

## IMMUNOHISTOCHEMICAL ASSESSMENT OF POSSIBLE ANTICANCER EFFECT MECHANISMS OF 2-(6,8-DIMETHYL-5-NITRO-4-CHLOROQUINOLINE-2-YL)-5,6,7-TRICHLORO-1,3-TROPOLONE IN PDX MODELS OF LUNG CANCER

E. F. Komarova<sup>1,2✉</sup>, E. A. Lukbanova<sup>1</sup>, E. A. Dzhenkova<sup>1</sup>, A. S. Goncharova<sup>1</sup>, E. V. Zaikina<sup>1</sup>, S. V. Gurova<sup>1</sup>, A. V. Galina<sup>1</sup>, L. K. Kurbanova<sup>1</sup>, M. V. Mindar<sup>1</sup>, D. V. Khodakova<sup>1</sup>, M. S. Gusareva<sup>1</sup>, M. S. Zinkovich<sup>1</sup>

1. National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

2. Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ [katitako@gmail.com](mailto:katitako@gmail.com)

### ABSTRACT

**Purpose of the study.** Evaluation of the expression of immunohistochemical tumor markers Ki-67, b-catenin, Bcl-2, P53, connexin 32 and connexin 43 when using 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone in mice with xenografts of squamous cell lung cancer.

**Materials and methods.** Subcutaneous PDX models of human squamous cell lung cancer were created in immunodeficient BALB/c Nude mice. A fragment of the patient's tumor (3 × 3 × 3 mm) was implanted subcutaneously in the right thigh of a previously anesthetized mouse. 200 µl of 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone was administered orally using a probe in 12 doses once every 3 days. All animals were divided into groups depending on the tropolone doses: experimental groups 2–5 with doses of 0.0055, 0.055, 0.55 and 2.75 mg/g, respectively. The control group received 1 % starch gel which was tropolone carrier. The animals were euthanized 36 days after the start of the substance administration, and the tumor tissue was isolated and prepared for the IHC study according to the standard protocol. IHC reactions were performed using antibodies for Ki-67, b-catenin, Bcl-2, P53, connexin 32 and connexin 43.

**Results.** Higher tropolone doses were associated with decreased expression of Ki-67, b-catenin, and the Bcl-2 protein, but increased expression of the P53 protein. The dosage of tropolone and expression of connexin 43 were directly proportional.

**Conclusion.** Immunohistochemical analysis of expression of proteins in PDX models of human squamous cell lung cancer when using 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone showed the changes indicating its antitumor efficacy and suggesting a possible mechanism of action based on the activation of apoptosis.

### Keywords:

2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone, squamous cell lung cancer, PDX, Ki-67, b-catenin, Bcl-2, P53, connexin 32 and connexin 43, apoptosis

### For correspondence:

Ekaterina F. Komarova – Dr. Sci. (Biol.), professor of the RAS, senior researcher, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation; head of the biomedicine department (and psychophysiology), Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 29 Nakhichevansky lane, Rostov-on-Don 344022, Russian Federation

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: [katitako@gmail.com](mailto:katitako@gmail.com)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7553-6550>

SPIN: 1094-3139, AuthorID: 348709

ResearcherID: T-4520-2019

Scopus Author ID: 55890096600

The ethical principles presented by the Helsinki Declaration of the World Medical Association (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013) were observed in the work. The study was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Centre for Oncology (Protocol No. 1/61 of 02/19/2019).

**Funding:** this work was not funded.

**Conflict of interest:** authors report no conflict of interest.

### For citation:

Komarova E. F., Lukbanova E. A., Dzhenkova E. A., Goncharova A. S., Zaikina E. V., Gurova S. V., Galina A. V., Kurbanova L. K., Mindar M. V., Khodakova D. V., Gusareva M. S., Zinkovich M. S. Immunohistochemical assessment of possible anticancer effect mechanisms of 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone in PDX models of lung cancer. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(1): 6-13. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-1-1>, <https://elibrary.ru/atehfo>

The article was submitted 18.06.2022; approved after reviewing 03.11.2022; accepted for publication 06.03.2023.

