

# Таргетное действие глюкозамина сульфата при сочетании остеоартрита и опухолевой патологии

К.ф.-м.н. И.Ю. Торшин<sup>1,2</sup>, д.м.н. О.А. Громова<sup>1,2</sup>, профессор А.М. Лиля<sup>3</sup>, профессор А.Г. Назаренко<sup>4</sup>, д.м.н. И.С. Романов<sup>5</sup>, Л.Э. Федотова<sup>1,2</sup>, А.Г. Калачева<sup>1,2</sup>, И.В. Гоголева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ ИУ РАН, Москва

<sup>2</sup>ЦХАБД, ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

<sup>3</sup>ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, Москва

<sup>4</sup>ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва

<sup>5</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

## РЕЗЮМЕ

Глюкозамина сульфат (ГС), используемый в терапии заболеваний суставов, способствует ингибированию провоспалительного фактора транскрипции NF-κB.

**Цель исследования:** изучить потенциальные эффекты воздействия ГС на кином (совокупность всех ферментов-киназ) человека.

**Материал и методы:** дозозависимый хемокиномный анализ воздействия ГС на активность 297 ферментов киназ был проведен с использованием методов теории анализа размеченных графов и топологической теории анализа плохо формализованных задач распознавания. Для осуществления хемокиномного моделирования использованы теории хемографов, методологии хемоинформационного и хемореактомного анализа.

**Результаты исследования:** результаты киномных экспериментов в базе данных Proteomics DB представлены в виде таблиц, в столбцах которых приведены киназы человека, а в строках — соответствующие молекулы, активность которых была исследована относительно изучаемого набора киназ. В таблице приведены изменения активности киназ при воздействии молекулы ГС. Каждой такой «таблице хемокиномного эксперимента» соответствует (1) метод определения активности киназы и (2) фиксированная концентрация воздействующих молекул (1, 3, 10, 100, 1000 нмоль/л и др.).

ГС может ингибировать активность 31 киназы человека со значениями констант ингибирования (EC50) в субмикромольном диапазоне. Подавление активности киназ MAP3K3, PDPK1, IKKε соответствует альтернативным путям ингибирования NF-κB посредством ГС. Ингибируя активность циклинзависимых киназ CDK4, CDK6 и др., ГС тормозит гиперпролиферативные процессы, а ингибирование киназ CHEK1, Src и PRKCD стимулирует апоптоз опухолевых клеток. Получены кривые дозозависимого изменения уровней провоспалительного цитокина ФНО-α и противовоспалительного интерлейкина-10 под воздействием ГС, подтверждающие результаты хемокиномного анализа.

**Заключение:** ГС ингибирует установленный профиль киназ, что целесообразно в рамках комбинированной противоопухолевой терапии лейкоза, рака молочной железы, толстого кишечника, меланомы, немелкоклеточного рака легких. Ингибирование данной выборки киназ способствует снижению избыточного ангиогенеза, препятствует метастазированию и развитию резистентности к химиотерапии.

**Ключевые слова:** кином человека, антипролиферативное действие, глюкозамина сульфат, Сустагард® артро.

**Для цитирования:** Торшин И.Ю., Громова О.А., Лиля А.М. и др. Таргетное действие глюкозамина сульфата при сочетании остеоартрита и опухолевой патологии. РМЖ. 2019;1(\*):1–9.

## ABSTRACT

Glucosamine sulfate targeted effect with a combination of osteoarthritis and tumor pathology

I.Yu. Torshin<sup>1,2</sup>, O.A. Gromova<sup>1,2</sup>, A.M. Lila<sup>3</sup>, A.G. Nazarenko<sup>4</sup>, I.S. Romanov<sup>5</sup>, L.E. Fedotova<sup>1,2</sup>, A.G. Kalacheva<sup>1,2</sup>, I.V. Gogoleva<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Center "Informatics and Management" of the Russian Academy of Sciences, Moscow

<sup>2</sup>Big Data Storage and Analysis Center of the Lomonosov Moscow State University

<sup>3</sup>V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow

<sup>4</sup>Burdenko National Medical Research Center for Neurosurgery, Moscow

<sup>5</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow

Glucosamine sulfate (GS), used in the treatment of joints diseases, contributes to the pro-inflammatory transcription factor NF-κB inhibition.

**Aim:** to study the GS potential effects on human kinome (the sum of all kinase enzymes).

**Patients and Methods:** a dose-dependent chemokine analysis of GS effect on 297 kinase enzymes activity was carried out using the analysis theory methods of labeled graphs and the topological analysis theory of poorly formalized recognition problems. To implement chemokine modeling, chemographs theories, chemoinformatic and chemoreactomy analysis methods were used.

**Results:** kinom experiments results in the Proteomics DB database are presented in tables, in the columns of which human kinases are shown, and in rows — the corresponding molecules, the activity of which was studied relative to the examined kinases set. The table shows the changes in the kinases activity when exposed to the MGS molecule. Each such "chemokine experiment table" corresponds to (1) a method for determining the kinase activity and (2) an acting molecules fixed concentration (1, 3, 10, 100, 1000 nmol /l, etc.).

GS can inhibit the 31 human kinases activity with inhibition constant values (EC50) in the submicromolar range. Kinases (MAP3K3, PDPK1, IKKε) activity suppression corresponds to alternative inhibiting NF-κB ways by means of GS. Inhibiting the activity of cyclin-dependent kinases (CDK4, CDK6 and others), GS inhibits hyperproliferative processes, and the CHEK1, Src and PRKCD kinases inhibition stimulates

tumor cells apoptosis. Dose-dependent changes in the levels of proinflammatory cytokine TNF- $\alpha$  and anti-inflammatory interleukin-10 under the GS influence were obtained, confirming the chemokine analysis results.

**Conclusion:** established profile inhibition of glucosamine sulfate kinases is advisable as part of the combined antitumor therapy for leukemia, breast cancer, colon cancer, melanoma, non-small cell lung cancer. This kinase sampling inhibition also contributes to the reduction of excessive angiogenesis, overcoming metastasis and tolerance to chemotherapy.

**Keywords:** human kinom, antiproliferative effect, glucosamine sulfate, Sustaguard® artro.

**For citation:** I.Yu. Torshin, Gromova O.A., Lila A.M. et al. Glucosamine sulfate targeted effect with a combination of osteoarthritis and tumor pathology. RMJ. 2019;1(\*):2–9.

## ВВЕДЕНИЕ

Хроническое неспецифическое воспаление является патогенетической основой многих коморбидных заболеваний, сопровождающих старение (ишемическая болезнь сердца, хроническая ишемия мозга, сахарный диабет, остеоартрит, опухолевые заболевания). Поэтому комплексное терапевтическое воздействие на хроническое воспаление дает положительные клинические результаты при самых разных сочетаниях патологий.

Например, лечение остеоартрита (ОА) неразрывно связано с долговременной терапией хондропротекторами глюкозамина сульфатом (ГС) и хондроитина сульфатом (ХС). Глюкозамина сульфат (M01AX05 глюкозамин) — хондропротектор, проявляющий противовоспалительные эффекты, связанные с ингибированием транскрипционного фактора NF-kB [1]. Кроме того, ГС протигиводействует развитию саркопении [2], проявляет антиаллергическое [3], нейропротекторное и антипролиферативное [4] действие. Соответственно, использование ГС у пациентов с ОА в сочетании, например, с саркопенией или с опухолевыми заболеваниями не будет по меньшей мере способствовать прогрессированию этих коморбидных патологий. Более того, когортное исследование показало, что прием стандартизированного микрокристаллического ГС (мГС) и ХС вместе или по отдельности способствует снижению риска колоректального рака в среднем на 21% (относительный риск 0,79; 95% ДИ 0,63–1,00) [5].

