

ЕПІДЕРМАЛЬНИЙ ФАКТОР РОСТУ ТА ЙОГО РЕЦЕПТОРИ: ЇХ РОЛЬ В ПРИЦІЛЬНІЙ ТЕРАПІЇ ДЕЯКИХ ПУХЛИН І ВІРУСНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

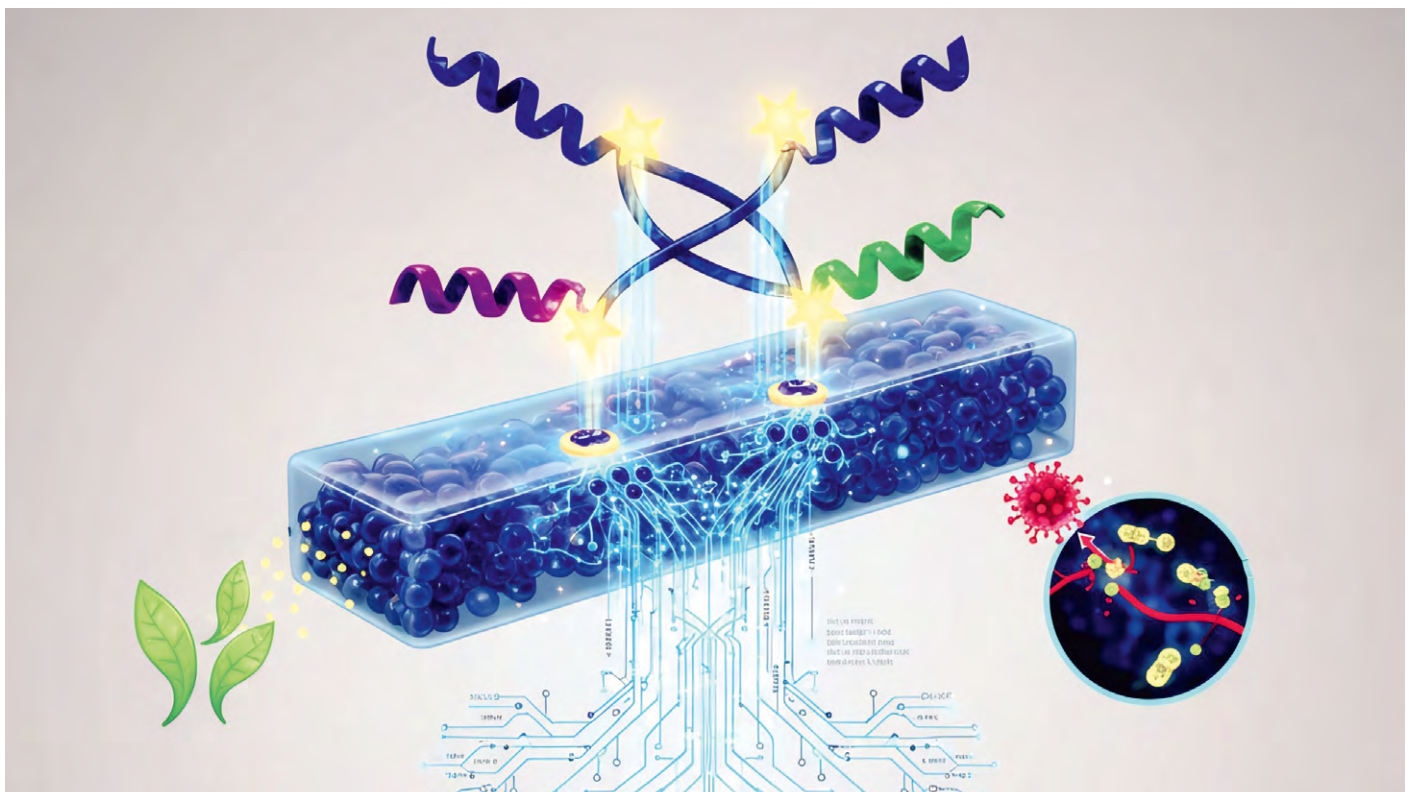
¹ТОВ «НВК «Екофарм», м. Київ, Україна

²Державна установа «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України», м. Київ, Україна

³Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів,
м. Київ, Україна

Резюме. Епідермальний фактор росту (EGF) та його рецептори (HER/ErbB) мають ключове значення в регуляції клітинного росту, проліферації, виживання, ангіогенезу, а також у розвитку злоякісних пухлин і деяких вірусних інфекцій. У статті розглянуто структуру, механізми активації та сигнальні шляхи родини рецепторів HER-1, HER-2, HER-3 та HER-4, що беруть участь у формуванні гетеро- та гомодимерів з подальшим автофосфорилуванням. Значна увага приділена ролі HER-2 у карциномах молочної залози, яєчників, сечового міхура та шлунку, включно з клінічним використанням таргетної терапії (трастузумаб, лапатиніб, нератиніб, афатиніб, цетуксимаб тощо). Описано перспективи застосування інгібіторів тирозинкінази та моноклональних антитіл, а також складнощі подолання резистентності. Наведено нові підходи до комбінації EGFR-інгібіторів з таксанами та інгібіторами білків теплового шоку (наприклад, ганетеспіб). Окрему увагу приділено ролі EGFR у проникненні вірусів, зокрема HCV та HBV. Описано механізми залучення CD81 та інших ко-рецепторів до інтерналізації вірусу через EGFR-залежні шляхи. Також представлено дані про потенціал флавоноїдів (дельфінідин, кверцетин, EGCG) як інгібіторів тирозинкінасної активності рецепторів HER. Ці дані є важливими для розробки нових противірусних і протипухлинних стратегій, спрямованих на EGFR/ErbB-систему як терапевтичну мішень.

Ключові слова: епідермальний фактор росту, рецептори HER/ErbB, тирозинкінази, прицільна терапія, рак молочної залози, гепатит С, флавоноїди, EGFR-інгібітори, вірусне проникнення.



EPIDERMAL GROWTH FACTOR AND ITS RECEPTORS: THEIR ROLE IN TARGETED THERAPY OF TUMORS AND VIRAL DISEASES

¹LLC "Scientific and Production Company Ecopharm", Kyiv, Ukraine

²State Institution "L. V. Hromashevskyi Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

³State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv, Ukraine

Summary. Epidermal growth factor (EGF) and its receptors (HER/ErbB family) are essential regulators of cellular proliferation, survival, angiogenesis, and differentiation. Their dysregulation is central to the pathogenesis of various cancers and viral infections. This review analyzes the structure, ligand-binding, and dimerization of HER-1, HER-2, HER-3, and HER-4, and their downstream signaling pathways such as MAPK, PI3K, and PKC. HER-2 is emphasized as a pivotal oncogenic driver in breast, ovarian, gastric, and bladder carcinomas, where targeted therapeutics including trastuzumab, lapatinib, neratinib, and afatinib are clinically used. Resistance mechanisms and the role of heat shock protein inhibitors (e.g., ganetespib) in enhancing therapy are discussed. Additionally, EGFR-mediated pathways are shown to facilitate entry of viruses like hepatitis C and B, by exploiting host receptor complexes involving CD81 and claudin-1. The review further explores natural polyphenols (delphinidin, quercetin, EGCG) as novel EGFR/ErbB2 tyrosine kinase inhibitors with anticancer and antiviral potential. These findings underscore the multifaceted role of the EGFR/ErbB system as a target for innovative therapeutic strategies in oncology and virology.

Keywords: epidermal growth factor, HER/ErbB receptors, tyrosine kinase inhibitors, targeted therapy, breast cancer, hepatitis C virus, flavonoids, EGFR inhibitors, virus entry.

З а сучасними уявленнями, фактори росту – один із різновидів цитокінів, які продукує організм, «природні речовини» поліпептидної природи з молекулярною масою 5–50 кДа; це поліфункціональні регулятори, що належать до класу цитокінів [1]. Визначення факторів росту постійно потребує чисельних виправлень і уточнень у зв'язку з виявленням все нових і нових властивостей та особливо через вплив цих факторів [2, 3]. Фактори росту активують процеси ділення, міграції, диференціювання клітин, біосинтез (експресію) білків і продукцію ферментів. Вони впливають також на запалення, проліферативні процеси і на загоєння ран [3]. Вплив факторів росту опосередковується через стимуляцію ангиогенезу і проліферацію клітин, що позначається на синтезі та розпаді позаклітинного матриксу; ці фактори впливають також і на позаклітинні реакції запалення, і на діяльність фібробластів.

Синтез факторів росту відбувається у неспеціалізованих клітинах, присутніх у всіх тканинах. Ці фактори можуть діяти як ендокринно (через кровотік), паракринно (шляхом дифузії), аутокринно (на клітин-виробники) та інтракринно (всередині клітини), здійснюючи регуляцію клітинних функцій [3].

Серед численних факторів росту епідермальний фактор росту (epidermal growth factor, EGF) належить

до найактивніших мітогенів. Він відіграє важливу роль в регуляції відновлення і обміну процесів, специфічно зв'язуючись з рецепторами на поверхні клітинних мембран, стимулює хемотаксис фібробластів і епітеліальних клітин, що прискорює загоєння ран; EGF бере участь в індукції регенерації печінки разом з іншими факторами росту, серед яких першорядна роль належить інсуліну і глюкагону. В поєднанні з інсуліном і дексаметазоном EGF стимулює проліферацію фібробластів і хондроцитів.

