

УДК 618.19-006

ВЛИЯНИЕ БЕРБЕРИНА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ФЕНОТИП КЛЕТОК ЛИНИЙ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹Филиппова С.Ю., ¹Тимофеева С.В., ¹Ситковская А.О., ¹Межевова И.В., ¹Енин Я.С.,
²Буров О.Н., ¹Позднякова В.В., ¹Хохлова О.В., ¹Мезенцев С.С., ¹Пандова О.В.

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии»,
Ростов-на-Дону, e-mail: filsv@yandex.ru;

²ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону

В работе исследуется влияние берберина на показатели митохондриального дыхания и гликолиза в клеточных линиях рака молочной железы BT20, BT474 и MDA-MB-453. Базовый уровень и резерв дыхания оценивали по скорости поглощения кислорода (OCR), а показателем интенсивности гликолиза служила скорость закисления среды (ECAR). Измерения проводили на анализаторе внеклеточных потоков Seahorse XFp Analyzer (Agilent, США). Клетки исследуемых линий высаживали в количестве 2×10^4 на лунку в планшеты Seahorse XFp Analyzer в питательной среде DMEM с добавлением 10% ФСК, в опытные лунки добавляли берберин до конечной концентрации 2.5 мкМ или 10 мкМ. Планшеты с клетками культивировали 24 ч при 37°C и 5% CO₂, после чего проводили измерения с добавлением в питательную среду смеси метаболитических ядов – олигомицина (1 мкМ) и FCCP (2 мкМ). По данным проведенного исследования берберин оказывал зависящее от дозы угнетающее действие на базовый уровень клеточного дыхания во всех исследованных линиях, не оказывая достоверного влияния на резерв окислительного фосфорилирования. Снижение уровня потребления кислорода сопровождалось ростом гликолиза в клетках линии MDA-MB-453, однако в клеточных культурах BT20 и BT474 уровень гликолиза достоверно не отличался в контрольных и опытных образцах. В работе впервые было обнаружено снижение резерва гликолиза, которое зависело от дозы берберина и наблюдалось во всех исследуемых клеточных линиях.

Ключевые слова: рак молочной железы, BT20, BT474, MDA-MB-453, гликолиз, окислительное фосфорилирование, берберин

INFLUENCE OF BERBERINE ON ENERGY PHENOTYPE OF BREAST CANCER CELL CULTURES

¹Filippova S.Yu., ¹Timofeeva S.V., ¹Sitkovskaya A.O., ¹Mezhevova I.V., ¹Enin Ya.S.,
¹Pozdnyakova V.V., ¹Khokhlova O.V., ¹Mezentsev S.S., ¹Pandova O.V.

¹National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: filsv@yandex.ru;

²Southern Federal University, Rostov-on-Don

The work investigates the effect of berberine on the parameters of mitochondrial respiration and glycolysis in breast cancer cell lines BT20, BT474 and MDA-MB-453. Baseline and reserve OXPHOS were assessed by the oxygen consumption rate (OCR), and the extracellular acidification rate (ECAR) of the medium served as an indicator of the intensity of glycolysis. The measurements were performed on a Seahorse XFp Analyzer (Agilent, USA) extracellular flow analyzer. Cells of the studied lines were seeded in an amount of 2×10^4 per well in Seahorse XFp Analyzer plates in DMEM medium supplemented with 10% FBS, berberine was added to the experimental wells to a final concentration of 2.5 μM or 10 μM. Plates with cells were cultured for 24 hours at 37°C and 5% CO₂, after that measurements were carried out with the addition of a mixture of metabolic poisons – oligomycin (1 μM) and FCCP (2 μM) to the medium. According to the study, berberine exerted a dose-dependent inhibitory effect on the baseline level of cellular respiration in all studied lines, without significantly affecting the OXPHOS reserve. A decrease in the level of oxygen consumption was accompanied by an increase in glycolysis in MDA-MB-453 cells, however, in BT20 and BT474 cell cultures, the level of glycolysis did not differ significantly in the control and experimental samples. The work was the first to find a decrease in the glycolysis reserve, which depended on the dose of berberine and was observed in all studied cell lines.

