



Оригинальное исследование
УДК 615.277.3
<http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2023-4-7>

КЛОФАЗИМИН И ЦЕЛЕКОКСИБ УСИЛИВАЮТ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ ТЕМОЗОЛОМИДА НА МОДЕЛИ ГЛИОБЛАСТОМЫ *IN VITRO*

Александра Асатовна Косьянова^{1✉}, Игорь Степанович Брюховецкий²

^{1,2}Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

^{1✉}Smirnova_aleksandra@myrambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5655-5855>

²briukhovetckii.is@dvfu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3654-3069>

Аннотация. Глиобластома (ГБ) – одна из самых агрессивных опухолей мозга человека. Прогноз неблагоприятный, эффективность лечения низкая, выживаемость больных 15 мес. Химиотерапия темозоломидом (ТМЗ) может продлить жизнь больного. Цель работы: изучить на экспериментальных моделях ГБ *in vitro* возможность усиления действия ТМЗ в комбинации с лекарственными препаратами с доказанной *Wnt*-ингибирующей активностью. В эксперименте использовали клетки ГБ линии T98G и U87, которые были подвержены облучению в дозе 60 Гр. В работе использованы методы проточной цитометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии с биоинформационным анализом. Данные, полученные в ходе эксперимента *in vitro* сравнивали с необлученным контролем. Результаты исследования показали, что с увеличением дозы накопленной радиации в популяции клеток ГБ возрастает число элементов иммунопозитивных в отношении антигена CD133 и ряда других маркеров ОСК (Sox2, Oct4, Nanog) что сопровождается значимым усилением синтеза белков *Wnt*-сигнального пути APC, CACYBP, CSNK2A2, CSNK2B, CTNNB1, DVL, DAAM1 и RUVBL1 и снижением цитотоксической активности ТМЗ. Клофазимин (29,0 мкмоль/л) и целекоксиб (30,1 мкмоль/л) достоверно ($P>0,05$) удлиняют время застывания царапины в клеточном монослое и подавляют инвазию ОК в камере Бойдена. Увеличение концентрации клофазимина (38,3 мкмоль/л) и целекоксиба (41,07 мкмоль/л) сопровождается как прямым цитотоксическим действием, так и ведет к усилению противоопухолевого действия ТМЗ на облученные и не облученные клетки ГБ. Таким образом, клофазимин и целекоксиб усиливают влияние ТМЗ на клетки ГБ *in vitro*, что свидетельствует о перспективности данной комбинации лекарственных средств в химиотерапии ГБ.

Ключевые слова: глиобластома, темозоломид, клофазимин, целекоксиб, опухолевые стволовые клетки

Для цитирования: Косьянова А.А. Клофазимин и целекоксиб усиливают противоопухолевое действие темозоломида на модели глиобластомы *in vitro* / А.А. Косьянова, И.С. Брюховецкий // Дальневосточный медицинский журнал. – 2023. – № 4. – С. 39-47. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2023-4-7>.

THE EFFECT OF DRUGS WITH PROVEN WNT-INHIBITING PROPERTIES ON THE ANTITUMOR ACTIVITY OF TEMOZOLOMIDE

Aleksandra A. Kosianova^{1✉}, Igor S. Bryukhovetskiy²

^{1,2}Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

^{1✉}Smirnova_aleksandra@myrambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5655-5855>

²briukhovetckii.is@dvfu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3654-3069>

Abstract. Glioblastoma (GB) is one of the most aggressive human brain tumors. The prognosis for the patients is poor, while treatment is relatively inefficient, and the median survival is about fifteen months. Temozolomide chemotherapy (TMZ) can prolong the patient's life. This article aims at studying the possibility of increasing the effect of TMZ, when combined with drugs, having a proven ability to inhibit Wnt-signalling pathway in experimental models of GB *in vitro*. GB cells of T98G and U87 line, irradiated with 60 Gy dose, were used for this experiment. Methods of the study included flow cytometry and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry with bioinformatics analysis. The data obtained in the *in vitro* experiment were compared with unirradiated control. The results show that irradiation increases the number of cells that are immunopositive to CD133 antigen and some other CSCs markers (Sox2, Oct4, Nanog) in GB cell population, together with accelerated synthesis of Wnt-signalling proteins APC, CACYBP,



CSNK2A2, CSNK2B, CTNNB1, DVL, DAAM1 and RUVBL1 and a decrease in cytotoxic effect of TMZ. Clofazimine (29.0 $\mu\text{mol/L}$) and celecoxib (30.1 $\mu\text{mol/L}$) significantly ($P>0.05$) prolonged the time of the wound-healing assay in the cell monolayer and suppressed the invasive activity of cancer cells in the Boyden chamber. The higher concentration of clofazimine (38,3 $\mu\text{mol/L}$) and celecoxib (41,07 $\mu\text{mol/L}$) is accompanied by both direct cytotoxic effect and the stronger TMZ anticarcinogenic effect on irradiated and non-irradiated GB cells. Therefore, clofazimine and celecoxib increase the effect that TMZ has on GB cells in vitro, proving this combination of drugs to be a promising method of GB chemotherapy.