## ВВЕДЕНИЕ

В качестве химиотерапевтического лечения рака легкого до настоящего времени применяются препараты платины, в связи с чем продолжается поиск химических субстанций, обладающих эффективным противоопухолевым действием при данной нозологии [1; 2]. В последние годы в таком качестве рассматриваются алкалоиды трополонового ряда, продемонстрировавшие избирательную токсичность в отношении клеток злокачественных опухолей [3]. Наиболее известные в настоящее время трополоны природного происхождения – колхицин, колхамин и β-туяплицин (хинокитиол) демонстрируют выраженные противоопухолевые свойства за счет разнообразных механизмов [4].

Природный тропоноид колхицин оказывает эффект торможения опухолевого роста за счет связывания с тубулином, что нарушает клеточное деление, а также за счет способности ограничивать митохондриальный метаболизм в злокачественных клетках путем ингибирования потенциал-зависимых анионных каналов митохондриальной мембраны [5; 6]. Противоопухолевое действие современного природного тропоноида хинокитиола за счет индукции каспаззависимого апоптоза, аутофагии, блокирования S-фазы клеточного цикла, повреждения ДНК и ее деметилирования отмечено в отношении клеток рака толстой кишки, аденокарциномы легких, рака молочной железы, множественной миеломы, гепатоцеллюлярного рака [7; 8].

В отличие от природных и синтетических β-замещенных трополонов, механизмы противоопухолевого действия α-замещенных аналогов изучены мало. В некоторых исследованиях была показана способность синтезированных α-замещенных трополонов путем индуцируемого каспазозависимого апоптоза подавлять рост лимфоцитарных лейкозных клеток (но не здоровых клеток крови), а также клеточной культуры множественной миеломы [9]. В исследованиях *in vitro* была показана связь механизмов цитотоксического действия исследованных соединений с индукцией апоптоза и изменением активности сигнального пути ERK в клетках рака яичников и толстой кишки [10].

**Цель исследования:** оценить уровень экспрессии иммуногистохимических опухолевых маркеров Ki-67, b-catenin, Bcl-2, P53, коннексина 32 и коннексина 43 при применении 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона у мышей с ксенографтами плоскоклеточного рака легкого.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали 50 мышей линии BALB/c Nude обоего пола, которые были получены из питомника ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск) и содержались в стандартных условиях SPF-вивария Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (протокол № 1/61 от 19.02.2019 г.). Манипуляции с животными осуществляли в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.

На иммунодефицитных мышях линии BALB/c Nude были получены подкожные PDX-модели (Patient-Derived Xenograft) плоскоклеточного рака легкого человека в 4-м пассаже [11]. Донором опухолевого материала был пациент Т., с диагнозом С34.3 Центральный рак нижней доли правого легкого, pT3N0M0, st IIB. Гистологический тип опухоли пациента – плоскоклеточный рак легкого. Фрагмент опухоли пациента размером 3 × 3 × 3 мм имплантировали подкожно в область правого бедра мыши, предварительно наркотизировав животное при помощи ксилазина концентрацией 20 мг/мл и золетила (тилетамин, золазепам основание) концентрацией 22,57 мг/мл [12].

В эксперименте осуществляли введение субстанции 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона (далее трополона), синтезированной методом расширения о-хинонового цикла в НИИ физической и органической химии Южного федерального университета [13]. Введение веществ начинали после достижения опухолевыми узлами объемов 100 мм<sup>3</sup>. В качестве носителя для введения трополона использовали 1 % крахмальный гель. Вещества вводили перорально при помощи зонда в объеме 200 мкл в 12 приемов с кратностью 1 раз в 3 дня независимо от приема пищи и воды. Все животные были распределены по группам в зависимости от примененной дозы трополона (табл. 1).