Родина рецепторів епідермального фактору росту людини (human epidermal growth factor receptor, EGFR) грає центральну роль у патогенезі певних недугів і відомих пухлин людини [3]. До цієї родини входить 4 структури – HER-1, HER-2, HER-3 та HER-4 (HER – human epidermal growth factor receptor), які називають також ErbB1, ErbB2, ErbB3 та ErbB4 (epidermal growth factor receptor, ErbB). Як встановлено в детальних дослідженнях, всі 4 рецептори HER містять позаклітинний домен, збагачений залишками цистеїну, до якого приєднується ліганд, трансмембранна ліпофільна ділянка і внутрішньоклітинна частина, яка володіє каталітичною активністю тирозинкінази. Рецептор епідермального фактора росту – це перший серед відкритих рецепторних тирозинкіназ.

Як виявилось, рецептори епідермального фактора росту розташовані на поверхні клітин у мономерному стані. Коли ж із внутрішньоклітинними структурами HER зв'язуються ліганди, то білки HER утворюють димери; при цьому відбувається трансфосфорилування тих білкових доменів, які знаходяться в середині клітини. Для HER-2 не знайдено лігандів, які б їх безпосередньо активували; HER-2 можуть знаходитися або в стані конститутивної активації, або активуватися при гетеродимеризації з іншими членами даної родини, наприклад, з HER-1 і HER-3. Утворення димерів або гетеродимерів веде до аутофосфорилування тирозинових залишків в цитоплазматичних доменах рецепторів і включає різні сигнальні шляхи, зокрема активовану мітогенами протеїнкіназу (мітогенактивована протеїнкіназа, mitogen-activated protein kinase, MAPK), фосфатидилинозитол-4,5-бісфосфат-3-кіназу (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, PI3K) і протеїнкіназу C (protein kinase C, PKC). Цей процес зі свого боку призводить до проліферації та виживання клітин, до їх диференціації, а потім до ангіогенезу та інвазії. Гетеродимери породжують сигнали значно більш високої інтенсивності порівняно з гомодимерами, а ті гетеродимери, які містять HER-2, особливо міцно зв'язуються з лігандами і передають більш потужний сигнал, так як HER-2 перебуває у відкритій конформації та завдяки цьому швидше приєднує молекулу-партнера. Утворення гетеродимера HER-2-HER-3 — це найсильніший сигнал регуляторного зниження інтенсивності процесу, особливо, коли це належить до PI3K/Akt, основного регулятора клітинного росту і виживання. Крім того, димеризація HER-2 підсилює і зміщення (порушення локалізації, mis-localization), і швидкий розпад білка p27^{Kip1}, інгібітора клітинного циклу, що призводить до швидкого ділення клітин. Фактор HER-2 може активуватися також і при утворенні комплексів з іншими мембранними білками, наприклад, з інсуліноподібним фактором росту 1 (insulin-like growth factor 1).

Прогностичні цінності гіперекспресії фактору HER-2 корелюють із результатами виживання і не залежать від лікування, вони використовуються для визначення груп хворих, які потребують додаткове системне лікування. В разі раку молочної залози немає єдиної думки про прогностичні цінності гіперекспресії фактору HER-2. Є відомості, що пухлини з ампліфікованим геном HER-2 слабо реагують на ендокринну терапію, але чутливі до хіміотерапії. Є вказівки на несприятливий вплив гіперекспресії HER-2 на безрецидивне виживання хворих із раком молочної залози без метастазів в регіональні лімфовузли. Дослідники [4] показують, що відсутність рецепторів стероїдних гормонів на клітинах злоякісних пухлин молочної залози і гіперекспресія HER-2 погіршують результати трьох — п'ятирічного безрецидивного виживання. Є припущення, що зниження ефективності хіміотерапії в разі надмірної експресії HER-2 може бути зумовлено зниженням індексу апоптозу [4, 5].

Отже, при зв'язуванні лігандів рецептори факторів росту утворюють гомо- або гетеродимери, запускаючи трансфосфорилування тирозинових залишків рецепторних субодиниць. Внутрішньоклітинні тирозинкінази родин Src (родина нерцепторних

протеїн-тирозинкіназ) і Abl (білок тирозинкінази, званий протоонкогеном Абельсона) теж здатні фосфорилувати тирозин рецепторів ErbB.

Досить великі дослідження стосуються ролі EGFR у виникненні пухлин людини. Експресія його підсилюється в пухлинних тканинах порівняно з нормальними, і тому кількість HER в пухлинах перевищує число цих структур в нормальних клітинах і тканинах. При цьому відомості про рецептори епідермального фактора росту, встановлені в пухлинах, мають ключове прогностичне значення, і зумовлюють, звичайно ж, тактику лікаря. Зокрема, пухлини молочної залози з гіперекспресією HER-1/EGFR належать до так званого базальноподібного фенотипу, який характеризується агресивним клінічним перебігом, частими метастазуваннями, стійкістю до гормон- і хіміотерапії [5]. Ко-експресія рецепторів EGFR/HER-1 і HER-2 пов'язана з найбільш несприятливим прогнозом.

У людини рецептор епідермального фактора росту (ErbB2 або HER-2) відіграє ключову роль в онкогенезі при виникненні близько 20% пухлин молочної залози. Ампліфікація цього гена, що розташована на хромосомі 17, призводить до багатократного збільшення кількості рецепторів на поверхні пухлинних клітин. Кількість копій гена може збільшуватися в 25–50 разів, і тоді кількість рецепторів на поверхні пухлинної клітини збільшується в 40–100 разів (тобто до 2 млн). Не маючи ліганду, цей рецептор димеризується частіше всього з HER-3 або ж з HER-1. При цьому зароджується сигнал, який каскадно передається в ядро пухлинної клітини, різко підсилює її проліферативну активність, що супроводжується більшою схильністю до метастазування, інвазивного росту, неоангіогенезу. Пухлинні клітини HER-2(+) частіше метастазують у вісцеральні органи, в головний мозок, і при наявності гормонопозитивності менш чутливі до гормонотерапії.

HER-2-позитивність зустрічається дуже часто і при протоковій карциномі *in situ*, при цьому роль гіперекспресії остаточно не встановлена. За різними даними до 60% внутрішньопроводових карцином мають гіперекспресію, але лише у 20–25% інвазивних карцином при раку молочної залози встановлюють гіперекспресію HER-2. Відмічають, що внутрішньопроводова карцинома *in situ* на стадіях II і III має високу частоту переходу в інвазивний протоковий рак і тенденцію до рецидивування. Гіперекспресію ErbB2 відмічають також при неоплазмах яєчників, шлунку і сечового міхура. При первинному раці сечового міхура [5, 6] висока експресія ErbB в 74–86% випадків корелює з глибокою інвазією, низьким ступенем диференціювання пухлини і з її високою проліферативною активністю.

На відміну від інших рецепторів родини HER, рецептор HER-3 (ErbB3) не має внутрішньоклітинного кіназного домена і не здатний тому ініціювати передачу сигналу без взаємодії з іншим HER-рецептором. Зі свого боку HER-3 в комплексі з HER-2 (при димеризації HER-2/HER-3) створює потужні мітогенні і апоптичні сигнали. Гіперекспресія HER-3 корелює з розвитком стійкості до трастузумабу (Herceptin®) та з несприятливим прогнозом [4, 7].

В разі гліобластоми (glioblastoma multiforme) фактор ErbB1 в міжклітинній зоні часто мутує, що викликає

конститутивну активність тирозинкінази. При деяких злоякісних новоутвореннях підсилюється також і синтез споріднених EGF факторів росту, що призводить до безперервної активації рецепторів ErbB.

Відомості про властивості та будовання факторів росту і їх прогностичного значення при лікуванні пухлин нашо́вхнули на думку, що одним із підходів при лікуванні можуть бути дії, направлені проти тирозинкіназної активності факторів росту, тобто застосування інгібіторів тирозинкінази (tyrosine kinase inhibitors, TKI, TKi). Було досліджено декілька таких сполук, і вони суттєво доповнили можливості інших, вже раніше застосовуваних протипухлинних сполук.

До них належать, наприклад, лапатиніб (lapatinib) (застосовується перорально) – подвійний інгібітор тирозинкінази, який перериває передачу сигналу від HER2 і від EGFR. В результаті клінічних досліджень було схвалено застосування лапатиніба у композиції з капецитабіном (capecitabine) в випадках раку молочної залози з метастазами, коли хворі спочатку отримували антрациклін (anthracycline), таксан (taxane) і моноклональне антитіло трастузумаб (Herceptin®). При такій схемі лікування одержані дані, які вказують на те, що наростання хвороби затримується, якщо застосовують лапатиніб у сполуці з капецитабіном. Ризик розвитку хвороби падає на 51%, і при цій сполуці терапія не супроводжується підсиленням несприятливих побічних явищ.

Відомі численні випадки застосування проти факторів росту і їх рецепторів гуманізованих (химерних, «людсько-мишачих») моноклональних антитіл (МКА) [8]. Завдяки доступності МКА з'явилися патенти, в яких пропонують використовувати противірусні та переважно протипухлинні вакцини, які складаються з антитіл проти EGFR; ці антитіла блокують передачу сигналу, що утворюється при зв'язуванні EGF з його рецептором. При цьому показано, що мова йде не про один тільки EGF, але і про інші ліганди EGFR (включаючи TGF- α , AR, BTC, EPR і HB-EGF).

Коли використовують моноклональні антитіла, наприклад, цетуксимаб (cetuximab, Erbitux®), їх приєднання до EGFR перешкоджає стимуляції рецептора ендогенними лігандами і призводить до затримання проліферації клітин, до підсилення апоптозу, а також пригнічення ангиогенезу, інвазивності та метастазування пухлин. Відбувається, як передбачалося, інтерналізація комплексу антиген-рецептор, що викликає регуляторне зниження експресії EGFR. З клінічного погляду особливо важливі лабораторні дані (одержані *in vitro* і на моделі голих мишей), які доводять, що цетуксимаб здатний знижувати стійкість первинних культур ракових клітин людини до хіміотерапії та до впливу іонізуючого опромінення. Отже, з'являється можливість завдати меншої шкоди пацієнту, застосовуючи потенційно небезпечні хіміопрепарати у нижчих дозах, а також суттєво зменшити необхідні дози опромінення [8, 9].

