

13. Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect în anul 2023 **„Studiul comparativ al particularităților genomice, imunologice și funcționale ale** **carcinoamelor cu celule scuamoase în cinci localizări anatomice”**

Cifrul proiectului 20.80009.80007.02

Din punct de vedere a istoriei cercetărilor, obiectivul principal al studierii cancerului a constat în investigațiile moleculare și clinice ale câtorva căi de semnalizare și gene esențiale. În ultimii ani, s-a înregistrat acumularea rapidă de date despre cancer la scară largă, catalizată de progrese în tehnologiile avansate de cercetare. În urma acestor cercetări au fost obținute seturi mari de date care au fost încărcate în baze de date cu acces liber cum ar fi cBioPortal. Din această bază de date, în special, dar și altele cu acces liber am utilizat unele cohorte cu date omics ale carcinomului scuamos de cap și gât (HNSCC), carcinomului scuamos pulmonar (LSCC), carcinomului scuamos cervical (CSCC), carcinomului scuamos de esofag (ESCC) și carcinomului scuamos de piele (SSCC) pentru a testa capacitatea de predicție a unor algoritmi formulați în baza datelor obținute în proiect.

Astfel, în scopul evaluării importanței testării expresiei proteinei p16 și infecției cu HPV pentru stabilirea prognosticului și tratamentului carcinomului scuamos de orofaringe (OPSCC) a fost utilizat un set de date din baza de date cBioPortal care include atât date a expresiei p16, infecției cu HPV, date de supraviețuire cât și date despre răspunsul la tratament. Acestea au fost procesate și analizate cu ajutorul limbajului de programare R pentru realizarea stratificării moleculare a probelor și efectuarea predicțiilor cu aplicație clinică. Rezultatele demonstrează o corelație pozitivă între expresia proteinei p16, infecția activă cu HPV și prognosticul mai favorabil și corelație negativă cu încărcătura mutațională.

Unul din cele mai importante rezultate obținute în studiu este rolul HPV ca factor cauzal al HNSCC la pacienții din Republica Moldova. În urma investigațiilor de laborator efectuate am observat 13,28% cazuri de HNSCC HPV+. Infecția cu HPV a fost prezentă cel mai frecvent (30,30%, 10/33) în carcinomul scuamos de orofaringe (OPHSC), comparativ cu celelalte tipuri de HNSCC. Acești pacienți au prezentat și o expresie crescută a proteinei p16. Datorită acestor rezultate, comparative cu rezultatele la nivel global, am propus modificarea Protocolului Clinic Național PCN160 „*Cancerul cavității bucale*” în contextul diagnosticului primar al OPHSC prin utilizarea metodei imunohistochemice (IHC) pentru determinarea expresiei p16 și genotiparea HPV prin metoda RT-PCR. Confirmarea cazurilor de OPHSC HPV+ are de asemenea importanță majoră în tratamentul acestor tumori.

Un al rezultat de importanță majoră atât pentru diagnosticul cancerului și prezicerea prognosticului cât și pentru tranziția către prevenirea cancerelor multiple sau prevenirea cancerelor la membrii familiei, este prezența unor mutații TP53 în linia germinală, aceste tumori fiind asociate sindromului Li-Fraumeni. În baza rezultatelor obținute am propus ca pacienții din Republica Moldova diagnosticați primar cu ESCC, LXSC sau OCSC asociate cu alte condiții conform standardelor să fie testați pentru mutații TP53 în linia germinală, iar în cazul rezultatelor pozitive să se aplice principiul screening-ului în cascadă.

Rezultatele cercetării noastre au valoare clinică pentru unele tipuri de cancere studiate dar și ne oferă indicii pentru continuarea direcției atât prin extinderea varietății de biomarkeri cât și integrarea complexă a datelor *in vitro* și *in silico*.

Comparative study of genomic, immunological and functional features of squamous cell carcinomas in five anatomical locations
cipher 20.80009.80007.02

Historically, the main focus of cancer research consisted in the molecular and clinical studies of a few essential signaling pathways and genes. In the recent years has been observed a rapid accumulation of large-scale cancer data, catalyzed by advances in research technologies. As a result, large data sets were obtained and uploaded to open access databases such as cBioPortal. From this database, in particular, but also others with open access, we used some cohorts with omics data of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), lung squamous cell carcinoma (LSCC), cervical squamous cell carcinoma (CSCC), squamous cell carcinoma of esophagus (ESCC) and squamous cell carcinoma of skin (SSCC).

Thus, in order to evaluate the importance of testing p16 protein expression and HPV infection for establishing the prognosis and treatment of oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC) we used a data set from the cBioPoratal database. It includes p16 expression data, HPV infection, survival data as well as treatment response data. The data set was processed and analyzed with the R programming language aiming to perform samples molecular stratification and make predictions with clinical application. The results demonstrate a positive correlation between p16 protein expression, active HPV infection and more favorable prognosis. On the other side, p16 protein expression and active HPV infection showed a negative correlation with mutational load.

One of the most important results obtained in the study is the role of HPV as a causal factor of HNSCC in patients from the Republic of Moldova. Following the carried out laboratory investigations, we observed 13.28% cases of HNSCC HPV+. HPV infection was most frequently present (30.30%, 10/33) in oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPHSC) compared to the other types of HNSCC. These patients also showed increased expression of p16 protein. Due to these results, consistent with global results, we proposed the modification of the National Clinical Protocol PCN160 "Cancer of the oral cavity" in the context of the primary diagnosis of OPHSC by using the immunohistochemical method (IHC) to determine p16 expression and HPV genotyping by the RT-PCR method. Confirmation of HPV+ OPHSC cases has also a major importance in the treatment of these tumors.

Another result of a major importance for cancer diagnosis and prognosis, as well for the transition to the prevention of multiple cancers or the prevention of cancers in family members is the presence of TP53 mutations in the germline, these tumors being associated with Li-Fraumeni syndrome. Based on the obtained results, we proposed that patients from the Republic of Moldova diagnosed primarily with ESCC, LXSC or OCSC associated with other conditions according to the standards should be tested for TP53 mutations in the germline, and in the case of positive results, should be applied the principle of cascade screening.

The results of our research have clinical value for some types of studied cancers but also provide us with clues for the continuation of the research direction both by expanding the variety of biomarkers and the integration of *in vitro* and *in silico* data.