

## ИНГИБИРОВАНИЕ КЛЕТочНОЙ ИНВАЗИИ И ИНДУЦИРОВАНИЕ АНОИКОЗА В КЛЕТКАХ МЕЛАНОМЫ У МЫШЕЙ ПРИ ПОМОЩИ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРЕПАРАТА DTCM-ГЛУТАРИМИДА

А. Канеда, Ш.Х. Ганцев, К. Умегава

Университет Кейо, кафедра прикладной химии, факультет науки и технологии, Япония, г. Йокохама  
ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет  
Научно-исследовательский институт онкологии, г. Уфа, Россия  
Медицинский университет Аичи, кафедра скрининга молекулярной таргетной медицины,  
Школа Медицины, Япония, г. Нагакутэ

**Канеда Аюми**, научный сотрудник кафедры прикладной химии, факультет науки и технологии университета Кейо, Йокохама 223-0061, Япония

**Ганцев Шамиль Ханафиевич**, зав. кафедрой онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИПО, д-р мед. наук, профессор,

**Умегава Казуо**, профессор кафедры скрининга молекулярной таргетной медицины, Школа Медицины, Медицинский университет Аичи, Нагакутэ, 480-1195, тел./ факс 81-561-61-1959, e-mail: umezawa@aichi-med-u.ac.jp

Разработан новый противовоспалительный препарат DTCM-глутаримид для ингибирования активации макрофагов. Он показал свою противовоспалительную активность *in vivo*. В настоящем исследовании была оценена противометастатическая активность данного препарата, используя клетки B16-F10 меланомы мыши. DTCM-глутаримид ингибировал клеточную инвазию в камере с использованием геля Matrigel, снизив при этом матричную экспрессию металлопротеиназы 9 (MMP9). Препарат также индуцирует аноикоз в пластинах с покрытием polyHEMA. Он увеличивает экспрессию Bax и снижает Bcl-X<sub>L</sub>, активирует p53, понижая при этом экспрессию MDM2. Было установлено, что DTCM-глутаримид ингибирует клеточную инвазию и индуцирует аноикоз в клетках B16-F10. Он не токсичен, легок в изготовлении, поэтому может стать кандидатом на использование в качестве противоопухолевого препарата.

**Ключевые слова:** DTCM-глутаримид, инвазия, аноикоз, Bax, Bcl-X<sub>L</sub>, p53.

## INHIBITION OF CELLULAR INVASION AND INDUCTION OF ANOIKIS IN MOUSE MELANOMA CELLS BY AN ANTI-INFLAMMATORY AGENT DTCM-GLUTARIMIDE

A. Kaneda, Sh.Kh. Gantsev, K. Umezawa

Keio University, Department of Applied Chemistry, Faculty of Science and Technology, Japan, Yokohama  
Bashkir State Medical University  
Scientific Research Institute of Oncology, Ufa, Russia  
Aichi Medical University, Department of Molecular Target Medicine Screening, School of Medicine, Japan, Nagakute

Previously, we designed DTCM-glutarimide as a novel anti-inflammatory agent inhibiting macrophage activation. It also showed anti-inflammatory activity *in vivo*. In the present research, we evaluated the anti-metastatic activity of this agent using mouse melanoma B16-F10 cells. DTCM-glutarimide inhibited the cellular invasion in the Matrigel chamber assay, lowering matrix metalloproteinase 9 (MMP9) expression. It also induced anoikis rather than apoptosis in polyHEMA-coated plates. It increased Bax and decreased Bcl-X<sub>L</sub> expressions, and activated p53 lowering the MDM2 expression. Thus, DTCM-glutarimide was found to inhibit cellular invasion and to induce anoikis in B16-F10 cells. It is non-toxic, and easily prepared, therefore, is considered to be a new candidate of anti-metastasis agent.

