

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

ФГБУН ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ ИМ. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН

УДК 612.017.1:57.052.

№ ИС ГЗ 0108-2015-0062



УТВЕРЖДАЮ

Директор ИБР РАН

Член-корреспондент РАН

А.В. Васильев

«27» января 2017 г.

ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

ВЫЯВЛЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ПРОТЕАСОМ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА, ЗНАЧИМЫХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СИСТЕМ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, И РАЗРАБОТКА НА ИХ ОСНОВЕ ТОЧНОГО УСКОРЕННОГО МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Программы Президиума РАН II.1П

«Фундаментальные исследования для разработки медицинских технологий»

(отчет за 2016 г.)

Руководитель темы, д.б.н., зав. лаб.

Н.П. Шарова

подпись, дата

Москва, 2017

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель, д-р биологических наук

  
\_\_\_\_\_

Н.П. Шарова

подпись, дата

Исполнители:  
Кандидат биол. наук

  
\_\_\_\_\_

Т.М. Астахова

подпись, дата

Кандидат биол. наук

  
\_\_\_\_\_

Ю.В. Люпина

подпись, дата

Кандидат биол. наук

  
\_\_\_\_\_

П.А. Ерохов

подпись, дата

## СОДЕРЖАНИЕ

Реферат	4
Введение	5
Обозначения и сокращения	5
Результаты	6
Публикации по теме	10

## **Реферат**

Отчет 10 с., 1 ч, 1 рис., 2 источника (публикации).

Ключевые слова: рак, щитовидная железа, диагностика, протеасомы, карцинома.

Разработка точного ускоренного метода диагностики рака щитовидной железы, основанного на определении активности протеасом в опухоли и условно нормальной ткани в процессе операции или в пункционном материале опухоли в дооперационный период; выявление мишеней в пуле протеасом карцином щитовидной железы, значимых для создания нового подхода к терапии этого заболевания.

## **Введение**

В процессе выполнения исследования планируется апробировать разработанный метод диагностики рака щитовидной железы на дополнительных образцах, в том числе на образцах редко встречающихся злокачественных новообразований щитовидной железы;

определить диапазоны значений диагностически значимого параметра – коэффициента К (отношение химотрипсинподобной активности протеасом в центральной области опухоли и отдаленной ткани) – для разных типов злокачественных и доброкачественных новообразований щитовидной железы.

оценить точность разработанного метода диагностики новообразований щитовидной железы на основе увеличенной выборки пациентов;

дополнить ряд возможных ограничений применения разработанного метода для диагностики тех или иных злокачественных и/или доброкачественных новообразований щитовидной железы на основе увеличенной выборки пациентов;

скорректировать при необходимости методические рекомендации по применению нового метода интраоперационной диагностики рака щитовидной железы в условиях клиники на основе исследования новой выборки пациентов.

## **Обозначения и сокращения:**

УЗИ – ультразвуковое исследование

ХАИТ - хронический аутоиммунный тиреоидит

## Результаты

1) Послеоперационный материал пациентов с их письменного разрешения доставлялся из Городской клинической больницы № 24 Департамента здравоохранения г. Москвы в Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН в рамках Договора о совместной научно-исследовательской работе. Верификация опухолей была проведена с помощью «золотого стандарта» – гистологического исследования послеоперационного материала в Городской клинической больнице № 24 и проконсультирована в Московском научно-исследовательском онкологическом Институте им. П.А. Герцена. Разработанный метод диагностики рака щитовидной железы апробирован на 41 образце злокачественных и доброкачественных новообразований:

### **26 образцах злокачественных опухолей:**

12 образцах папиллярной карциномы на стадиях  $T_{1A-4A}N_{0-1A}M_0$ ,

9 образцах фолликулярной карциномы на стадиях  $T_{1A-4A}N_{0-1A}M_0$ ,

2 образцах медуллярного рака на стадии  $T_{1B}N_0M_0$ ,

2 образцах Гюртле-клеточного рака на стадиях  $T_{1B-2}N_0M_0Ж$ ,

1 образце папиллярной микрокарциномы на фоне фолликулярной аденомы.