Але в значній кількості випадків (наприклад, при пухлинах сечового міхура) ад'ювантне застосування МКА проти EGFR (цетуксимаб) або інгібіторів тирозинази (гефитиніб, лапатиніб) розчаровує, не призводячи до очікуваної клінічної активності. Це стимулює пошук причин резистентності пухлин до цих видів терапії

та шляхів її подолання, пошук нових препаратів і схем комбінованого лікування, а також розробку спрямованої доставки до ракових клітин цитостатиків, фотосенсибілізаторів, діагностичних і терапевтичних радіонуклідів з використанням EGFR як терапевтичної мішені.

Зокрема, при лікуванні раку молочної залози на стадіях II–III у пацієнток старшого віку застосовують кон'югат антитіла трастузумабу з емтанзином (*ado-trastuzumab emtansine, Kadcyla®*), спрямований проти структур HER, експресованих на поверхні пухлинних клітин. Трастузумаб зв'язується з доменом IV позаклітинного сегмента рецептора HER-2. Передбачуваний механізм його дії включає пригнічення «зрізання» (shedding) HER-2-рецептора з клітинної поверхні, інгібування сигнального шляху PI3K-AKT, ослаблення внутрішньоклітинної передачі сигналу, ініціацію антитілозалежної клітинної цитотоксичності та гальмування ангиогенезу пухлини [9, 10].

Трастузумаб (Herceptin®) схвалили як частину протоколу при лікуванні з використанням хіміотерапевтичних сполук доxorубіцина (doxorubicin), циклофосаміда (cyclophosphamide) і паклітакселя (paclitaxel) для ад'ювантного лікування жінок з раком молочної залози при наявності метастазів в лімфовузлах і гіперекспресії HER-2. Цю схему було схвалено на підставі доказів значного подовження безрецидивного виживання (disease-free survival) у жінок, які отримували трастузумаб (Herceptin®), порівняно з контрольною групою. Проведені клінічні випробування (де брало участь понад 10 тис. хворих) однозначно доказують, що застосування трастузумабу дає поліпшення в середньому на 50% такого показника, як виживання без хвороби, і на 33% – поліпшення, при виживанні незалежно від схеми хіміотерапії та від послідовного застосування трастузумабу. При раку молочної залози з метастазами трастузумаб рекомендують використовувати як первинний засіб. При введенні на III фазі виявилось, що внесення трастузумабу збільшує медіану загального виживання на 1 рік порівняно із застосуванням однієї лише хіміотерапії [4, 9].

Трастузумаб (Herceptin®) рекомендують також для лікування хворих із раком шлунку і раком шлунково-кишкової локалізації при наявності метастазів в сполученні з цисплатином (cisplatin) і фторпиримідом (fluoropyrimidine) в разі аденокарциноми, якщо хворих до цього не лікували від метастазної хвороби. Найкраще це проявляється у хворих з пухлинами HER-2/IHC3+ (імуногістохімічна надекспресія), а не при наявності пухлин IHC2+ (сумнівні імуногістохімічні результати).

Часто застосовують також ерлотиніб (erlotinib, Tarceva®), інгібітор тирозинкіназних рецепторів EGF, які відповідають за процес внутрішньоклітинного фосфорилування епідермального фактора росту, експресія якого спостерігається на поверхні і нормальних, і пухлинних клітин. Інгібування фосфотирозина цих рецепторів затримує ріст пухлинних клітин.

У клініках використовують також МКА пертузумаб (pertuzumab, Perjeta®), що блокує активацію рецептора HER-2, який перешкоджає димеризації. Пертузумаб порівняно з трастузумабом впливає на хід активації

на другому сайті зв'язування HER-2 з лігандом. В результаті клінічного випробування за програмою CLEOPATRA показано, що додавання пертузумабу до трастузумабу + доксетакселю (docetaxel) дає кращі результати при раку молочної залози з метастазами. Те ж стосується хворих, які приймають неоад'ювантну терапію при HER-2-позитивних пухлинах з місцевим прогресуванням, з запаленням або при ранішніх стадіях.

Ще один пероральний препарат, що викликає незворотну інгібіцію тирозинкінази у HER-2 і EGFR, – нератиніб (neratinib). Відкрите клінічне вивчення на II фазі при дослідженні дії нератиніба у випадку локально прогресуючого раку молочної залози (locally advanced breast cancer, LABC) показало, що в 75% випадків (із 36 хворих, яких не лікували трастузумабом) не спостерігалось прогресування захворювання протягом 16 тижнів; те ж стосується 51% хворих спочатку пролікованих.

В клініці при HER-2-позитивних прогресуючих пухлинах молочної залози зараз використовують також афатиніб (afatinib, Gilotrif®) – необоротний інгібітор, націлений на EGFR/HER-1, HER-2 і HER-4, причому на фазі III хворим дають вінорельбін (vinorelbine) + афатиніб або трастузумаб [9, 10]. Одночасно застосування іншого інгібітора, ерлотиніба, і моноклональних антитіл (наприклад, таких як бевацизумаб (bevacizumab, Avastin®)) поліпшує також результати лікування при немілоклітинному раку легенів (non-small cell lung cancer, NSCLC).

Іноді МКА кон'югують із цитотоксичними сполуками. Наприклад, препарат адо-трастузумаб емтанзин (ado-trastuzumab emtansine) складається з МКА трастузумаб, пришитого до протипухлинної сполуки емтанзину. Добре відомо, що в більшості випадків при лікуванні наростає стійкість до цього препарату. Використовуючи цей кон'югат, використовують новий підхід для подолання такої стійкості, підсилюючи за допомогою трастузумабу цитотоксичну активність DMI для клітин з підвищеною експресією HER-2. Це єдиний препарат для лікування HER-2-позитивних раків молочної залози з метастазами у хворих, яким вже давали трастузумаб і таксан, як у комбінації, так і окремо. Клінічні дослідження за програмою EMILIA показали користь такого підходу і меншу при цьому токсичність порівняно з лікуванням, коли застосовують лапатиніб (lapatinib, Tykerb®) у комбінації з капецитабіном (capecitabine, Xeloda®).

Отже, HER-2 може служити біомаркером для прогнозування наслідків раку молочної залози і раків шлунку/шлунково-стравохідної зони. Підходи, спрямовані проти HER-2, внесли багато нового в лікування пухлин з підсиленою експресією HER-2 і поліпшили клінічні результати. Але при цьому показано, що в багатьох випадках, коли мова йде про інші види раку, підвищена експресія HER-2 корелює з несприятливим прогнозом, а лікування, спрямоване на мішень HER-2, на зниження експресії цього фактору дало поки що незадовільні результати. Результати використання прицільної терапії спрямовані проти рецептора HER-2 у випадках раку молочної залози і раку шлунку та кишечника [9].

Клінічне застосування трастузумабу та інших інгібіторів, направлених проти HER-2, припускають

підсилити також шляхом додаткового застосування молекулярних шаперонів (molecular chaperons), які допомагають модулювати реакцію клітини на стрес. Як відомо, білок теплового шоку (heat shock protein) HSP90 регулює стабільність і функцію сканування багатьох клітинних білків, включаючи деякі рецепторні тирозинкінази (receptor tyrosine kinases, RTKS). Як вважають, інгібування викликає утворення відповідних конформацій цих білків, стимулюючи їх більш широке розповсюдження («убіквітірування», ubiquitination) і їх розпад під дією протеаз [6, 7, 8].

Рецептор HER-2 належить до найбільш чутливих мішеней HSP90 (clients of HSP90), а клітини раку молочної залози ампліфіковані HER-2 інгібуються гелданаміцином (geldanamycin), прототипним інгібітором HSP90. Досліджувалось багато таких інгібіторів 1-го покоління. Серед них клінічна активність відмічена для танеспіміцину (tanespimycin, 17-AAG) у сполученні з трастузумабом у випадку стійких до трастузумабу HER-2-пухлин. Описана також дія ганетеспіба (ganetespib) – синтетичної малої молекули 2-го покоління, яка приєднується до АТФ-карману, що розташована на N-кінці HSP90. Ганетеспіб за своєю структурою це родина інгібіторів, близьких до гелданаміцину, і при доклінічних дослідженнях проявляє свою активність, регуляторно знижуючи рівні білків-мішеней HSP90. При багатьох субтипах раку молочної залози ганетеспіб має протипухлинну активність, що перевищує активність танеспіміцину (tanespimycin). Окрім ганетеспібу, вивчається багато інших інгібіторів HSP90 2-го покоління – резорцинол (resorcinol), похідні пуринів тощо [10].

Інгібітори HSP90, зокрема танеспіміцин і ганетеспіб, потенційно підсилюють дію трастузумабу, знижуючи стійкість HER-2(+) пухлин до терапії [11].

Віруси також різними шляхами використовують сигнальний каскад EGF «в своїх корисних цілях». Вірус гепатиту С і вірус Епштейна-Барр при зараженні (invasion) активують експресію EGR. Вірус пташиного еритробластоза (avian erythroblastosis virus) кодує скорочену (truncated) конститутивно активну форму рецептора EGF, тоді як білок Е5 вірусу папіломи людини, очевидно, блокує якимось чином розпад активованих рецепторів, призводячи до того, що інтерналізований вже рецептор повертається на плазматичну мембрану [12].