Keywords: glioblastoma, temozolomide, clofazimine, celecoxib, cancer stem cells

For citation: Kosianova A.A. The effect of drugs with proven wnt-inhibiting properties on the antitumor activity of temozolomide / A.A. Kosianova, I.S. Bryukhovetskiy // Far Eastern medical journal. – 2023. – № 4. – P. 39-47. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2023-4-7>.

Глиобластома (ГБ) – агрессивная первичная опухоль мозга человека, которая характеризуется быстрым инфильтративным ростом и неблагоприятным прогнозом. Согласно протоколу Роджера Ступпа [1] лечение включает нейрохирургическую операцию и химиотерапию. Золотым стандартом лечения является генотоксический препарат – темозоломид (ТМЗ). Эффективность лечения низкая, безрецидивная выживаемость больных составляет 3-8 мес. [2]. Ведущей причиной резистентности к лечению принято считать опухолевые стволовые клетки (ОСК). Популяция ОСК гетерогенна и представлена ОК позитивно экспрессирующими разные иммуноцитохимические маркеры [3]. Химиолучевая терапия не способна эффективно уничтожать ОСК в организме больного, а попытки поражения отдельных клонов к очевидному успеху не привели. Более того, ионизирующее излучение запускает в ОК механизм эпителиально – мезенхимального перехода (ЭМП), что усиливает пластичность опухоли [4]. В свете сказанного, для повышения эффективности химиотерапии необходимо воздействие не столько на отдельные клоны ОК, сколько на системные патофизиологические механизмы, регулирующие пластичность опухолевой ткани.

Привлекательной мишенью для решения данной задачи является *Wnt*-сигнальный путь — один из глав-

ных механизмов, регулирующих процессы пролиферации и клеточной дифференцировки [5]. Существуют данные, что клетки ГБ обладают довольно низкой активностью *Wnt*-сигнального пути, в отличие от ОК колоректального рака, рака яичников или трижды-негативного рака молочной железы [6]. Вместе с тем уровень экспрессии белков *Wnt*-белков в РСК, непосредственно выделенных из глиомасфер, существенно выше, чем дифференцированных ОК [7], это позволяет предположить, что усиление анаплазии клеток ГБ под действием облучения будет сопровождаться активацией *Wnt*-сигнального пути, а ингибиторы этого механизма смогут повысить цитотоксическое действие ТМЗ.

В свете вышесказанного, особый интерес представляют известные лекарственные препараты с *Wnt*-ингибирующей активностью: клофазимин [6], никлозамид [8], целекоксиб [9] и диклофенак [10], механизмы ингибирования *Wnt*-сигнального пути которых представлены на рисунке 1.

Цель работы: изучить на моделях первичной и рецидивирующей МГБ *in vitro* возможность усиления действия ТМЗ в комбинации с лекарственными средствами разных классов с доказанной *Wnt*-ингибирующей активностью.

Материалы и методы

Клетки МГБ. Использованы ОК линии T98G (ATCC® CRL-1690™) и U87 (ATCC® – HTB-14) МГБ человека.

Лекарственные препараты, использованные в работе, представлены в таблице 1.

Культивирование клеток проводили в 6-луночных планшетах со средой «Dulbecco's Modified Eagle Medium» (DMEM) с добавлением 10 % фетальной бычьей сывороткой (FBS) с пенициллином/стрептомицином (100 Ед/мл, антибиотика-антимикотика 100X при 37°C (5 % CO₂) при стандартных условиях (Т 37 °С, 5 % CO₂) до достижения 80 % конfluenceности монослоя. Адгезировавшие клетки снимали с помощью ферментативной диссоциации (0,05 % трипсин-ЭДТА, 1:4 при 37 °С, 10 мин.) и центрифугировали (120g, 4 мин), добавляли свежую среду и ресуспендировали.

Метод моделирования рецидивирующей МГБ

in vitro. γ -облучение ОК проводили с помощью установки «Рокус-М» (Россия, Санкт-Петербург). Суммарная доза облучения составила 60 Гр. За одну фракцию достигали дозы 6 Гр и выполняли 10 фракций с интервалом 72 ч, достигая суммарной дозы 60 Гр.