**The key words:** DTCM-glutarimide, Invasion, Anoikis, Bax, Bcl-X<sub>L</sub>, p53.

### Введение

В ходе скрининга ингибиторов транскрипционного фактора NF-κB мы выделили антибиотик, 9-метилстриптимидон из культурального фильтрата микроорганизмов. В анализе, проведенном по гену репортёру, 9-метилстриптимидон ингибировал активность NF-κB и показал селективную цитотоксичность по отношению к клеткам Т-клеточной лейкемии взрослых, в которой NF-κB был активирован [13]. Затем мы попытались получить большее количество этого природного соединения, но продуцирование им микроорганизмов было слабым, а его химический синтез не был эффективным. Далее мы синтезировали около 20 производных, среди которых нами был отмечен DTCM-глутаримид, подавляющий индуцированное липополисахаридами производство NO в клетках макрофагов линии RAW264.7 [7]. DTCM-глутаримид не ингибировал индуцированную липополисахаридами активацию NF-κB в течение 30 мин. Однако было обнаружено, что он ингибирует NF-κB в течение 24 часов. Препарат также показал противовоспалительную активность *in vivo*, ингибировал отторжение трансплантата у мыши после операции по трансплантации сердца [11].

Метастатическая активность раковых клеток часто бывает связана с активностью клеточной инвазии. Меланома - распространенный вид рака кожи, является одним из наиболее злокачественных канцеров с высокой метастатической способностью. Радикальные клетки роста меланомы часто неинвазивны, однако на стадии вертикального роста меланомы и при экспрессии Akt (серин/треониновой протеинкиназы) они становятся высоко инвазивными [4]. Клетки B16 меланомы мыши часто используются для анализа метастазов и инвазии в связи с их потенциальной инвазивной активностью *in vitro* и *in vivo* [5]. Путем последовательных экспериментов на животных была выбрана клеточная линия B16-F10 в качестве линии, обладающей высокой метастатичностью. Аноикоз является видом апоптоза; он возникает из-за недостаточных или ненадлежащих контактов в клеточной матрице [2,6]. Аноикоз играет важную роль в регуляции тканевого гомеостаза при реконструкции ткани, а также в развитии опухолевых метастаз, поэтому наличие сопротивляемости аноикозу считается важным фактором для метастазирования раковых клеток. Таким образом, вещества, индуцирующие аноикоз, могут стать новым противометастатическим средством. Как и апоптоз, аноикоз усиливается Вах и ингибируется Bcl-X<sub>L</sub>, а также другими белками, ингибирующими апоптоз. Белок p53 играет важную роль в индуцировании аноикоза [1,12]. Активность p53 регулируется белком-ингибитором MDM2, который может фосфорилировать при помощи Akt [11]. В настоящем исследовании нами изучалась антиметастатическая активность DTCM-глутаримида; было обнаружено, что он ингибирует инвазию и индуцирует аноикоз в клетках B16-F10.

### Материалы и методы

DTCM-глутаримид (3-[(додецилтиокарбонил) метил] глутаримид) был синтезирован нами, как

было описано выше [7]. Моноклональное антитело мыши анти-p53 было куплено в компании Merck Bioscience (Токио, Япония). Поликлональные анти-MDM2, анти-Вах и анти-Bcl-x<sub>L</sub> кролика были приобретены у компании Santa Cruz Biotechnology (Санта-Крус, штат Калифорния). Моноклональные антитела анти-α-тубулин мыши были куплены в Sigma-Aldrich (Сент-Луис, Миссури). У компании GE Healthcare (Little Chalfont, Великобритания) были приобретены антитела: анти-кролик-IgG, полученный от козы и анти-мышь-IgG, полученный от овцы.

### Культура клеток

Высоко метастатичные клетки меланомы мыши B16-F10 были выращены в модифицированной по способу Дульбекко среде Игла (DMEM; Nissui, Токио, Япония) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (MP Biomedicals Inc, Ирвин, Калифорния), 200 мкг/мл канамицина (Sigma, Сент-Луис, Миссури), 100 ед./мл пенициллина G (Sigma), 600 мкг/мл L-глутамин (Sigma), и 2,25 г/л NaHCO<sub>3</sub> при температуре 37° до 5% CO<sub>2</sub> плюс воздух. Клетки фибробласты мыши NIH-3T3 также выращенные и модифицированные по способу Дульбекко в среде Игла (Nissui) с добавлением 10% телячьей сыворотки (MP Biomedicals Inc), 200 мкг/мл канамицина, 100 ед./мл пенициллина G, 600 мкг/мл L-глутамин и 2,25 г/л NaHCO<sub>3</sub> при температуре 37° до 5% CO<sub>2</sub> плюс воздух.