Одна з важливих вірусних інфекцій, при лікуванні якої є спроби використати знання, відносно EGF і його рецепторів – це гепатит С, який викликається відповідним вірусним збудником (hepatitic C virus, HCV, ВГС), що належить до родини *Flaviviridae*. Природний перебіг гепатиту С відбувається різноманітно, і за останніми даними виходить, що ймовірність розвитку цирозу печінки через 20–30 років після моменту зараження коливається в межах 4–45%. Наступним етапом може бути виникнення гепатоцелюлярної карциноми (hepatocellular carcinoma, HCC) [12]. Вважають, що дуже важливим є пошук прогностичних факторів (предикторів) агресивності хвороби; формування фіброзу при хронічному гепатиті С прискорюють особливості вірусу (наприклад, генотип 3 HCV), а також ряд факторів хазяїна, як модифікованих, так і немодифікованих (вживання алкоголю, пригнічення імунних механізмів, змішана інфекція з ВІЛ або з

гепатитом В, чоловіча стать, раса (неєвропейська), більш пізніший вік зараження, ожиріння, інсулінорезистентність, синдром перевантаження залізом тощо). Але окремо взятий клінічний маркер або тест не володіє високою прогностичною цінністю для даного конкретного хворого. Тому ведучі дослідники вважають, що важливо вивчити вплив генетичного поліморфізму людської популяції на розвиток печінкового фіброзу, включно і поліморфізм факторів росту.

Завдяки численним дослідженням, які дали можливість розробити модельні системи для вивчення ВГС, а також завдяки одержаним знанням, що стосуються будови ВГС і різноманітних функцій його структурних і неструктурних білків, з'явилась неоцінена можливість проводити саме такі експерименти, в яких перевіряється вплив на ВГС різних препаратів і окремих речовин як в організмі, так і в умовах *in vitro*. На сьогодні є великі досягнення безінтерференової терапії ВГС, що належить до генотипів 1a, 1b та 3 (при можливості вилікування 95–99%), але ці досягнення для більшості людей не мають цінності через низьку доступність дуже дорогого лікування. Тому необхідно продовжити пошуки інших терапевтичних підходів, виходячи з нових знань, отриманих в експериментальних умовах.

Входження ВГС в клітину представляє собою перший етап зараження і реплікації, відразу ж є важливою мішенню для противірусної терапії [13]. Одержання багатьох типів інфекційних псевдочастинок HCV (HCV pseudoparticles, HCVpps) і одержання вірусних частинок в клітинних культурах (так звані cell culture-derived HCV=HCVccs), а також вдаль зараження вірусом малих тварин допомагає ідентифікувати фактори хазяїна, які беруть участь у входженні HCV в клітину. Цей етап вірусного циклу представляє собою високо впорядкований процес, в якому приймають участь декілька молекул, що знаходяться на поверхні клітини. Проникнення вірусу в клітину (virus entry) являє собою процес, що відбувається через погоджену взаємодію між поверхневими глікопротеїнами E1 і E2, та чотирма клітинними факторами входження; це CD81 (кластери диференціації, рецепторів клітини-хазяїна для входу вірусу, рецепторів), скавенджер-рецептор В типу 1 (scavenger receptor B type I, SR-BI), окклюдин (occludin, OCLD) і клаудин (claudin, CLDN1).

Глікопротеїн E2 зв'язується з CD81 та з SR-BI, а антитіла, які приєднуються до висококонсервативних послідовностей E2 (412–423), володіють високою здатністю до нейтралізації безлічі генотипів ВГС. Однозначно доказано пряме прикріплення частинки HCV до клітинного рецептору CD81 [13, 18]. Воно викликає активацію EGFR, і встановлено, що процес цей відбувається без участі CLDN1. Коли CD81 приєднується до EGFR, відбувається інтерналізація утвореного комплексу, яка залежить від EGFR. Інгібітори EGFR-кінази блокують інфекцію HCV завдяки інтерналізації EGFR, а не внаслідок регуляторного пригнічення каскаду всіх наступних сигнальних реакцій. Всі автори підтверджують, що рецептор CD81 інтерналізується разом з EGFR. Здається, інтерналізація йде через ліпідні структури клітини (її так звані «ліпідні плоти», lipid rafts) [13, 18].

Дуже цікаві результати одержані в досліді з інгібітором ерлотинібом, коли *in vitro* вивчали значення того моменту

(time of addition experiment), в який треба активувати рецептор. Виявилось, що активація рецептора повинна відбуватися до того, як відбудеться ендоцитоз, опосередкований клатрином (clathrin-mediated endocytosis). Цікаво, що зв'язування частинок HCVpp з гепатоцитами викликає активацію рецепторів при температурі +4 °C, тобто при тій температурі, при якій ендоцитоз проходити не повинен. Хоча показано, що ерлотиніб успішно гальмує входження в клітину частинок HCVpp типу Con1/C3 і Jc1, виявилось, що він менш ефективний при дослідженні на інших частинках HCVpp. Дослідники продовжують цікавитися різницями між HCVpp і HCVcc, і з'являється все більше даних про те, що ці частинки неоднаковим чином входять в клітину. При цьому в обох випадках не однакова субклітинна локалізація складання частинок і структурного глікопротеїна, який зв'язаний з віріоном. Крім того, HCVcc порівняно з HCVpp виявилось чутливим до інгібіторів ще одного фактора, який бере участь у входженні HCV в клітину – до інгібіторів фактора захоплення холестерину (Niemann-Pick C1-like 1, NPC1L1, cholesterol uptake factor) [13, 14].

При докладному вивченні HCV-інфекції з'ясувалося також, що після зараження в розвиток інфекційного процесу включаються і деякі інші фактори; можливо, ці фактори не ті самі в різних умовах і при зараженні різних клітин, а також при внесенні в культури різних видів частинок HCVpp і HCVcc. Наприклад, в заражених гепатоцитах порівняно з незараженими в 23 рази зростає експресія м-РНК, кодуєючої нетрин-1 (netrin-1); це зі свого боку веде до збільшення вірусного навантаження на клітину – зростання числа вірусних геномів, а разом із зростанням вірусного навантаження, що особливо важливо, підвищується також і інфекційність новоутворених віріонів. Оскільки із даних загальної вірусології давно вже відома роль поверхневих глікопротеїнів в інфікованих клітинах (а також їх роль у виході новоутворених віріонів із клітини), то цілком імовірно, що під дією нетрину-1 відбувається суттєво важливе структурування молекул, що знаходяться на клітинній поверхні. Проникання HCV в ще не заражені клітини відбувається при блокуванні інтерналізації EGFR, а кількість цього ко-фактора на клітинній поверхні додатково збільшується. Показано, що нетрин-1 при цьому, звичайно ж, активується (тобто фосфорилується).

Інгібування PKC веде до помірного пригнічення проникнення вірусу в клітину; це погоджується з даними про те, що активація PKC, опосередкована форболовим ефіром (phorbol ester), підсилює входження HCVpp. Входження HCVcc не гальмувалося під дією фарнезил-тіосаліцилової кислоти (салирасиба) (farnesyl thiosalicylic acid, salirasib), антагоніста Ras, який зараз перевіряють в клінічних випробуваннях у випадках раку підшлункової залози і немілоклітинного раку легенів (non-small-cell lung cancer). Хоч показано, що ерлотиніб або EGFR-специфічні siPHK призводять приблизно до двократного зниження злиття клітин (cell-cell fusion assay), мова не йде про повне заторможення проникнення вірусу під дією ерлотиніба. Таким чином, EGFR може бути важливим для проникнення вірусу в клітину не лише при злитті ендосом.

Показано, що інтерналізація EGFR є ключовою для проникнення вірусу гепатиту С (ВГС) у клітину. Ліганди рецептора, такі як EGF і TGF- α , індуюють інтерналізацію EGFR, що прискорює початкові етапи проникнення HCVcc (з 0 до 30 хв після інфікування). При цьому EGF виявляє вищу ефективність, імовірно через свою значно вищу (приблизно в 20 разів) афінність до EGFR порівняно з TGF- α .

Ліганди EGFR викликають переміщення CD81 та EGFR з плазматичної мембрани до внутрішньоклітинних везикул. Інтерналізацію CD81 можуть також викликати інші фактори, такі як церамід і сам вірус. Це дозволяє припустити, що EGFR-залежний ендоцитоз пов'язаний з механізмом захоплення CD81 [14, 18].

Конфокальна мікроскопія показала ко-локалізацію CD81 і EGFR після зв'язування ВГС з клітиною. Проте самі ліганди EGFR не є критичними для інфікування, оскільки антитіла (LAI, цетуксимаб і D1.5), що блокують зв'язування EGFR з лігандами, не впливають на ефективність проникнення HCVpp чи HCVcc. Навпаки, обробка цими антитілами стимулює ендоцитоз EGFR і сприяє входженню HCVcc у клітину, що свідчить про те, що інтерналізація рецептора може відбуватись і без активації кінрази EGFR [15, 16]. Результати різних досліджень дещо розходяться: зокрема, Лупбергер виявив інгібуючий ефект LAI на інфікування, тоді як Діао з колегами цього не спостерігали. Однак саме дослідження Діао підтверджують, що CD81 є критичним для EGFR-опосередкованої відповіді, спричиненої ВГС. Це видно з кількох фактів: антитіло AP33, яке блокує зв'язування білка E2 ВГС з CD81, також блокує активацію EGFR; придушення експресії CD81 знижує EGFR-активацію, хоча рівень самого EGFR не змінюється; стимуляція клітин TGF- α або перехресне зв'язування CD81 також активують інтерналізацію комплексу CD81-EGFR [17, 18].