Длительность эксперимента составляла 36 дней, начиная с первого введения вещества. После эвтаназии животных путем дислокации шейных позвонков, выделяли опухолевый материал и после стандартной подготовки заключали в парафиновые блоки. Для ИГХ исследования

с парафиновых блоков при помощи роторного микротомы делали срезы, которые в дальнейшем подвергали депарафинизации по стандартному протоколу. Все этапы иммуногистохимической реакции проводили в иммуногистостейнере VENTANA BenchMark ULTRA фирмы Roche (Швейцария) согласно протоколам фирм-производителей, прилагаемым к используемым моно- и поликлональным антителам. В качестве системы детекции первичных антител была использована «UltraView Universal DAB Detection», произведенная фирмой Ventana Medical Systems. Для ИГХ реакций использовали антитела: Ki-67 – Cell Marque, США, p53, b-catenin, Vcl-2, коннексина 32 и –43 – Ventana Medical Systems, США. Оценивали интенсивность иммуноокрашивания с помощью световой микроскопии (микроскоп Leica DM3000).

Оценку нормальности распределения признаков осуществляли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для количественных данных вычисляли медиану и межквартильный диапазон. Статистическую значимость различий между группами оценивали

с помощью попарного сравнительного анализа по критерию Манна–Уитни. Уровень значимости для использованных методов был установлен как  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При иммуногистохимическом исследовании экспрессии маркера пролиферации Ki-67 в тканях ксенографтов рака легкого человека доля иммунопозитивных клеток составляла в 1-й контрольной группе 66,3 [61,5–69,3] %, во 2-й, 3-й, 4-й и 5-й опытных группах – 64,7 [62,3–65,3] %, 61,4 [60,3–62,3] %, 59,3 [58,1–60,2] % и 55,2 [53,2–57,4] % соответственно, то есть наблюдалось статистически значимое снижение уровня экспрессии Ki-67 по мере увеличения дозы трополона и по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,01$ ) (рис. 1).

Процент положительно окрашенных клеток при оценке экспрессии b-catenin в ксенографтах рака легкого человека составил в опытных группах: во

Таблица 1. Дизайн эксперимента

Номер группы	Название группы	Количество животных	Вводимое вещество	Доза вещества, мг/г
1	Контрольная	10	Крахмальный гель	1 %
2	Опытная	10	Трополон	0,0055
3		10		0,055
4		10		0,55
5		10		2,75

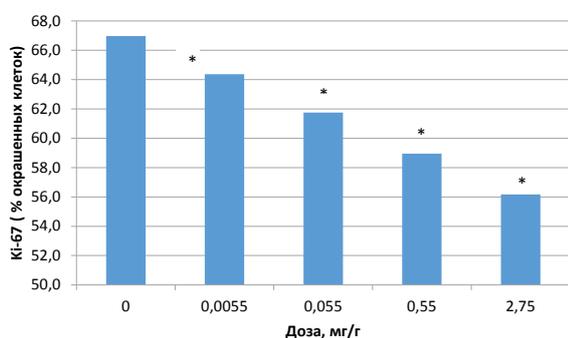


Рис. 1. Зависимость между дозой трополона и долей иммунопозитивных клеток при оценке экспрессии Ki-67 в PDX-моделях рака легкого человека на иммунодефицитных мышах BALB/c Nude. 0 – контрольная группа, \* – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

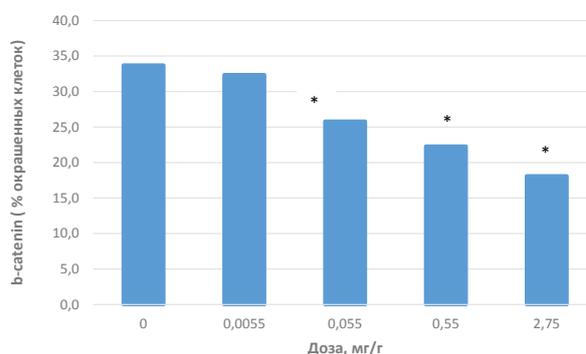


Рис. 2. Зависимость между дозой трополона и долей иммунопозитивных клеток при оценке экспрессии b-catenin в PDX-моделях рака легкого человека на иммунодефицитных мышах BALB/c Nude. 0 – контрольная группа, \* – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

