процессов некроза и регенерации в его патогенезе. ВГС может влиять на гепатоканцерогенез посредством онкогенных эффектов Сog-протеина, который способен активировать оксидативный стресс [26]. Кроме того, вирус может нарушить сигнальный каскад митоген-активирующих протеинкиназ и активирующего фактора 1, управляя клеточным циклом. Ангиогенез в печени и геномные изменения, которые нарушают регуляцию Jak/STAT пути на ранних стадиях канцерогенеза, могут также провоцировать и поддерживать гепатокарциногенез [20, 33, 43]. Однако причины развития ГЦК при ХГС все еще до конца не ясны, и исследования патологических механизмов, лежащих в основе канцерогенеза при ХГС, продолжаются [34].

В 2010 г. Y. Asahina и соавт. изучали влияние возраста пациентов и противовирусной терапии на риск развития ГЦК [7]. В 7,5-летнее когортное исследование с 1992 г. было включено 2547 больных ХГС, из которых 2166 получали интерферонотерапию. У 177 (7%) леченных пациентов развилась ГЦК. Японские ученые продемонстрирова-

ли, что риск ее развития после 65 лет возрастал более чем в 15 раз. Кроме того, возраст оказался более сильным фактором риска формирования ГЦК при отсутствии ответа на противовирусную терапию, а эрадикация ВГС снижала указанный риск значительно лучше у молодых пациентов, чем у пожилых. В другом исследовании было показано, что возраст не менее сильный фактор риска развития ГЦК у пожилых больных с ВГС, чем отягощенный по ГЦК семейный анамнез [19].

М. Н. Lee и соавт. выявили связь между активностью *аланинаминотрансферазы* (АлАТ) и уровнем вирусной нагрузки у пациентов с ХГС и риском формирования ГЦК [29]. В исследование с 1991 по 2006 г. было включено 925 больных в возрасте от 30 до 65 с положительными анти-ВГС. Мультивариантный регрессионный анализ Коха показал, что кумулятивный риск развития опухоли достоверно возрастал с повышением активности АлАТ в начале исследования — 1,7, 4,2, 13,8% при уровне АлАТ ≤ 15 , 15–45 и ≥ 45 ЕД/л соответственно ($p < 0,001$). Риск возникновения ГЦК также зависел от уровня исходной вирусной нагрузки — 1,1, 6,4 и 14,7% при отрицательном тесте на РНК ВГС, низком уровне и высоком уровне РНК ВГС соответственно ($p < 0,001$). В этом же исследовании было установлено, что ГЦК значительно чаще развивалась у пациентов с 1-м генотипом ВГС по сравнению с остальными генотипами — 12,6 и 4,5% соответственно ($p < 0,001$).

Эти данные были подтверждены и в ряде других исследований. S. Bruno и соавт. в течение 10 с половиной лет наблюдали 163 пациентов с ЦП в исходе ХГС [8]. Диагноз ГЦК устанавливался по данным УЗИ, которое проводилось каждые 6 мес. Авторы также обнаружили, что частота развития ГЦК у больных с 1b генотипом ВГС была выше, чем у пациентов с 2a/c генотипом (42,3 и 19,2%, $p < 0,0001$). Мультивариантный анализ Коха показал: 1b генотип ВГС является независимым фактором риска развития ГЦК (отношение шансов — 3,0 с 95% доверительным интервалом 1,03–4,47). Кроме того, достоверными факторами оказались наличие варикозного расширения вен пищевода, возраст старше 60 лет и мужской пол.

В ходе мета-анализа множества исследований, посвященных этой проблеме, выявлено, что приблизительный риск развития ГЦК в 2,5 раза выше у пациентов с 1b генотипом, чем у больных с другими генотипами ВГС [39]. Что особенно важно: повышение риска формирования ГЦК при 1b генотипе наблюдается и при отсутствии ЦП, а онкогенный потенциал разных генотипов ВГС становится очевидным именно в отсутствие цирроза, который является самостоятельным фактором риска ГЦК.

