

RECEȚIONAT

Agenția Națională pentru Cercetare
și Dezvoltare _____

_____ 2021

AVIZAT

Secția AȘM _____

_____ 2021

RAPORT ANUAL

privind implementarea proiectului din cadrul Programului de Stat (2020-2023)

**Studiul comparativ al particularităților genomice, imunologice și funcționale ale
carcinoamelor cu celule scuamoase în cinci localizări anatomice**

cifrul 20.80009.80007.02

Prioritatea Strategică SĂNĂTATE

Conducătorul proiectului

Valentina STRATAN

V. Stratan
(semnătura)

Directorul organizației

Corneliu PREPELIȚĂ

[Signature]
(semnătura)

Consiliul științific/Senatul

Iurie BULAT

Bulat
(semnătura)



Chișinău 2021

1. Scopul etapei anuale conform proiectului depus la concurs

Identificarea *in silico* a biomarkerilor molecular-genetici, markerilor imunologici și de microbiom.

2. Obiectivele etapei anuale

1. Identificarea *in silico* a biomarkerilor molecular-genetici, individuali și comuni, specifici tumorilor studiate.
2. Analiza datelor publice (genomice, epigenomice, transcriptomice, interactomice) asociate cu tipurile de cancer aflate în studiu.
3. Construirea rețelelor și identificarea celor mai conectate noduri moleculare specifice celor 5 localizări de carcinom scuamos.
4. Asocierea dintre microbiom, markeri imunologici și anumite tipuri de CCS
5. Identificarea speciilor de bacterii care produc efecte oncogene și care favorizează instalarea infecției persistente cu HPV;
6. Asociere dintre infecția cu HPV, genotipul viral și carcinoamele scuamoase cap-gât și pulmonare.

3. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor etapei anuale

1. Determinarea genelor care prezintă mutații comune și individuale pentru cele 5 tipuri de cancer: cap-gât, pulmonar, cervical, de esofag și de piele.
2. Determinarea efectului funcțional a mutațiilor de interes.
3. Determinarea expresiei genice în funcție de localizare.
4. Aprecierea gradului de metilare a genelor în carcinoamele scuamoase.
5. Crearea rețelelor de interacțiune între genele implicate în tumorigeneza CCS.
6. Identificarea markerilor imunologici pentru tumorile studiate și asocierea acestora cu markerii de microbiom local.
7. Identificarea speciilor de bacterii care: pot servi ca markeri de prognostic a bolii, au potențial efect oncogen, favorizează instalarea infecției persistente cu HPV în anumite tipuri de CCS.
8. Determinarea gradului de asociere dintre infecția cu HPV, genotipul viral, și carcinoamele scuamoase cap-gât și pulmonar.

4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor etapei anuale

1. Determinarea genelor care prezintă mutații comune și individuale pentru cele 5 tipuri de cancer: cap-gât, pulmonar, cervical, de esofag și de piele.
2. Determinarea efectului funcțional a mutațiilor de interes.
3. Determinarea expresiei genice în funcție de localizare.
4. Aprecierea gradului de metilare a genelor în carcinoamele scuamoase.
5. Crearea rețelelor de interacțiune între genele implicate în tumorigeneza CCS.
6. Identificarea markerilor imunologici pentru tumorile studiate și asocierea acestora cu markerii de microbiom local.
7. Identificarea speciilor de bacterii care: pot servi ca markeri de prognostic a bolii, au potențial efect oncogen, favorizează instalarea infecției persistente cu HPV în anumite tipuri de CCS.
8. Determinarea gradului de asociere dintre infecția cu HPV, genotipul viral, și carcinoamele scuamoase cap-gât și pulmonar.

5. Rezultatele obținute (descriere narativă 3-5 pagini)

Pe parcursul anului 2021 ne-am propus analiza și evaluarea mai multor tipuri de biomarkeri asociați carcinoamelor cu celule scuamoase studiate. Conform obiectivelor propuse au fost studiate următoarele categorii de biomarkeri: molecular-genetici, imunologici și de microbiom.

Biomarkerii molecular-genetici. Analiza bioinformatică a datelor oncogenomice publice a permis identificarea genelor care mutează cel mai frecvent în localizările studiate și integrarea rezultatelor sub formă de *heatmap*. În patru tipuri de carcinoame scuamoase (piele (CSPI), pulmonar (CSP), cap-gât (CSCG) și esofag (CSE)) gena supresoare de tumori TP53 prezintă cele mai multe alterații pe când în carcinomul scuamos cervical (CSC) printre cele mai afectate este gena PIK3CA (30%).

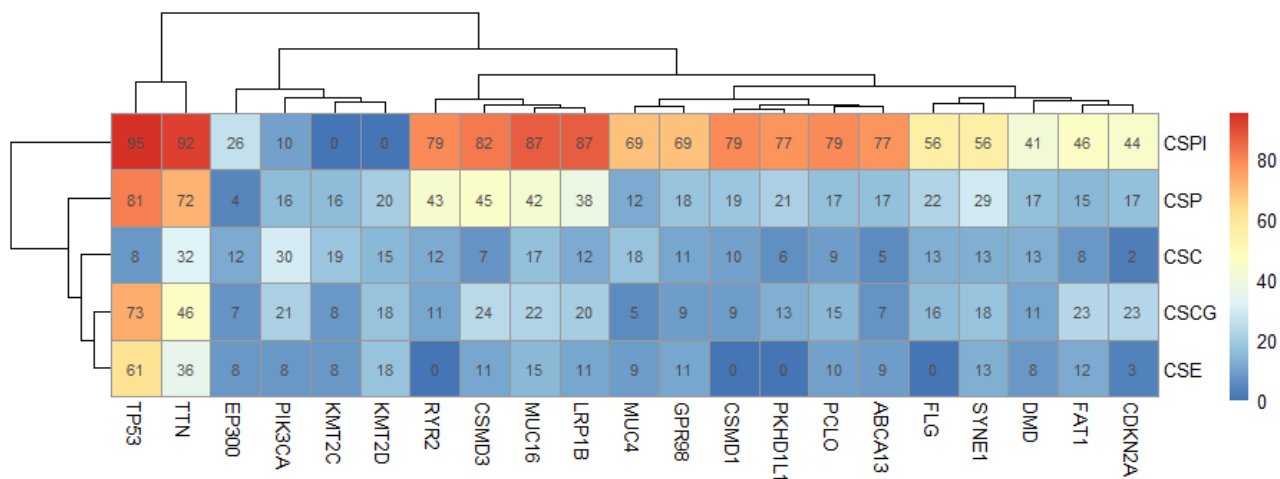


Fig.1. Frecvența mutațiilor (%) în diferite tipuri de carcinom scuamos: CSPI, CSP, CSC, CSCG și CSE

În aspect molecular se observă o clusterizare a tipurilor CSE și CSCG și o diferențiere majoră a CSPI față de celelalte localizări. De asemenea în plan comparativ CSPI, prezintă cea mai mare frecvență a mutațiilor în majoritatea genelor. Frecvența apariției hipermutațiilor sau fragmentelor Kataegis în cohortele studiate (932 probe) este după cum urmează: 18% în carcinomul scuamos de piele, 7% – în CSC, 5% – în CSCG și 1% – în CSE.