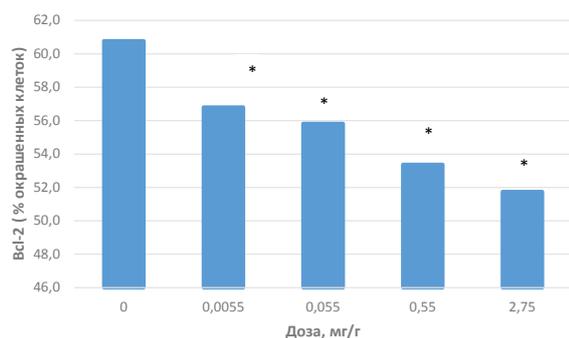


Рис. 3. Зависимость между дозой трополона и долей иммунопозитивных клеток при оценке экспрессии Vcl-2 в PDX-моделях рака легкого человека на иммунодефицитных мышах BALB/c Nude. 0 – контрольная группа, \* – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

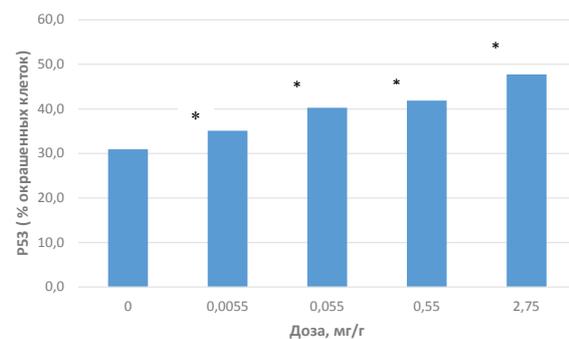


Рис. 4. Зависимость между дозой трополона и долей иммунопозитивных клеток при оценке экспрессии P53 в PDX-моделях рака легкого человека на иммунодефицитных мышах BALB/c Nude. 0 – контрольная группа, \* – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

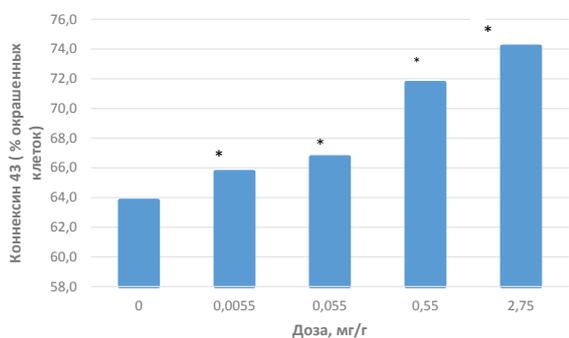


Рис. 5. Зависимость между дозой трополона и долей иммунопозитивных клеток при оценке экспрессии коннексина 43 в PDX-моделях рака легкого человека на иммунодефицитных мышах BALB/c Nude. 0 – контрольная группа, \* – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

2-й – 32,7 [31,2–33,1] %, в 3-ей – 24,5 [23,4–26,5] %, 4-й – 22,3 [20,7–23,6] % и в 5-й – 8,4 [7,2–9,3] %, что было статистически значимо ниже при  $p < 0,05$  относительно группы контроля (33,7 ± 0,3 %) (рис. 2).

При оценке экспрессии Vcl-2 в ксенографтах рака легкого человека наблюдалось статистически значимое ( $p < 0,01$ ) снижение уровня экспрессии Vcl-2 с увеличением дозы трополона, а доля иммунопозитивных клеток составляла в среднем в 1-й группе (контрольной) – 61,1 [57,9–62,4] %, во 2-й (0,0055 мг/г), 3-й (0,055 мг/г), 4-й (0,55 мг/г) и 5-й (2,75 мг/г) группах – 56,8 [55,4–58,6] %, 55,5 [53,1–56,3] %, 52,5 [52,9–55,2] % и 50,9\* [50,1–53,2] % соответственно (рис. 3).