### Анализ в камере Matrigel

*In vitro* нами был проведен анализ инвазии с помощью 24-луночной инвазивной камеры Matrigel с размером пор 8,0 мкм (BD Biosciences). Фильтры, покрытые гелем Matrigel, были инкубированы в бессывороточной среде по способу Дульбекко в течение 2 часов перед проведением анализа. Фибробласты мышей NIH-3T3 инкубировали в течение 18 часов в бессывороточной среде, содержащей 50 мкг/мл L-аскорбиновой кислоты. Эти условные среды использовались в качестве источника хемоаттрактантов 24-26. Они были разведены в соотношении 1:5 с бессывороточной средой, содержащей 0,1% BSA, и 750 мкл были помещены в нижний отсек пластины Transwell. Затем клетки B16-F10 были ресуспендированы в 500 мкл той же среды, содержащей 0,1% BSA, и помещены в верхний отсек пластины Transwell. После этого клетки инкубировали в течение 24 часов. Их фиксировали и окрашивали при помощи Diff-Quik (Sysmex, Кобе, Япония). Клетки на верхней поверхности фильтра были удалены механически, ватным тампоном; при наблюдении через световой микроскоп были определены инвазивные фенотипы путем подсчета клеток, которые вторглись в нижнюю часть фильтра. Результаты выражали в среднем ±S.E.M. из четырех экземпляров определений.

### РНК изоляция и полуколичественный ПЦР с обратной транскрипцией

Вся клеточная РНК была выделена из клеток B16-F10 с помощью реагента TRIzol (Invitrogen Corp, Карлсбад, Калифорния). Обратная транскрипция проводилась при 37° в течение 120 мин. в наборе для обратной транскрипции с ДНК с высокой про-

пускной способностью (Applied Biosystems, Токио, Япония).

ДНК использовали для ПЦР-амплификации с rTaq ДНК-полимеразой (Takara Inc, Шига, Япония). Количество циклов ПЦР для каждого продукта было определено после подтверждения эффективности усиления и линейной экспоненциальной порции усиления. Последовательности праймеров для полуквантитативного ПЦР с обратной транскрипцией, число циклов и температуры отжига были следующими:

MMP9, 5'-ACCCTGTGTGTTCCCGTTCAT-3' (вперед), 3'-GATACTGGATGCCGTCTATGTCGT-5' (реверс), 30 циклов, 55°; GAPDH, 5'-TGAAGGTCGGTGTGAACGGATTGGC-3' (вперед),

3'-CATGTAGGCCATGAGGTCCACCAC-5' (реверс), 25 циклов, 55°. Продукты ПЦР подвергали электрофорезу в 2% агарозном геле, окрашивали бромидом этидия и визуализировали с помощью ультрафиолетовой лампы.

#### Вестерн блоттинг

Клетки B16-F10 в полной среде ( $3 \times 10^5$  клеток / на блюдо) были посеяны в блюда размером 60 мм (Corning Inc, Корнинг, Нью-Йорк, США). На следующий день среда была заменена на бессывороточную среду, содержащую 0,1% BSA, а затем клетки обрабатывали DTCM-глутаримидом в течение нужного количества времени. Для полного клеточного экстракта клетки лизировали с помощью лизисного буфера (50 mM HEPES [pH 7,4], 150 mM NaCl, 10 mM EDTA-NaOH, 200 mM NaF, 4 mM  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 1% нонидата P-40, 0,1 мг / мл леупептина, 15 mM и 1 mM бензамидина PMSF). Для ядерных экстрактов собранных клеток были суспендированы в 400  $\mu\text{l}$  буфера A (10 mM HEPES [pH 7,8], 10 mM KCl, 2 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0,1 mM PMSF) и инкубировали на льду в течение 15 мин. Ядра осаждали центрифугированием в течение 5 мин. при 14000 оборотах в минуту и температуре 4°, ресуспендировали в 20 ~ 40  $\mu\text{l}$  буфера C (50 mM HEPES [pH 7,8], 50 mM KCl, 300 mM NaCl, 0,1 mM ЭДТА, 1 mM DTT, 0,1 ммоль PMSF, 25% глицерина (в объемном отношении), инкубировали на льду в течение 20 мин. и центрифугировали в течение 10 мин. при 14000 оборотах в минуту и температуре 4°. Надосадочная жидкость использовалась в качестве ядерного экстракта. Все клеточные экстракты или ядерные экстракты (около 10 ~ 30  $\mu\text{g}$ ) варили в буфере загрузки Laemmli и подвергли электрофорезу в SDS полиакриламидном геле. Белки были переведены на 200 мА в течение 1 ч. на мембране Hybond-P (GE Healthcare, Little Chalfont, Великобритания). Мембраны инкубировали 30 мин. при комнатной температуре для блокировки в Tris-буферном растворе с Tween - 20 (TBST), состоящего из: 10 mM Tris -HCl, pH 8,0, содержащем 150 mM NaCl, 0,1% Tween-20 (в объемном соотношении), а 5% (вес/объем) обезжиренного сухого молока или 5% BSA для фосфорилированных белков. После блокировки мембраны инкубировали в течение ночи при температуре 4° в разводе 1:1000 первичного антитела в TBST. По истечении 1 часа после смывки TBST мембраны далее инкуби-