CD81 опосередковано активує EGFR, сприяючи проникненню HCV у клітину [18]. ВГС еволюційно пристосувався використовувати EGFR-опосередковану інтерналізацію для пришвидшення проникнення у клітину. Після початкової взаємодії з рецептором ліпопротеїнів низької щільності (LDL-R), GAGs та SR-B1, вірус передається до CD81, який у комплексі з CLDN1 активує EGFR і спричиняє інтерналізацію всієї структури. Є припущення, що перехресне зв'язування CD81 може сприяти димеризації EGFR без участі лігандів, ініціюючи захоплення вірусу. Крім того, SR-B1-опосередковане захоплення HDL також залучає EGFR-активацію, підкреслюючи центральну роль цього рецептора в процесі інфекції. Таким чином, ВГС використовує природні сигнальні та ендоцитозні механізми клітин для власного розповсюдження [18].

Дослідження на трансгенних мишах показали, що коровий білок HCV відіграє ключову роль у гепатоканцерогенезі [12, 18]. *In vitro* це сприяло проліферації клітин гепатоми людини шляхом активації шляху MAPK/ERK (mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinase) через регуляцію транскрипції TGF- α за допомогою ядерного фактора «підсилювача легкого ланцюга каппа» активованих В-клітин (NF- κ B) [19]. Цікаво, що зв'язування частинок HCV з гепатоцитами людини викликало активацію

EGFR. Вважається, що проникнення ВГС залежить від утворення ко-рецепторного комплексу між CD81 і клаудином-1 на мембрані клітини-господаря. *In vitro* було показано, що ліганди EGFR, які підвищують швидкість проникнення HCV, індуюють інтерналізацію та ко-локалізацію EGFR із CD81, але не з клаудином-1. Показано, що інгібітори EGFR-кінрази є успішними інгібіторами HCV-інфекції, запобігаючи ендоцитозу EGFR, тоді як інгібування зв'язування ліганду EGFR або сигнальних шляхів EGFR не впливає на проникнення HCV [18, 20]. Механічно було показано, що EGFR регулює проникнення HCV, активуючи сигнальний шлях EGFR/Shc/Grb2/вірусного гомолога онкогену саркоми щура Харві (HRas). Крім того, EGFR Ras/MEK/ERK призвело до активації MAPK-взаємодіючої серин/треонін-кінрази 1 (MKNK1), яка була ідентифікована як фактор-хазяїн у проникненні ВГС [14, 20]. Цікаво, що неструктурний білок NS5A HCV послаблював передачу сигналів EGFR шляхом зміни профілю транспортування EGFR і був здатний блокувати деградацію EGFR [15, 21]. Слід зазначити, що також було продемонстровано, що жовчні кислоти відіграють роль в активації EGFR під час вірусної інфекції. Жовчні кислоти сприяли реплікації HCV через активацію сигналів EGFR і ERK в інфікованих клітинах, тоді як інгібування EGFR і ERK (extracellular signal-regulated kinase) могло послабити реплікацію вірусу. Крім того, було показано, що IFN- α пригнічує проникнення HCV шляхом погіршення опосередкованої EGFR взаємодії CD81-claudin-1 [22, 23]. В інфікованих клітинах ерлотиніб синергізує з IFN- α , щоб порушити реплікацію HCV [24, 25]. Ці дослідження підкреслюють важливу роль EGFR під час проникнення HCV у клітину-мішень і припускають, що інгібітори EGFR успішно стримують проникнення вірусу та реплікацію вірусу.

Було багато різних спроб змодельовати рак печінки людини у мишей шляхом експресії компонентів HBV. Вважається, що ген і білок HBV x беруть участь у патогенезі гепатоцелюлярної карциноми, спричиненої HBV, але основні механізми неясні. Хоча ген HBV x часто інтегрується в клітинну ДНК під час гепатоканцерогенезу, протеїн HBV x сприяє прогресуванню клітинного циклу, інактивує негативні регулятори росту та пригнічує гени-супресори пухлини [26, 29]. У клітинах гепатоми людини експерименти з трансфекції з використанням векторів експресії HBV x продемонстрували, що продукт гена x здатний індукувати надмірну експресію EGFR [27]. Крім того, було показано, що ділянка енхансера-x сприяє злоякісним змінам клітин печінки у носіїв HBV через активацію специфічних генів, таких як EGFR [26, 28]. До того ж, було показано, що трансгенні миші, які експресують білок HBV x, мають більшу ймовірність розвитку індукованого канцерогеном ГЦК [30]. У нещодавньому дослідженні HBV-кодований протеїн опосередковано знижував експресію EGFR у клітинах НСС через мікроРНК-7, що призвело до зниження швидкості росту цих клітин. Відновлення експресії EGFR дозволило відновити швидкість росту [30].

Під час захворювання надмірна експресія TGF- α , здається, пов'язана з регенерацією в гепатоцитах гепатитів, пошкоджених поверхневим антигеном гепатиту В (HBsAg). Тривала експресія TGF- α може спричинити дисплазію і, нарешті, гепатоканцерогенез

[31, 32]. У новій мишачій моделі гепатиту В було виявлено, що EGFR посилено регулюється на внутрішньопечінкових регуляторних Т-клітинах (Treg), що зробило їх більш імуносупресивними та більш потужними у стримуванні противірусної активності, опосередкованої CD8⁺ Т-клітинами, що призвело до більш високого навантаження HBV на гепатоцити [33]. Крім того, AP значно посилювався в печінці, інфікованій HBV. *In vitro* AR сприяв імуносупресивній активності EGFR-позитивних Tregs шляхом пригнічення виробництва противірусних компонентів у CD8⁺ Т-клітинах [20]. Таким чином, передбачається, що система EGFR сприяє імунній толерантності та ампліфікації вірусу після інфікування HBV.

Гепатоцелюлярна карцинома (ГЦК) є другою провідною причиною смерті від раку в усьому світі, тоді як у більш розвинених країнах вона є шостою причиною смерті від раку. ГЦК менш поширений у жінок, ніж у чоловіків [34]. Крім інфікування вірусами гепатиту В (HBV) і гепатиту С (HCV), інші фактори ризику раку печінки в західних країнах включають ожиріння, діабет II типу, цироз печінки, пов'язаний із вживанням алкоголю, і неалкогольну хворобу печінки, включаючи НАСГ [36–39].

EGFR надмірно експресується в тканині печінки людини та ГЦК [40, 41]. Надмірна експресія EGFR спостерігається у 68% випадків ГЦК людини, що корелює з агресивними пухлинами, метастазами та поганою виживаністю пацієнтів [42–44]. Надекспресія лігандів EGFR TGF- α , EGF, HB-EGF, AR і BTC, а також ADAM17 теж спостерігалася в клітинах і тканинах пухлин печінки людини [40, 41, 45]. Цікаво, що функціональний поліморфізм гена EGF був пов'язаний з підвищеним ризиком ГЦК у пацієнтів з цирозом печінки. Цікаво, що, оскільки ГЦК частіше зустрічається у чоловіків, ніж у жінок, частота надекспресії EGFR у чоловіків може бути пов'язана з підкласом ГЦК із полісомією хромосоми 7 [46].

Вищу щільність мікросудин спостерігали у зразках пацієнтів з ГЦК з EGFR-позитивними пухлинними ендотеліальними клітинами. Експресія EGFR в ендотеліальних клітинах пухлини корелювала з експресією BTC в клітинах пухлини, що свідчить про паракринну передачу сигналів [45]. Інше дослідження може показати, що при ГЦК та хронічних захворюваннях печінки EGFR переважно локалізується в синусоїдальних ендотеліальних клітинах [47]. Однак немає звітів про експресію EGFR в ендотеліальних клітинах здорової печінки.

Важливо, що з'явилася інформація про те, що деякі флавоноїди є інгібіторами тирозинкіназної активності – нові EGFR інгібітори. В роботах останніх років [48–50] повідомляється, що поліфеноли різних структурних класів впливають на активність EGFR [51]. Проте деякі з цих досліджень проводилися в безклітинних системах [49–51]. При дослідженні було розглянуто питання, чи ці інгібуючі ефекти мають відношення до інтактних клітин, чи є ефект специфічним для мішені. Ефективне інгібування рецепторного фосфорилування призводить до пригнічення подальшого MAPK-каскаду. Таким чином, було досліджено, чи відбивається вплив на рецептор, зниженням активності RTK. Було виявлено, що дельфінідин ефективно пригнічує фосфорилування EGFR у клітинах