Метод застания царапины. В клеточном монослое наносили царапины (1 мм) и производили фотосъемку одних и тех же участков через каждые 2 часа в течение 48 часов. Степень застания царапины ОК вычисляли как отношение площади царапины через 8, 12, 24, 48 ч к ее площади через 0 ч после нанесения.

Анализ инвазии ОК в камере Бойдена. Клетки инкубировали в течение 12 ч и затем фиксировали и окрашивали 0,5 % кристаллическим фиолетовым красителем. Клетки, мигрировавшие в нижние камеры, фотографировали и подсчитывали.

Таблица 1 – Короткая характеристика тестируемых лекарственных препаратов

Вещество	Производитель	IC ₅₀ для МГБ	Ссылка	Формула
Клофазимин	Merck	20 мкмоль/л – 64 мкмоль/л	Xu J., et al., 2020	
Целекоксиб	Merck	30 мкмоль/л	Yin D., et al, 2021	
Диклофенак натрия	Merck	0,05 ммоль/л – 0,2 ммоль/л	Leidgens, et al. 2015	
Никлозамид	Merck	300 нмоль/л – 1,2 мкмоль/л	Wieland, et al. 2013	
Темозоломид	Merck	≥120 мкмоль/л	Poon, et al. 2021	

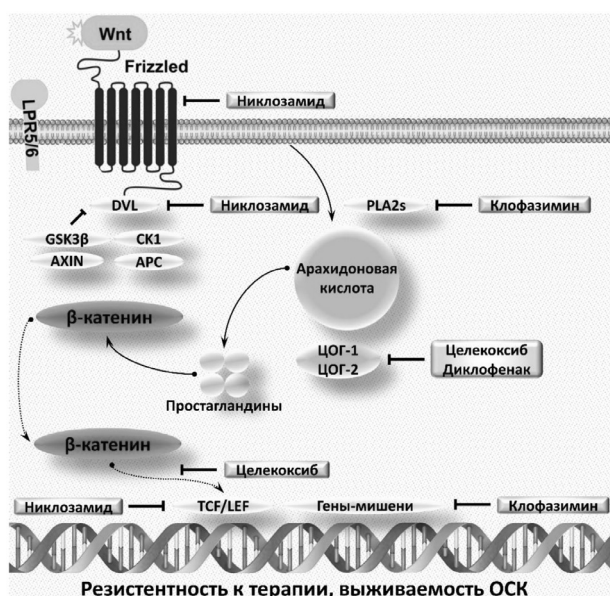


Рис. 1. Механизм ингибирования *Wnt*-сигнального пути тестируемыми веществами

МТТ-тест. Анализ жизнеспособности ОК проводили с помощью МТТ теста с бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия по протоколу производителя (Abcam Cambridge, Массачусетс). Значение концентрации, вызывающее 50 % ингибирование роста популяции клеток (IC₅₀), определили с помощью программного обеспечения OriginPro 9.0.

Фармакологическое тестирование in vitro проводили с использованием роботизированной количественной микроскопии в реальном времени с использованием системы Cell-IQ® MLF. После культивации клеток 24 ч добавляли тестируемые вещества в концентрациях полумаксимального ингибирования и 5 мкМ темозоломида. В качестве контроля использовали интактные ОК. Подсчет жизнеспособных клеток выполнялся автоматически с использованием системы Cell-IQ.



Результаты и обсуждение

Иммуноцитохимическая характеристика ОК. Накопление дозы радиации сопровождалось увеличением числа ОК иммунореактивных в отношении примитивных нейтральных и эмбриональных маркеров в клеточных линиях ГБ (табл. 2). При этом, число CD133⁺ ОК в контрольной культуре U87 ГБ составляло 4,01 %, и этого было достаточно для обеспечения высокой скорости пролиферации и быстрого формирования монослоя. Допустимо предположить, что облучение вызывает гибель CD133⁺ ОСК и последующую селекцию CD133⁺ ОСК, что проявляется многократным увеличением количества ОК этого иммунотипа.

Таблица 2 – Экспрессия маркеров ОСК клетками линии ГБ при облучении *in vitro*, %, M±m, n≥30 по каждой точке

Маркер	Клетки ГБ линии U87MG		Клетки ГБ линии T98G	
	контрольные	облучение 60 Гр.	контрольные	облучение 60 Гр.
CD133	4,01±1,52	32,96±5,72***	2,17±1,89	95,47±7,12***
Sox2	15,75±1,55	64,81±10,64***	20,18±2,35	76,83±8,69***
Oct-4	18,67±2,65	53,84±6,08***	23,48±3,78	64,47±5,23***
NANOG	19,27±5,72	31,67±3,44***	14,86±3,36	99,17±2,15***

Примечание. Здесь и далее различия с контролем достоверны по t-критерию Стьюдента при * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Вместе с тем с накоплением дозы радиации в составе клеточной популяции весомо растет количество ОК иммунореактивных в отношении ряда примитивных эмбриональных маркеров, что указывает не только на селекцию ОК одного изотипа, но и на общее снижение степени дифференцировки всех неопластических клеток в культуре, на что отчасти указывает увеличение содержания в культуре клеток ГБ факторов Яманаки – белков Sox2 и Oct4.