ровали в течение 2 часов при комнатной температуре в 1:5000 анти-IgG кролика или анти-IgG мыши, связанных пероксидазой хрена. Иммунореактивные белки были визуализированы с использованием ECL системы обнаружения, Immobilon Western (Millipore, Billerica, MA).

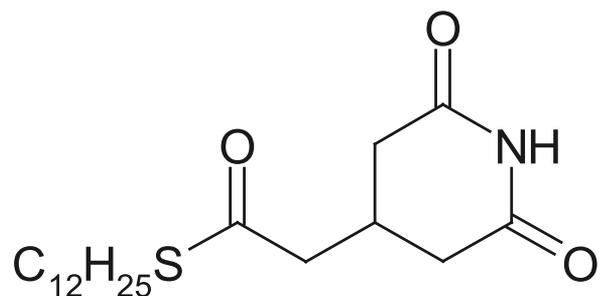
Воздействие для пленок RX-U (Fuji Film, Канава, Япония) производилось, начиная с 10 сек., и доводилось до 30 мин.

#### Анализ аноикоза

Анализ аноикоза был выполнен при помощи набора для Анализа Аноикоза Cytoselect™ (Cell Biolabs Inc., Сан-Диего, Калифорния). Клетки B16-F10 были лишены возможности присоединения к пластиковой пластине при помощи культивирования их в 24-луночном планшете с покрытием polyNEMA. Клетки высевались в лунки с покрытием polyNEMA в бессывороточной среде. После 24 часов роста в суспензии живые клетки окрашивались Calcein - AM, а мертвые - EthD-1. Клетки были сфотографированы с помощью флуоресцентной микроскопии. Кроме того, интенсивность флуоресценции EthD-1 измеряли микропланшетным флуориметром при 525/595 нм.

#### Определение изменения электрофоретической подвижности (EMSA)

Реакционная смесь для связывания содержала ядерный экстракт (5  $\mu\text{g}$  белка), 2  $\mu\text{g}$  поли dI-dC, и 10000 cpm<sup>32</sup> P-меченый зонд (олигонуклеотид, содержащий NF- $\kappa\text{B}$  или AP-1 или NFATc1) в связывающем буфере (75 mM NaCl, 1,5 mM EDTA, 1,5 mM DTT, 7,5% глицерина, 1,5% NP-40, 15 mM Tris -HCl, pH 7,0). Образцы инкубировали в течение 20 мин. при комнатной температуре в этой смеси. Комплексы ДНК/белок были отделены от свободной ДНК в 4% полиакриламидном геле в буфере TBE на 0,25 mM. ДНК-зонды использовались для присоединения к NF- $\kappa\text{B}$  или AP-1 и были приобретены у компании Promega (Мэдисон, Висконсин, США). Следующие последовательности были использованы в качестве NF- $\kappa\text{B}$ : 5'-AGTTGAGGGACTTCCAGGC-3'. Эти олигонуклеотиды были помечены [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P]-ATP (3000 Ки/ммоль, GE Healthcare, Little Chalfont, Великобритания) с использованием полинуклеотидкиназа T4 (Takara, Оцу, Япония) и очищали, пропуская через Nick column (GE Healthcare, Little Chalfont, Великобритания).