Было предложено множество гипотез, объясняющих повышение частоты ГЦК при 1-м

генотипе ВГС. Основываются они прежде всего на особенностях структуры генома вируса и процессинга полипротеина. Многочисленные экспериментальные данные доказали, что экспрессия Сog-протеина может привести к гибели гепатоцитов, клеточной трансформации и канцерогенезу [11, 30, 41]. Особый интерес в экспериментальных и клинических исследованиях привлекло влияние точечных мутаций Сog-протеина ВГС — замена аргинина на глицин (Gln 70) в 70 кодоне, лейцина на метионин (Met 91) в 91 кодоне, двойной мутации в обоих кодонах (Gln 70, Met 91) на риск формирования опухоли, ответ на противовирусную терапию, а также на прогрессирование заболевания и смертность от ГЦК [3, 5, 14, 25, 35, 36, 38].

S. Nakamoto и соавт. опубликовали результаты исследования риска развития ГЦК у больных с 1-м генотипом ВГС [36]. Был обследован 361 пациент с ХГС (средний возраст $50,5 \pm 12,2$ года), которым с 1986 по 1998 г. была проведена биопсия печени. В исследование не включались лица, ранее получавшие *интерферонотерапию* (ИФН-терапию), а также пациенты с ХГВ, аутоиммунным гепатитом, первичным билиарным циррозом, гемахроматозом, болезнью Вильсона, лекарственным гепатитом. Диагноз ГЦК выставлялся по данным ультразвукового исследования, компьютерной и магнитно-резонансной томографии. Противовирусная терапия проводилась 275 (76%) больным.

У 216 из 287 пациентов, которым был выполнен анализ аминокислотных последовательностей Сog-протеина ВГС 1b генотипа, были выявлены мутации в 70 и/или 91-м доменах: у 129 — в 70-м и у 158 — в 91-м. Вызывает интерес обнаруженное в ходе исследования резкое снижение частоты дикого Сog-протеина у пациенток старше 60 лет (ниже 10%), в то время как во всех остальных возрастных группах этот показатель у женщин достигал не менее 25% и был выше, чем у мужчин.

Общая частота развития ГЦК составила 22,7%, причем в течение 5 лет — 9,5%, 10 лет — 22,9%, 15 лет — 30,9%. Неудивительно, что число случаев ГЦК повышалось в зависимости от стадии фиброза в начале исследования (по результатам биопсии печени): 6,6, 30,5, 44,2 и 52,8% при F0–1, F2, F3 и F4 стадиях соответственно. У пациентов с диким типом Сog-протеина формирование опухоли отмечено в 14,8% случаев, частота ее развития в течение 15 лет составила 26,6%. В группе больных с мутантным типом Сog-протеина частота развития ГЦК достигала 24,1% (у 52 из 216 больных), а в течение 15 лет — 38%.

Средний показатель формирования ГЦК зависел и от ответа на стандартную ИФН-терапию. Так, в группе пациентов, достигших *устойчивого вирусологического ответа* (УВО) он составил 5,5%, в то время как у не достигших УВО —

27,2%, что даже несколько выше, чем у лиц, не получивших противовирусную терапию (26,7%).

На основании полученных в исследовании данных был проведен мультивариантный анализ Коха, который позволил выявить следующие факторы риска ГЦК у больных ХГС: мужской пол, возраст ≥ 50 лет, две и более стадии фиброза, отсутствие УВО, уровень *аспартатамино-трансферазы* (АсАТ) более 90 МЕ/л, отношение АсАТ/АлАТ $\geq 0,8$, мутантный тип Сog-протеина.