HT29 і A431, показуючи, що потужні інгібуючі властивості не обмежуються ізольованим препаратом рецептора. Крім того, дельфінідин був ідентифікований як потужний інгібітор рецептора ErbB2, що зменшує фосфорилування рецептора ErbB2 у клітинах A431 у тому ж діапазоні концентрацій, що й для EGFR. Рецептор ErbB2 діє переважно як партнер EGF-стимульованого EGFR, що призводить до утворення активного гетеродимера ErbB2 EGFR [50]. Стосовно статусу фосфорилування дельфінідин не розрізняв EGFR і рецептор ErbB2, що вказує на відсутність специфічності. Однак, щоб вплинути на статус фосфорилування обох рецепторів, дельфінідин може або діяти як подвійний інгібітор, націлюючись на кожен з рецепторів, або впливати насамперед на EGFR, що призводить до пригнічення фосфорилування рецептора ErbB2 шляхом інгібування послідовності кросфосфорилування [52]. Дослідження активності рецептора ErbB2 зі специфічним інгібітором EGFR AG1478 та інгібітором ErbB2 AG879 окремо та в комбінації показали, що в застосованих клітинних лініях дійсно присутній гетеродимер EGFR-ErbB2. В сигнальному каскаді дельфінідин істотно пригнічував активність ERK1/2 без переваги однієї ізоформи ERK. Порівняно з впливом на EGFR, дельфінідин був менш потужним щодо пригнічення активності ERK1/2. Отже, окрім впливу на EGFR, слід враховувати додаткові потенційно компенсуючі клітинні ефекти дельфінідину. Діапазон концентрацій, що призводить до значного зниження фосфорилування ERK1/2, відповідає попереднім висновкам про пригнічення фосфорилування подальшого фактора транскрипції Ets-подібної кінази 1 (ELK-1) дельфінідин, виміряним в аналізі репортерного гена [51]. На відміну від дельфінідину, його метоксильований аналог мальвідин не виявляв інгібуючої дії на аутофосфорилування EGFR та/або рецептора ErbB2 в інтактних клітинах. Ці результати узгоджуються з попередніми дослідженнями впливу мальвідину на активність PTK EGFR у безклітинній тестовій системі, показуючи, що в межах класу антоціанідинів сусідні гідроксильні групи є необхідною умовою для потужного інгібування EGFR [50, 51]. Однак, незважаючи на те, що мальвідин не впливав на розташовані вище RTK, раніше було показано потужне пригнічення активності кіназ ERK1/2 [52]. Таким чином, спокусливо припустити, що ефективне пригнічення фосфорилування ERK1/2 мальвідин є результатом інтерференції з перехресними сигнальними шляхами, такими як, наприклад, шлях 39,59-циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ). Раніше повідомлялося про флавонол кверцетин як інгібітор активності PTK EGFR [48, 50]. З флавоноїдів, кверцетин продемонстрував найпотужніші інгібуючі властивості щодо статусу фосфорилування EGFR у клітинах HT29. Було виявлено, що потужне інгібування фосфорилування EGFR кверцетином пов'язане з ефективним пригніченням активності подальших MAP-кіназ ERK1/2. Ці дані вказують на те, що в клітинах HT29 кверцетин вдається знижувати активність сигнального каскаду EGFR-MAPK, але, очевидно, з втратою його ефективності. Дослідники спостерігали лише незначний вплив на активність EGFR у клітинах A431 до 200 мкМ [48], що свідчить про специфічність клітинного типу. Однак у підході репортерного гена в клітинах A431 повідомлялося

про зниження фосфорилування фактора транскрипції ELK-1 під час обробки кверцетином [50]. Цікаво, що в клітинах A431 кверцетин також має лише незначні інгібуючі властивості щодо активності рецептора ErbB2.

Результати в клітинах A431 вказують на те, що кверцетин впливає на альтернативні вихідні сигнальні елементи, відповідальні за пригнічення активності ERK1/2, вимірної як фосфорилування ELK-1. Катехін зеленого чаю EGCG неодноразово описувався як потужний інгібітор активності EGFR в ізольованих тест-системах, а також в інтактних клітинах [51]. Обробка клітин A431 EGCG зменшує залежне від концентрації автофосфорилування EGFR (70–80% інгібування при 200 мкМ, [51, 52]). У клітинах A431 фосфорилування рецептора ErbB2 також значно пригнічувалося EGCG, хоча й менш ефективно порівняно з дельфінідіном. Поліфеноли представляють широкий спектр сполук у нашому раціоні та зустрічаються в основному як глікозиди. Схоже, що біодоступність різних поліфенолів сильно відрізняється, і найпоширеніші поліфеноли в нашому раціоні не обов'язково мають найкращий профіль біодоступності. Глікозиди дельфінідину виявляються в низьких концентраціях як неметаболізовані форми в плазмі, тоді як лише невеликі кількості метаболітів і не можна визначити аглікон дельфінідину [52]. Через незадовільні загальні показники відновлення, які все ще характерні для досліджень біодоступності антоціанів, не можна виключити, що системна біодоступність може бути недооцінена [51, 52]. Але, навіть якщо взяти до уваги деяку недооцінку рівнів у плазмі, видається малоімовірним, що системні концентрації дельфінідину будуть досягнуті, достатні для ефективного інгібування EGFR та рецептора ErbB2.

Отже, численні дослідження властивостей пухлин та пухлинних маркерів у лабораторних і клінічних умовах, а також накопичення знань про їхню взаємодію, привели дослідників до висновку, що інформація про ці маркери може бути корисною для прогнозування перебігу та результатів пухлинного процесу. Індивідуалізація лікування повинна складатися з оцінки ролі маркерів. Лабораторні дослідження можуть відігравати важливу роль у розробці нових протипухлинних та противірусних препаратів, здатних підвищити ефективність терапії. Водночас наведені дані демонструють, наскільки складним є цей процес: науковці стикаються з численними перешкодами, зокрема через високу здатність вірусу до адаптації та несподівані супровідні механізми, що виникають у конкретних біологічних системах взаємодії вірусу з клітиною.

Література

- Carpenter G. Epidermal growth factor: biology and receptor metabolism. *J Cell Sci Suppl.* 1985;3:1–9. doi: 10.1242/jcs.1985.supplement.3.1. PMID: 3011818.
- Dassonville O., Bozec A., Fischel J. L., Milano G. EGFR targeting therapies: monoclonal antibodies versus tyrosine kinase inhibitors. Similarities and differences. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2007 Apr;62(1):53–61. doi: 10.1016/j.critrevonc.2006.12.008. Epub 2007 Feb 26. PMID: 17324578.
- Carpenter G., Wahl M. I. The Epidermal Growth Factor Family. In: Sporn M.B., Roberts A.B. (eds) *Peptide Growth Factors and Their Receptors I. Handbook of Experimental Pharmacology*, vol 95 (1), p. 69–171. Springer, Berlin, Heidelberg; 1990. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-642-49295-2_4
- Singh J. C., Mamtani A., Barrio A., Morrow M., Sugarman S., Jones L. W., Yu A. F., Argolo D., Smyth L. M., Modi S., Schweber S., Boafu C., Patil S., Norton L., Baselga J., Hudis C. A., Dang C. Pathologic Complete Response with Neoadjuvant Doxorubicin and Cyclophosphamide Followed by Paclitaxel with Trastuzumab and Pertuzumab in Patients with HER2-Positive Early Stage Breast Cancer: A Single Center Experience. *Oncologist.* 2017 Feb;22(2):139–143. doi: 10.1634/theoncologist.2016-0268. Epub 2017 Feb 6. PMID: 28167568; PMCID: PMC5330708.
- Li M., Wang Y., Li M., Wu X., Setrerrahmane S., Xu H. Integrins as attractive targets for cancer therapeutics. *Acta Pharm Sin B.* 2021 Sep;11(9):2726–2737. doi: 10.1016/j.apsb.2021.01.004. Epub 2021 Apr 10. PMID: 34589393; PMCID: PMC8463276.
- Le Du F., Diéras V., Curigliano G. The role of tyrosine kinase inhibitors in the treatment of HER2+ metastatic breast cancer. *Eur J Cancer.* 2021 Sep;154:175–189. doi: 10.1016/j.ejca.2021.06.026. Epub 2021 Jul 16. Erratum in: *Eur J Cancer.* 2021 Nov;158:255. doi: 10.1016/j.ejca.2021.09.020. PMID: 34280871.
- Moradpour Z., Barghi L. Novel Approaches for Efficient Delivery of Tyrosine Kinase Inhibitors. *J Pharm Pharm Sci.* 2019;22(1):37–48. doi: 10.18433/jpps29891. PMID: 30636671.
- Dassonville O., Bozec A., Fischel J. L., Milano G. EGFR targeting therapies: monoclonal antibodies versus tyrosine kinase inhibitors. Similarities and differences. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2007 Apr;62(1):53–61. doi: 10.1016/j.critrevonc.2006.12.008. Epub 2007 Feb 26. PMID: 17324578.
- Dowling G. P., Daly G. R., Keelan S., Boland F., Toomey S., Hill A. D. K., Hennessy B. T. Efficacy and Safety of Trastuzumab Deruxtecan in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Breast Cancer.* 2023 Dec;23(8):847–855.e2. doi: 10.1016/j.clbc.2023.09.005. Epub 2023 Sep 11. PMID: 37775347.
- Cruz da Silva E., Dontenwill M., Choulier L., Lehmann M. Role of Integrins in Resistance to Therapies Targeting Growth Factor Receptors in Cancer. *Cancers (Basel).* 2019 May 17;11(5):692. doi: 10.3390/cancers11050692. PMID: 31109009; PMCID: PMC6562376.
- Liang Y., Zhang T., Zhang J. Natural tyrosine kinase inhibitors acting on the epidermal growth factor receptor: Their relevance for cancer therapy. *Pharmacol Res.* 2020 Nov;161:105164. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105164. Epub 2020 Aug 23. PMID: 32846211.
- Badawy A. A., El-Hindawi A., Hammam O., Moussa M., Gabal S.
- Said N. Impact of epidermal growth factor receptor and transforming growth factor- α on hepatitis C virus-induced hepatocarcinogenesis. *APMIS.* 2015 Oct;123(10):823–31. doi: 10.1111/apm.12431. Epub 2015 Aug 17. PMID: 26279457.
- Zona L., Lupberger J., Sidahmed-Adrar N., Thumann C., Harris H. J., Barnes A., Florentin J., Tawar R. G., Xiao F., Turek M., Durand S. C., Duong F. H., Heim M. H., Cosset F. L., Hirsch I., Samuel D., Brino L., Zeisel M. B., Le Naour F., McKeating J. A., Baumert T. F. HRas signal transduction promotes hepatitis C virus cell entry by triggering assembly of the host tetraspanin receptor complex. *Cell Host Microbe.* 2013 Mar 13;13(3):302–13. doi: 10.1016/j.chom.2013.02.006. PMID: 23498955.
- Kim S., Ishida H., Yamane D., Yi M., Swinney D. C., Fong S., Lemon S. M. Contrasting roles of mitogen-activated protein kinases in cellular entry and replication of hepatitis C virus: MKNK1 facilitates cell entry. *J Virol.* 2013 Apr;87(8):4214–24. doi: 10.1128/JVI.00954-12. Epub 2013 Jan 30. PMID: 23365451; PMCID: PMC3624358.
- Mankouri J., Griffin S., Harris M. The hepatitis C virus non-structural protein NS5A alters the trafficking profile of the epidermal growth factor receptor. *Traffic.* 2008 Sep;9(9):1497–509. doi: 10.1111/j.1600-0854.2008.00779.x. Epub 2008 Jun 9. PMID: 18547392.
- Igloi Z., Kazlauskas A., Saksela K., Macdonald A., Mankouri J., Harris M. Hepatitis C virus NS5A protein blocks epidermal growth factor receptor degradation via a proline motif- dependent interaction. *J Gen Virol.* 2015 Aug;96(8):2133–2144. doi: 10.1099/vir.0.000145. Epub 2015 Apr 13. PMID: 25872741; PMCID: PMC4681064.
- Lupberger J., Zeisel M. B., Xiao F., Thumann C., Fofana I., Zona L., Davis C., Mee C. J., Turek M., Gorge S., Royer C., Fischer B., Zahid M. N., Lavillette D., Fresquet J., Cosset F. L., Rothenberg S. M., Pietschmann T., Patel A. H., Pessaux P., Doffoël M., Raffelsberger W., Poch O., McKeating J. A., Brino L., Baumert T. F. EGFR and EphA2 are host factors for hepatitis C virus entry and possible targets for antiviral therapy. *Nat Med.* 2011 May;17(5):589–95. doi: 10.1038/nm.2341. Epub 2011 Apr 24. PMID: 21516087; PMCID: PMC3938446.
- Diao J., Pantua H., Ngu H., Komuves L., Diehl L., Schaefer G., Kapadia S. B. Hepatitis C virus induces epidermal growth factor receptor activation via CD81 binding for viral internalization and entry. *J Virol.* 2012 Oct;86(20):10935–49. doi: 10.1128/JVI.00750-12. Epub 2012 Aug 1. PMID: 22855500; PMCID: PMC3457153.