Analiza în baza perechilor de gene asociate cu supraviețuirea pacienților a permis identificarea a trei seturi de gene care dacă mutează concomitent, scad dramatic probabilitatea de supraviețuire, astfel având potențial de a fi utilizate în calitate de biomarkeri prognostici și de stratificare a riscului. Aceste perechi sunt: MUC4-EP300 în CSC, TP53-RYR2 în CSCG și CSMD1-PCDH15 în CSPI.

Conform obiectivelor propuse au fost identificați mai mulți markeri genetici care sunt actualmente în curs de testare în laborator și anume: mutații ale genelor TP53, PIK3CA, EGFR, BRAF; expresia și relația de letalitate sintetică între TP53 și WEE1 (HNSCC), SLC7A11 (cSCC), MTOR; metilarea globală a genelor în toate localizările studiate.

Biomarkerii imunologici. Pe lângă markerii molecular-genetici sunt în proces de testare 2 biomarkeri imunologici extrem de utili pentru administrarea tratamentului imunoterapic – PD-1 și PD-L1. Analizele preliminare prin metoda ELISA a 59 probe de sânge la pacienți cu carcinom scuamos de cap și gât pun în evidență că valorile (pg/mL) acestor 2 markeri corelează strâns.

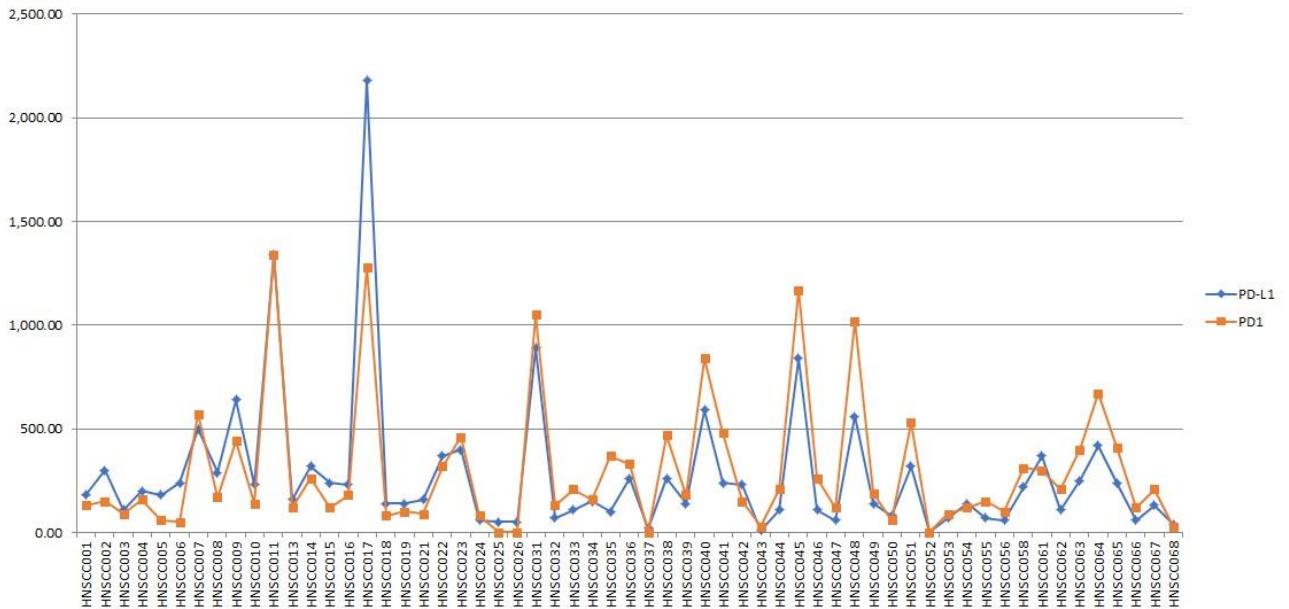


Fig.2. Concentrația markerilor imunologici PD-1 și PD-L1 (pg/mL) în sângele pacienților cu CSCG

Biomarkerii de microbiom. Analiza datelor publice și sinteza diferitor studii relevă că microbiile cu cel mai ridicat efect carcinogenic în CSCG sunt *Fusobacterium nucleatum* și *Porphyromonas gingivalis*. Alte genuri care pot avea un rol însemnat în tumorigeneza CSCG sunt *Prevotella*, *Treponema*, *Streptococcus*, etc. În cadrul cercetărilor noastre ne-am propus utilizarea metodei *Real-Time PCR* și a kitului *Dentoscreen* pentru evaluarea în microbiomul oral al pacienților cu carcinom scuamos de cap și gât (carcinom de mucoasă) a 7 specii de bacterii: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* și *Fusobacterium nucleatum*. Până în prezent au fost analizate probe de salivă și tampon bucal a 26 pacienți (Fig.3).