При ИГХ оценке экспрессии белка-онкосупрессора P53 доля иммунопозитивных клеток в ксенографтах рака легкого человека составляла в среднем в 1-й группе 30,9 ± 0,5 %, во 2-й, 3-й, 4-й и 5-й группах – 35,8 ± 0,4 [32,3–37,5] %, 41,4 ± 1 [39,9–43,1] %, 42,9 ± 1,3 [41,2–44,3] % и 48,1 ± 0,4 [45,9–51,3] % соответственно (рис. 4). При этом наблюдалось статистически значимое ( $p < 0,01$ ) увеличение уровня экспрессии P53 с увеличением дозы трополона (во 2, 3, 4 и 5-й группах по сравнению с контрольной), что свидетельствует об усилении процессов апоптоза в опухолевой ткани (рис. 4).

При анализе экспрессии коннексина 32 в тканях PDX-моделей рака легкого во всех опытных группах животных не было обнаружено статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ) с контрольной группой. Процент положительно окрашенных клеток составил 62,1 [60,2–63,5] %, 61,1 [59,9–62,9] %, 61,6 [60,1–63,1] %, 61,3 [59,8–62,1] % и 61,7 [60,4–62,9] % для 1–5 групп соответственно.

Доля иммунопозитивных клеток при оценке экспрессии коннексина 43 в ксенографтах рака легкого человека составляла в среднем в 1-й группе (контрольной) – 62,8 [58,3–63,2] %, во 2-й, 3-й, 4-й и 5-й группах – 65,3 [64,1–66,5] %, 66,9 [65,3–69,5] %, 71,8 [69,4–72,9] % и 74,8 [72,3–76,4] % соответственно, то есть при воздействии трополоном наблюдалось статистически значимое увеличение уровня экспрессии коннексина 43 в опытных группах по сравнению с контрольной. ( $P_{1-2,1-3} \leq 0,05$ ;  $P_{1-4,1-5} < 0,01$ ) (рис. 5).

Проведенный иммуногистохимический анализ уровня экспрессии белков Ki-67, b-catenin, Vcl-2, P53 и коннексиннов 43 и 32 в PDX-моделях плоскоклеточного рака легкого человека при применении 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона обнаружил

их изменения, указывающие на дозозависимую противоопухолевую активность и позволяющие предполагать возможные механизмы действия изученной субстанции. Так было обнаружено, что с повышением дозы трополона уменьшается экспрессия Ki-67, b-catenin, а также происходит снижение уровня экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2, при этом уровень экспрессии белка-онкосупрессора P53 нарастает при увеличении дозы примененного вещества. Белок Ki-67 в настоящее время рассматривается как самый надежный маркер пролиферации, в том числе для рака легкого, а его снижение, наблюдаемое в опытных группах относительно показателей в контрольной группе, указывает на уменьшение пролиферативной активности опухолевых клеток плоскоклеточного рака легкого при применении трополона [14]. Считается, что b-catenin проявляет различные эффекты в опухолевых клетках, в частности, активирует пролиферацию, являясь одной из ключевых молекул туморогенного сигнального пути Wnt/b-catenin и за счет перекреста с другими сигнальными путями регулирует апоптоз, ангиогенез и инвазию клеток, а также участвует в сдвиге клеточного метаболизма в сторону бескислородного окисления глюкозы [15]. Уменьшение экспрессии b-catenin опухолевыми клетками рака легкого в PDX-моделях при применении трополона подтверждает противоопухолевый эффект данного вещества, очевидно опосредованный через сигнальный путь Wnt/b-catenin. В исследованиях показано, что сверхэкспрессия белка Bcl-2 блокирует апоптоз и, таким образом, способствует прогрессии опухолей [16]. Lee Y.-S. и соавторами (2013) было показано снижение экспрессии Bcl-2 при воздействии природным трополоном – хинокитиолом – на подкожные ксенографты, полученные путем трансплантации культуры клеток рака толстой кишки человека HCT-116 и SW-620 [17]. Подавление экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 в клетках подкожного ксенографта плоскоклеточного рака легкого в совокупности с повышением экспрессии онкосупрессора P53, известного своим активирующим влиянием на проапоптотические белки Bax и Bid, указывает на стимуляцию апоптоза при применении 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона.