Разносторонние эффекты мГС (хондропротекторный, противовоспалительный, антипролиферативный) обуславливают актуальность постгеномных исследований препарата, которые позволяют оценить весь комплекс его воздействия на клетки человека. В рамках постгеномного подхода эффективность и безопасность лекарств изучаются в контексте воздействия на *геном* (совокупность всех генов), *транскриптом* (совокупность всех мРНК), *протеом* (совокупность всех белков организма), *метаболом* (совокупность всех метаболитов организма) и *реактом* (совокупность всех химических реакций организма). Эффекты ПС на транскриптом фибробластов человека [6], протеом [7] и реактом человека [8] были исследованы методом хемоинформационного анализа.

Особой частью протеома является *кином*, т. е. совокупность всех ферментов-киназ, которые таргетно фосфорилируют остатки серина, треонина или тирозина в определенных сигнальных белках. В киноме человека представлено 518 киназ. Важность кинома в современной фармакологии обусловлена тем, что киназы непосредственно участвуют в поддержании *процессов внутриклеточной передачи сигнала от рецепторов*, расположенных на клеточной мембране. Нарушения активности киназ вносят существенный вклад в патогенез хронической патологии (прежде всего системного воспаления и опухолевых заболеваний).

Многие из киназ человека являются таргетными белками для рапамицина и новейших противоопухолевых препа-

ратов (иматиниб, сорафениб, гефитиниб, эрлотиниб и др.). За последние 20 лет именно кином человека стал основным объектом выбора таргетных белков для дизайна перспективных лекарств. К настоящему времени *37 ингибиторов киназ являются известными препаратами* и более 250 молекул-кандидатов проходят клиническое тестирование.

Известные ингибиторы киназ существенно различаются по селективности взаимодействия с киномом человека, что обуславливает широкий спектр побочных эффектов уже существующих ингибиторов киназ (прежде всего, гепато- и кардиотоксичность). Поэтому *любое лекарство крайне важно характеризовать с точки зрения его воздействия на кином человека*, что позволяет получить более объективную картину действия исследуемой молекулы.

Информация о киноме человека, накопленная в Proteomics DB [9] и в других протеомных базах данных, весьма обширна. Современные методы прикладной математики в применении к информации о киноме позволяют осуществлять достоверное и верифицируемое прогнозирование эффектов различных молекул на кином человека. На основании теории анализа размеченных графов, теории метрического анализа данных, комбинаторной теории разрешимости [10] и топологической теории анализа плохо формализованных задач [11, 12] нами разработаны уникальные методы хемопротеомики (прогнозирования эффектов молекул-лигандов на протеом человека) и хемокиномики (прогнозирование эффектов молекул на активность киназ, являющихся таргетными белками перспективных лекарств) [12–16].

В настоящей работе представлены результаты хемокиномного анализа дозозависимых эффектов ингибирования мГС на 297 киназ из кинома человека. Для каждой из киназ были получены кривые ингибирования в координатах активность—концентрация, константы ингибирования EC50, степень снижения активности каждой из киназ при фиксированной концентрации молекул. Получены кривые дозозависимого изменения уровней провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  и противовоспалительного интерлейкина-10 (ИЛ-10).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Результаты киномных экспериментов в базе данных Proteomics DB представлены в виде таблиц, в столбцах которых приведены киназы человека, а в строках — соответствующие молекулы, активность которых была исследована относительно изучаемого набора киназ. В таблице приведены изменения активности киназ при воздействии молекулы мГС.

Каждой такой «таблице хемокиномного эксперимента» соответствует (1) метод определения активности киназы и (2) фиксированная концентрация воздействующих молекул (1, 3, 10, 100, 1000 нмоль/л и др.). Таким образом, при заданном методе измерения активности киназ (колориметрия, радиоактивные метки, протеомная технология

Kinobead+MS и др.) и концентрации тестируемого вещества каждый столбец такой таблицы соответствует химической реакции «Субстрат<sub>i</sub> → Продукт», в результате которой субстрат *i*-ой киназы преобразуется в другую молекулу.

Следовательно, данные, содержащиеся в таком столбце таблицы **T** кинемного эксперимента (которая включает информацию об изменении активности *N* киназ при воздействии *n* молекул), могут рассматриваться как описание определенного элемента реактома (совокупности всех химических реакций в организме человека). Соответственно, становится возможным применение теории хемографов [13], методологии хемоинформационного [14] и хемореактомного анализа [15, 16] для осуществления хемокиномного моделирования.

Данные, представленные в столбцах **g<sub>r</sub>**, обрабатываются методами хемоинформационного анализа, основанными на комбинаторной теории разрешимости и метрическом анализе данных [12–16]. В применении к анализу хемографов практически важны теорема о полноте коротежей инвариантов произвольного хемографа и теорема соответствия критерия полноты инварианта критерию разрешимости/регулярности [10], на основании которых становятся возможными определение и настройка (т. е. машинное обучение) метрик (функций расстояния) между хемографами.

В целом на первом этапе хемокиномного анализа для *i*-ой киназы, описываемой столбцом **g<sub>r</sub>** таблицы **T**, проводилось обучение алгоритмов для вычисления химических расстояний  $d_x$ . Алгоритм обучения (модель обучения) выбирался из заданного набора моделей (см. пятый этап ниже).

На втором этапе для исследуемой молекулы **X** рассчитывали расстояния  $d_x(\mathbf{X}, \mathbf{X}_j)$ . Затем для каждой *j*-ой молекулы по формуле  $\Delta_{xj} = d^{-1}(d_x, \Delta_{ij})$  вычисляли оценки искомого изменения активности, а точность вычисления  $\Delta_x$  — как стандартное отклонение  $\hat{\phi}(x)A$ . Представленные далее в таблицах и рисунках оценки изменений активности различных констант были получены как математическое ожидание и дисперсия соответствующей эмпирической функции распределения.

На третьем этапе для исследуемой молекулы со структурой **X** для каждой киназы вычисляли оценки  $\Delta_x(c_m)$  при различных концентрациях  $c_m$  исследуемой молекулы, т. е. строили кривые ингибирования. Графики в координатах  $\{\Delta_x(c_m), c_m\}$  анализировали методами регрессионного анализа и выявляли достоверные дозозависимые тренды изменения активности в зависимости от  $c_m$ . Отбирались только те кривые  $\Delta_x(c_m)$ , которые описаны достоверными трендами ( $P < 0,05$  по критерию Колмогорова — Смирнова) во всем диапазоне исследуемых концентраций (1...30 000 нмоль/л).

На четвертом этапе на основе кривых ингибирования мГС производили расчет констант ингибирования  $EC50$  для каждой из киназ. Для каждой кривой  $\{\Delta_x(c_m), c_m\}$  определяли значения *b* (плато подгонки кривой снизу, условно — минимальное значение активности) и *t* (максимальная остаточная привязка активности сверху, условно — максимальное значение активности) [17]. Затем значение  $EC50$  как точки перегиба кривой  $\{\Delta_x(c_m), c_m\}$  определяли посредством регрессионного анализа формулы:

$$\Delta_x(c_m) = b + \frac{t - b}{1 + e^{s(\ln(c_m) - EC50)}},$$

т. е. ,

$$EC50 = \ln(c_m) - \frac{1}{s} \ln\left(\frac{t - b}{\Delta_x(c_m) + b} - 1\right),$$

где *s* — наклон касательной к кривой в точке перегиба (которая соответствует значению константы  $EC50$ ). Значения *s* и  $EC50$  находили посредством линейной регрессии в координатах  $\{\ln(c_m), \ln\left(\frac{t - b}{\Delta_x(c_m) + b} - 1\right)\}$ .