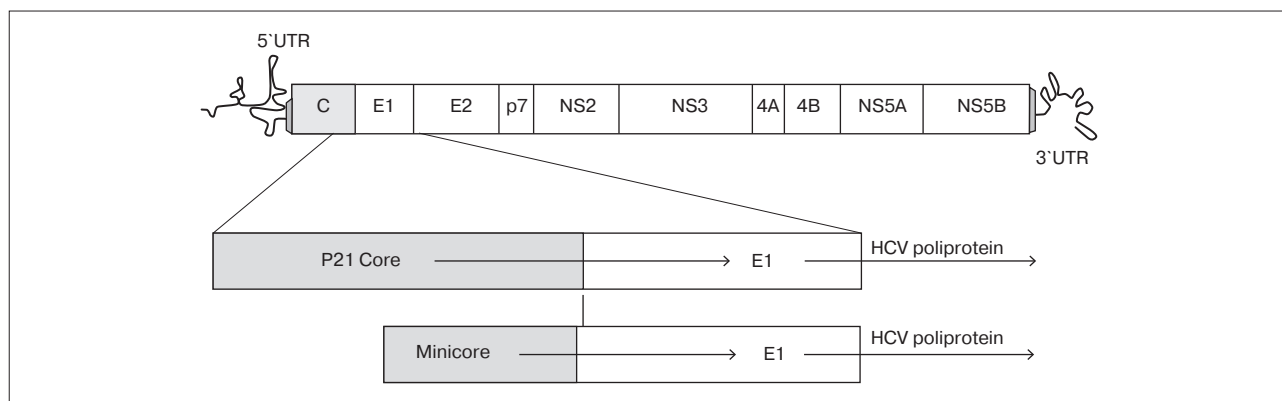
M. Kobayashi и соавт. также изучали взаимосвязь между мутациями в 70 и 91 кодонах Сog-протеина 1b генотипа ВГС, частотой развития ГЦК и ответом на противовирусную терапию [25]. В исследование по влиянию полиморфизма аминокислотных последовательностей Сog-протеина на прогрессирование заболеваний печени за период с 1966 по 2008 г. было включено 1097 больных ХГС, ранее не получавших противовирусное лечение. Период наблюдения составил от 3 до 8 мес. У 778 (70,9%) пациентов имелся ХГ, у 221 (20,1%) — ЦП, у 98 (8,9%) — ГЦК. У 412 (37,6%) больных выявлен дикий тип Сog-протеина ВГС 1b генотипа, у 284 (25,9%) — мутантный по 70-му домену, у 221 (20,1%) — мутантный по 91-му домену и у 180 (16,4%) — двойной мутантный тип.

Результаты исследования показали повышение частоты мутантных форм Gln 70 с возрастом пациентов (63,4 и 36,4% в возрастных группах 41–83 года и 19–30 лет соответственно, $p < 0,001$). Мутантный тип Gln 70 встречался гораздо чаще у пациентов с ГЦК по сравнению с больными ХГ и ЦП (53,1, 32,6 и 43,0% соответственно, $p < 0,001$). Кроме того, обнаружено достоверное увеличение частоты мутаций в случаях повышения начального уровня *гамма-глутамилтранспептидазы* (ГГТП) — 49,5 и 29,0% при значениях > 110 и < 60 МЕ/л соответственно, $p < 0,001$ и тромбоцитопении (43,2 и 32,2% при уровне тромбоцитов ≤ 12 и $\geq 21 \times 10^3/\text{mm}^3$ соответственно, $p = 0,008$).

Моновариантный анализ выявил факторы, ассоциированные с мутацией Gln 70 у пациентов, инфицированных ВГС 1b генотипа: активность АсАТ ≥ 58 МЕ/л, ГГТП ≥ 61 МЕ/л и наличие ГЦК. Мультивариантный анализ исключил из этого списка уровень АсАТ.

Таким образом, было показано, что частота мутаций Сog-протеина в 70-м кодоне с заменой аргинина на глицин у больных с 1b генотипом ВГС увеличивается с возрастом и при сочетании с высоким уровнем АсАТ и ГГТП — это способствует прогрессированию заболеваний печени с развитием ГЦК.

