

**Сведения о ходе выполнения проекта «Разработка эпигеномных и метаболомных сигнатур в стуле и крови для ранней диагностики рака прямой кишки» в соответствии с Планом-графиком исполнения обязательств по Соглашению с Минобрнауки России о предоставлении субсидии**

**от 05 августа 2014г.**

**№ 14.604.21.0101, Шифр 2014-14-576-0109-007  
(Уникальный идентификатор RFMEFI60414X0101)**

**Этап 4**

В ходе выполнения проекта по Соглашению о предоставлении субсидии от «05» августа 2014 г. № **14.604.21.0101** с Минобрнауки России в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» на этапе № 4 в период с 01.01.2016 по 30.06.2016 выполнялись следующие работы:

1. Проведение экспериментальных исследований на образцах клинического материала крови и кала больных раком прямой кишки по проверке гипотезы о высвобождении опухоль-специфических метаболитов, микроРНК в кровотоке или в кале и возможности выявления данных маркеров с помощью современных методов.
2. Исследование первичного набора маркеров на не менее 100 образцах клинического материала крови и кала больных раком прямой кишки и 100 образцах от здоровых людей с помощью методов RT-PCR, масспектрометрии и капиллярного электрофореза. Определение численных значений частот маркеров и уровней их экспрессии.
3. Проведение работ по достижению показателей результативности проекта.
4. Подведение итогов этапа ПНИ.
5. Разработка программного обеспечения «ColonCancerSignature» для диагностики ранних стадий рака прямой кишки по количественным значениям эпигеномных и метаболомных маркеров. При этом тексты программ в

соответствии с ГОСТ 19.401-78, описания программ в соответствии с ГОСТ 19.402-78.

б. Материально-техническое обеспечение работ.

**При этом были получены следующие результаты:** Основываясь на списке из 214-ти маркеров рака прямой кишки (РПК), связанных причинно-следственными связями в сигнальных и регуляторных путях, сформированном на 3-го этапе ПНИ с помощью биоинформационных алгоритмов, разработанных на 1-м и 2-м этапе, проведено определение 197 маркеров в плазме крови (и в некоторых случаях в кале) пациентов с РПК (102 пациента) и пациентов без онкологических заболеваний в анамнезе (100 пациентов). На основании проведенных измерений из числа маркеров первичного набора были выбраны маркеры, численное значение которых статистически значимо ассоциировано с РПК. Подтверждена гипотеза о присутствии метаболитов (например, любые виды нуклеиновых кислот), высвобождающихся при разрушении клеток аденокарциномы прямой кишки в кровотоке пациента, что делает их выявление перспективным для диагностики РПК. Разработано программное обеспечение «ColonCancerSignature» и необходимая к нему техническая документация для диагностики ранних стадий рака прямой кишки по количественным значениям биомаркеров РПК.

Определены маркеры, обнаруживаемые в плазме периферической крови в количестве значимо большем (или меньшем) у пациентов с РПК по сравнению с контрольными пациентами. К таким маркерам относятся (по группам): 10 мРНК генов, 6 микроРНК, 4 lncРНК, 9 CpG динуклеотидов в регуляторной области генов.

Определены численные значения для всех маркеров в норме и при раке прямой кишки.

**Новизна научных, конструкторских и технологических решений.**

Разработанный в проекте набор биомаркеров, выбран на основе результатов исследования сети молекулярных взаимодействий и реакций, которые определяют «онкогенные» пути передачи сигналов в клетках. Они объясняют

молекулярные механизмы возникновения мутаций в геноме, эпигенетическую адаптацию в опухолевых клетках, приводящую к активации специфичных наборов генов и неконтролируемому клеточному росту на ранних этапах канцерогенеза, а впоследствии, и к метастазированию. Функциональность предложенных нами маркеров, их прямое причинное вовлечение в процесс канцерогенеза дает нам основание считать, что выявленные нами биомаркеры будут в дальнейшем более воспроизводимо диагностировать РПК в других популяциях, отличающихся по образу жизни и влиянию внешних факторов с одной стороны и, имеющих генетические различия, с другой. Эта особенность выбора и валидации маркеров является отличительной чертой данного исследования, определяющей его высокий технологический и инновационный потенциал. Также результаты настоящего проекта будут учтены в международном проекте SysCol и благоприятно скажутся на дальнейшем сотрудничестве и интегрированности России в мировую научную сеть в целом.

#### **Информация о полученных на отчетном этапе охраноспособных РИД.**

Получение РИД на этапе не запланировано.

#### **Оценка соответствия полученных результатов техническим требованиям к выполняемому проекту и перспектив продолжения работ по проекту.**

Поставленные задачи решены практически полностью. Маркеры, выбранные из первичного набора и их численные значения, определенные в плазме крови пациентов с РПК и пациентов без онкологических заболеваний могут быть использованы для определения и валидации диагностически значимых комбинаций (сигнатур) РПК-специфичных маркеров на следующем этапе проекта. Стоит отметить, что для ряда выявленных на 3-ем этапе проекта маркеров экспериментальная валидация оказалась затруднена или невозможна в результате объективных свойств маркеров. Например, для 5-ти из 22-ух маркеров из класса соматических мутаций технически невозможно было

сконструировать олигонуклеотидные праймеры для типирования из-за несбалансированного нуклеотидного состава прилегающих к мутациям последовательностей. Некоторые маркеры можно было определить только непосредственно в клетках опухолей кишечника, что бесперспективно для разработки неинвазивных или малоинвазивных методов диагностики.

Помимо этого, в ходе выполнения 4-го этапа проекта нами разработан новый эффективный метод количественного мультиплексного определения микроРНК в биологических образцах. В целом, уровень выполнения ПНИ сопоставим с современным мировым уровнем работ в этой области.

**Комиссия Минобрнауки России признала обязательства по Соглашению на отчетном этапе исполненными надлежащим образом.**