На пятом этапе процедура, описанная как этапы 1–4, повторялась для каждой модели обучения из заданного набора моделей: нейронные сети различных архитектур (двухслойные сети, многослойные перцептроны, сети радиальных базисных функций), машины поддерживающих векторов, метод ближайшего соседа, решающие деревья/списки, методы голосования, метод логических правил. Всего было использовано 8 моделей, так что для каждой киназы были получены 8 кривых ингибирования и, соответственно, до 8 оценок значения констант ингибирования  $EC50$  (может быть меньше 8, в зависимости от статистической достоверности трендов, полученных на третьем этапе).

На шестом этапе проводилось усреднение результатов, полученных для разных моделей. В результате для исследуемой молекулы со структурой **X** вычислялись  $EC50_y$  (единая оценка значения  $EC50$ ) и  $\sigma(EC50_y)$  (значение стандартного отклонения  $EC50_y$ ).

На седьмом этапе осуществляли расчеты ранга релевантности (качества) полученных оценок констант  $EC50$  для каждой из киназ. Для этого сначала проводили «прямые» теоретические расчеты константы  $EC50$  для молекулы **X** методом хемоинформационного анализа [12–14] с получением значения  $EC50_r$ . Затем ранг релевантности  $rr_i(\mathbf{X})$  прогноза активности молекулы со структурой **X** по отношению к *i*-ой киназе рассчитывали по формуле

$$rr_i(\mathbf{X}) = \left[ \max\left(\frac{EC50_y}{EC50_r}, \frac{EC50_r}{EC50_y}\right) + \frac{EC50_y}{\sigma(EC50_y)} \right].$$

Значение  $rr_i(\mathbf{X})$  оценивает соответствие независимо полученных оценок значений констант  $EC50_r$  и  $EC50_y$  и качество полученной оценки значений константы  $EC50_y$ . Более низкие значения ранга  $rr_i(\mathbf{X})$  соответствуют более высокому качеству оценки  $EC50_y$ , полученной для ингибирования *i*-ой киназы молекулой **x** (в данном эксперименте — молекулой мГС, действующим началом препарата глюкозамина).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Хемокиномный анализ воздействия молекулы ГС на активность 297 киназ человека показал, что мГС может существенно ингибировать активность 31 из 297 киназ (константы ингибирования в субмикромольном диапазоне). В таблице 1 суммированы основные результаты. Киназы упорядочены по возрастанию значений ранга релевантности  $rr_r$ , который оценивает ранг качества полученных оценок (см. Материал и методы).  $EC50_y$  — оценка  $EC50$ , усредненная по 8 моделям. Расшифровки клинической значимости ингибирования каждой из киназ представлены в таблице 2.

Препарат глюкозамина мГС показал уникальный профиль воздействия на киназы, отличный от профилей уже известных ингибиторов киназ. В частности, ингибируя активность циклинзависимых киназ 4, 6 и др., мГС тормозит пролиферацию, а ингибирование молекулой ГС киназ SNEK1, Src и PRKCD стимулирует апоптоз опухолевых клеток. Суммированные в таблице 1 киназы, ингибируемые молекулой ГС, могут быть подразделены по направлению активности на 5 основных групп:

Таблица 1. Основные результаты хемокиномного анализа молекулы МГС

Киназа	Название	EC50, нМ	г <sub>1</sub>	Биологическая функция киназы
FLT3	Рецептор цитокинов FLT-3	159,5	2	Регулирует дифференцировку, пролиферацию и выживание гемопоэтических клеток-предшественников
PKN2	Протеинкиназа N2 (PKN гамма)	206,1	2	Регулирует пролиферацию, миграцию, инвазию опухолевых клеток
TNIK	TRAF2 и NCK-взаимодействующая протеинкиназа	364,8	2	Активатор сигнального пути Wnt пролиферации клеток
CDK4	Циклинзависимая киназа 4	267,1	2	Регулирует деление клеток в фазе G1/S
AURKA	Аврора киназа А (киназа, усиленная опухолью молочной железы)	345,5	3	Цитокinesis при делении клеток
DDR1	Эпителиальный дискоидин-доменсодержащий рецептор (HGK2)	296,9	3	Регулирует дифференцировку, пролиферацию, прикрепление клеток к коллагену, способствует инвазии опухолевых клеток
MAP2K2	МАРК/ЕРК киназа 2 (МЕК2)	337,7	3	Активация ERK1/2 киназ выживания клеток
CHEK1	Протеинкиназа Chk1	410,8	3	Активация ремонта ДНК, торможение апоптоза опухолевых клеток
EPHA5	Рецептор эфрина-А5	197,8	3	Модулирует адгезию опухолевых клеток к коллагену
RET	Протоонкогенная тирозинпротеинкиназа Рет	438,4	3	Пролиферация, миграция, дифференцировка клеток
FGFR1	Рецептор фактора роста фибробластов 1 (протоонкоген с-Fgr)	469,6	3	Регуляция пролиферации клеток
MNAT1	CDK-активирующий киназный фактор MAT1 (белки p35, p36)	449,4	3	Активирует киназы CDK1/2, CDK4/6, участвующие в делении клеток
CDK3	Циклинзависимая киназа 3	580,0	4	Поддерживает переход фаз G0-G1 и G1-S деления клетки, способствует онкотрансформации
SRC	Протоонкогенная тирозинпротеинкиназа Src	662,4	4	Контролирует иммунный ответ, клеточную адгезию, пролиферацию и апоптоз клеток
CDK13	Циклинзависимая киназа 13	660,0	4	Сплайсинг РНК при гемопоэзе
MAP3-K3	МЕК киназа 3	797,5	4	Активация провоспалительного фактора NF-κB
AURKB	Аврора киназа В	724,7	4	Регулятор деления клеток, обеспечивает сегрегацию хромосом
CDK6	Циклинзависимая киназа 6	649,6	5	Способствует переходу фазы G1/S при пролиферации клеток
PRKCD	Протеинкиназа С дельта	725,9	5	Регуляция апоптоза, активирует киназу ABL1
PLK4	Протеинкиназа PLK4 (киназа Sak)	799,3	5	Репликация центриолей во время деления клеток
CCNT1	Циклин-T1	690,4	5	Регулирует CDK9
PDPK1	3-Фосфоинозитид-протеинкиназа 1 (PDK1)	1234,7	6	Активирует киназы PKB/AKT1, RPS6KB1, PRKACA и передачу сигналов через NF-κB
IKBKE	Ингибитор NF-κB киназы (киназа I-каппа-В, эпсилон IKK-E)	1412,8	6	Активация передачи сигналов NF-κB от воспалительных цитокинов TNFA и IL-1
МАРК-АРК2	МАР киназа-активированная протеинкиназа 2 (МАРКАРК-2, МК-2)	1089,4	6	Репарация ДНК, синтез ФНОα и ИЛ6
PAK4	Протеинкиназа PAK4	1120,0	6	Стимулирует выживание клеток путем фосфорилирования BCL2
CCNH	Циклин-Н (белок p34/p37)	1347,3	6	Активирует киназы CDK1/2, CDK4/6 и РНК-полимеразу II
CDK9	Циклинзависимая киназа 9	1045,4	6	Передача сигналов от ФНОα и ИЛ-6, ингибирование апоптоза опухолевых клеток
TNK2	Активированная CDC42 киназа ACK-1	1495,6	6	Ингибирование опухолевого супрессора WWOX
РТК6	Протеин-тирозинкиназа 6 (киназа опухоли молочной железы BRK)	1172,3	7	Адаптер рецептора эпидермального фактора роста (EGFR)
TGFBR2	TGF-бета рецептор-2	1424,6	7	Контролирует пролиферацию клеток, иммуносупрессию и канцерогенез
EGFR	Рецептор эпидермального фактора роста (протоонкоген ErbB-1)	1269,9	8	Рецептор эпидермального фактора роста, активирует каскады ERK, PI3K-AKT, PLCG-PKC, STAT, NF-κB