Протеомный анализ выявил 1808 белков в обоих образцах ОК: 1230 белков присутствовали во всех клеточных лизатах, 370 белков обнаружены только в контрольных ОК и 208 белков в облученных ОК. Среди идентифицированных белков 580 имели статистически значимые изменения (p<0,05) экспрессии по сравнению с контролем, при этом экспрессия 123 белков увеличилась более чем в 2 раза. Биоинформационный анализ идентифицировал среди этих белков маркеры ЭМП (табл. 3) и компоненты *Wnt*-сигнального пути (табл. 4).

Изменение протеомного профиля ОК линии U87 при облучении. Протеомный анализ идентифицировал 952 белка в обоих образцах ОК: 924 белка были обнаружены во всех клеточных лизатах, 16 белков были обнаружены только в контрольных ОК, а 12 белков только в облученных ОК. Среди всех идентифицированных белков 68 имели статистически значимые изменения (p<0,05) экспрессии по сравнению с контролем, при этом экспрессия 35 белков увеличилась более чем в 2 раза. Биоинформационный анализ

идентифицировал среди этих белков маркеры ЭМП (табл. 3) компоненты *Wnt*-сигнального пути (табл. 4).

Таблица 3 – Маркеры ЭМП идентифицированные в клетках ГБ при облучении в 60 Гр.

ID	Международное название белка	Соотношение контрольные / облучение 60 Гр.	
		U87MG	T98G
CDH1	Е-кадгерин	0,2	0,1
OCLN	Окклюдин	0,2	0,2
CLDN1	Клаудин 1	0,6	0,2
CDH2	N-кадгерин	2,7	4,5
VIM	Виментин	2,8	4,5
VTN	Витронектин	2,5	3,6
FN1	Фибронектин I типа	4,1	4,2
Actl6a	Актиноподобный белок 6A	2,1	3,5
Actn1	Актин, α 1	2,0	4,6
Myo1C	Миозин IC	2,8	2,8
MYO5A	Миозин VA (тяжелая цепь)	2,2	2,4
Myo7a	Миозин VIIA	2,1	3,2
MMP2	Матриксная металлопептидаза 2	2,8	3,5
MMP9	Матриксная металлопептидаза 9	3,1	6,2
MMP14	Матриксная металлопептидаза 14	2,2	3,5
ADAMTS1	ADAM матриксная металлопептидаза тромбоспондинового типа 1	2,3	4,3

Таблица 4 – Экспрессия белков *wnt*-сигнального пути клетками ГБ при облучении *in vitro*, %, M±m, n≥30 по каждой точке

ID	Международное название белка	Соотношение контрольные / облучение 60 Гр.	
		U87MG	T98G
APC	Аденоматозный полипоз толстой кишки	2,6	2,5
CSNK2A2	Казеин киназа 2 субъединица α 2	2,2	2,8
CSNK2B	Казеинкиназа 2 β	2,5	3,1
CTNNB1	Катенин β1	8,1	11,5
DVL	Dishevelled	2,2	2,8
DAAM1	Dishevelled - ассоциированный активатор морфогенеза 1	2,5	2,8
RUVBL1	RuvB-подобный белок 1	3,1	4,3

Примечание. Здесь и далее различия с контролем достоверны по t-критерию Стьюдента при * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Снижение содержания в ОК Е-кадгерина, окклюдина и клаудина 1 при значимом увеличении содержания N-кадгерина, белков мезенхимального фенотипа и актин-миозинового комплекса и матриксных металлопротеиназ (табл. 3) говорит о запуске в ОК процесса ЭМП, ведущего к общему снижению их дифференцировки и усилению синтеза ряда белков *Wnt*-сигнального пути (табл. 4), на которых следует остановиться особо.

Белок – APC (Adenomatous Polyposis Coli) – компонент канонического сигнального пути *Wnt*/β-catenin,

значимо экспрессирован в обученных клетках ГБ по сравнению с контролем.

Казеинкиназа 2 (CK2) – компонент канонического сигнального пути Wnt/ β -catenin, значимо экспрессирован в обученных клетках ГБ по сравнению с контролем. Белок регулирует клеточный цикл, процессы апоптоза и транскрипции, как и белок APC, является важнейшим компонентом «комплекса деградации» β -катенина.