### **15 образцах доброкачественных опухолей:**

6 образцах фолликулярной аденомы,

2 образцах аденоматозной гиперплазии,

3 образцах хронического аутоиммунного тиреоидита (ХАИТ),

2 образцах фолликулярной аденомы на фоне ХАИТ,

1 образце фолликулярной аденомы на фоне коллоидного зоба,

1 образце оксифильной В-клеточной аденомы.

2) Диапазон значений диагностически значимого параметра – коэффициента К (отношение химотрипсинподобной активности протеасом в центральной области опухоли и отдаленной на 3 см ткани) – в данной выборке составил для злокачественных опухолей **0,8–25,5** и для доброкачественных опухолей **0,3–2,8**. Данная выборка имеет диапазоны значений коэффициента К для злокачественных и доброкачественных опухолей, измененные по сравнению с выборкой, исследованной в 2015 г. Это неудивительно, так как в новую выборку попали образцы, охватывающие более широкий спектр диагнозов. В связи с этим возникает закономерный вопрос, можно ли по значениям коэффициента К отличить злокачественные опухоли от доброкачественных новообразований в данной выборке?

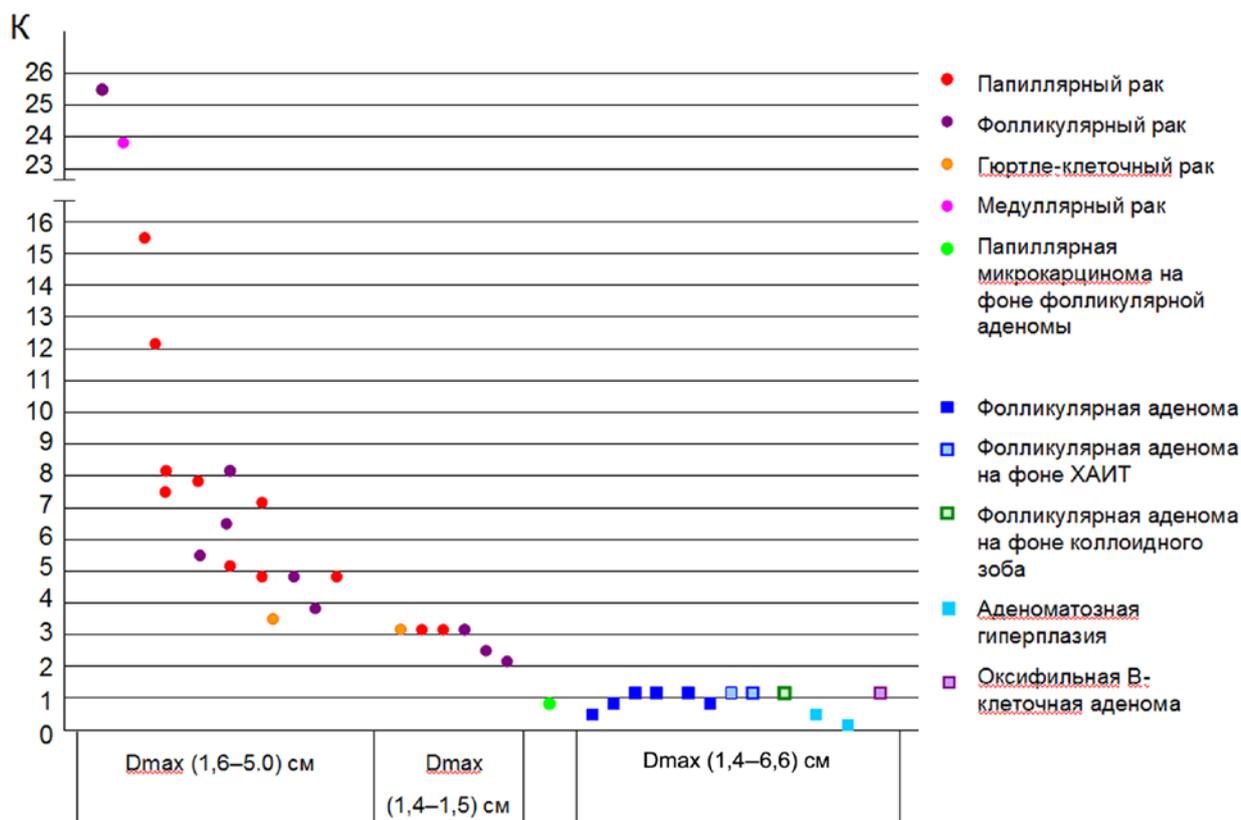
После тщательного анализа характеристик опухолей можно ответить на этот вопрос положительно, но при условии исключения из диагностического процесса опухолей с максимальным диаметром до 1,1 см. Таких опухолей в данной выборке оказалось две, что