Keywords: breast cancer, BT20, BT474, MDA-MB-453, glycolysis, oxidative phosphorylation, berberine

Рак молочной железы (РМЖ) является одним из основных онкологических заболеваний женщин во всем мире. Применение цитостатических препаратов позволило увеличить продолжительность жизни пациентов с РМЖ, тем не менее смертность остаётся высокой и только в России составляет более 20 000 чел. в год [1]. Основная причина прогрессирования заболевания – это развитие резистентности, поэтому поиск адьювантов, способных повысить чувствительность клеток опухоли к химиотерапевтическим препаратам, является актуальной

проблемой современной онкологии. Одним из перспективных направлений исследований является изучение веществ, способных воздействовать на энергетический фенотип опухолевых клеток. Быстро делящимся клеткам рака необходимо большое количество энергии в виде АТФ для обеспечения своих нужд, и воздействие химиотерапевтических препаратов усиливает потребность опухолевых клеток в энергии. Поэтому снижение энергетических резервов клеток рака может существенно понизить их способность сопротивляться цитостатическому

действию таких препаратов, как доксорубин, циклофосфамид и паклитаксел, чаще всего применяемых в терапии РМЖ.

Берберин является природным соединением, добываемым из корней растений рода *Berberis* sp. и нашедшим широкое применение в качестве противомикробного и антидиарейного препарата в традиционной медицине. На современном же этапе развития фармакологии, благодаря многочисленным исследованиям, был раскрыт потенциал берберина для применения в разных областях терапии, в том числе, в качестве перспективного противоракового агента при лечении РМЖ [2]. Известно, что берберин способен подавлять пролиферацию и миграционную способность, а также вызывать апоптоз клеток рака *in vitro* [3]. Тем не менее эффективность берберина в качестве противоопухолевого монопрепарата является низкой [4], более перспективным представляется применение этого соединения в качестве адьюванта в сочетании с традиционными химиопрепаратами для лечения РМЖ [5–7]. Известно, что берберин обладает способностью снижать уровень сахара в крови за счёт подавления клеточного дыхания [8], тем не менее влияние этого соединения на энергетический фенотип клеток РМЖ остаётся слабо изученным. Понимание особенностей взаимодействия берберина и энергетического метаболизма опухолевых клеток может способствовать разработке более эффективных схем адьювантной терапии РМЖ.

Цель исследования: изучить влияние берберина на энергетический фенотип клеток рака молочной железы.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили культуры клеток рака молочной железы BT20, BT474 и MDA-MB-453. Клетки выращивали в питательной среде DMEM (Gibco, США) с добавлением 10% фетальной сыворотки коров (ФСК) (HyClone, США) при 37°C и 5% CO₂. Исследование энергетического фенотипа проводили на анализаторе внеклеточных потоков Seahorse XFp Analyzer (Agilent, США) с использованием набора Seahorse XFp Cell Energy Phenotype Test (Agilent, США) согласно протоколу производителя. За день до проведения теста клетки исследуемых линий высаживали в количестве 2×10⁴ на лунку в планшеты Seahorse XFp Analyzer в питательной среде DMEM с добавлением 10% ФСК, в опытные лунки добавляли берберин до конечной концентрации 2,5 мкМ или 10 мкМ. Планшеты с клетками культивировали