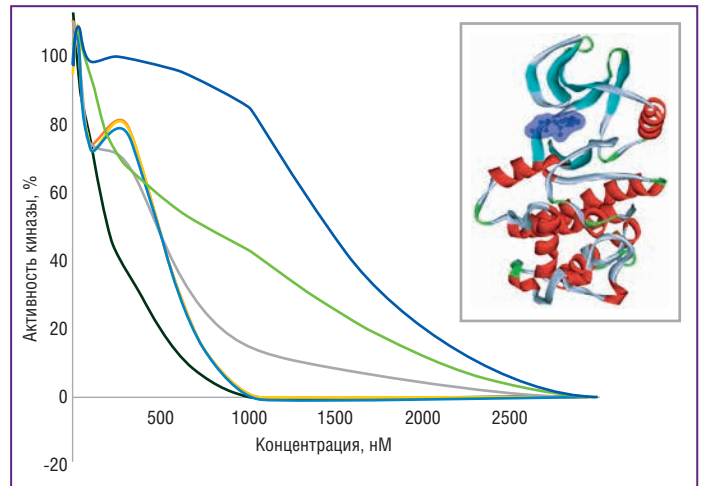
- регулировка дифференцировки, пролиферации, миграции опухолевых клеток (киназы FLT3, RET, FGFR1, TNIK, TNK2, PTK6, TGFB2);
- поддержка цикла клеточного деления (киназы CDK4, AURKA, AURKB, MNAT1, CDK3, CDK13, CDK6, PLK4, CCNT1, CCNH);
- адгезия и инвазия опухолевых клеток (киназы PKN2, DDR1, EPHA5);
- активация путей выживания клеток (киназы MAP2K2, PAK4, CHEK1, PRKCD, SRC, CDK9);
- противовоспалительное действие, ингибирование сигналов в каскаде NF-κB (киназы MAP3K3, PDPK1, IKBKE, MAPKAPK2, CDK9, EGFR).

Результаты с наилучшим качеством (со значениями ранга релевантности, равными 2...3) перечисле-

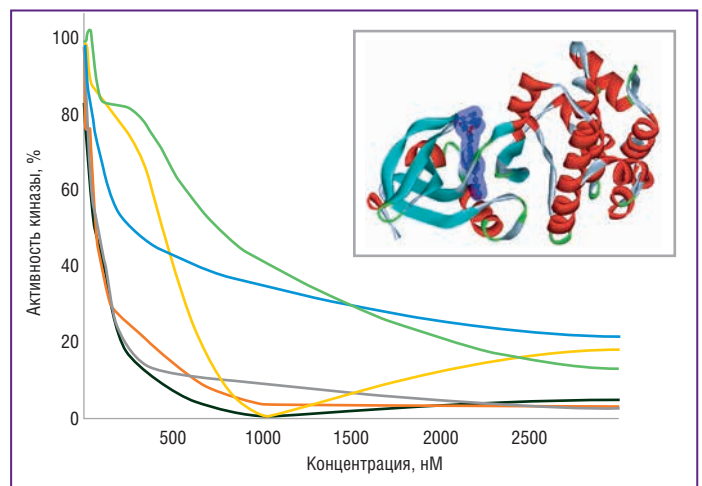
ны в верхней части таблицы 1. Например, киназа FLT3 (EC50=159,5 нМ для ГС, рис. 1) является рецептором цитокина, регулирует дифференцировку, пролиферацию и выживание гемопоэтических клеток-предшественников. Киназа FLT3 способствует активации белка mTOR, ингибирование которого, как известно, характеризуется геропротекторным эффектом. Мутации гена киназы FLT3, которые повышают активность FLT3, способствуют пролиферации клеток, устойчивости к апоптозу и ассоциированы с развитием лейкемии [18, 19]. Ингибиторы FLT3 сунитиниб (3,99 нМ), сорафениб, мидостаурин, лестауртиниб и тандутиниб уже используются при лечении острого миелоидного лейкоза; ингибиторы квизартиниб, креноланиб, гилтеритиниб (12,9 нМ) проходят клинические испытания [20].

**Таблица 2.** Показания к назначению ингибиторов киназ, активность которых снижается при действии молекулы МГС (в соответствии с результатами хемокиномного анализа)

Киназа	EC50, нМ	Показания к назначению ингибиторов
FLT3	159,5	Острый миелоидный лейкоз
CDK4	267,1	Метастатический рак молочной железы
AURKA	345,5	Опухолевые заболевания крови
MAP2K2	337,7	Меланома, колоректальные опухоли
СHEK1	410,8	Нейробластома
EPHA5	197,8	Повышенный ангиогенез
RET	438,4	Немелкоклеточный рак легких
FGFR1	469,6	Холангиокарцинома, солидные опухоли
MNAT1	449,4	Рак молочной железы в постменопаузе
CDK3	580,0	Рак молочной железы
SRC	662,4	Лейкоз
CDK13	660,0	Рак молочной железы и яичников
MAP3K3	797,5	Меланома, немелкоклеточный рак легкого
AURKB	724,7	Лейкоз
CDK6	649,6	Метастазирующий рак молочной железы
PRKCD	725,9	Устойчивость раковых клеток к химиотерапии
PLK4	799,3	Злокачественные рабдоидные опухоли
IKBKE	1412,8	Провоспалительные и опухолевые заболевания
МАРК-АРК2	1089,4	Хроническое воспаление, метастазирование, резистентность к химиотерапии
РАК4	1120,0	Рак молочной железы
CCNH	1347,3	Рак молочной железы
CDK9	1045,4	Острый миелоидный лейкоз
РТК6	1172,3	Рак молочной железы
TGFBR2	1424,6	Снижен противоопухолевый иммунитет
EGFR	1269,9	Немелкоклеточный рак легкого, рак поджелудочной железы, молочной железы, толстого кишечника