20. Shehata F., Abdel Monem N., Sakr M., Kasem S., Balbaa M. Epidermal growth factor, its receptor and transforming growth factor- β 1 in the diagnosis of HCV-induced hepatocellular carcinoma. *Med Oncol.* 2013;30(3):673. doi: 10.1007/s12032-013-0673-x. Epub 2013 Aug 3. PMID: 23912699.
21. Pei R., Chen H., Lu L., Zhu W., Beckebaum S., Cicinnati V., Lu M., Chen X. Hepatitis C virus infection induces the expression of amphiregulin, a factor related to the activation of cellular survival pathways and required for efficient viral assembly. *J Gen Virol.* 2011 Oct;92(Pt 10):2237–2248. doi: 10.1099/vir.0.032581-O. Epub 2011 Jun 8. PMID: 21653755.
22. Tanaka N., Moriwa K., Kiyosawa K., Koike K., Gonzalez F. J., Aoyama T. PPARalpha activation is essential for HCV core protein-induced hepatic steatosis and hepatocellular carcinoma in mice. *J Clin Invest.* 2008 Feb;118(2):683–94. doi: 10.1172/JCI33594. PMID: 18188449; PMCID: PMC2176192.
23. Mahmoudvand S., Shokri S., Taherkhani R., Farshadpour F. Hepatitis C virus core protein modulates several signaling pathways involved in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2019 Jan 7;25(1):42–58. doi: 10.3748/wjg.v25.i1.42. PMID: 30643357; PMCID: PMC6328967.
24. Meyer K., Kwon Y. C., Liu S., Hagedorn C. H., Ray R. B., Ray R. Interferon- α inducible protein 6 impairs EGFR activation by CD81 and inhibits hepatitis C virus infection. *Sci Rep.* 2015 Mar 11;5:9012. doi: 10.1038/srep09012. PMID: 25757571; PMCID: PMC4355636.
25. Baghdadi I., Abu Ella K., El Shaaraway A., Elshayeb E., El-Rebey H. S., El Hoseny M., Naguib M., Nada A. Genetic Polymorphism of Epidermal Growth Factor Gene as a Predictor of Hepatocellular Carcinoma in Hepatitis C Cirrhotic Patients. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2020 Jul 1;21(7):2047–2053. doi: 10.31557/APJCP.2020.21.7.2047. PMID: 32711431; PMCID: PMC7573408.
26. Winkler E. S., Shrihari S., Hykes B. L. Jr., Handley S. A., Andhey P. S., Huang Y. S., Swain A., Droit L., Chebrolu K. K., Mack M., Vanlandingham D. L., Thackray L. B., Cella M., Colonna M., Artyomov M. N., Stappenbeck T. S., Diamond M. S. The Intestinal Microbiome Restricts Alphavirus Infection and Dissemination through a Bile Acid-Type I IFN Signaling Axis. *Cell.* 2020 Aug 20;182(4):901–918.e18. doi: 10.1016/j.cell.2020.06.029. Epub 2020 Jul 14. PMID: 32668198; PMCID: PMC7483520.
27. Kew M. C. Hepatitis B virus x protein in the pathogenesis of hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011 Jan;26 Suppl 1:144–52. doi: 10.1111/j.1440-1746.2010.06546.x. PMID: 21199526.
28. Wei Y., Neuveut C., Tiollais P., Buendia MA. Molecular biology of the hepatitis B virus and role of the X gene. *Pathol Biol (Paris).* 2010 Aug;58(4):267–72. doi: 10.1016/j.patbio.2010.03.005. Epub 2010 May 18. PMID: 20483545.
29. Mathew S., Abdel-Hafiz H., Raza A., Fatima K., Qadri I. Host nucleotide polymorphism in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol.* 2016 Apr 8;8(10):485–98. doi: 10.4254/wjh.v8.i10.485. PMID: 27057306; PMCID: PMC4820640.
30. Yu D. Y. Relevance of reactive oxygen species in liver disease observed in transgenic mice expressing the hepatitis B virus X protein. *Lab Anim Res.* 2020 Feb 26;36:6. doi: 10.1186/s42826-020-00037-1. PMID: 32206612; PMCID: PMC7081669.
31. Chen Y. J., Chien P. H., Chen W. S., Chien Y. F., Hsu Y. Y., Wang L. Y., Chen J. Y., Lin C. W., Huang T. C., Yu Y. L., Huang W. C. Hepatitis B Virus-Encoded X Protein Downregulates EGFR Expression via Inducing MicroRNA-7 in Hepatocellular Carcinoma Cells. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:682380. doi: 10.1155/2013/682380. Epub 2013 Jun 11. PMID: 23840262; PMCID: PMC3693120.
32. Altinel K., Hashimoto K., Wei Y., Neuveut C., Gupta I., Suzuki A. M., Dos Santos A., Moreau P., Xia T., Kojima S., Kato S., Takikawa Y., Hidaka I., Shimizu M., Matsuura T., Tsubota A., Ikeda H., Nagoshi S., Suzuki H., Michel M. L., Samuel D., Buendia M. A., Faivre J., Carninci P. Single-Nucleotide Resolution Mapping of Hepatitis B Virus Promoters in Infected Human Livers and Hepatocellular Carcinoma. *J Virol.* 2016 Nov 14;90(23):10811–10822. doi: 10.1128/JVI.01625-16. PMID: 27681123; PMCID: PMC5110153.
33. Tantiwetueangdet A., Panvichian R., Sornmayura P., Sueangoen N., Leelaudomlapi S. Reduced HBV cccDNA and HBsAg in HBV-associated hepatocellular carcinoma tissues. *Med Oncol.* 2018 Aug 16;35(10):127. doi: 10.1007/s12032-018-1191-7. PMID: 30116916; PMCID: PMC6097024.
34. Dai K., Huang L., Chen J., Yang L., Gong Z. Amphiregulin promotes the immunosuppressive activity of intrahepatic CD4⁺ regulatory T cells to impair CD8⁺ T-cell immunity against hepatitis B virus infection. *Immunology.* 2015 Mar;144(3):506–517. doi: 10.1111/imm.12400. PMID: 25298208; PMCID: PMC4557687.
35. Divella R., Daniele A., Gadaleta C., Tufaro A., Venneri M. T., Paradiso A., Quaranta M. Circulating transforming growth factor- β and epidermal growth factor receptor as related to virus infection in liver carcinogenesis. *Anticancer Res.* 2012 Jan;32(1):141–5. PMID: 22213299.
36. Lupberger J., Duong F. H., Fofana I., Zona L., Xiao F., Thumann C., Durand S. C., Pessaux P., Zeisel M. B., Heim M. H., Baumert T. F. Epidermal growth factor receptor signaling impairs the antiviral activity of interferon- α . *Hepatology.* 2013 Oct;58(4):1225–35. doi: 10.1002/hep.26404. Epub 2013 Sep 5. PMID: 23519785.
37. Li W., Liang H., Wang W., Liu J., Liu X., Lao S., Liang W., He J. Global cancer statistics for adolescents and young adults: population based study. *J Hematol Oncol.* 2024 Oct 21;17(1):99. doi: 10.1186/s13045-024-01623-9. PMID: 39434099; PMCID: PMC11492650.
38. McGlynn K. A., Petrick J. L., El-Serag H. B. Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology.* 2021 Jan;73 Suppl 1(Suppl 1):4–13. doi: 10.1002/hep.31288. Epub 2020 Nov 24. PMID: 32319693; PMCID: PMC7577946.
39. Forner A., Reig M., Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet.* 2018 Mar 31;391(10127):1301–1314. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30010-2. Epub 2018 Jan 5. PMID: 29307467.
40. Casper C., Fitzmaurice C. Infection-related cancers: prioritising an important and eliminable contributor to the global cancer burden. *Lancet Glob Health.* 2016 Sep;4(9):e580–1. doi: 10.1016/S2214-109X(16)30169-3. Epub 2016 Jul 25. PMID: 27470175.
41. Bertuccio P., Turati F., Carioli G., Rodriguez T., La Vecchia C., Malvezzi M., Negri E. Global trends and predictions in hepatocellular carcinoma mortality. *J Hepatol.* 2017 Aug;67(2):302–309. doi: 10.1016/j.jhep.2017.03.011. Epub 2017 Mar 21. PMID: 28336466.
42. Qiao Q., Zhang J., Wang W., Li Q. Over expression of transforming growth factor- α and epidermal growth factor receptor in human hepatic cirrhosis tissues. *Hepatogastroenterology.* 2008 Jan-Feb;55(81):169–72. PMID: 18507100.
43. Sanders J. M., Wampole M. E., Thakur M. L., Wickstrom E. Molecular determinants of epidermal growth factor binding: a molecular dynamics study. *PLoS One.* 2013;8(1):e54136. doi: 10.1371/journal.pone.0054136. Epub 2013 Jan 24. PMID: 23382875; PMCID: PMC3554757.
44. Pannain V. L., Morais J. R., Damasceno-Ribeiro O., Avancini-Alves V. Transforming growth factor α immunoreactivity. A study in hepatocellular carcinoma and in non-neoplastic liver tissue. *Ann Hepatol.* 2012 Jul-Aug;11(4):495–9. PMID: 22700631.
45. Shi J. H., Guo W. Z., Jin Y., Zhang H. P., Pang C., Li J., Line P. D., Zhang S. J. Recognition of HER2 expression in hepatocellular carcinoma and its significance in postoperative tumor recurrence. *Cancer Med.* 2019 Mar;8(3):1269–1278. doi: 10.1002/cam4.2006. Epub 2019 Feb 4. Erratum in: *Cancer Med.* 2021 Jan;10(1):435. doi: 10.1002/cam4.3567. PMID: 30714677; PMCID: PMC6434216.
46. Kim Y. I., Kim H. S., Park J. W. Higher Ratio of Serum Alpha-Fetoprotein Could Predict Outcomes in Patients with Hepatitis B Virus-Associated Hepatocellular Carcinoma and Normal Alanine Aminotransferase. *PLoS One.* 2016 Jun 15;11(6):e0157299. doi: 10.1371/journal.pone.0157299. PMID: 27304617; PMCID: PMC4909194.
47. Keng V. W., Sia D., Sarver A. L., Tschida B. R., Fan D., Alsinet C., Solé M., Lee W. L., Kuka T. P., Moriarty B. S., Villanueva A., Duguey A. J., Riordan J. D., Bell J. B., Silverstein K. A., Llovet J. M., Largaespada D. A. Sex bias occurrence of hepatocellular carcinoma in Poly7 molecular subclass is associated with EGFR. *Hepatology.* 2013 Jan;57(1):120–30. doi: 10.1002/hep.26004. Epub 2012 Oct 19. PMID: 22899566; PMCID: PMC3511635.
48. Rohr-Udilova N., Klinglmüller F., Seif M., Hayden H., Bilban M., Pinter M., Stolze K., Sieghart W., Peck-Radosavljevic M., Trauner M. Oxidative stress mediates an increased formation of vascular endothelial growth factor in human hepatocarcinoma cells exposed to erlotinib. *Oncotarget.* 2017 Jul 6;8(34):57109–57120. doi: 10.18632/oncotarget.19055. PMID: 28915658; PMCID: PMC5593629.
49. Fridrich D., Teller N., Esselen M., Pahlke G., Marko D. Comparison of delphinidin, quercetin and (-)-epigallocatechin-3-gallate as inhibitors of the EGFR and the ErbB2 receptor phosphorylation. *Mol Nutr Food Res.* 2008 Jul;52(7):815–22. doi: 10.1002/mnfr.200800026. PMID: 18618485.
50. Wang L., Song J., Liu A., Xiao B., Li S., Wen Z., Lu Y., Du G. Research Progress of the Antiviral Bioactivities of Natural Flavonoids. *Nat Prod Bioprospect.* 2020 Oct;10(5):271–283. doi: 10.1007/s13659-020-00257-x. Epub 2020 Sep 18. PMID: 32948973; PMCID: PMC7500501.