24 ч при 37°C и 5% CO₂, после чего среду культивирования заменяли на среду для анализа, представляющую собой низкобуферную питательную среду DMEM (Gibco, США) без фенола с добавлением глюкозы (5,5 мМ), пирувата (1 мМ) и глутамата (2 мМ). Далее клетки культивировали 1 ч при 37°C и атмосферном содержании CO₂, после чего проводили тест на Seahorse XFp Analyzer с введением в среду культивирования смеси метаболитических ядов – олигомицина (1 мкМ) и карбонилцианид-4-(трифторометокси)-фенилгидразона (Carbonyl cyanide-4 (trifluoromethoxy) phenylhydrazine – FCCP) (2 мкМ). Исследование энергетического фенотипа клеток базировалось на измерении скорости поглощения кислорода (oxygen consumption rate – OCR) клетками и скорости закисления среды (extracellular acidification rate – ECAR), являющейся показателем интенсивности гликолиза, в фоне и при воздействии смеси метаболитических ядов. Олигомицин блокирует АТФ-синтазу, что приводит к подавлению окислительного фосфорилирования и вызывает компенсаторное усиление гликолиза, о чём можно судить по росту скорости закисления среды. Величина превышения ECAR над фоном служит показателем гликолитического резерва клетки и её способности быстро задействовать его в ответ на стресс любой природы. Карбонилцианид-4-(трифторометокси)-фенилгидразон вызывает разобщение перехода протона через мембрану с синтезом АТФ, вследствие чего происходит рост скорости потребления кислорода, по уровню которого судят о целостности электронной транспортной цепочки и функциональной способности митохондрий. Совокупность фоновых значений и функционального резерва гликолиза и дыхания и составляет энергетический фенотип клеток.

Для оценки влияния берберина на жизнеспособность исследуемых культур ставили параллельный опыт с теми же условиями культивирования на культуральных флаконах с площадью поверхности 25 см² (T25), в которые пассировали по 2×10⁶ клеток. Каждый вариант опыта был заложен в трех экспериментальных повторах. Через 24 ч клетки снимали 0,1% раствором трипсина и определяли долю живых клеток на автоматическом счётчике Eve (NanoEnTek Inc, Корея) с применением окрашивания 0,4% трипановым синим.

Сравнение средних значений измеряемых параметров контрольных и опытных образцов проводили с применением t-критерия Стьюдента. Принятый в исследовании уровень значимости α = 0,05.

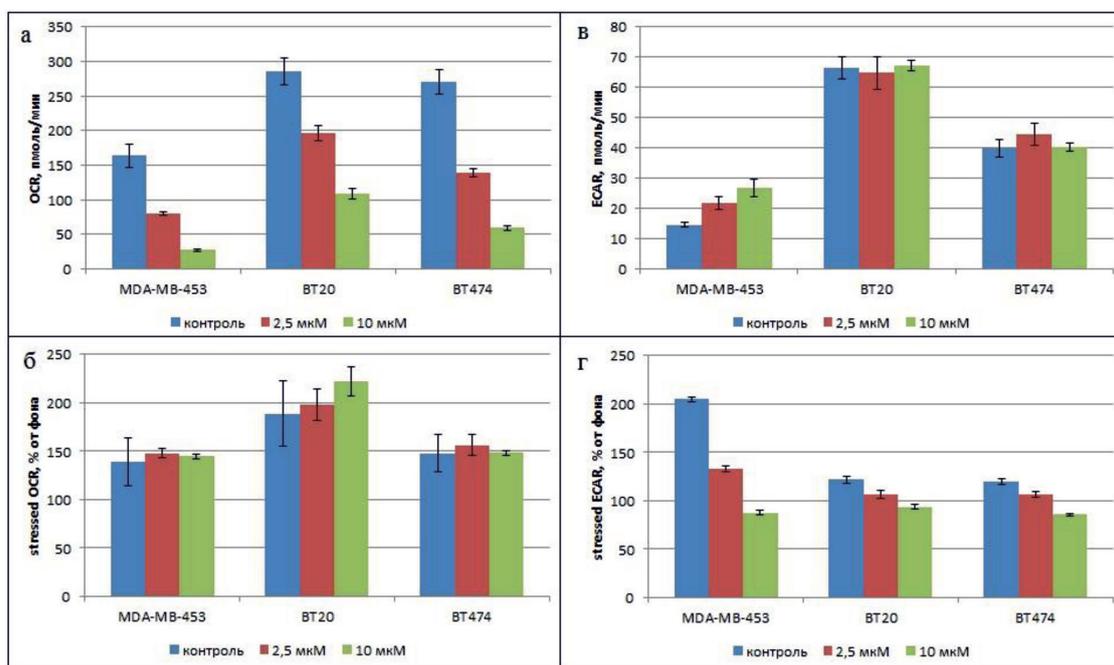
Результаты исследования и их обсуждение

По результатам исследования было установлено, что культивирование с берберинном в течение 24 ч не привело к существенным изменениям жизнеспособности клеток – во всех образцах доля живых клеток была выше 95% и достоверно не отличалась в опыте и контроле по результатам трёх измерений.