При исследовании влияния трополона на уровень экспрессии коннексина 43 была обнаружена зависимость его экспрессии при повышении дозы трополона. Известно, что коннексины являются супрессорами опухолей, которые с помощью межклеточной коммуникации щелевого соединения регулируют клеточную пролиферацию, апоптоз, химиорезистентность, миграцию и инвазию [18]. Сверхэкспрессия коннексина 43 в ядре коррелирует с повышенной агрессивностью опухоли легких, что связано с его способностью рекрутировать E-кадгерин, обеспечивая клеткам опухоли более инвазивный фенотип, увеличивая их способность к миграции, выживаемости и способствуя развитию отдаленных метастазов [19]. Однако, коннексин 43 при его цитоплазматической локализации способен ингибировать туморогенез [20]. Предполагая в целом противоопухолевую эффективность изученного трополона, можно говорить об индукции супрессорной функции коннексина 43 относительно рака легкого в PDX-модели. Некоторые исследования показывают, что коннексин 32 сверхэкспрессируется в клетках рака легких [21]. Нокаут либо нокадаун гена коннексина 32 приводит к увеличению частоты химических и радиационно-индуцированных опухолей легких, а также усиливает эпителиально-мезенхимальный переход, миграцию и инвазию опухолевых клеток [22], вероятно, частично из-за активации пути MAPK. Однако нами не было обнаружено влияния трополона на экспрессию коннексина 32, причина этого не ясна и требует дальнейшего изучения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаруженные изменения изученных иммуногистохимических маркеров на PDX-моделях, указывающих на снижение пролиферативной активности опухолевых клеток легкого, а также на активацию процессов апоптоза, свидетельствует о проявлении противоопухолевого эффекта, примененного трополона. Исходя из полученных результатов, мы предполагаем, что возможным механизмом противоопухолевого действия изученного трополона является активация апоптоза.

## Список источников

1. Кит О. И., Шапошников А. В., Златник Е.Ю., Никипелова Е.А., Новикова И. А. Местный клеточный иммунитет при аденокарциноме и полипах толстой кишки. Сибирское медицинское обозрение. 2012;4(76):11–16. EDN: PBXSWF