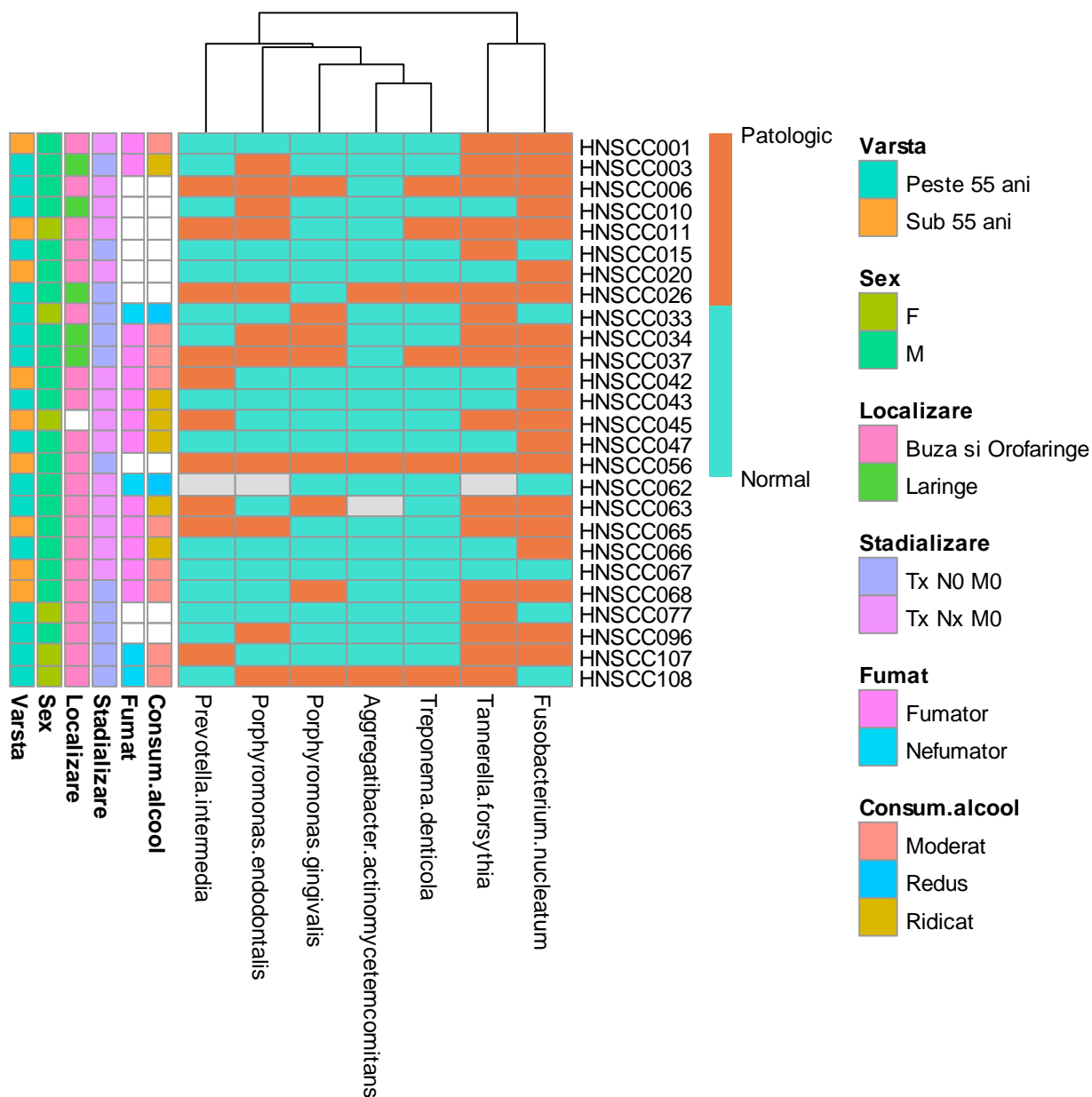


Fig. 3. Concentrația bacteriilor din kitul *Dentoscreen* în microbiomul oral al pacienților cu CSCG (adnotare efectuată cu date din anchetele clinice)

În Fig.3 se observă că cea mai mare frecvență a concentrației patologice este în cazul *Fusobacterium nucleatum* (20 probe) și *Tannerella forsythia* (18 probe). *Fusobacterium nucleatum* se întâlnește în concentrație mare la majoritatea pacienților fumători și doar la un singur pacient din categoria “Nefumător”. În ce privește microorganismele *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* și *Treponema denticola*, acestea formează un cluster ce indică asupra frecvenței scăzute a numărului de probe cu concentrații anormale și sugerează relația mutuală de “specii companion” sau “specii sinergetice”. În general, probele cu valori patologice ale *A. actinomycetemcomitans* prezintă valori anormale pentru majoritatea speciilor. De asemenea, integrarea cu datele clinice, atestă prezența patologică a speciei *Porphyromonas endodontalis* la toți pacienții cu carcinom laringian și la aprox.

30% pacienți cu carcinom de buză și orofaringe. Nu au fost observate diferențe clare între sexe, categoriile de vârstă sau stadiul tumorii.

În cadrul etapei curente a fost începută și testarea pacienților cu CSCG pentru infecția orală cu HPV. Genotiparea HPV se realizează pentru 12 genotipuri și se efectuează cu utilizarea kitului АмплиСенс ВПЧ ВКР генотип-FL (InterLabService, Federația Rusă).

În CSC microbiomul local are un important rol în instalarea infecției persistente cu HPV și oncogeneză. Genurile/speciile de bacterii a căror concentrații sunt asociate cel mai des cu inflamația (vaginoza bacteriană), persistența HPV/cancerul cervical și care vor fi testate în laborator cu kitul Bioflor sunt: *Lactobacillus spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella spp.*, *Leptotrichia amnionii group*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*.

La începutul anului în curs a fost lansată crearea biobăncii de probe biologice, cu respectarea tuturor standardelor internaționale de prelevare, transportare, procesare, stocare la regimul de temperatură -86° C și operarea cu probele stocate. Astfel, până în prezent, au fost acumulate mai multe probe de sânge, țesut tumoral, țesut adiacent, etc. (**Tabelul 1**), de la: **81** pacienți cu cancer de cap-gât, **49** pacienți – cancer pulmonar, **30** pacienți –cancer de esofag, **24** pacienți –cancer de piele, **42** pacienți – cancer cervical.

Tabelul 1. Tipul de probe biologice pentru biobancă (per localizare)

	Țesut tumoral	Țesut normal adiacent	Tampon al leziunilor bucale cronice benigne	Tampon al mucoasei bucale sănătoase	Tampon cervical	Salivă	Sânge integru	Sânge (ser)	Sânge (plasm, ADNtc)
Cap și gât	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓
Pulmonar	✓	✓					✓	✓	✓
Cervical	✓	✓			✓		✓	✓	✓
Piele	✓	✓					✓	✓	✓
Esofag	✓	✓					✓	✓	✓

Pentru fiecare pacient au fost completate: consimțământul informat aprobat de Comitetul de Bioetică din cadrul IMSP Institutul Oncologic, ancheta cu datele clinice și ancheta probei (elaborate de echipa proiectului). A fost elaborată o bază de date electronică de evidență a subiecților incluși în studiu. Procesul de creare a biobăncii este în deplină desfășurare și va continua până la sfârșitul proiectului. Toate probele biologice adunate sunt supuse tuturor etapelor de cercetare, conform Procedurilor Specifice aprobate.