То, как именно мутации Сog-протеина могут влиять на канцерогенез, до недавнего времени оставалось неизвестным. Ситуация изменилась с открытием ранее неизвестного белка ВГС — 91-minicore [2], который называется также p8



Модель синтеза полипротеина вируса гепатита С под влиянием minicore

и является одним из представителей семейства minicore протеинов ВГС с длиной от 8 до 14 кДа. У 91-minicore имеется С-конец, но отсутствует N-конец классического Core-протеина p21 (см. рисунок). Было доказано, что указанный белок продуцируется в случае, когда под влиянием различных внутренних сигналов рибосомальный синтез белка ВГС начинается с 91-го, а не с 1-го кодона [13]. Также было установлено влияние и 70-го кодона на синтез minicore. Предполагается, что внутренние механизмы, иницирующие экспрессию minicore, могут влиять и на продукцию ВГС-полимеразы, обеспечивая дублирование трансляционной системы, что позволяет выполнить репликацию РНК ВГС даже тогда, когда клеточная противовирусная защита блокировала внутренний рибосомальный сайт связывания (IRES). В ряде исследований было выявлено, что экспрессия minicore может повлиять и на результаты ИФН-терапии, ее противовирусные и антипролиферативные эффекты [10, 16].

Модель синтеза полипротеина вируса гепатита С под влиянием minicore

Y. Funaoka и соавт. изучали влияние ИФН-терапии у пациентов с мутациями в 70/91 доменах Core-протеина 1b генотипа ВГС. Резистентность к терапии у таких пациентов объяснялась наличием нарушений в путях передачи сигнала с ИФН-рецепторов [17]. Интерлейкин-6 (IL-6) активирует фосфорилирование STAT3 и посредством SOCS3-белка подавляет передачу сигнала с ИФН-рецепторов. В эксперименте было установлено, что уровень IL-6 и экспрессия SOCS3 оказались

значительно выше в клеточных культурах, содержащих 70/91-мутантные формы ВГС, чем в культурах с диким типом.

Было продемонстрировано влияние полиморфизма Core-протеина 1b генотипа ВГС, а также гена IL-28B на частоту УВО и при проведении тройной терапии (пегилированный интерферон + рибавирин + телапревир по стандартной схеме) [4]. N. Akuta и соавт. показали, что при наличии благоприятного для ответа на стандартную терапию ТТ генотипа IL-28B полиморфизм Core-протеина не оказывал существенного влияния на показатели УВО при тройной терапии (частота УВО — 84%). Однако в отсутствие данного генотипа мутация Gln 70 ассоциировалась со значительно более низким ответом на тройную терапию, чем при диком типе Core-протеина (УВО — 12 и 50% соответственно).

Заключение

Последние десятилетия ознаменовались множеством исследований, посвященных изучению влияния ХГС на развитие ГЦК. Получено большое количество информации о патогенезе ГЦК, участии ВГС в этом процессе, факторах, влияющих на прогрессирование хронических заболеваний печени и пролиферативных изменений в печеночной ткани. Вместе с тем к настоящему времени удалось ответить лишь на некоторые из возникших перед учеными вопросы. Темные пятна в патогенезе ГЦК, в тонких взаимоотношениях между ВГС и организмом-хозяином, приводящих к развитию злокачественного новообразования в печени, диктуют необходимость дальнейших исследований этой сложной проблемы.