составило 5%. Для этих опухолей значение коэффициента К равно 1,0 и 1,1, что совпадает со значениями К для доброкачественных опухолей. После исключения из диагностического процесса опухолей с максимальным диаметром до 1,1 см диапазон значений коэффициента К для злокачественных опухолей составил **2,3–25,5**, кроме одного образца (К=0,8), который не мог быть правильно диагностирован ни одним из используемых в мировой практике методов, это папиллярная микрокарцинома на фоне фолликулярной аденомы.

В целом, на основании исследованной выборки злокачественных опухолей можно сказать, что коэффициент К зависит скорее от размера опухоли, чем от статуса метастазирования или других характеристик. Наименьшие значения К (**2,3–3,3**) связаны со злокачественными опухолями с максимальным диаметром 1,4 и 1,5 см. Для опухолей с максимальным диаметром 1,6 значение К резко возрастает и составляет **4,9–8,0**.

Что касается доброкачественных опухолей, то их можно разбить на две группы. В одну группу входят фолликулярная аденома, фолликулярная аденома на фоне коллоидного зоба, аденоматозная гиперплазия, оксифильная В-клеточная аденома. Значение К для этих опухолей составляет **0,3–1,2**. Во вторую группу входят ХАИТ и фолликулярная аденома на фоне ХАИТ. Значение К для этих опухолей составляет **1,4–2,8**. На первый взгляд, эти значения перекрываются со значениями К для злокачественных опухолей максимального диаметра 1,4 и 1,5 см. Вместе с тем, можно констатировать, что ХАИТ хорошо диагностируется на дооперационной стадии, и его можно не брать в рассмотрение для диагностики опухолей по активности протеасом, кроме тех случаев, когда на фоне ХАИТ идентифицируется дополнительное новообразование. На данной выборке показано, что значение К для двух отдельных опухолей фолликулярная аденома на фоне ХАИТ, обнаруженных у одного и того же пациента, равно 1,5, то есть это значение укладывается в диапазон К **1,4–2,8** для «чистого» ХАИТ. Более того, это значение равно значению К для «чистого» ХАИТ этого пациента. Иными словами, на данном этапе исследований в отличие от исследований 2015 г. можно дать оптимистический прогноз по использованию разработанного метода для диагностики новообразований на фоне ХАИТ. Мы нашли способ корректной диагностики, который включает в себя исследование дополнительного образца ткани «чистого» ХАИТ помимо ткани опухоли. Этот образец, скорее всего, и будет служить «правильным» контролем в данных случаях. При рассмотрении ткани ХАИТ в качестве контрольного образца значение К для двух образцов фолликулярной аденомы становятся равными 1,1, то есть укладываются в диапазон значений К **0,3–1,2** для других доброкачественных опухолей. Определенно, необходимо дальнейшее изучение новых образцов доброкачественных и злокачественных опухолей на фоне ХАИТ в будущем.

На рис. 1 собраны результаты диагностики новообразований щитовидной железы, полученные на выборке 2016 г., за исключением образцов ХАИТ, хорошо диагностирующихся до операции, и образцов злокачественных опухолей с максимальным диаметром  $\leq 1,1$  см, не подлежащих диагностике.