2. Кит О. И., Франциянц Е. М., Никипелова Е. А., Комарова Е. Ф., Козлова Л. С., Таварян И. С., и др. Изменения маркеров пролиферации, неоангиогенеза и системы активации плазминогена в ткани рака прямой кишки. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2015;2(114):40–45. EDN: THKCLP
3. Bang DN, Sayapin YuA, Nguyen HL, Duc D, Komissarov VN. Synthesis and cytotoxic activity of [benzo[b][1,4]oxazepino[7,6,5-de]quinolin-2-yl]-1,3-tropolones. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2015;51(3):291–294. <https://doi.org/10.1007/s10593-015-1697-2>
4. Tkachev VV, Shilov GV, Aldoshin SM, Sayapin YA, Tupaeva IO, Gusakov EA, et al. Structure of 2-(benzoxazole-2-yl)-5,7-di(tert-butyl)-4-nitro-1,3-tropolone. *Journal of Structural Chemistry*. 2018;59(1):197–200. <https://doi.org/10.1134/s0022476618010316>
5. Бурбаева Г. Ш., Андросова Л. В., Савушкина О. К. Связывание колхицина с тубулином в структурах головного мозга в норме и при шизофрении. *Нейрохимия*. 2020;37(2):183–187. <https://doi.org/10.31857/s1027813320010069>
6. Alkadi H, Khubeiz MJ, Jbeily R. Colchicine: A Review on Chemical Structure and Clinical Usage. *Infect. Disord. Drug Targets*. 2018;18(2):105–121. <https://doi.org/10.2174/1871526517666171017114901>
7. Florian S, Mitchison TJ. Anti-Microtubule Drugs. *Methods Mol Biol*. 2016;1413:403–421. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3542-0\\_25](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3542-0_25)
8. Zhang G, He J, Ye X, Zhu J, Hu X, Minyan Sh, et al.  $\beta$ -Thujaplicin induces autophagic cell death, apoptosis, and cell cycle arrest through ROS-mediated Akt and p38/ERK MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis*. 2019 Mar 15;10(4):255. doi: <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1492-6>
9. Chen SM, Wang BY, Lee CH, Lee HT, Li JJ, Hong GC, et al. Hinokitiol up-regulates miR-494-3p to suppress BMI1 expression and inhibits self-renewal of breast cancer stem/progenitor cells. *Oncotarget*. 2017 Jun 27;8(44):76057–76068. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18648>
10. Haney SL, Allen C, Varney ML, Dykstra KM, Falcone ER, Colligan SH, et al. Novel tropolones induce the unfolded protein response pathway and apoptosis in multiple myeloma cells. *Oncotarget*. 2017 Jun 16;8(44):76085–76098. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18543>
11. Лукбанова Е. А., Миндарь М. В., Дженкова Е. А., Максимов А. Ю., Гончарова А. С., Шатова Ю. С. и др. Экспериментальный подход к получению подкожного ксенографта немелкоклеточного рака легкого. *Исследования и практика в медицине*. 2022;9(2):65–76. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-2-5>, EDN: SWTKGU
12. Колесников Е. Н., Лукбанова Е. А., Ванжа Л. В., Максимов А. Ю., Кит С. О., Гончарова А. С. и др. Способ проведения наркоза у мышей BALB/c Nude при оперативных вмешательствах. Патент RU № 2712916, опубл. 03.02.2020, Бюл. №4.
13. Минкин В. И., Кит О. И., Гончарова А. С., Лукбанова Е. А., Саяпин Ю. А., Гусаков Е. А. и др. Средство, обладающее цитотоксической активностью в отношении культуры клеток немелкоклеточного рака легких А 549. Патент РФ. RU2741311 C1. Заявка № 2020123736 от 17.07.2020 г.
14. Miller I, Min M, Yang C, Tian C, Gookin S, Carter D, et al. Ki67 is a Graded Rather than a Binary Marker of Proliferation versus Quiescence. *Cell Rep*. 2018 Jul 31;24(5):1105–1112.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.06.110>
15. Albayrak G, Demirtas Korkmaz F. Memantine shifts cancer cell metabolism via AMPK1/2 mediated energetic switch in A549 lung cancer cells. *EXCLI J*. 2021 Feb 4;20:223–231.
16. Gioacchini FM, Alicandri-Ciuffelli M, Rubini C, Magliulo G, Re M. Prognostic value of Bcl-2 expression in squamous cell carcinoma of the larynx: a systematic review. *Int J Biol Markers*. 2015 May 26;30(2):e155–160. <https://doi.org/10.5301/jbm.5000116>
17. Lee YS, Choi KM, Kim W, Jeon YS, Lee YM, Hong JT, et al. Hinokitiol inhibits cell growth through induction of S-phase arrest and apoptosis in human colon cancer cells and suppresses tumor growth in a mouse xenograft experiment. *J Nat Prod*. 2013 Dec 27;76(12):2195–2202. <https://doi.org/10.1021/np4005135>
18. Aasen T, Johnstone S, Vidal-Brime L, Lynn KS, Koval M. Connexins: Synthesis, Post-Translational Modifications, and Trafficking in Health and Disease. *Int J Mol Sci*. 2018 Apr 26;19(5):1296. <https://doi.org/10.3390/ijms19051296>
19. Ruch RJ. Connexin43 Suppresses Lung Cancer Stem Cells. *Cancers (Basel)*. 2019 Feb 2;11(2):175. <https://doi.org/10.3390/cancers11020175>
20. Spagnol G, Trease AJ, Zheng L, Gutierrez M, Basu I, Sarmiento C, et al. Connexin43 Carboxyl-Terminal Domain Directly Interacts with  $\beta$ -Catenin. *Int J Mol Sci*. 2018 May 24;19(6):1562. <https://doi.org/10.3390/ijms19061562>
21. Aasen T, Mesnil M, Naus CC, Lampe PD, Laird DW. Gap junctions and cancer: communicating for 50 years. *Nat Rev Cancer*. 2016 Dec;16(12):775–788. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.105>. Erratum in: *Nat Rev Cancer*. 2017 Jan;17(1):74.
22. Yang Y, Zhang N, Zhu J, Hong XT, Liu H, Ou YR, et al. Downregulated connexin32 promotes EMT through the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway by targeting Snail expression in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol*. 2017 Jun;50(6):1977–1988. <https://doi.org/10.3892/ijo.2017.3985>