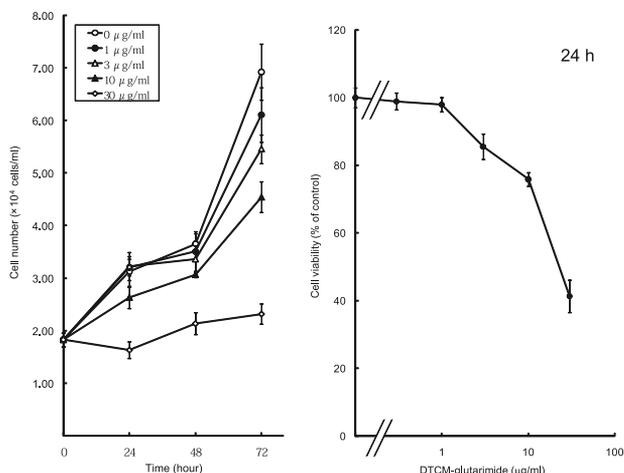


DTCM-glutarimide

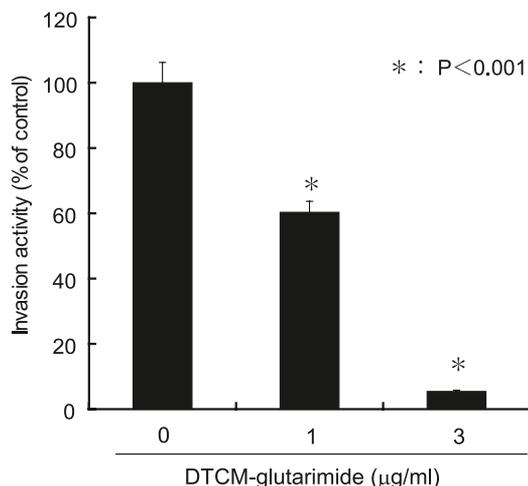
Рис. 1. Структура DTCM-глутаримида

**Результаты и обсуждение**

Высоко метастатические клетки мыши B16-F10 показали высокую инвазивную активность в камере с использованием Matrigel в течение 24 часов. DTCM-глутаримид в количестве 3 мкг/мл слабо ингибирует рост в сывороточной среде и не токсичен в среде с дефицитом сыворотки (рис. 2А, 2В, 2С).

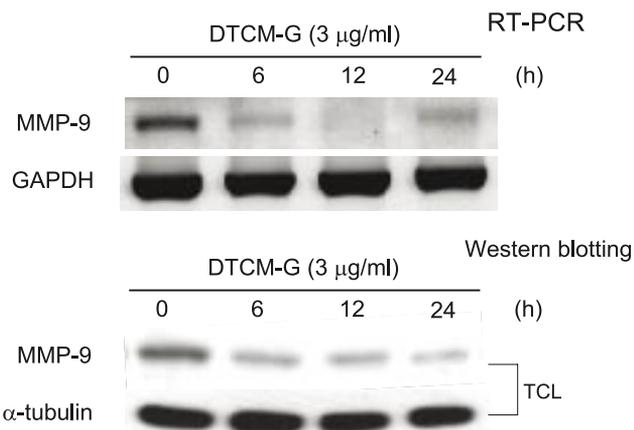


**Рис. 2А.** Влияние DTCM-глутаримида на рост клеток и цитотоксичность. Клетки B16-F10 были инкубированы с указанной концентрацией DTCM-глутаримида в среде с 10% сывороткой. Количество клеток было подсчитано для анализа роста, а их жизнеспособность измерена трипановым синим красителем. Жизнеспособность клеток в бессывороточной среде была лишь незначительно ниже по сравнению с клетками в полной среде



**Рис. 2В.** Ингибирование инвазии клеток B16-F10 препаратом DTCM-глутаримид при инвазивном анализе в камере Matrigel. Клетки инкубировали в камере в течение 24 часов. Инвазивность клеток была подсчитана после окрашивания. Результаты выражали в среднем ± S.E.M из четырех экземпляров определений

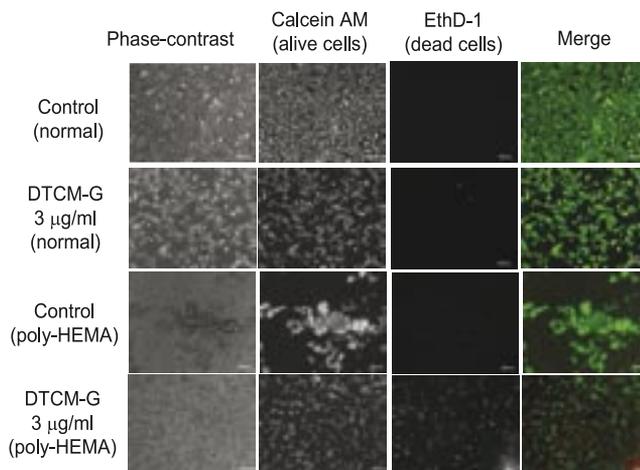
DTCM-глутаримид ингибирует инвазию в количестве 1-3 мкг/мл, как показано на рис. 2В. Что касается механизма ингибирования, мы обнаружили, что DTCM-глутаримид снизил экспрессии матрич-