**Рис. 1.** Диагностически значимый параметр К для каждого новообразования

3) Точность разработанного метода диагностики новообразований щитовидной железы по результатам исследования новой выборки из 36 опухолей составляет 97%. При этом из рассмотрения исключены 2 опухоли с максимальным диаметром до 1,1 см, установленным дооперационно методом УЗИ, и 3 образца ХАИТ, который хорошо диагностируется дооперационно. Точность разработанного метода нарушил образец папиллярной микрокарциномы (менее 0,5 см) на фоне аденомы размером 2,5 см, который не мог быть верно диагностирован ни одним из практикуемых методов.

4) Итак, в 2016 г. дополнен ряд ограничений использования разработанного метода диагностики рака щитовидной железы, в который вошли опухоли размером до 1,1 см, помимо сильно кальцинированных опухолей, определенных работой прошлого года.

5) На основе проведенного анализа на данном этапе можно ввести следующие важные пункты в методические рекомендации по применению разработанного метода интраоперационной

диагностики новообразований щитовидной железы по определению активности протеасом в условиях клиники.

- При значении  $K \geq 2,3$  (до 25,5) диагностируется злокачественный процесс.
- При значении  $K \leq 1,2$  (до 0,3) диагностируется доброкачественное новообразование.
- Диагностике не подлежат сильно кальцинированные опухоли.
- Диагностике не подлежат опухоли диаметром не более 1,1 см (микрокарциномы).
- При диагностике опухолей на фоне ХАИТ в качестве контрольного образца следует брать ткань ХАИТ.

Таким образом, учитывая, что на дооперационной стадии наиболее трудно диагностируются фолликулярные опухоли щитовидной железы (фолликулярная карцинома и фолликулярная аденома), новый метод интраоперационной диагностики на основании определения активности протеасом может быть полезен для точного диагноза этих опухолей с максимальным диаметром более 1,1 см.

По результатам работы в 2016 г. защищена кандидатская диссертация «Новый подход к дифференциальной диагностике новообразований щитовидной железы» Плехановой А.С., хирургом кафедры общей хирургии и лучевой диагностики лечебного факультета ГБОУ ВПО РГМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ

### Публикации по теме

Научные публикации в журналах, индексируемых в международной информационно-аналитической системе научного цитирования **Web of Science**:

1. Шарова Н.П., Астахова Т.М., Морозов А.В., Михайловская М.И., Чупикова Н.И., Сафаров Р.Р. Разработка противоопухолевых препаратов комплексного действия на протеасомы // Acta Naturae. 2016. Спецвыпуск. Т. 2. С. 138.

Прочие публикации:

1. Карпова Я.Д., Устиченко В.Д., Божок Г.А., Степанова А.А., Люпина Ю.В., Шарова Н.П. Особенности иммунного ответа при трансплантации щитовидной железы крыс и индукции донорспецифической толерантности // Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10. № 2. Тематический выпуск, приуроченный к I-му Калининградскому научному иммунологическому форуму (27-30 июня 2016 г.), объединяющему XIII конференцию иммунологов Урала, симпозиум по первичным иммунодефицитам «J PROJECT». С. 88-90.

Запланированный в ГЗ на 2016 год показатель, характеризующий объем работ, выполнен.

В 2015 г. по теме была опубликована в конце года статья: Родоман Г.В., Сумеди И.Р., Шалаева Т.И., Плеханова А.С., Шарова Н.П., Астахова Т.М. Новый тест дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей щитовидной железы. Лечебное дело. 2015. № 3. С. 72–76., которая не вошла в отчет за 2015 г.

На стадии подготовки находится статья «Novel method of thyroid cancer diagnostics based on the proteasome activity detection» для опубликования в рецензируемом зарубежном издании (для опубликования требуется анализ образцов не менее 100 пациентов).

Отчет по Программе Президиума РАН утвержден решением Ученого совета ИБР РАН «27» декабря 2016 г., протокол № 14