---

#### Информация об авторах:

Комарова Екатерина Федоровна <sup>✉</sup> – д.б.н., профессор РАН, старший научный сотрудник, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация; заведующая кафедрой биомедицины (и психофизиологии), ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7553-6550>, SPIN: 1094-3139, AuthorID: 348709, ResearcherID: T-4520-2019, Scopus Author ID: 55890096600

Лукбанова Екатерина Алексеевна – научный сотрудник, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3036-6199>, SPIN: 4078-4200, AuthorID: 837861

Дженкова Елена Алексеевна – д.б.н., доцент, ученый секретарь, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745

Гончарова Анна Сергеевна – к.б.н., заведующая испытательным лабораторным центром, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>, SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424, Scopus Author ID: 57215862139

Заикина Екатерина Владиславовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0088-2990>, SPIN: 4000-4369, AuthorID: 1045258, Scopus Author ID: 57221463270

Гурова Софья Валерьевна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9747-8515>, SPIN: 5413-6901, AuthorID: 1147419

Галина Анастасия Владимировна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7823-3865>, SPIN: 9171-4476, AuthorID: 1071933

Курбанова Луиза Зулкаидовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3436-1325>, SPIN: 9060-4853, AuthorID: 1020533

Миндарь Мария Вадимовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8734-9210>, SPIN: 5148-0830, AuthorID: 1032029, Scopus Author ID: 57217235360

Ходакова Дарья Владиславовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3753-4463>, SPIN: 8718-3983, AuthorID: 1056414

Гусарева Марина Александровна – к.м.н., заведующая отделением радиотерапии № 1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9426-9662>, SPIN: 9040-5476, AuthorID: 705242

Зинькович Михаил Сергеевич – к.м.н., врач-радиотерапевт отделением радиотерапии № 1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2460-0038>, SPIN: 1072-9674, AuthorID: 735168

---

#### Вклад авторов:

Комарова Е. Ф. – концепция и дизайн исследования;  
Лукбанова Е. А. – написание рукописи, интерпретация результатов;  
Дженкова Е. А. – научное редактирование статьи;  
Гончарова А. С. – научное редактирование статьи;  
Заикина Е. В. – написание рукописи;  
Гурова С. В. – оформление библиографии;  
Галина А. В. – проведение эксперимента;  
Курбанова Л. З. – оформление библиографии;  
Миндарь М. В. – статистический анализ данных;  
Ходакова Д. В. – проведение эксперимента;  
Гусарева М. А. – анализ и интерпретация данных;  
Зинькович М. С. – техническое редактирование рукописи.