Тем не менее культивирование с берберинном оказало значительное воздействие на энергетический метаболизм клеток исследуемых линий. Во-первых, во всех клеточных линиях наблюдалось достоверное снижение фонового уровня потребления кислорода в опытных образцах по сравнению с контрольными, которое зависело от дозы берберина (рисунок, а). Так, для культуры MDA-MB-453 разница значения OCR между опытом и контролем (ΔOCR) составила $\Delta OCR_{2,5\text{мкМ}} = 83,5$ пмоль/мин ($t_{2,5\text{мкМ}} = 15,85$, $df = 8$, $p < 0,05$) и $\Delta OCR_{10\text{мкМ}} = 136,6$ пмоль/мин ($t_{10\text{мкМ}} = 26,1$, $df = 8$, $p < 0,05$), для культуры BT20 $\Delta OCR_{2,5\text{мкМ}} = 88,2$ пмоль/мин ($t_{2,5\text{мкМ}} = 12,6$, $df = 8$, $p < 0,05$) и $\Delta OCR_{10\text{мкМ}} =$

$= 176,5$ пмоль/мин ($t_{10\text{мкМ}} = 26,9$, $df = 8$, $p < 0,05$) и для культуры BT474 $\Delta OCR_{2,5\text{мкМ}} = 131,01$ пмоль/мин ($t_{2,5\text{мкМ}} = 22,7$, $df = 8$, $p < 0,05$) и $\Delta OCR_{10\text{мкМ}} = 210,5$ пмоль/мин ($t_{10\text{мкМ}} = 37,5$, $df = 8$, $p < 0,05$). Таким образом, клеточное дыхание оказалось наиболее чувствительным к действию берберина в линии BT474, так как здесь разница значения OCR между опытом и контролем оказалась наибольшей для обеих концентраций берберина.

Воздействие FCCP во время проведения стресс-теста привело к росту скорости потребления кислорода до максимально возможного уровня, который определяется общим количеством работоспособных белков электрон-транспортной цепи в митохондриях клеток исследуемых клеточных линий РМЖ. При этом относительный рост OCR над фоновыми значениями при добавлении FCCP (так называемый резерв дыхания) во всех культурах клеток достоверно не отличался в контрольных и опытных образцах с добавлением берберина и составил около 50% для линий BT474 и MDA-MB-453 и около 100% в культуре BT20 (рисунок, б).



Показатели энергетического фенотипа клеточных линий РМЖ BT20, BT474 и MDA-MB-453 после инкубации в течение 24 ч в присутствии берберина: а – фоновое значение скорости потребления кислорода; б – значение скорости потребления кислорода при воздействии смеси метаболитических ядов; в – фоновое значение скорости закисления среды; г – значение скорости закисления среды при воздействии смеси метаболитических ядов. Значения на графиках представлены в виде среднее \pm 95% доверительный интервал по результатам 9 измерений для фоновых значений и 15 измерений для значений под нагрузкой

В отличие от скорости потребления кислорода, фоновое значение скорости закисления среды, являющееся показателем уровня гликолиза в покое, обнаружило различную реакцию на добавление берберина в трёх исследуемых культурах. В культуре клеточной линии MDA-MB-453 наблюдалось достоверное увеличение фонового значения ECAR в опытных образцах по сравнению с контролем (ΔECAR), которое было пропорционально дозе берберина и составило $\Delta\text{ECAR}_{2,5\text{мкМ}} = 7.01$ мрН/мин ($t_{2,5\text{мкМ}} = 10,3$, $df = 8$, $p < 0,05$) и $\Delta\text{ECAR}_{10\text{мкМ}} = 12,2$ мрН/мин ($t_{10\text{мкМ}} = 13,1$, $df = 8$, $p < 0,05$). В культурах же клеточных линий BT20 и BT474 фоновые значения ECAR достоверно не отличались между контрольными образцами и обоими вариантами опыта (рисунок, в).