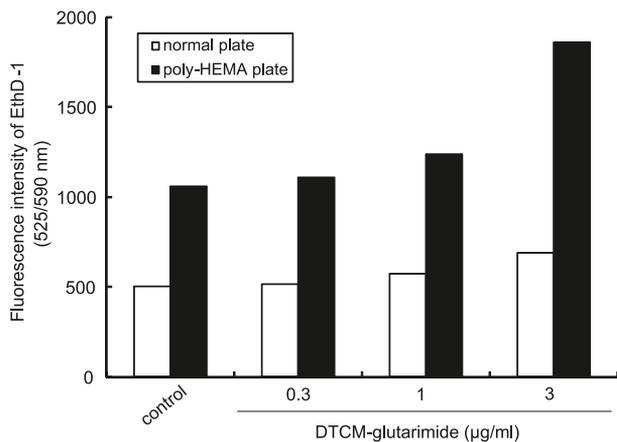
**Рис. 2С.** Ингибирование экспрессии MMP при помощи DTCM-глутаримида. Клетки инкубировали DTCM-глутаримидом в количестве 3 мкг / мл, а экспрессия MMP-9 была измерена при помощи RT-PCR (верхний столбик). Белковая экспрессия MMP-9 была проанализирована способом Вестерн блоттинг (нижний столбик)

ной металлопротеиназы 9 (MMP 9), как показано на рисунке рис. 2С. Он существенно ингибировал экспрессию MMP 9 при анализе ПЦР с обратной транскрипцией и Вестерн блоттинге.

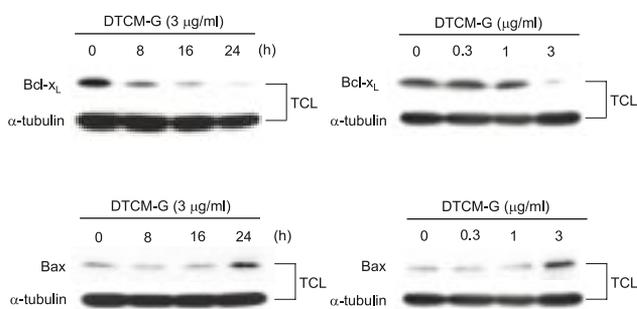
Далее изучалось, может ли препарат изменить экспрессию апоптоза регуляторных генов. Было установлено, что DTCM-глутаримид подавляет экспрессию Vcl-X<sub>L</sub> и повышает ее у Вах (рис. 3А). Он также увеличил ядерное количество p53 и снизил экспрессию MDM2, которая стабилизирует p53 (рис. 3А). Затем мы исследовали влияние DTCM-глутаримида по индукции аноикоза с помощью polyHEMA покрытия пластин. Он индуцировал аноикоз при количестве 3 мкг/мл, в то же время лишь слабо индуцировал апоптоз в пластинах без покрытия, как показано на рис. 3В и 3С.



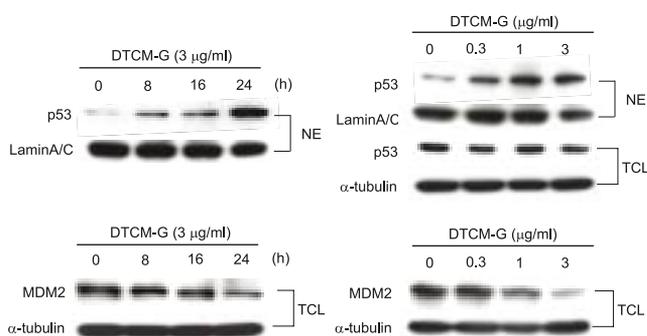
**Рис. 3А.** Эффект DTCM-глутаримида на апоптоз/аноикоз регуляторных белков. (А) Эффект на Vcl-xL и Вах. Количество белка в полной клеточной лизате измерялось анализом Вестерн блоттинг



**Рис. 3В. Эффект на активность p53 и экспрессию MDM2. Количество p53 было оценено как в ядерном экстракте, так и в общей клеточной лизате, в то время как MDM2 – в общей лизате**