6. Diseminarea rezultatelor obținute în proiect în formă de:

Articol/ publicații

- SITNIC, Victor , STRATAN, Valentina , TUTUIANU, Valeri , POPA, Cristina, BALAN, Veronica, *SIMPLE R TOOLS FOR GENETIC MARKERS RESEARCH*, REVIEW ARTICLE, Impact Factor: 7.337, International Journal of Advanced Research (IJAR), September 2021, Int. J. Adv. Res. 9(09), 703-705, ISSN: 2320-5407, DOI: 10.21474/IJAR01/13470. <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/13470>.
- STRATAN, Valentina, *STUDIUL COMPARATIV AL PARTICULARITĂȚILOR GENOMICE, IMUNOLOGICE ȘI FUNCȚIONALE ALE CARCINOAMELOR CU CELULE SCUAMOASE ÎN CINCI LOCALIZĂRI ANATOMICE*, Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale, (în curs de publicare).

Abstract

- ТРИПАК, Ирина, ДОБРОВОЛЬСКАЯ, Алёна, СТРАТАН, Валентина, ЦУЦУЯНУ, Валери, СЫТНИК, Виктор, ПОПА, Кристина, БЕТА-МИДРИГАН, Влада, ПРЕПЕЛИЦА, Диана, *Молекулярно-генетические факторы прогноза рака тела матки. Определение мутации с.389 G>A(p.R130Q) гена PTEN в опухолях эндометрия*, Евразийский онкологический журнал, Москва, Россия, 9 апреля, 2021, p. 158. ISSN 2309-7485 (Print), ISSN 2414-2360 (Online). <https://disk.yandex.ru/i/2L8oWgxEh0gY3Q>
- STRATAN, Valentina, BALAN, Veronica, SÎTNIC, Victor, ȚUȚUIANU, Valeri, POPA, Cristina, BAJIREANU, Victoria, *Potential prognostic and risk stratification biomarkers in squamous cell carcinoma*, International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova, Ediția 11, ABSTRACT BOOK, Chișinău, Moldova, 15-16 iunie 2021, p. 35. ISBN 978-9975-933-56-8. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/132740
- STRATAN, Valentina, SÎTNIC, Victor, ȚUȚUIANU, Valeri, POPA, Cristina, BALAN, Veronica, BAJIREANU, Victoria, *Frecvența hipermutațiilor în diferite tipuri de carcinoame scuamoase*, Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, VOLUM de REZUMATE, Vol. 10, Iași, România, 18-21 noiembrie 2021, ;
- STRATAN, Valentina, ȚUȚUIANU, Valeri, SÎTNIC, Victor, POPA, Cristina, BALAN, Veronica, BAJIREANU, Victoria, BÎLBA, Valeriu, ZATÎC, Anatolie, *Asocierea semnăturilor mutaționale cu încărcătura mutațională a tumorii în carcinomul scuamos de esofag și carcinomul scuamos pulmonar*, Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, VOLUM de REZUMATE, Vol. 10, Iași, România, 18-21 noiembrie 2021;
- STRATAN, Valentina, BALAN, Veronica, SÎTNIC, Victor, ȚUȚUIANU, Valeri, POPA, Cristina, BAJIREANU, Victoria, *Factorii de prognostic în CCSCG asociat cu HPV*, Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, VOLUM de REZUMATE, Vol. 10, Iași, România, 18-21 noiembrie 2021.

Participări la conferințe

- Первая Всероссийская Научно-Образовательная Конференция "Молекулярно-генетические исследования в практической онкологии: от лабораторных решений до клинической практики" (Webinar), Rusia, 29 martie 2021;
- XII Съезд онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии, Rusia, 9 aprilie 2021;

- Conferința națională științifico-practică cu participare internațională „*Medicina personalizată în diagnosticul și tratamentul complex al tumorilor la copii*”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova, 23-24 aprilie 2021;
- Teleconferința internațională "*Bioinformatica și datele deschise generează medicina bazată pe date*", Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, 28 Mai 2021;
- Научно-практическая онлайн конференция "*Проблемы резистентности опухолей к лекарственной терапии*", Rusia, 19 iunie 2021;
- Conferința științifică cu participare internațională "*Teste de diagnostic utilizate în medicina personalizată. Aplicații clinice în diagnosticul molecular al bolilor genetice.*" (Webinar organizat de Oncogene SRL), Chisinau, Republica Moldova;
- Particularitățile endoscopice și morfologice în diagnosticul cancerului colorectal (Webinar organizat de Oncogene SRL), Chisinau, Republica Moldova, 28 octombrie 2021;
- GENETIC DIAGNOSTICS IN ONCOLOGY, 27 octombrie 2021 (Webinar organizat de CeGaT GmbH).
- Ziua Hemato-Oncologiei, ediția de toamnă, webinar organizat de Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" și Spitalul Universitar de Urgență București, 10 Noiembrie 2021.

Teze de licență

- A fost realizată și susținută teza de licență a studentei Anna Culinscaia la specialitatea **0511.2 Biologie moleculară**, USM. Titlul tezei: *Bioinformatic approaches in the comparative analysis of squamous carcinomas.*

Bursă de cercetare

- În luna iulie sa finalizat proiectului de cercetare: *Comparative bioinformatics study of squamous cell carcinomas in five anatomical localizations*, (2020-2021) proiect susținut de World Federation of Scientists și derulat în cadrul IMGENCCS, prin intermediul Academiei de Științe din Moldova, bursier: cercetător științific **Victor Sîtnic**, conducător științific: **Valentina Stratan**, doctor în biologie, conferențiar cercetător, conducător de proiect. Locul desfășurării cercetărilor: IMSP Institutul Oncologic.

7. Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului

Pentru prima dată, în Republica Moldova, în cadrul proiectului se creează biobanca de cancer la standarde internaționale, cu cel mai divers material biologic: țesut tumoral, țesut adiacent sănătos, sânge integru, plasmă, ser, saliva, tampon bucal a leziunilor pre-canceroase, tampon vaginal, etc. Toate acestea vor fi trecute prin studierea comparativă care presupune și integrarea datelor multi-omics și non-omics cu scopul identificării markerilor comuni și individuali care vor avea un impact major asupra îmbunătățirii metodelor de diagnostic, determinării subtipizării moleculare, abordarea corectă a managementului bolii, adaptării terapiilor personalizate și țintite

pentru cele 5 tipuri de cancer: *carcinom scuamos de piele, carcinom scuamos de esofag, carcinom scuamos de cap și gât, carcinom scuamos pulmonar și carcinom scuamos cervical.*

Aceasta va asigura premise în dezvoltarea diagnosticului precoce al carcinoamelor scuamoase, precum și în asigurarea unei eficiențe mai înalte în tratamentul pacienților oncologici, prin dezvoltarea terapiilor personalizate. Toate acestea vor contribui la creșterea calității vieții acestora, cât și a supraviețuirii lor, ceea ce va contribui la aflarea lor cât mai îndelungată în familie unde pot să-și crească și să-și educe copiii, precum vor putea să muncească și să producă bunuri și servicii, deci să contribuie la dezvoltarea economiei țării.