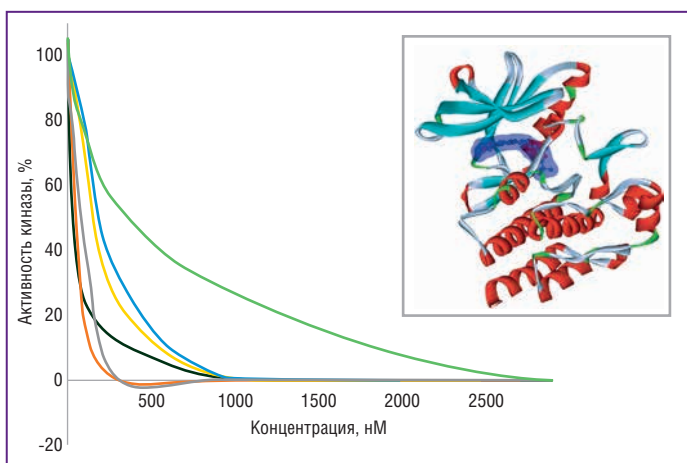


**Рис. 2.** Кривые ингибирования молекулой МГС и пространственная структура киназы CDK4 (модель на основе PDB 3npz)



**Рис. 3.** Кривые ингибирования молекулой МГС и пространственная структура киназы AURKA (модель на основе PDB 2c6e)

На рисунке 1 приведены кривые ингибирования киназы FLT3 молекулой МГС, полученные для разных моделей (см. Методы) и пространственная структура киназы (модель на основе PDB 4rt7). На рисунках 1–7 цвет кривой обозна-

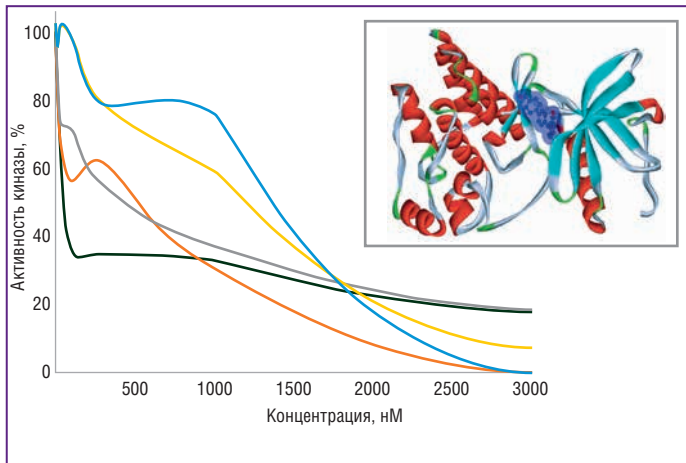


**Рис. 1.** Кривые ингибирования киназы FLT3 молекулой МГС, полученные для разных моделей, и пространственная структура киназы (модель на основе PDB 4rt7)

чает используемые модели машинного обучения для оценки результатов: черная линия — метод «двухслойные нейронные сети», оранжевый — «многослойные перцептроны», серый — нейронные сети радиальных базисных функций, желтый — метод «машины поддерживающих векторов», синий — метод «ближайшего соседа», зеленый — метод «решающие деревья/списки», голубой — методы голосования, темно-оранжевый — метод логических правил. Синим выделена потенциальная область связывания ГС.

**Киназа CDK4** (EC50=267,09 нМ для ГС, рис. 2) так же как и другие циклинзависимые киназы (CDK), регулирует деление клеток в фазе G1/S. Комплексы циклин-D-CDK4 интегрируют эффекты митогенных и антимитогенных сигналов [21]. *Ингибиторы киназ CDK4/6*, используемые в настоящее время для лечения метастатического рака молочной железы, представляют собой абемациклиб (96,55 нМ), регорафениб (112,3 нМ) и др. используются для лечения гормон-рецептор-положительных HER2-отрицательных метастазирующих опухолей молочной железы [22].

**Аврора киназа A AURKA** (EC50=345,52 нМ для ГС, рис. 3) связывается с centrosomой и микротрубочками веретена и имеет важное значение для цитокинеза во время деления клеток. Активирует CDK1 и p53-зависимый каскад



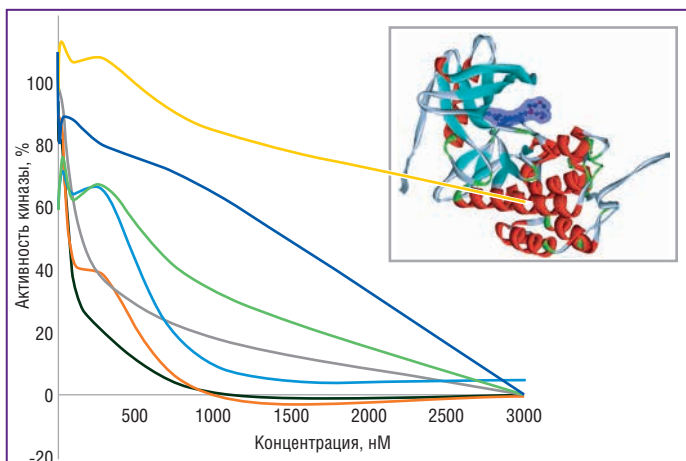
**Рис. 4.** Кривые ингибирования молекулой мГС и пространственная структура киназы FGFR1 (модель на основе PDB 1agw)

онкогенной трансформации клеток [23–25]. *Ингибирование авроры киназы А* молекулами алисертиба (15,2 нМ) и данусертиба (30,7 нМ) перспективно для лечения гематологических опухолевых заболеваний [26].

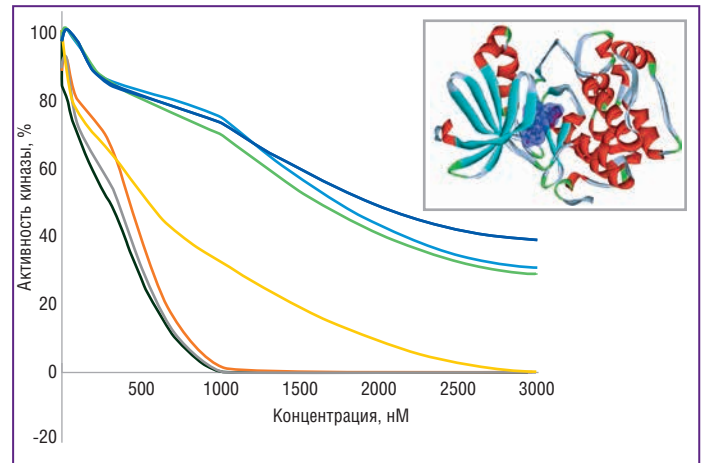
**Киназа DDR1** ( $EC_{50}=296,88$  нМ для ГС) регулирует дифференцировку, выживание, пролиферацию клеток и прикрепление клеток к коллагену внеклеточного матрикса. Повышая уровни матричных металлопротеиназ MMP2, MMP7 и MMP9, киназа DDR1 способствует инвазии опухолевых клеток даже при использовании генотоксических лекарственных средств. Молекулы известных лекарств голватиниба (7,91 нМ), понатиниба (28,98 нМ), иматиниба (34,61 нМ) являются *ингибиторами* DDR1 [29].

**Киназа FGFR1** ( $EC_{50}=469,61$  нМ для ГС, рис. 4), являясь рецептором фактора роста фибробластов, участвует в регуляции пролиферативных процессов, дифференцировке и передаче сигналов по каскадам выживания клетки RAS, ERK1/2 (MAPK1/3), AKT1 [30]. *Ингибиторы* киназы FGFR1 инфигратиниб, данусертиниб (110 нМ) и довитиниб (329 нМ) могут использоваться для лечения холангиокарциномы и солидных опухолей [31].

В таблице 2 суммированы показания к назначению ингибиторов каждой из киназ, приведенных в таблице 1, которые ингибируются молекулой мГС в соответствии



**Рис. 6.** Кривые ингибирования молекулой ГС и пространственная структура киназы EGFR (модель на основе PDB 1m17)



**Рис. 5.** Кривые ингибирования молекулой мГС и пространственная структура киназы PDPK1 (модель на основе PDB 1uu8)

с результатами хемокинового анализа. Ингибиторы этих киназ используются в комбинированной противоопухолевой терапии *лейкоза, рака молочной железы, толстого кишечника, меланомы, немелкоклеточного рака легких*. Кроме того, ингибирование данной выборки киназ способствует *снижению избыточного ангиогенеза, преодолению метастазирования и резистентности к химиотерапии*. Ингибирование некоторых из этих киназ способствует *снижению хронического воспаления*.