Список литературы

1. Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК): глобальная перспектива. Практические рекомендации. [Электронный ресурс]: Всемирная гастроэнтерологическая организация - Доступ: <http://www.worldgastroenterology.org/hepatocellular-carcinoma.html>
2. *Ahmad J, Eng FJ, Branch AD.* HCV and HCC: clinical update and a review of HCC-associated viral mutations in the core gene. *Semin Liver Dis* 2011; 31(4):347-55.
3. *Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M,* et al. A matched case-controlled study of 48 and 72 weeks of peginterferon plus ribavirin combination therapy in patients infected with HCV genotype 1b in Japan: amino acid substitutions in HCV core region as predictor of sustained virological response. *J Med Virol* 2009; 81(3):452-8.
4. *Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M,* et al. Amino acid substitution in hepatitis C virus core region and genetic variation near the interleukin 28b gene predict viral response to telaprevir with peginterferon and ribavirin. *Hepatology* 2010; 52(2):421-9.
5. *Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y,* et al. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are the important predictor of hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 2007; 46(5):1357-64.
6. *Altekruse SF, McGlynn KA, Reichman ME.* Hepatocellular carcinoma incidence, mortality, and survival trends in the United States from 1975 to 2005. *J Clin Oncol* 2009; 27(9):1485-91.
7. *Asahina Y, Tsuchiya K, Tamaki N.* Effect of aging on risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2010; 52(2):518-27.
8. *Bruno S, Crosignani A., Maisonneuve P,* et al. Hepatitis C virus genotype 1b as a major risk factor associated with hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: a seventeen-year prospective cohort study. *Hepatology* 2007; 46(5):1350-6.
9. *Chen CJ, Yang HI, Iloeje UH.* Hepatitis B virus DNA levels and outcomes in chronic hepatitis B. *Hepatology* 2009; 49 (suppl 5):72-84.
10. *Chen HM, Tanaka N, Mitani Y,* et al. Critical role for constitutive type I interferon signaling in the prevention of cellular transformation. *Cancer Sci* 2009; 100(3):449-56.
11. *Chen RF, Li ZH, Liu RY,* et al. Malignant transformation of the cultured human normal biliary tract epithelial cells induced by hepatitis C virus core protein. *Oncol Rep* 2007; 17(1):105-10.
12. *Donato F, Tagger A, Gelatti U,* et al. Alcohol and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women. *Am J Epidemiol* 2002; 155(4):323-31.
13. *Eng FJ, Walewski JL, Klepper AL,* et al. Internal initiation stimulates production of p8 minicore, a member of a newly discovered family of hepatitis C virus core protein isoforms. *J Virol* 2009; 83(7):3104-14.
14. *Enomoto N, Maekawa S.* HCV genetic elements determining the early response to peginterferon and ribavirin therapy. *Intervirology* 2010; 53(1):66-9.
15. *Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I,* et al. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology* 2004; 127 (suppl 5):35-50.
16. *Fridman AL, Tainsky MA.* Critical pathways in cellular senescence and immortalization revealed by gene expression profiling. *Oncogene* 2008; 27(46):5975-87.
17. *Funaoka Y, Sakamoto N, Suda G,* et al. Analysis of interferon signaling by infectious hepatitis C virus clones with substitutions of Core amino acids 70 and 91. *J Virol* 2011; 85 (12):5896-994.
18. *Hashem B.* Viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. Viral hepatitis: five decades of progress and promises for the future. Postgraduate course. AASLD. 2010.
19. *Hassan MM, Spitz MR, Thomas MB,* et al. The association of family history of liver cancer with hepatocellular carcinoma: a case-control study in the United States. *J Hepatol* 2009; 50(2):334-41.
20. *Huang XX, McCaughan GW, Shackel NA,* et al. Up-regulation of proproliferative genes and the ligand/receptor pair placental growth factor and vascular endothelial growth factor receptor 1 in hepatitis C cirrhosis. *Liver international* 2007; 27(7):960-8.
21. *Ikeda K, Marusawa H, Osaki Y,* et al. Antibody to hepatitis B core antigen and risk for hepatitis C-related hepatocellular carcinoma: a prospective study. *Ann Intern Med* 2007; 146(9):649-566.
22. *Inoue M, Kurahashi N, Iwasaki M,* et al. Metabolic factors and subsequent risk of hepatocellular carcinoma by hepatitis virus infection status: a large-scale population-based cohort study of Japanese men and women (JPHC Study Cohort II). *Cancer Causes Control* 2005; 16(5):741-50.
23. *Inoue M, Yoshimi I, Sobue T,* et al. Influence of coffee drinking on subsequent risk of hepatocellular carcinoma: a prospective study in Japan. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(4):293-300.
24. *Kanwal F, Hoang T, Kramer JR,* et al. Increasing prevalence of HCC and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2011; 140(4):1182-8.
25. *Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F,* et al. Influence of amino acid polymorphism in the core protein on progression of liver disease in patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol* 2010; 82:41-8.
26. *Koike K.* Hepatitis C virus contributes to hepatocarcinogenesis by modulating metabolic and intracellular signaling pathways. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22:108-11.
27. *Kurahashi N, Inoue M, Iwasaki M,* et al. Isoflavone consumption and subsequent risk of hepatocellular carcinoma in a population-based prospective cohort of Japanese men and women. *Int J Cancer* 2009; 124(7):1644-9.
28. *Larsson SC, Wolk A.* Coffee consumption and risk of liver cancer: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2007; 132(5):1740-5.
29. *Lee MH, Yang HI, Lu SN,* et al. Hepatitis C virus seromarkers and subsequent risk of hepatocellular carcinoma: long-term predictors from a community-based cohort study. *J Clin Oncol* 2010; 28(30):4587-93.
30. *Li ZH, Tang QB, Wang J,* et al. Hepatitis C virus core protein induces malignant transformation of biliary epithelial cells by activating nuclear factor-kappaB pathway. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25(7):1315-20.
31. *Liver Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2008 Summary. GLOBOCAN 2008. Cancer fact sheet [Электронный ресурс] - International agency for research on cancer. World health organization. - Доступ: <http://globocan.iarc.fr>*
32. *Matsuzaki K, Murata M, Yoshida K,* et al. Chronic inflammation associates with hepatitis C virus infection perturbs hepatic transforming growth factor-beta signaling, promoting cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2007; 46(1):48-57.
33. *Mazzanti R, Messerini L, Comin CE,* et al. Liver angiogenesis as a risk factor for hepatocellular carcinoma development in hepatitis C virus cirrhotic patients. *World Journal of Gastroenterology* 2007; 13(37):5009-14.
34. *McGivern DR, Lemon SM.* Tumor suppressors, chromosomal instability, and hepatitis C virus-associated liver cancer. *Annu Rev Pathol* 2009; 4:399-415.
35. *Mori N, Imamura M, Kawakami Y,* et al. Hiroshima Liver Study Group. Randomized trial of high-dose interferon-alpha-2b combined with ribavirin in patients with chronic hepatitis C: Correlation between amino acid substitutions in the core/NS5A region and virological response to interferon therapy. *J Med Virol* 2009; 81(4):640-9.
36. *Nakamoto S, Imazeki F, Fukai K,* et al. Association between mutations in the core region of hepatitis C virus genotype 1 and hepatocellular carcinoma development. *J Hepatol* 2010; 52:72-8.