8. Infrastructura de cercetare utilizată în cadrul proiectului

Laboratorul Științific Biologia Cancerului este echipat cu tot necesarul pentru realizarea cercetărilor genetice atât de bază, cât și avansate. Laboratorul este dotat cu: Secvențiator de generația următoare Ion PGM System (Thermo Fisher Scientific, Ion Torrent), sistem PCR în timp real 7500 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems), termociclor Veriti 96-Well Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems), sistem automat de izolare a acizilor nucleici AutoMate Express DNA Extraction System (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems), spectrofotometru NanoDrop Lite (Thermo Fisher Scientific, Thermo Scientific), fluorometru Qubit 3.0 (Thermo Fisher Scientific, Invitrogen), centrifugă cu răcire Hettich micro 220R (Hettich Lab), omogenizator de țesuturi TissueRuptor II (Qiagen), sistem de electroforeză Consort EV245 (Consort), sistem de electroforeză E-Gel iBase (Thermo Fisher Scientific, Invitrogen), sistem de fotodocumentare a gelurilor de electroforeză Doc-Print VX5 (VILBER Smart Imaging), cititor de microplăci Sunrise (Tecan). Pentru a sprijini activitatea de cercetare, laboratorul are dispozitive suplimentare precum: ultracongelator (Biobase), purificator de apă PURELAB flex 3 (ELGA LabWater), ultracentrifugi Microspin 12 (Biosan), termoagitatoare TS-100 și TS-100C (Biosan), vortexuri V-1 Plus și V-32 (Biosan) și vortexuri IKA VORTEX 4 digital (IKA), hote UV DNA/RNA UVC/T-AR și UVT-S-AR (Biosan), balanță electronică, micropipete cu un canal și multicanal ș.a. Toate echipamentele sunt întreținute și calibrate în mod regulat.

Laboratorul Științific Biologia Cancerului mai dispune de o biobancă concepută pentru colectarea probelor biologice: țesut tumoral, țesut normal adiacent, sânge integru, sânge (plasmă), sânge (ser), tampon bucal, salivă, tampon cervical/vaginal, și a datelor stocate în bază de date electronică. În această bază de date sunt stocate următoarele tipuri de date: profilul pacientului, diagnosticul oncologic, episoade specifice, terapia sistemică actuală, biomarkeri genetici, transcriptomici, imunologici, de microbiom și alte teste de laborator.

Laboratorul mai dispune de specialiști calificați și bine pregătiți în domeniul biologiei moleculare și geneticii cancerului, precum și a bioinformaticii.

9. Colaborare la nivel național în cadrul implementării proiectului

Proiectul este în faza de cercetare și de analiză a celor realizate până în prezent, conform programului calendaristic. Colaborarea la nivel național este una internă, la nivel de subdiviziuni ale Institutului Oncologic de unde se recoltează cele mai diverse probe biologice pentru studiu.

10. Colaborare la nivel internațional în cadrul implementării proiectului

Proiectul este în fază de cercetare și de analiză a celor realizate până în prezent, conform programului calendaristic. Mulți dintre cercetătorii științifici ai proiectului participă și la realizarea a două proiecte științifice transfrontaliere în colaborare cu Institutul Regional de Oncologie Iași, iar unul din acestea are ca obiect de studiu cancerul pulmonar, în așa fel cercetările acestei localizări vor fi extinse și dezvoltate.

11. Dificultățile în realizarea proiectului financiare, organizatorice, legate de resursele umane etc.

Dificultățile întâlnite în realizarea proiectului sunt legate în primul rând de situația epidemiologică care a făcut imposibilă organizarea forurilor științifice atât pe plan național cât și internațional. Totodată, constatăm acumularea anevoioasă a probelor biologice în crearea biobăncii, care trebuie să fie confirmate mai întâi morfologic și depind de responsabilitatea și capacitatea de organizare a fiecărui cercetător științific în parte. Marea majoritate a lor sunt angajați în proiect prin cumul, având de baza și prioritar, activitatea clinică. Acestea sunt angajați în numeroase subdiviziuni atât în staționar cât și în Centrul Consultativ Diagnostic a Institutului Oncologic, astfel, gestionarea procesului de organizare este mult mai complicată. Un alt aspect care a creat probleme este trecerea din proiect (1,0 unitate), în compartimentul clinică, ori salarizarea în clinică este mult mai mare și mai motivantă. Din aceste considerente, acumularea probelor este mai lentă, și am fost nevoiți să modificăm componența echipei de executori.

Totodată, constatăm ca răspunsurile de la revistele internaționale cu impact, vin foarte greu și durează perioade lungi, ce face imposibilă publicarea acestora în anul de studiu.

12. Diseminarea rezultatelor obținute în proiect în formă de prezentări la foruri științifice (comunicări, postere – pentru cazurile când nu au fost publicate în materialele conferințelor, reflectate în p. 6)

Lista forurilor la care au fost prezentate rezultatele obținute în cadrul proiectului de stat (Opțional) se va prezenta separat (conform modelului) pentru:

- Manifestări științifice internaționale (în străinătate)
- Manifestări științifice internaționale (în Republica Moldova)
- Manifestări științifice naționale

- Manifestări științifice cu participare internațională

Model:

Numele, prenumele, titlul științific al participantului; Titlul manifestării (cu indicarea tipului de manifestare – internațională, națională etc.); Organizatori, țara, perioada desfășurării evenimentului; Titlul comunicării/raportului susținut (cu indicarea tipului de prezentare – oral, poster etc.)

13. Aprecierea și recunoașterea rezultatelor obținute în proiect (premiu, medalii, titluri, alte aprecieri).

Popa Cristina - Diplomă de Onoare a Ministerului Educației și Științei, consacrată Zilei internaționale a Femeilor și fetelor din știință (10 februarie 2021)

Țuțuianu Valeri și Sîtnic Victor, cercetători științifici, înaintați pentru mențiune către MES (la solicitarea acestuia), cu prilejul Zilei internaționale ale Științei (10 noiembrie 2021)

Promovarea rezultatelor cercetărilor obținute **în proiect** în mass-media

- Emisiuni radio/TV de popularizare a științei

Stratan Valentina, pagina personală a rețelelor de socializare - 6 postări (a.2021) apreciate cu zeci și sute de comentarii în care s-a prezentat/postat realizările proiectului la diferite etape de creare a infrastructurii de cercetare, s-a promovat echipa de cercetători, precum și a rezultatelor obținute.