Хемокиновый анализ указал на *ингибирование киназ MAP3K3, PDPK1, IKKε* как новые механизмы *ингибирования фактора NF-κB посредством мГС*.

**Киназа MAP3K3** ( $EC_{50}=797,5$  нМ для ГС) стимулирует активацию провоспалительного фактора NF-κB [32]. *Ингибиторы MAP3K3* траметиниб и кобиметиниб применяются для лечения меланомы и немелкоклеточного рака легкого [33].

**Киназа PDPK1** ( $EC_{50}=1234,7$  нМ для ГС, рис. 5) активирует киназы PKB/AKT1, рибосомные протеинкиназы RPS6KB1 и RPS6KA, цАМФ-зависимую протеинкиназу PRKACA, протеинкиназы PRKCD и PRKCZ, *передачу сигналов через NF-κB*, также контролируя пролиферацию клеток [34, 35]. Инактивация киназы PDPK1 в эксперименте на мышцах способствовала повышению противоопухолевого иммунитета [36].

**Киназа IKKε** ( $EC_{50}=1412,8$  нМ для мГС препарата глюкозамина) является ингибитором киназы NF-κB, вовлечена в процесс активации передачи сигналов через NF-κB от воспалительных цитокинов ФНО-α и ИЛ-1 и защищает клетки от апоптоза, вызванного повреждением ДНК [37]. *Ингибирование* киназы IKKε исследуется как метод воздействия на патогенез хронического неспецифического воспаления [38] (нинтеданиб — 278 нМ, момелотиниб — 321 нМ), ассоциированного в т. ч. и с повышенным риском опухолевых заболеваний.

**Киназа EGFR** ( $EC_{50}=1269,9$  нМ для ГС, рис. 6) — рецептор эпидермального фактора роста, известный также как протоонкоген ErbB-1. Киназа EGFR активирует сигнальные каскады выживания клетки (ERK, PI3K-AKT, PLCG-PKC) и провоспалительные сигнальные каскады (STAT, NF-κB) [39]. *Ингибиторы EGFR* (афатиниб — 3,0 нМ, нератиниб — 42 нМ, лапатиниб — 64,5 нМ, гефитиниб — 521 нМ и др.) используются для лечения немелкоклеточного рака легкого, молочной железы, поджелудочной железы и толстого кишечника [40].

# ХОНДРОГАРД® и СУСТАГАРД® АРТРО

## СТАРТ-терапия остеоартрита и остеохондроза

- **СТАРТ-терапия<sup>1,2,3,4</sup>:**  
схема чередования парентеральных форм хондроитина сульфата и глюкозамина сульфата
- **Базисная терапия<sup>5</sup>:**  
пероральный глюкозамина сульфат в виде саше СУСТАГАРД® АРТРО



### • ХОНДРОГАРД®

#### ХОНДРОИТИНА СУЛЬФАТ

Раствор для внутримышечного и внутрисуставного введения  
1 мл №10, 2 мл №10, 2 мл №25

ЛСР-005817/09



### • СУСТАГАРД® АРТРО

#### ГЛЮКОЗАМИН

Концентрат для приготовления раствора для внутримышечного введения 200 мг/мл в комплекте с растворителем №5 (5 ампул А по 2 мл, 5 ампул Б по 1 мл)

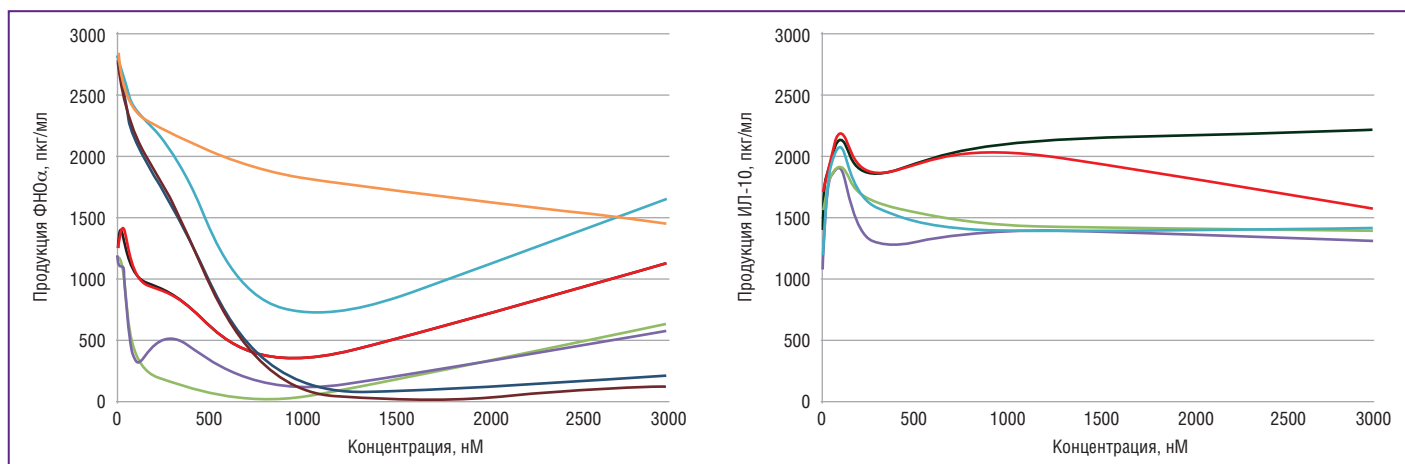
Порошок для приготовления раствора для приема внутрь 1,5 г №20

ЛСР-009268/09, ЛП-003149

Реклама



1. М.И.Удвика, «Сравнительная эффективность инъекционных и пероральных симптоматических препаратов медленного действия в терапии первичного и посттравматического остеоартроза коленных суставов». РМЖ Ревматология №7, 2017  
2. А.В.Наумов, М.Н.Шаров, Н.О.Ховасова, Ю.С.Прокофьева, «Результаты применения интермиттирующей схемы парентерального введения хондроитина сульфата и глюкозамина сульфата в старт-терапии хронической боли в суставах и спине у коморбидных пациентов». РМЖ Неврология №11, 2018  
3. А.В. Наумов, О.Н. Ткачева, Н.О. Ховасова, «Обострения хронической боли в спине у коморбидных больных: терапия на перспективу». РМЖ Ревматология №5, 2018  
4. Л.В.Васильева, А.В.Никитин, Е.Ф.Евстратова, Н.С. Бурдина, «Опыт сочетанного парентерального применения глюкозаминсульфата и хондроитинсульфата у больных с остеоартритом». Сборник тезисов/ Под редакцией: Академика РАН Мазурова В.И., доцента Трофимовой Е.А., СПб.: Изд-во «Человек и его здоровье», 2018  
5. В.В. Бадокин, «Сустагард Артро - новый препарат глюкозамина сульфата в терапии остеоартроза», ФАРМАТЕКА, 2016, №19



**Рис. 7.** Кривые дозозависимого изменения уровней ФНО $\alpha$  и ИЛ-10, полученные посредством разных моделей машинного обучения