β -катенин (CTNNB1) является ключевым элементом Wnt-сигнального пути. Накопление β -катенина в клетках активирует гены плюрипотентности и индуцирует синтез каталитических субъединиц теломеразы (TERT), усилению их репродуктивного потенциала. Согласно экспериментальным данным, экспрессия β -катенина в облученных клетках ГБ линии U87MG увеличена в 8,1 раза, а в облученных клетках линии

T98G в 11,5 раз по сравнению с контрольными ОК. Этот факт имеет решающее значение в исследовании.

RUVBL1(Pontin52) является одним из белков Wnt сигнального пути, который необходим для пролиферации ОК, играет ключевую роль в клеточном цикле, ремоделировании хроматина, репарации ДНК и апоптозе. Уровень RUVBL1 в облученных клетках ГБ был значительно выше по сравнению с контролем, что делает его привлекательной мишенью.

Результаты фармакологического тестирования in vitro. Подвижность облученных клеток ГБ под влиянием тестируемых препаратов снижалась, значимо уступая необлученному контролю (рис. 2), этот эффект был отчетливо выражен у клофазимина и целекоксиба, обнаруживая отчетливую зависимость от концентрации исследуемых средств.

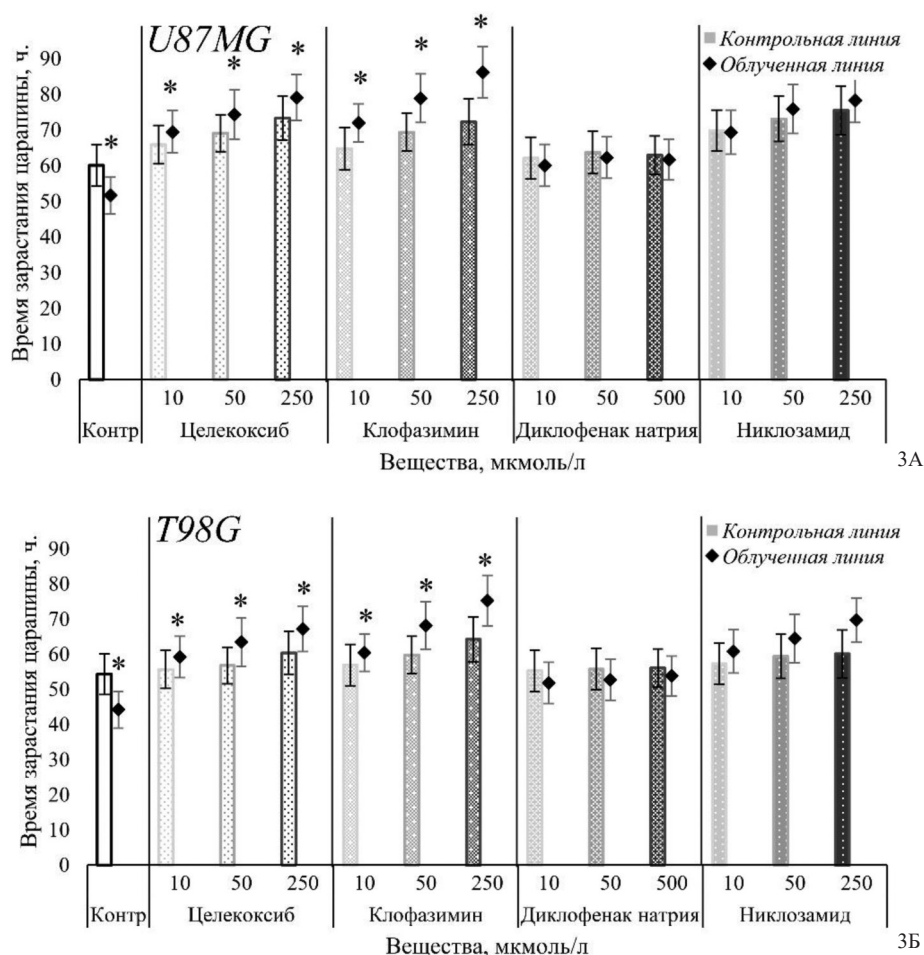


Рис. 2. Влияние тестируемых веществ на миграцию необлученных и облученных ОК: 3А – U87 MG ГБ человека; 3Б – T98G.

*Различия являются статистически значимыми при $p < 0,05$; $M \pm m$, $n = 3$. В качестве контроля использовались интактные клетки

Инвазивная активность облученных ОК была выше контрольных клеток ГБ (рис. 3), с ростом концентрации клофазимин и целекоксиб более эффективно угнетали инвазивные свойства облученных ОК, напротив, при воздействии никлозамида, диклофенака достоверных различий между сравниваемыми культурами отмечено не было.