S-a elaborat și editat 50 exemplare de broșuri pe marginea proiectului, care a avut scopul de diseminare a informației către toți executorii proiectului și a factorilor de decizie (ANCD, ASM, MS, conducerea Institutului Oncologic, etc), de promovare a procesului de cercetare și de educare a angajaților în aspectul importanței desfășurării activității de cercetare. Aceasta a fost plasată pe pagina web www.onco.md, iar ulterior am fost sunată de către jurnaliștii de la E-Sănătatea care intenționează să publice la începutul anului viitor un articol privind rezultatele obținute pe parcursul la doi ani.

- Articole de popularizare a științei

14. Teze de doctorat / postdoctorat susținute și confirmate în anul 2021 de membrii echipei proiectului

În acest an 2021, a fost admisă la studii de doctorat la școala doctorală USMF, dra **Cristina Popa**, cercetătoare științifică stagiară în Laborator, pentru studiul la tema “Particularitățile genomice și imunologice a carcinomului pavimentos cervical și a regiunii cap și gât”. Conducător **Sprinceana Mariana**, dr.șt.med ,conf.cercet.USMF, iar conducător prin cotutelă, **Valentina Stratan**, dr.șt.biol.conf.cercet.,conducător de proiect.

15. Materializarea rezultatelor obținute în proiect

La aceasta etapă este prematură materializarea rezultatelor obținute în studiu. Rezultatele studiului vor fi materializate ulterior.

16. Informație suplimentară referitor la activitățile membrilor echipei în anul 2021

- Membru/președinte al comitetului organizatoric/științific, al comisiilor, consiliilor științifice de susținere a tezelor
- **Stratan Valentina** / Consiliu Științific IMSP Institutul Oncologic / 2020 - 2021/ Vicepreședinte; Membru a Seminarului Științific de profil: **321.20** Oncologie și radioterapie, IMSP Institutul Oncologic ; Membru al Seminarului Științific de profil **321.10** Oncologie și radioterapie, specialitatea Oncologie și hemotransfuzie; USMF, Nicolae Testemițanu;
- În prezent –conducător științific prin cotutelă - 3 lucrări (teze de doctor), în baza dreptului obținut prin decizia **ANACEC** nr. 10 din 30.10.2020, eliberat la 25.11.20 Cercetător conferențiar, abilitată cu dreptul de conducător științific fără termen la tezele de doctorat la profilul Medicina Generală, specialitatea Oncologie și Radioterapie (2014).
- **Stratan Valentina** ,Membru al colegiilor de redacție al Buletinului Academiei de Științe a Moldovei / internaționale

17. Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect

Studiul comparativ al particularităților genomice, imunologice și funcționale ale carcinoamelor cu celule scuamoase în cinci localizări anatomice

cifrul 20.80009.80007.02

Pe parcursul anului 2021 ne-am propus analiza și evaluarea mai multor tipuri de biomarkeri asociați carcinoamelor cu celule scuamoase incluse în studiu. Conform obiectivelor propuse au fost studiate următoarele categorii de biomarkeri: molecular-genetici, imunologici și de microbiom.

Analiza bioinformatică a datelor oncogenomice publice a permis identificarea genelor care mutează cel mai frecvent în localizările cercetate și determinarea frecvenței apariției hipermutațiilor sau fragmentelor Kataegis. Analiza în baza perechilor de gene asociate cu supraviețuirea a permis determinarea a trei seturi de gene care dacă mutează concomitent, scad dramatic probabilitatea de supraviețuire, astfel, având potențial de a fi utilizate în calitate de biomarkeri prognostici și de stratificare a riscului. Conform obiectivelor au fost selectați mai mulți markeri genetici care sunt în curs de testare în laborator și anume: mutații ale genelor TP53, PIK3CA, EGFR, BRAF; expresia și relația de letalitate sintetică între TP53 și WEE1, SLC7A11, MTOR; metilarea globală a genelor în toate localizările studiate. Pe lângă markerii molecular-genetici sunt în proces de testare 2 markeri imunologici extrem de utili pentru administrarea tratamentului imunoterapic – PD-1 și PD-L1.

Analizele preliminare prin metoda ELISA a 59 probe de sânge la pacienți cu carcinom scuamos de cap și gât pun în evidență că valorile acestor 2 markeri corelează strâns. În privința studierii microbiomului ne-am propus utilizarea kitului *Dentoscreen* pentru evaluarea a 7 specii de bacterii din cavitatea orală a pacienților cu carcinom scuamos de cap/gât (CSCG), și a kitului *Bioflor* pentru analiza a 8 specii/genuri de microorganisme în flora cervicală a pacienților cu carcinom scuamos cervical (CSC). Rezultatele de debut pentru 26 probe de salivă/tampon bucal a pacienților cu CSCG sugerează că anumite condiții clinice ar putea influența concentrația patologică a microbilor studiați. În cadrul etapei curente a fost începută și testarea pacienților cu CSCG pentru

infecția orală cu HPV. Genotiparea HPV se realizează pentru 12 genotipuri și se efectuează cu utilizarea kitului АмплиСенс ВПЧ ВКР генотип-FL (InterLabService, Federația Rusă). La începutul anului în curs a fost lansată crearea biobăncii de probe biologice, cu respectarea tuturor standardelor internaționale de prelevare, transportare, procesare, stocare la regimul de temperatură - 86° C și operarea cu probele stocate. Astfel, până în prezent, au fost acumulate mai multe probe de sânge, țesut tumoral, țesut adiacent, etc., de la: **81** pacienți cu cancer de cap-gât, **49** pacienți – cancer pulmonar, **30** pacienți – cancer de esofag, **24** pacienți – cancer de piele, **42** pacienți – cancer cervical. Pentru fiecare pacient au fost completate: consimțământul informat aprobat de Comitetul de Bioetică din cadrul IMSP Institutul Oncologic, ancheta cu datele clinice și ancheta probei (elaborate de echipa proiectului). A fost elaborată o bază de date electronică de evidență a subiecților incluși în studiu. Procesul de creare a biobăncii este în deplină desfășurare și va continua până la sfârșitul proiectului. Probele biologice adunate sunt supuse etapelor de cercetare, conform Procedurilor Specifice aprobate.

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

cipher 20.80009.80007.02

During 2021, we aimed to analyze and evaluate several types of biomarkers associated with squamous cell carcinomas included in the study. According to the proposed objectives, the following categories of biomarkers were studied: molecular-genetic, immunological and microbiome. Bioinformatics analysis of public oncogenomic data allowed the identification of genes that mutate most frequently in the studied localizations and also allow to determine the frequency of hypermutations or Kataegis fragments.