В результате хемокиномного анализа также были получены кривые дозозависимого изменения уровней провоспалительного цитокина ФНО $\alpha$  и противовоспалительного ИЛ-10 (рис. 7). Интересно отметить, что 7 из 8 использованных моделей показали одинаковый качественный вид кривой для ФНО $\alpha$  — минимум при 1000 нМ (1 мкМ) ГС с последующим постепенным нарастанием. Заметим, что концентрация в 1 мкМ соответствует приему внутрь ГС в количестве 5 мкмоль (приблизительно 1400 мг), что соответствует стандартной суточной дозировке при приеме ГС взрослыми. Можно предположить, что известная из клинической практики доза ГС 1500–2000 мг/сут является оптимальной с точки зрения снижения уровней провоспалительного цитокина ФНО $\alpha$  (т. к. более высокие дозы потенциально могут соответствовать снижению эффекта ГС на уровни ФНО $\alpha$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лечение пациентов, страдающих одновременно и опухолевыми заболеваниями, и остеоартритом, требует взвешенного выбора фармацевтических средств и их комбинаций. Во-первых, такая комбинированная терапия должна приносить максимальный терапевтический эффект. Во-вторых, долговременная терапия должна быть максимально безопасна. Для выбора эффективных и безопасных комбинаций препаратов необходимо помнить о том, что взаимосвязи между ОА и опухолевыми заболеваниями обусловлены, прежде всего, неспецифическим хроническим воспалением.

В терапии ОА используются средства, проявляющие противовоспалительное действие: гормональные препараты, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) и SYSADOA (хондропротекторы). Однако использование гормональных препаратов для лечения ОА может быть противопоказано при опухолевых заболеваниях, а использование НПВП может усиливать кардио- и нейротоксичность химиотерапии. В то же время хондропротектор ГС отличается низкой токсичностью и проявляет самостоятельное противовоспалительное действие, связанное с ингибированием фактора транскрипции NF- $\kappa$ B.

Ингибирование NF- $\kappa$ B — далеко не единственный молекулярный механизм действия ГС, важный для лечения ОА, коморбидного опухолевым заболеваниям. Представленные в работе результаты дозозависимого хемокином-

ного анализа молекулы мГС показывают, что мГС может существенно ингибировать активность 31 из 297 киназ. Препарат мГС показал уникальный профиль воздействия на киназы, отличный от профилей известных ингибиторов киназ, которые, как правило, относятся к высокоэффективным, но дорогостоящим противоопухолевым препаратам. В частности, ингибируя активность циклинзависимых киназ, мГС тормозит пролиферацию, а ингибирование молекулой ГС киназ SNEK1, Src и PRKCD стимулирует апоптоз опухолевых клеток. Таргетное ингибирование 31 из 297 киназ человека ГС целесообразно в рамках комбинированной противоопухолевой терапии лейкоза, рака молочной железы, толстого кишечника, меланомы, немелкоклеточного рака легких. В случае рака толстого кишечника данное заключение подтверждается результатами цитированного ранее когортного исследования [5]. Ингибирование установленной выборки киназ также способствует снижению избыточного ангиогенеза, преодолению метастазирования и резистентности к химиотерапии.

Для воздействия ГС на кинем человека необходимо использование его высокоочищенных форм (микрорекристаллическая субстанция ГС в составе препарата Сустагард® артро). Наличие в препаратах ГС посторонних примесей (особенно белкового происхождения) будет провоцировать провоспалительные реакции и препятствовать развитию противоопухолевого эффекта ГС. Воспалительные клетки (лимфоциты, гранулоциты, макрофаги, тучные клетки) и медиаторы воспаления являются ключевыми компонентами микроокружения опухоли, способствующими росту опухолей [41].

**Работа выполнена при поддержке грантов №19-07-00356, 17-07-00935, 17-07-01419, 16-29-12936 РФФИ.**

## Литература

- Kantor E.D., Lampe J.W., Navarro S.L. et al. Associations between glucosamine and chondroitin supplement use and biomarkers of systemic inflammation. *J Altern Complement Med.* 2014;20(6):479–485. DOI:10.1089/acm.2013.0323.
- Громова О.А., Торшин И.Ю., Лила А.М. и др. Молекулярные механизмы миопротективного действия хондроитина сульфата и глюкозамина сульфата при саркопении. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2019;11(1):117–124. [Gromova O.A., Torshin I.Yu., Lila A.M. et al. Molecular mechanisms of myoprotective action of chondroitin sulfate and glucosamine sulfate in sarcopenia. *Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics.* 2019;11(1):117–124. DOI: 10.14412/2074-2711-2019-1-117-124.
- Jung A.Y., Heo M.J., Kim Y.H. Glucosamine has an antiallergic effect in mice with allergic asthma and rhinitis. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2017;7(8):763–769. DOI: 10.1002/alar.21967.