Контрольные клетки ГБ линии T98G (рис. 4А) и U87MG (рис. 4Б) обладали различной чувствительностью к ТМЗ, однако с увеличением концентрации этого препарата доля живых клеток в культурах закономерно уменьшалась, достигая к 24 ч наблюдений IC_{50} составляющего для линии T98G 735 ± 23 мкмоль/л и U87MG 144 ± 13 мкмоль/л.



Обе линии клеток ГБ обладали довольно высокой чувствительностью к клофазимину, для которого IC_{50} в отношении ОК линии T98G составило $38,3 \pm 4,1$ мкмоль/л, для линии U87 MG $29,0 \pm 1,3$ мкмоль/л, что соответствует литературным данным [6]. Сопоставимую динамику, за 24 часа наблюдений продемонстрировали целекоксиб ($41,0 \pm 0,7$ мкмоль/л и $30,1 \pm 2,5$ мкмоль/л) и никлозамид ($7,0 \pm 0,1$ мкмоль/л и $4,3 \pm 0,7$ мкмоль/л). При этом IC_{50} диклофенака в отношении изучаемых линий ОК оказалась довольно высокой.

Накопление ОК радиации сопровождается снижением антиглиомной активности ТМЗ. Спустя 120 ч наблюдений число живых клеток в культурах облученных линий T98G и U87MG превосходило таковое в контроле ($p < 0,05$) (рис. 5 А, Б). Напротив, клофазимин и целекоксиб в диапазоне сравниваемых концентраций обладали более выраженным цитотоксическим действием в отношении облученной ГБ по сравнению с необлученными ОК, а цитотоксическое действие никлозамида значимых с контролем различий не обнаруживало. Комбинация клофазимина и целекоксиба с ТМЗ оказывала выраженное цитотоксическое действие в отношении облученных ОК (рис. 6), при этом цитотоксическое действие целекоксиба несколько уступало клофазимину.

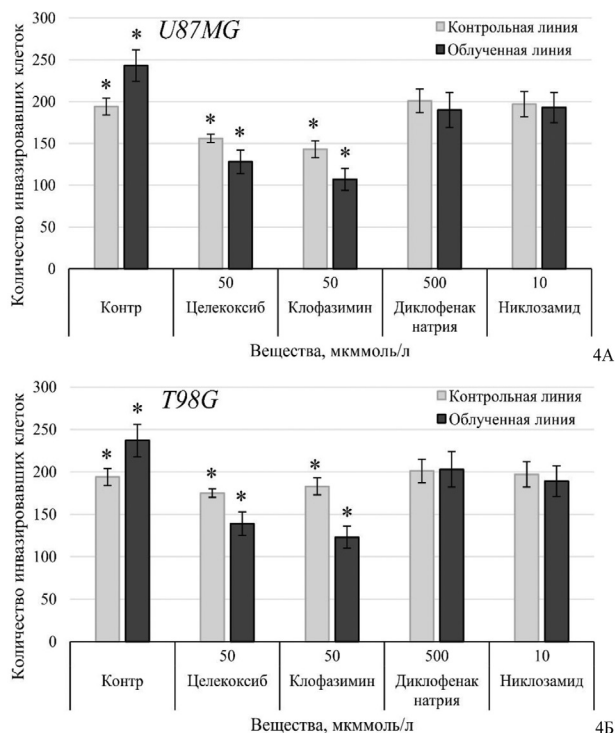


Рис. 3. Влияние тестируемых веществ на инвазию необлученных и облученных ОК: 4А – U87 MG ГБ человека; 4Б – T98G. *Различия являются статистически значимыми при $p < 0,05$; $M \pm m$, $n=3$. В качестве контроля использовались интактные клетки