Analysis based on pairs of genes associated with survival allowed the determination of three sets of genes that, if mutate simultaneously, dramatically decrease the probability of survival. Thus, these genes may have the potential to be used as prognostic or risk stratification biomarkers. According to the objectives, several genetic markers were selected in order to be tested in the laboratory, namely: mutations of the TP53, PIK3CA, EGFR, BRAF genes; expression and synthetic lethality relationship between TP53 and WEE1, SLC7A11, MTOR; global gene methylation in all studied localizations. In addition to the molecular-genetic markers are tested another two immunological markers that are extremely useful for the administration of immunotherapeutic treatment. They are PD-1 and PD-L1. Preliminary analyzes of 59 blood samples in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck show that the values of these 2 markers correlate closely (ELISA method). Regarding the study of microbiome, we proposed to use the Dentoscreen kit for the evaluation of 7 species of bacteria in the oral cavity of patients with squamous cell carcinoma of the head/neck (HNSCC). Also, Bioflor kit is used for the analysis of 8 species/genera of microorganisms in the cervical flora of patients with cervical squamous cell carcinoma (CSCC).

The onset results for 26 saliva/oral swab samples taken from patients with HNSCC suggest that certain clinical conditions may influence the pathological concentration of the studied microbes.

During the current research step also was started the testing of HNSCC patients for oral HPV infection. HPV genotyping is performed for 12 genotypes using the АмплиСенс ВПЧ ВКР генотип-FL kit (InterLabService, Russian Federation). At the beginning of 2021 year was launched the creation of the biobank, in compliance with all international standards for sampling, transportation, processing, storage at a temperature of -86 °C and operation with stored samples. Thus, so far, several samples of blood, tumor tissue, adjacent tissue, etc. have been accumulated from: **81** patients with head and neck cancer, **49** patients - lung cancer, **30** patients - esophageal cancer, **24** patients - skin cancer, **42** patients - cervical cancer. For each patient was completed: the informed consent approved by the Bioethics Committee of the Institute of Oncology, the clinical data survey and the sample survey (developed by the project team). It was created an electronic database of records of the subjects included in the study. The biobanking is in full development process and will continue until the end of the project. The collected biological samples are processed according to the approved Specific Procedures.

18. Recomandări, propuneri

Ar fi binevenită simplificarea procedurii de operare a modificărilor la componența echipei de cercetare și a Devizului de cheltuieli, în cazul că acestea sunt făcute doar în baza limitei fondului de salarizare, și dacă ține cont de întinerirea echipei de executori. Modificările operate care se încadrează în aceste prevederi să fie realizate doar la momentul prezentării semestriale a Raportului de realizare la proiect.

Conducătorul de proiect _____ / **Stratan Valentina**

Data: _____

LS

**Lista lucrărilor științifice, științifico-metodice și didactice
publicate în anul de referință în cadrul proiectului din Programul de Stat
„Studiul comparativ al particularităților genomice, imunologice și funcționale ale
carcinoamelor cu celule scuamoase în cinci localizări anatomice”**

1. **Monografii** (recomandate spre editare de consiliul științific/senatul organizației din domeniile cercetării și inovării)

1.1. monografii internaționale

1.2. monografii naționale

2. Capitle în monografii naționale/internaționale

3. Editor culegere de articole, materiale ale conferințelor naționale/internaționale

4. Articole în reviste științifice

4.1. în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS (cu indicarea factorului de impact IF)

- SITNIC, Victor , STRATAN, Valentina , TUTUIANU, Valeri , POPA, Cristina, BALAN, Veronica, *SIMPLE R TOOLS FOR GENETIC MARKERS RESEARCH*, REVIEW ARTICLE, **Impact Factor: 7.337**, International Journal of Advanced Research (IJAR), September 2021, Int. J. Adv. Res. 9(09), 703-705, ISSN: 2320-5407, DOI: 10.21474/IJAR01/13470. <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/13470>.

4.2. în alte reviste din străinătate recunoscute

4.3. în reviste din Registrul National al revistelor de profil, cu indicarea categoriei

- STRATAN, Valentina, *STUDIUL COMPARATIV AL PARTICULARITĂȚILOR GENOMICE, IMUNOLOGICE ȘI FUNCȚIONALE ALE CARCINOAMELOR CU CELULE SCUAMOASE ÎN CINCI LOCALIZĂRI ANATOMICE*, Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale, **(în curs de publicare)**.

4.4. în alte reviste naționale

5. Articole în culegeri științifice naționale/internaționale

5.1. culegeri de lucrări științifice editate peste hotare

5.2 culegeri de lucrări științifice editate în Republica Moldova

6. Articole în materiale ale conferințelor științifice

6.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

6.2. în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

6.3. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

6.4. în lucrările conferințelor științifice naționale

7. Teze ale conferințelor științifice

7.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

- ТРИПАК, Ирина, ДОБРОВОЛЬСКАЯ, Алёна, СТРАТАН, Валентина, ЦУЦУЯНУ, Валери, СЫТНИК, Виктор, ПОПА, Кристина, БЕТА-МИДРИГАН, Влада, ПРЕПЕЛИЦА, Диана, *Молекулярно-генетические факторы прогноза рака тела матки. Определение мутации с.389 G>A(p.R130Q) гена PTEN в опухолях эндометрия*, Евразийский онкологический журнал, Москва, Россия, 9 апреля, 2021, p. 158. ISSN 2309-7485 (Print), ISSN 2414-2360 (Online). <https://disk.yandex.ru/i/2L8oWgxEh0gY3Q>;
- STRATAN, Valentina, SÎTNIC, Victor, ȚUȚUIANU, Valeri, POPA, Cristina, BALAN, Veronica, BAJIREANU, Victoria, *Frecvența hipermutațiilor în diferite tipuri de carcinoame scuatoase*, Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, VOLUM de REZUMATE, Vol. 10, Iași, România, 18-21 noiembrie 2021, ;
- STRATAN, Valentina, ȚUȚUIANU, Valeri, SÎTNIC, Victor, POPA, Cristina, BALAN, Veronica, BAJIREANU, Victoria, BÎLBA, Valeriu, ZATÎC, Anatolie, *Asocierea semnăturilor mutaționale cu încărcătura mutațională a tumorii în carcinomul scuamos de esofag și carcinomul scuamos pulmonar*, Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, VOLUM de REZUMATE, Vol. 10, Iași, România, 18-21 noiembrie 2021;
- STRATAN, Valentina, BALAN, Veronica, SÎTNIC, Victor, ȚUȚUIANU, Valeri, POPA, Cristina, BAJIREANU, Victoria, *Factorii de prognostic în CCSCG asociat cu HPV*, Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, VOLUM de REZUMATE, Vol. 10, Iași, România, 18-21 noiembrie 2021.