51. Neamtu A. A., Maghiar T. A., Alaya A., Olah N. K., Turcus V., Pelea D., Totolici B. D., Neamtu C., Maghiar A. M., Mathe E. A Comprehensive View on the Quercetin Impact on Colorectal Cancer. *Molecules*. 2022 Mar 14;27(6):1873. doi: 10.3390/molecules27061873. PMID: 35335239; PMCID: PMC8953922.
52. Lambert J. D., Elias R. J. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: a role in cancer prevention. *Arch Biochem Biophys*. 2010 Sep 1;501(1):65–72. doi: 10.1016/j.abb.2010.06.013. Epub 2010 Jun 15. PMID: 20558130; PMCID: PMC2946098.
53. Jeong H., Phan A. N. H., Choi J. W. Anti-cancer Effects of Polyphenolic Compounds in Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor-resistant Non-small Cell Lung Cancer. *Pharmacogn Mag*. 2017 Oct-Dec;13(52):595–599. doi: 10.4103/pm.pm_535_16. Epub 2017 Nov 13. PMID: 29200719; PMCID: PMC5701397.

Відомості про авторів:

Жеребцова Е. М. — к. б. н., науковий співробітник ТОВ «НБК «Екофарм».
ORCID: 0009-0006-1445-2958

Трохимчук Т. Ю. — к. б. н., с. н. с. ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України».
ORCID: 0009-0008-8208-0855

Архипова М. А. — к. б. н., с. н. с. ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України».
ORCID: 0000-0001-5860-2870
E-mail: aniramovna@gmail.com

Дерябін О. М. — завідувач лабораторії Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів.
ORCID: 0000-0001-5702-0190

Старосила Д. Б. — к. б. н., с. н. с. ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України», завідувачка лабораторії ТОВ «НБК «Екофарм».
ORCID: 0000-0003-0210-2361

Григор'єва С. М. — к. мед. н., с. н. с. ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України».
ORCID: 0009-0003-7560-6429

Васильченко О. В. — к. х. н., н. с. ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України».
ORCID: 0000-0002-8631-6203

Рибалко С. Л. — д. мед. н., професор, завідувачка лабораторії ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України».
ORCID: 0000-0002-1913-1380

Information about the authors:

Zherebtsova E. M. — PhD (Biology), Researcher, RPC "Ecopharm"
ORCID: 0009-0006-1445-2958

Trokhymchuk T. Yu. — PhD (Biology), Senior Researcher, L. V. Hromashevskiy Institute of Epidemiology and Infectious Diseases.
ORCID: 0009-0008-8208-0855

Arkhypova M. A. — PhD (Biology), Senior Researcher, L. V. Hromashevskiy Institute of Epidemiology and Infectious Diseases.
ORCID: 0000-0001-5860-2870

Deriabin O. M. — Head of Laboratory, State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms.
ORCID: 0000-0001-5702-0190

Starosyla D. B. — PhD (Biology), Senior Researcher, L. V. Hromashevskiy Institute of Epidemiology and Infectious Diseases, Head of Laboratory RPC "Ecopharm".
ORCID: 0000-0003-0210-2361

Hryhoriiieva S. M. — PhD (Medicine), Senior Researcher, L. V. Hromashevskiy Institute of Epidemiology and Infectious Diseases.
ORCID: 0009-0003-7560-6429

Vasylichenko O. V. — PhD (Chemistry), Researcher, L. V. Hromashevskiy Institute of Epidemiology and Infectious Diseases.
ORCID: 0000-0002-8631-6203

Rybalko S. L. — DSc (Medicine), Professor, Head of Laboratory, L. V. Hromashevskiy Institute of Epidemiology and Infectious Diseases.
ORCID: 0000-0002-1913-1380

Внесок у статтю:

Жеребцова Е. М. — написання основного тексту.

Трохимчук Т. Ю. — редагування тексту, обговорення результатів.

Архипова М. А. — ідея, аналіз джерел, координація підготовки.

Дерябін О. М. — генетична експертиза, науковий перегляд.

Старосила Д. Б. — концептуальний аналіз, міжнародний контекст, переклад.

Григор'єва С. М. — клінічний аналіз, рецензування огляду.

Васильченко О. В. — біохімічна експертиза, аналіз механізмів дії.

Рибалко С. Л. — наукове керівництво, концепція, редагування.

Authors' contributions:

Zherebtsova E. M. — writing of the main text.

Trokhymchuk T. Yu. — text editing, result discussion.

Arkhypova M. A. — conceptualization, literature analysis, coordination of preparation.

Deriabin O. M. — genetic expertise, scientific review.

Starosyla D. B. — conceptual analysis, international context, English translation.

Hryhoriiieva S. M. — clinical analysis, review of virology section.

Vasylichenko O. V. — biochemical expertise, mechanism analysis.

Rybalko S. L. — scientific supervision, concept, final editing.