Подавление митохондриальной АТФ-синтазы олигомицином привело к ожидаемому росту уровня гликолиза в образцах без добавления берберина во всех исследованных клеточных линиях. Причём в линии MDA-MB-453 новое значение ECAR (sECAR) в процентах от фона составило $s\text{ECAR} = 205 \pm 2,3\%$, в линии BT20 $s\text{ECAR} = 121,7 \pm 3,8\%$ и в линии BT474 $s\text{ECAR} = 119,4 \pm 3,2\%$. Добавление же берберина привело к достоверному дозо-зависимому снижению резерва гликолиза во всех исследованных клеточных линиях, причём берберин в дозе 10 мкМ приводил к падению уровня sECAR ниже 100% (рисунок, г). Для линии MDA-MB-453 разница значения sECAR между опытом и контролем ($\Delta s\text{ECAR}$) составила $\Delta s\text{ECAR}_{2,5\text{мкМ}} = 72\%$ ($t_{2,5\text{мкМ}} = 65,8$, $df = 14$, $p < 0,05$) и $\Delta s\text{ECAR}_{10\text{мкМ}} = 205,04\%$ ($t_{10\text{мкМ}} = 122,4$, $df = 14$, $p < 0,05$), для BT20 $\Delta s\text{ECAR}_{2,5\text{мкМ}} = 15\%$ ($t_{2,5\text{мкМ}} = 8,07$, $df = 14$, $p < 0,05$) и $\Delta s\text{ECAR}_{10\text{мкМ}} = 28,3\%$ ($t_{10\text{мкМ}} = 19,8$, $df = 14$, $p < 0,05$) и для BT474 $\Delta s\text{ECAR}_{2,5\text{мкМ}} = 12,8\%$ ($t_{2,5\text{мкМ}} = 8,6$, $df = 14$, $p < 0,05$) и $\Delta s\text{ECAR}_{10\text{мкМ}} = 33,9\%$ ($t_{10\text{мкМ}} = 30,3$, $df = 14$, $p < 0,05$). Таким образом, резерв гликолиза оказался наиболее чувствительным к действию берберина в культуре клеток MDA-MB-453, насколько можно судить по разнице между контрольными и опытными значениями sECAR для обеих доз берберина.

Угнетающее действие берберина на митохондриальное дыхание было показано в целом ряде работ, в том числе на клетках рака [9]. Предположительным механизмом действия является подавление дыхательного комплекса I [10]. Тот факт, что мишенью берберина в митохондриях являются именно белки электрон-транспортной цепи, косвенно подтверждается и в нашей работе.

Мы обнаружили, что разница между стрессовым и фоновым значениями OCR (резерв дыхания) оказалась неизменной при добавлении берберина, что объясняется снижением максимальных значений OCR под действием FCCP пропорционально снижению базовых значений данного параметра. Такая реакция говорит об устойчивом «выключении» некоторого количества белков электрон-транспортной цепи под действием берберина.

Известно, что уменьшение количества АТФ, вызванное нарушением окислительного фосфорилирования, оказывает ряд эффектов, которые вносят вклад в противоположную активность берберина. Так, снижение уровня АТФ относительно АМФ приводит к активации 5'АМФ-активируемой протеинкиназы (АМРК) [8], которая является центральным событием в цепи сигнальных взаимодействий, обуславливающих цитотоксическое действие берберина на клеточные культуры рака мозга [11], поджелудочной железы [9] и РМЖ [6]. В частности, на клетках РМЖ MCF-7 было показано, что низкие дозы берберина (менее 20 мкМ) через активацию АМРК приводят к подавлению синтеза транспортера Р-gp по сигнальному пути АМРК-NIF-1α-R-gp, что усиливает чувствительность клеток к доксорубину, однако без добавления цитостатика такие дозы берберина не сказываются на жизнеспособности клеток. Высокие же дозы берберина (более 20 мкМ) сами по себе вызывают апоптоз, связанный с активацией пути АМРК-p53 [6]. В своей работе мы также не наблюдали выраженного цитотоксического действия 2,5 мкМ и 10 мкМ берберина при культивировании в течение 24 ч на клетки РМЖ BT20, BT474 и MDA-MB-453. Для оценки же последствий вызванного берберинем снижения соотношения АТФ/АМФ в этих линиях потребуются дальнейшие исследования АМРК зависимой сигнализации.