37. *Nkontchou G, Bastard JP, Ziol M*, et al. Insulin resistance, serum leptin, and adiponectin levels and outcomes of viral hepatitis C cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 53(5):827-33.
38. *Ogura S, Akuta N, Hirakawa M*, et al. Virological and biochemical features in elderly HCV patients with hepatocellular carcinoma: amino acid substitutions in HCV core region as predictor of mortality after first treatment. *Intervirology* 2009; 52(4):179-88.
39. *Raimondi S, Bruno S, Mondelli MU*, et al. Hepatitis C virus genotype 1b as a risk factor for hepatocellular carcinoma development: a meta-analysis *J Hepatol*; 2009; 50(6):1142-54.
40. *Raza SA, Clifford GM, Franceschi S*. Worldwide variation in the relative importance of hepatitis B and hepatitis C viruses in hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Br J Cancer* 2007; 96(7):1127-34.
41. *Smirnova IS, Aksenov ND, Kashuba EV*, et al. Hepatitis C virus core protein transforms murine fibroblasts by promoting genomic instability. *Cell Oncol* 2006; 28(4):177-90.
42. Surveillance, epidemiology, and end results (SEER) program SEER Start Database: incidence — SEER 9 Reg Reserch Data, Nov 2009 Sub (1973-2007), National Cancer institute, DCCPS, Surveillance research program cancer statistics branch, realeased april 2010, based on the November 2009 submission. 2010. Ref Type: Generic. (www.seer.cancer.gov).
43. *Wurmbach E, Chen YB, Khitrov G*, et al. Genome-wide molecular profiles of HCV-induced dysplasia and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2007; 45(4):938-47.
44. *Yang HI, Yeh SH, Chen PJ*, et al. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(16):1134-43.