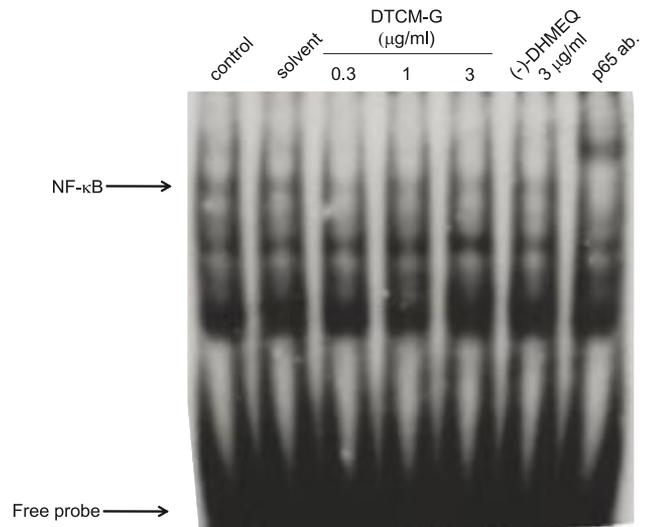
**Рис. 3С. Индуцирование апоптоза при помощи DTCM-глутаримида в клетках V16-F10. Клетки обрабатывались DTCM-глутаримидом в количестве 3 µg/ml в течение 24 часов, как в пластинах с покрытием роуНЕМА, так и в пластинах без покрытия. Calcein AM окрасил живые клетки, в то время как EthD-1 – мертвые клетки. В общей колонке клетки, окрашенные Calcein AM – зеленого цвета, а EthD-1 – красного**



**Рис. 3D. Количественный анализ апоптоза / апоптоза, индуцированного DTCM-глутаримидом. Клетки обрабатывались, как показано на рис. 3D**

Экспрессии MMP9 и Bcl-X<sub>L</sub> зависят от транскрипционного фактора NF-κB. Таким образом, мы исследовали влияние DTCM-глутаримида на NF-κB. Было установлено, что NF-κB слабо активируется в

клетках V16-F10 без стимуляции. DTCM-глутаримид ингибирует активность при количестве 0,3-3 µg/ml, как показано на рис. 4.



**Рис. 4. Ингибирование активности NF-κB при помощи долгосрочной инкубации с DTCM-глутаримидом. Клетки обрабатывались DTCM-глутаримидом в течение 24 часов, а активность NF-κB измерялась с помощью EMSA**

Было установлено, что DTCM-глутаримид обладает противораковой активностью в культуре клеток V16-F10 с высокой метастатичностью меланомы мышей. Он сильно ингибировал клеточную инвазию и индуцировал апоптоз, а не апоптоз (рис. 3А и 3В). Индуцирование апоптоза может способствовать ингибированию роста метастаз in vivo путем удаления рассеянных раковых клеток в организме. Также была снижена экспрессия MMP-9 (рис. 2) и Bcl-x<sub>L</sub> (рис. 3С), возможно косвенно ингибируя активность NF-κB (13,14). DTCM-глутаримид не ингибировал активность NF-κB, индуцированную липополисахаридами в течение 30 мин. (рис. 4), но позже было установлено, что для ингибирования необходимо 24 часа. (рис. 3). Экспрессия NF-κB в клетках V16-F10 относительно слабая, но DTCM-глутаримид ингибировал неиндуцированную активность через 24 часа (рис. 4).

DTCM-глутаримид проявляет противовоспалительную активность, ингибируя отторжение трансплантата без токсичности (4), и данный препарат может быть легко синтезирован (2). Поэтому, несмотря на то, что ее молекулярная цель не была выяснена, это вещество может стать новым средством борьбы с метастазами.

#### Конфликт интересов:

Конфликт интересов отсутствует.

#### Благодарности:

Работа, описанная в этой статье, была частично поддержана грантами от программы грантов «Grants-in-Aid for Scientific Research (B)», и «Grants-in-Aid for Scientific Research» в инновационных областях Министерства образования, культуры, спорта, науки и технологий Японии.