Известно, что подавление окислительного фосфорилирования приводит к компенсаторному усилению гликолиза, на чём, в частности, основан стресс-тест с добавлением олигомицина, который мы используем в данной работе. Эффект усиления гликолиза в ответ на подавление дыхания под действием берберина был описан для ряда нормальных клеток мыши и крысы [8], что породило интерес к берберину как перспективному антидиабетическому агенту, усиливающему поглощение глюкозы через усиление гликолиза. Также известны данные, подтверждающие усиление гликолиза в ответ на воздействие берберина для злокачественных клеток человека – культуре клеток гепато-

целлюлярной карциномы HerG2 [10]. Однако, как показал ряд исследований, действие берберина на гликолиз неоднозначно и в зависимости от биологических особенностей клеточной линии и условий культивирования берберин может не только стимулировать, но и подавлять гликолиз, как это было показано в культурах клеток рака яичника [12] и колоректального рака [13]. Полученные нами данные также говорят о противоречивом влиянии берберина на гликолиз в клетках РМЖ – дозозависимое усиление фонового уровня гликолиза в культуре клеток MDA-MB-453 было не характерно для линий BT20 и BT474. Возможным объяснением данного явления может быть изначально высокий уровень гликолиза в клетках культур BT20 и BT474, на фоне которого добавление берберина и отравление клеточного дыхания не вызвало дополнительно существенных изменений. Это предположение подкрепляется также тем фактом, что значение гликолитического резерва в этих культурах оказалось намного ниже, чем в культуре MDA-MB-453, даже в контрольных образцах. Добавление берберина привело к дальнейшему снижению резерва гликолиза во всех исследованных культурах, причём этот эффект был дозозависимым. Интересно отметить, что инкубация с берберинем в дозе 10 мкМ, по-видимому, привела к полному истощению энергетических резервов клетки, так как в ответ на добавление олигомицина наблюдался не рост гликолиза, как ожидалось, а, напротив, его угнетение. Подавление продукции лактата в данном случае можно связать с резким падением уровня АТФ, вызванным блокированием АТФ-синтазы во время стресс-теста, что привело, в свою очередь, к блокированию АТФ-зависимых стадий транспорта и метаболизма глюкозы.

Известные работы, в которых докладывают об успехах совместного применения берберина и химиотерапии при лечении рака молочной железы, описывают различные механизмы усиления чувствительности клеток к химиотерапии, такие как подавление экспрессии транспортера ксенобиотиков MDR1/P-gp [6], увеличение продукции активных форм кислорода [5], снижения активности XRCC1-опосредованной репарации ДНК [7] и др. Учитывая, что метаболизм клеток злокачественных новообразований часто зависит от аэробного гликолиза (так называемый эффект Варбурга) [12], можно сказать, что снижение гликолитических резервов клетки, обнаруженное в нашем исследовании, открывает новые возможности для изучения берберина в качестве перспективного адьюванта для химиотерапии.

Заключение

По результатам работы впервые было обнаружено, что помимо угнетения клеточного дыхания берберин вызывает снижение гликолитического резерва клеток рака молочной железы. Таким образом, берберин способствует формированию низкоэнергетического фенотипа с пониженной способностью сопротивляться стрессовым воздействиям, что делает это соединение перспективным адьювантом в химиотерапии рака молочной железы.