Полный список литературы Вы можете найти на сайте <http://www.rmj.ru>



4. Zahedipour F., Dalirfardouei R., Karimi G., Jamialahmadi K. Molecular mechanisms of anticancer effects of Glucosamine. *Biomed Pharmacother.* 2017;95:1051–1058. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.08.122.
5. Kantor E.D., Zhang X., Wu K. et al. Use of glucosamine and chondroitin supplements in relation to risk of colorectal cancer: Results from the Nurses' Health Study and Health Professionals follow-up study. *Int J Cancer.* 2016;139(9):1949–1957. DOI: 10.1002/ijc.30250.
6. Торшин И.Ю., Громова О.А., Лиля А.М. и др. Результаты постгеномного анализа молекулы глюкозамина сульфата указывают на перспективы лечения коморбидных заболеваний. *Современная ревматология.* 2018;12(4):129–136. [Torshin U.Y., Gromova O.A., Lila A.M. et al. The results of post-genomic analysis of the glucosamine sulfate molecule indicate prospects for the treatment of comorbid diseases. *Modern rheumatology.* 2018;12(4):129–136 (in Russ.)].
7. Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиля А.М., Громов А.Н. Молекулярные механизмы глюкозамина сульфата при лечении дегенеративно-дистрофических заболеваний суставов и позвоночника: результаты протеомного анализа. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2018;10(2):38–44. [Gromova O.A., Torshin I.Yu., Leela A.M., Gromov A.N. Molecular mechanisms of glucosamine sulfate in the treatment of degenerative-dystrophic diseases of the joints and spine: the results of proteomic analysis. *Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics.* 2018;10(2):38–44 (in Russ.)].
8. Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиля А.М. и др. Дифференциальный хемореактомный анализ глюкозамина сульфата и нестероидных противовоспалительных препаратов: перспективные синергичные комбинации. *Современная ревматология.* 2018;12(2):36–43. [Gromova O.A., Torshin I.Yu., Leela A.M. et al. Differential chemoreactomic analysis of glucosamine sulfate and nonsteroidal anti-inflammatory drugs: promising synergistic combinations. *Modern rheumatology.* 2018;12(2):36–43 (in Russ.)].
9. Schmidt T., Samaras P., Frejno M. et al. Proteomics DB. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(D1):D1271–D1281. DOI: 10.1093/nar/gkx1029.PMID: 29106664.
10. Torshin I.Y. The study of the solvability of the genome annotation problem on sets of elementary motifs. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications).* 2011;21(4):652–662.
11. Torshin I.Y., Rudakov K.V. Combinatorial analysis of the solvability properties of the problems of recognition and completeness of algorithmic models. part 1: factorization approach. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications).* 2017;27(1):16–28.
12. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On metric spaces arising during formalization of recognition and classification problems. part 1: properties of compactness. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications).* 2016;26(2):274.
13. Torshin I.Y., Rudakov K.V. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs. part 1: fundamentals of modern chemical bonding theory and the concept of the chemograph. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications).* 2014;24(1):11–23.
14. Torshin I.Y., Rudakov K.V. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs: part 2. local completeness of invariants of chemographs in view of the combinatorial theory of solvability. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications).* 2014;24(2):196–208.
15. Торшин И.Ю., Громова О.А., Сардарян И.С., Федотова Л.Э. Сравнительный хемореактомный анализ мексидола. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2017;117(1–2):75–83. [Torshin I.Yu., Gromova O.A., Sardaryan I.S., Fedotova L.E. Comparative chemoreactomy analysis of mexidol. *J of Neurology and Psychiatry.* C.C. Korsakov. 2017;117(1–2):75–83 (in Russ.)].
16. Громова О.А., Торшин И.Ю., Федотова Л.Э. Геронтоинформационный анализ свойств молекулы мексидола. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2017;9(4):46–54. [Gromova O.A., Torshin I.Yu., Fedotova L.E. Gerontoinformatsionny analysis of the properties of the molecule Mexidol. *Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics.* 2017;9(4):46–54 (in Russ.)].
17. Klaeger S., Heinzlmeier S., Wilhelm M. et al. The target landscape of clinical kinase drugs. *Science.* 2017;358(6367):eaan4368. DOI: 10.1126/science.aan4368.
18. Mizuki M., Fenski R., Halfter H. et al. Flt3 mutations from patients with acute myeloid leukemia induce transformation of 32D cells mediated by the Ras and STAT5 pathways. *Blood.* 2000;96(12):3907–3914.
19. Voisset E., Lopez S., Chaix A. et al. FES kinases are required for oncogenic FLT3 signaling. *Leukemia.* 2010;24(4):721–728. DOI: 10.1038/leu.2009.301.
20. Larrosa-Garcia M., Baer M.R. FLT3 Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia: Current Status and Future Directions. *Mol Cancer Ther.* 2017;16(6):991–1001. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0876.
21. Wang Z., Xie Y., Zhang L. et al. Migratory localization of cyclin D2-Cdk4 complex suggests a spatial regulation of the G1-S transition. *Cell Struct Funct.* 2008;33(2):171–183.
22. Tripathy D., Im S.A., Colleoni M. et al. Ribociclib plus endocrine therapy for premenopausal women with hormone-receptor-positive, advanced breast cancer (MONALEESA-7): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2018;19(7):904–915. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30292-4.
23. Katayama H., Zhou H., Li Q. et al. Interaction and feedback regulation between STK15/BTAK/Aurora-A kinase and protein phosphatase 1 through mitotic cell division cycle. *J Biol Chem.* 2001;276(49):46219–46224. DOI: 10.1074/jbc.M107540200.
24. Pugacheva E.N., Jablonski S.A., Hartman T.R. et al. HEF1-dependent Aurora A activation induces disassembly of the primary cilium. *Cell.* 2007;129(7):1351–1363. DOI: 10.1016/j.cell.2007.04.035.
25. Mori D., Yamada M., Mimori-Kiyosue Y. et al. An essential role of the aPKC-Aurora A-NDEL1 pathway in neurite elongation by modulation of microtubule dynamics. *Nat Cell Biol.* 2009;11(9):1057–1068. DOI: 10.1038/ncb1919.
26. Bavetsias V., Linardopoulos S. Aurora Kinase Inhibitors: Current Status and Outlook. *Front Oncol.* 2015;5:278. DOI: 10.3389/fonc.2015.00278.
27. Lu K.K., Trcka D., Bendeck M.P. Collagen stimulates discoidin domain receptor 1-mediated migration of smooth muscle cells through Src. *Cardiovasc Pathol.* 2011;20(2):71–76. DOI: 10.1016/j.carpath.2009.12.006.
28. Roberts M.E., Magowan L., Hall I.P., Johnson S.R. Discoidin domain receptor 1 regulates bronchial epithelial repair and matrix metalloproteinase production. *Eur Respir J.* 2011;37(6):1482–1493. DOI: 10.1183/09031936.00039710.
29. Jing H., Song J., Zheng J. Discoidin domain receptor 1: New star in cancer-targeted therapy and its complex role in breast carcinoma. *Oncol Lett.* 2018;15(3):3403–3408. DOI: 10.3892/ol.2018.7795.
30. Citores L., Bai L., Sorensen V., Olsnes S. Fibroblast growth factor receptor-induced phosphorylation of STAT1 at the Golgi apparatus without translocation to the nucleus. *J Cell Physiol.* 2007;212(1):148–156. DOI: 10.1002/jcp.21014.
31. Kato M. FGFR inhibitors: Effects on cancer cells, tumor microenvironment and whole-body homeostasis (Review). *Int J Mol Med.* 2016;38(1):3–15. DOI: 10.3892/ijmm.2016.2620.
32. Huang Q., Yang J., Lin Y. et al. Differential regulation of interleukin 1 receptor and Toll-like receptor signaling by MEKK3. *Nat Immunol.* 2004;5(1):98–103. DOI: 10.1038/ni1014.
33. Zhao Z., Xie L., Bourne P.E. Insights into the binding mode of MEK type-III inhibitors. A step towards discovering and designing allosteric kinase inhibitors across the human kinome. *PLoS One.* 2017;12(6):e0179936. DOI: 10.1371/journal.pone.0179936.
34. Lim W.G., Chen X., Liu J.-P. et al. The C-terminus of PRK2/PKNgamma is required for optimal activation by RhoA in a GTP-dependent manner. *Arch Biochem Biophys.* 2008;479(2):170–178. DOI: 10.1016/j.abb.2008.09.008.
35. Nilsen T., Slagsvold T., Skjerven C.S. et al. Peroxisomal targeting as a tool for assaying protein-protein interactions in the living cell: cytokine-independent survival kinase (CISK) binds PDK-1 in vivo in a phosphorylation-dependent manner. *J Biol Chem.* 2004;279(6):4794–4801. DOI: 10.1074/jbc.M309653200.
36. Mora A., Komander D., van Aalten D.M., Alessi D.R. PDK1, the master regulator of AGC kinase signal transduction. *Semin Cell Dev Biol.* 2004;15(2):161–170.
37. Pythoud C., Rodrigo W.W., Pasqual G. et al. Arenavirus nucleoprotein targets interferon regulatory factor-activating kinase IKKepsilon. *J Virol.* 2012;86(15):7728–7738. DOI: 10.1128/JVI.00187-12.
38. Llona-Minguez S., Baiget J., Mackay S.P. Small-molecule inhibitors of IkappaB kinase (IKK) and IKK-related kinases. *Pharm Pat Anal.* 2013;2(4):481–198. DOI: 10.4155/ppa.13.31.
39. Lupberger J., Zeisel M.B., Xiao F. et al. EGFR and EphA2 are host factors for hepatitis C virus entry and possible targets for antiviral therapy. *Nat Med.* 2011;17(5):589–595. DOI: 10.1007/s40264-018-0772-x.
40. Shah R.R., Shah D.R. Safety and Tolerability of Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitors in Oncology. *Drug Saf.* 2019;42(2):181–198. DOI: 10.1007/s40264-018-0772-x.
41. Bottazzi B., Riboli E., Mantovani A. Aging, inflammation and cancer. *Semin Immunol.* 2018;40:74–82. DOI: 10.1016/j.smim.2018.10.011.