**Список литературы**

1. Chen F., Wang W., El-Deiry W. S. Current strategies to target p53 in cancer // *Biochem. Pharmacol.* - 2010. - Vol. 80. - P. 724-730.
2. Coates J.M., Galante J.M., Bold R.J. Cancer therapy beyond apoptosis: autophagy and anoikis as mechanisms of cell death // *J. Surg. Res.* - 2010. - Vol. 164. - P. 301-308.
3. Downward J. PI3-kinase, Akt and cell survival // *Semin. Cell. Dev. Biol.* - 2004. - Vol. 15. - P. 177-182.
4. Govundarajan B, Sligh J.E., Vincent B.J., Li M., Canter J.A., Nickloff B.J., et al. Overexpression of Akt converts radical growth melanoma to vertical growth melanoma // *J. Clin. Invest.* - 2007. - Vol. 117. - P. 719-729.
5. Griswold D.P. Consideration of the subcutaneously implanted B16 melanoma as a screening model for potential anticancer agents // *Cancer Chemother. Rep.* - 1972. - Vol. 3. - P. 315-324.
6. Grossmann J. Molecular mechanisms of detachment-induced apoptosis-anoikis // *Apoptosis.* - 2007. - Vol. 7. - P. 247-260.
7. Ishikawa Y., Tachibana M., Matsui C., Obata R., Umezawa K., Nishiyama S. Synthesis and biological evaluation on novel analogs of 9-methyl-streptimidone, an inhibitor of NF- $\kappa$ B // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* - 2009. - Vol. 19. - P. 1726-1728.
8. Lee C.S., Kwon Y.W., Yang H.M., Kim S.H., Kim T.Y., Hur J. et al. New mechanism of rosiglitazone to reduce neointimal hyperplasia: activation of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  followed by inhibition of MMP-9. *Arterioscler. Thromb // Vasc. Biol.* - 2009. - № 29. - P. 472-479.
9. Mendes S.S., Candi A., Vansteenbrugge M., Pignon M. R., Bult H., Boudjeltia K.Z., Munaut C., Raes M. Microarray Analyses of the Effects of NF-kappaB or PI3K Pathway Inhibitors on the LPS-induced Gene Expression Profile in RAW264.7 Cells : Synergistic Effects of rapamycin on LPS-induced MMP9-overexpression // *Cell Signal.* - 2009. - №21. - P. 1109-1122.
10. Ogawara Y. Akt enhances Mdm2-mediated ubiquitination and degradation of p53 // *J. Biol. Chem.* - 2002. - Vol. 277. - P. 21843-21850.
11. Takeiri M., Tachibana M., Kaneda A., Ito A., Ishikawa Y., Nishiyama S., Goto R., Yamashita K., Shibasaki S., Hirokata G., Ozaki M., Todo S., Umezawa K. Inhibition of macrophage activation and suppression of graft rejection by DTCM-glutarimide, a novel piperidine derived from the antibiotic 9-methylstreptimidone // *Inflammation Research.* - 2011. - Vol. 60. - P. 879-888.
12. Vousden K.H., Lu X. Live or let die: the cell's response to p53 // *Nature Rev. Cancer.* - 2002. - Vol. 2. - P. 594-604.
13. Wang Z., Igarashi M., Ikeda Y., Horie R., Umezawa K. Inhibition of NF-kappa B activation by 9-methylstreptimidone isolated from *Streptomyces* // *Heterocycles.* - 2006. - Vol. 69. - P. 377-383.

## СООТНОШЕНИЕ ТКАНЕВЫХ КОМПОНЕНТОВ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ИНДЕКСЫ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ ИНФИЛЬТРИРУЮЩЕГО ТИПА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**В.В. Кометова, О.В. Воробьева, Р.М. Хайруллин**

ГОУ ВПО Ульяновский государственный университет, кафедра анатомии человека, г. Ульяновск  
ГОУ ВПО Чувашский государственный медицинский университет, кафедра общей и клинической патологии с курсом судебной медицины

**Кометова Влада Владимировна,**

аспирант кафедры анатомии человека,

**Воробьева Ольга Васильевна,** доцент кафедры общей

и клинической патологии с курсом судебной медицины,

канд. мед. наук,

**Хайруллин Радик Магзинурович,** зав. кафедрой,

доктор медицинских наук, профессор,

432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, д. 42,

тел. 8 (842) 232-79-45,

e-mail: vladastasiatema@mail.ru

У 128 пациенток, больных инфильтрирующим типом рака молочной железы, установлены статистически значимые различия в количественном соотношении тканевых компонентов, средних значений Ноттингемского прогностического индекса (НПИ) и суммарного балла злокачественности при разных гистологических вариантах. Показано, что определение НПИ эффективно независимо от показателей продолжительности жизни пациенток.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, паренхима, строма, ноттингемский прогностический индекс, выживаемость.