Список литературы

1. Ситковская А.О., Златник Е.Ю., Шамова Т.В., Бондаренко Е.С., Новикова И.А., Ващенко Л.Н., Кечеджиева Э.Э., Дашкова И.Р., Аушева Т.В., Кит О.И. Генерация лимфокин-активированных киллеров на фоне сниженного содержания T-регуляторных клеток *in vitro* // Цитология. 2020. Т. 62. № 10. С. 726–737.
2. Zhang C., Sheng J., Li G., Zhao L., Wang Y., Yang W., Yao X., Sun L., Zhang Z., Cui R. Effects of Berberine and Its Derivatives on Cancer: A Systems Pharmacology Review. *Front Pharmacol.* 2020. № 10. P. 1461.
3. Mezheva I.V., Filippova S.Yu., Timofeeva S.V., Sitkovskaya A.O., Shamova T.V., Enin Ya.S., Burov O.N., Pozdnyakova V.V., Khokhlova O., Pushkareva T.F., Mezentsev S.S., Novikova I.A., Kit O.I. Antimigratory effect of berberine in T98G, U87MG and primary glioma cell culture. *J Clin Oncol.* 2021. Vol. suppl 15. abstr e15045.
4. Xu J., Long Y., Ni L., Yuan X., Yu N., Wu R., Tao J., Zhang Y. Anticancer effect of berberine based on experimental animal models of various cancers: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer.* 2019. Vol. 19. № 1. P. 589.
5. Zhang R., Qiao H., Chen S., Chen X., Dou K., Wei L., Zhang J. Berberine reverses lapatinib resistance of HER2-positive breast cancer cells by increasing the level of ROS. *Cancer Biol Ther.* 2016. Vol. 17. № 9. P. 925–34.
6. Pan Y., Zhang F., Zhao Y., Shao D., Zheng X., Chen Y., He K., Li J., Chen L. Berberine Enhances Chemosensitivity and Induces Apoptosis Through Dose-orchestrated AMPK Signaling in Breast Cancer. *J Cancer.* 2017. Vol. 8. № 9. P. 1679–1689.
7. Gao X., Wang J., Li M., Wang J., Lv J., Zhang L., Sun C., Ji J., Yang W., Zhao Z., Mao W. Berberine attenuates XRCC1-mediated base excision repair and sensitizes breast cancer cells to the chemotherapeutic drugs. *J Cell Mol Med.* 2019. Vol. 23. № 10. P. 6797–6804.
8. Yin J., Gao Z., Liu D., Liu Z., Ye J. Berberine improves glucose metabolism through induction of glycolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008. Vol. 294. № 1. E148–56.
9. Ming M., Sinnett-Smith J., Wang J., Soares H.P., Young S.H., Eibl G., Rozengurt E. Dose-Dependent AMPK-Dependent and Independent Mechanisms of Berberine and Metformin Inhibition of mTORC1, ERK, DNA Synthesis and Proliferation in Pancreatic Cancer Cells. *PLoS One.* 2014. Vol. 9. № 12. e114573.
10. Xu M., Xiao Y., Yin J., Hou W., Yu X., Shen L., Liu F., Wei L., Jia W. Berberine promotes glucose consumption independently of AMP-activated protein kinase activation. *PLoS One.* 2014. Vol. 9. № 7. e103702.
11. Wang J., Qi Q., Feng Z., Zhang X., Huang B., Chen A., Prestegarden L., Li X., Wang J. Berberine induces autophagy in glioblastoma by targeting the AMPK/mTOR/ULK1-pathway. *Oncotarget.* 2016. Vol. 7. № 41. P. 66944–66958.
12. Li J., Zou Y., Pei M., Zhang Y., Jiang Y. Berberine inhibits the Warburg effect through TET3/miR-145/HK2 pathways in ovarian cancer cells. *J Cancer.* 2021. Vol. 12. № 1. P. 207–216.
13. Mao L., Chen Q., Gong K., Xu X., Xie Y., Zhang W., Cao H., Hu T., Hong X., Zhan Y.Y. Berberine decelerates glucose metabolism via suppression of mTOR-dependent HIF-1 α protein synthesis in colon cancer cells. *Oncol Rep.* 2018. Vol. 39. № 5. P. 2436–2442.