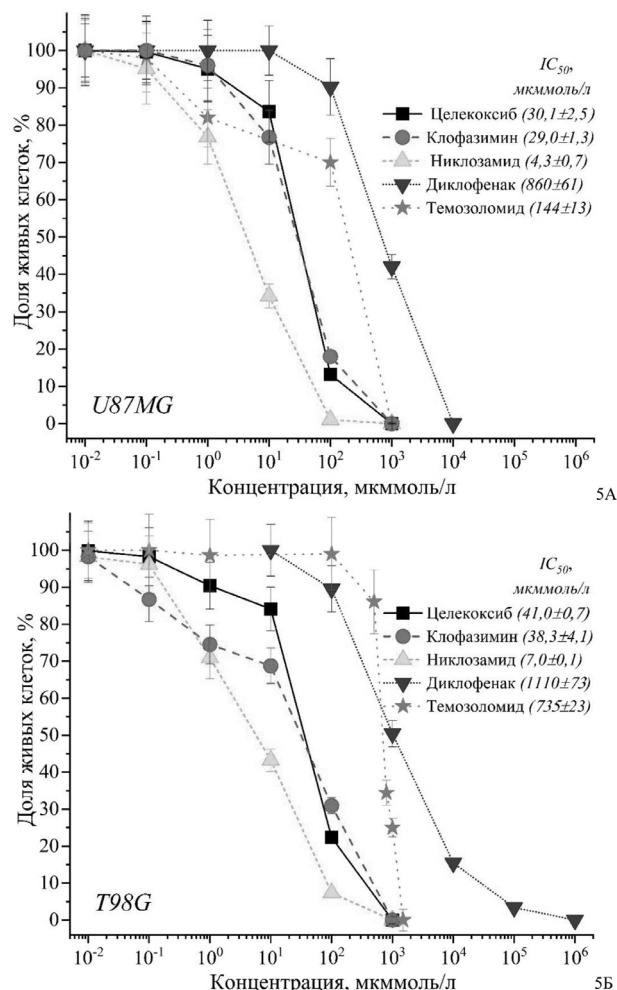


Рис. 4. Выживаемость необлученных ОК, обработанных тестируемыми веществами: 5А – U87 MG ГБ человека; 5Б – T98G

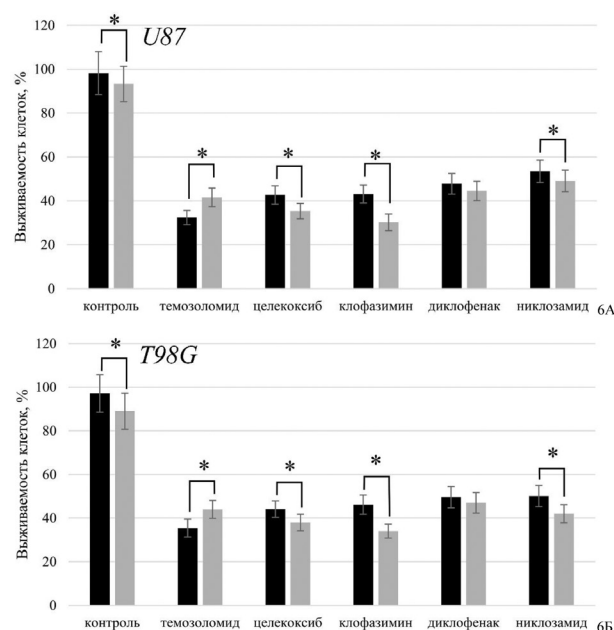


Рис. 5. Влияние тестируемых веществ на выживаемость необлученных и облученных ОК: 6А – U87 MG ГБ человека; 6Б – T98G. *Различия являются статистически значимыми при $p < 0,05$; $M \pm m$, $n=3$. В качестве контроля использовались интактные клетки

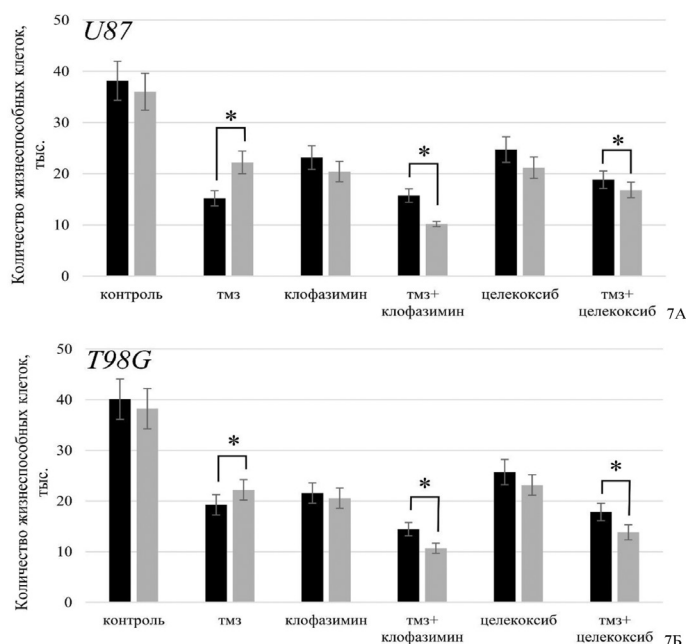


Рис. 6. Результаты совместного фармакологического тестирования на необлученных и облученных клетках глиобластомы *in vitro*. 7А – U87 MG ГБ человека; 7Б – T98G. *Различия являются статистически значимыми при $p < 0,05$; $M \pm m$, $n = 3$. В качестве контроля использовались интактные клетки

Выводы

1. Накопление ОК ГБ радиации ведет к запуску ЭМП и повышению синтеза белков Wnt-сигнального пути.

2. При облучении клеточных линий ГБ происходит увеличение пула иммунопозитивных к эмбриональным маркерам клеток, повышение миграционной и инвазивной активности ОК, а также возникает резистентность к TMZ.

3. Инвазивная активность и миграционный потенциал облученных клеток ГБ в большей степени подавляется клофазимином и цецекоксибом, чем необлученных.

4. Цецекоксиб и клофазимин усиливают цитотоксическое действие TMZ в отношении облученных клеток ГБ.

Цецекоксиб и клофазимин усиливают цитотоксическое действие TMZ в отношении облученных клеток ГБ, что позволяет считать их перспективными кандидатами для модернизации существующей схемы терапии рекуррентной ГБ.

Список источников

1. Stupp R., Mason W.P., van den Bent M.J., Weller M., Fisher B., Taphoorn M.J., Belanger K., Brandes A.A., Marosi C., Bogdahn U., et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma // *N Engl J Med.* – 2005. – Vol. 352, № 10. – P. 987-996.
2. Lukas R.V., Wainwright D.A., Ladomersky E., Sachdev S., Sonabend A.M., Stupp R. Newly diagnosed glioblastoma: A review on clinical management // *Oncology (Williston Park).* – 2019. – Vol. 33. – P. 91-100.
3. Lathia J.D., Mack S.C., Mulkearns-Hubert E.E., Valentim C.L., Rich J.N. Cancer stem cells in glioblastoma // *Genes Dev.* – 2015. – Vol. 29. – P. 1203-1217.
4. Mahabir R., Tanino M., Elmansuri A., Wang L., Kimura T., Itoh T., Ohba Y., Nishihara H., Shirato H., Tsuda M. and Tanaka S: Sustained elevation of Snail promotes glial-mesenchymal transition after irradiation in malignant glioma // *Neuro Oncol.* – 2014. – Vol. 671. – P. 671-685.
5. Rim E.Y., Clevers H., Nusse R. The Wnt Pathway: From Signaling Mechanisms to Synthetic Modulators // *Annu Rev Biochem.* – 2022. – Vol. 9. – P. 571-598.
6. Xu J., Koval A., Katanaev V.L. Beyond TNBC: Repositioning of Clofazimine Against a Broad Range of Wnt-Dependent Cancers // *Front Oncol.* – 2020. – Vol. 10. 602817.
7. Shevchenko V., Arnotskaya N., Korneyko M., Zaytsev S., Khotimchenko Y., Sharma H., Bryukhovetskiy I. Proteins of the Wnt signaling pathway as targets for the regulation of CD133+ cancer stem cells in glioblastoma // *Oncol Rep.* – 2019. – Vol. 41, № 5. – P. 3080-3088.
8. Chen M., Wang J., Lu J., Bond M.C., Ren X.R., Lyster H.K., Barak L.S., Chen W. The anti-helminthic niclosamide inhibits Wnt/Frizzled1 signaling // *Biochemistry.* – 2009. – Vol. 48, № 43. – P. 10267-10274.
9. Egashira I., Takahashi-Yanaga F., Nishida R., Arioka M., Igawa K., Tomooka K., Nakatsu Y., Tsuzuki T., Nakabepu Y., Kitazono T., Sasaguri T. Celecoxib and 2,5-dimethylcelecoxib inhibit intestinal cancer growth by suppressing the Wnt/ β -catenin signaling pathway // *Cancer Sci.* – 2017. – Vol. 108, № 1. – P. 108-115.
10. Sareddy G.R., Kesanakurti D., Kirti P.B., Babu P.P. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs diclofenac and celecoxib attenuates Wnt/ β -catenin/Tcf signaling pathway in human glioblastoma cells // *Neurochem Res.* – 2013. – Vol. 38, № 11. – P. 2313-22.

Благодарности. Авторы выражают благодарность за ценные советы и предложения при оформлении данных публикации профессору Хотимченко Ю.С. и Зайцеву С.В.

Acknowledgments. The authors express their gratitude for valuable advice and suggestions in the preparation of these publications to Professor Khotimchenko Yu.S. and Zaitsev S.V.



Вклад авторов:

Брюховецкий И.С. – идея работы, дизайн исследования;

Косьянова А.А., – постановка экспериментов, обработка материала, написание статьи.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors:

Bryukhovetskiy I.S. – the idea of the work, research design;

Kosianova A.A. – setting up experiments, processing the material, writing an article.

The authors declare no conflicts of interests.

Статья принята к публикации 11.10.2023.

The article was accepted for publication 11.10.2023.