7.2. în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

- STRATAN, Valentina, BALAN, Veronica, SÎTNIC, Victor, ȚUȚUIANU, Valeri, POPA, Cristina, BAJIREANU, Victoria, *Potential prognostic and risk stratification biomarkers in squamous cell carcinoma*, International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova, Ediția 11, ABSTRACT BOOK, Chișinău, Moldova, 15-16 iunie 2021, p. 35. ISBN 978-9975-933-56-8. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/132740

7.3. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

7.4. în lucrările conferințelor științifice naționale

8. Alte lucrări științifice (recomandate spre editare de o instituție acreditată în domeniu)

8.1. cărți (cu caracter informativ)

8.2. enciclopedii, dicționare

8.3. atlase, hărți, albume, cataloage, tabele etc. (ca produse ale cercetării științifice)

9. Brevete de invenții și alte obiecte de proprietate intelectuală, materiale la saloanele de invenții

10. Lucrări științifico-metodice și didactice

- 10.1. manuale pentru învățământul preuniversitar (aprobate de ministerul de resort)
- 10.2. manuale pentru învățământul universitar (aprobate de consiliul științific /senatul instituției)
- 10.3. alte lucrări științifico-metodice și didactice

**Executarea devizului de cheltuieli, conform anexei nr. 2.3 din contractul de finanțare nr. 02-
PS din 04 ianuarie 2021, la data de 31 octombrie 2021**

Cifrul proiectului: 20.80009.8007.02

Cheltuieli, mii lei				
Denumirea	Cod		Anul de gestiune	
	Eco (k6)	Aprobat	Modificat +/-	Precizat
Remunerarea muncii angajaților conform statelor	211180	1245,8		1245,8
Contribuții de asigurări sociale de stat obligatorii	212100	299,0		299,0
Deplasări în interes de serviciu peste hotare	222720		+29,9	29,9
Servicii editoriale	222910	12,2	-9,1	3,1
Servicii neatribuite altor aliniate	222990	39,0	-20,8	18,2
Procurarea materialelor pentru scopuri didactice, științifice și alte scopuri	335110	331,9		331,9
Procurarea materialelor de uz gospodăresc și rechizitelor de birou	336110	6,1		6,1
Total		1934,0	0,0	1934,0

Conducătorul organizației _____ / Corneliu PREPELIȚA

Contabil șef _____ / Angela SÎRBU

Conducătorul de proiect _____ / Valentina STRATAN

Data: _____

LS

**Componența echipei proiectului de cercetare a contractului de finanțare nr 02-PS din 04
ianuarie 2021, la data de 31 octombrie 2021**

Cifrul proiectului: 20.80009.8007.02

Echipea proiectului conform contractului de finanțare (la semnarea contractului)						
Nr	Nume, prenume (conform contractului de finanțare)	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării	Data eliberării
1.	Bulat Iurie	1962	Cerc.șt.principal	0,25	01.04.2020	
2.	Stratan Valentina	1962	Cerc.șt.coordon.	0,5	10.01.2020	
3.	Țuțuianu Valeriu	1989	Cerc.științific	1	10.01.2020	
4.	Sîtnic Victor	1985	Cerc.științific	1	10.01.2020	
5.	Popa Cristina	1997	Cerc.șt.stagiar	1	02.01.2020	
6.	Lozovanu Ana	1993	Cerc.șt.stagiar	0,25	-	
7.	Băjireanu Victoria	1997	Cerc.șt.stagiar	1	10.01.2020	
8.	Barbuța Ala	1975	Cerc.șt.stagiar	0,25	10.01.2020	
9.	Suceveanu-Păduraru Anelia	1964	Cerc.șt.stagiar	0,25	10.01.2020	
10.	Balan Veronica	1996	Cerc.șt.stagiar	1	04.01.2021	
11.	Bucinschii Vladimir	1985	Cerc.șt.stagiar	1	03.02.2020	
12.	Monastîrșcaia Anastasia	1990	Cerc.șt.stagiar	0,25	10.02.2020	
13.	Casian Neonila	1967	Cerc.șt.superior	0,5	10.01.2020	
14.	Clipca Adrian	1970	Cerc.științific	0,25	10.01.2020	
15.	Cebotari Diana	1977	Cerc.șt.stagiar	0,25	04.01.2021	
16.	Cojocarui Corneliu	1970	Cerc.științific	0,5	10.01.2020	
17.	Sclifos Ina	1987	Cerc.șt.stagiar	0,25	10.01.2020	
18.	Zatîc Anatolii	1975	Cerc.șt.stagiar	0,25	04.01.2021	
19.	Botnariuc Valeriu	1956	Cerc.șt.stagiar	0,25	04.01.2021	
20.	Bîlba Valeriu	1969	Cerc.șt.coordon.	0,5	04.01.2020	
21.	Doruc Sergiu	1975	Cerc.șt.stagiar	0,25	10.01.2020	
22.	Eftodii Victor	1956	Cerc.șt.principal	1	10.01.2020	
23.	Brenișter Sergiu	1973	Cerc.șt.superior	0,75	10.01.2020	
24.	Dolganiuc Nicolae	1981	Cerc.șt.stagiar	0,5	10.01.2020	
25.	Țurcan Stela	1970	Cerc.științific	0,5	10.01.2020	
26.	Titarencu Victoria	1967	Cerc.șt.stagiar	0,25	04.01.2021	
27.	Nicorici Aliona	1981	Cerc.științific	0,25	10.01.2020	
28.	Portnoi Elena	1991	Cerc.șt.stagiar	0,25	04.01.2021	
29.	Chemencedji Inga	1978	Cerc.șt.stagiar	0,25	27.01.2020	

Ponderea tinerilor (%) din numărul total al executorilor conform contractului de finanțare	34%
---	------------

Modificări în componența echipei pe parcursul anului 2021					
Nr	Nume, prenume	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării
1.	Sîtnic Victor	1985	Cerc.științific	0.5	02.08.2021-31.12.21.(cerere)
2.	Bucinschii Vladimir	1985	Cerc.șt.stagiar	0.25	01.10.2021
3.	Ureche Virgiliu	1982	Cerc.șt.stagiar	0,25	01.10.2021
4.	Novac Mihail	1997	Cerc.șt.stagiar	0,5	01.10.2021
5.	Balan Veronica	1996	Cerc.șt.stagiar	0,25	02.08.2021

Ponderea tinerilor (%) din numărul total al executorilor la data raportării	35%
--	------------

Conducătorul organizației _____ / Corneliu PREPELIȚA

Contabil șef _____ / Angela SÎRBU

Conducătorul de proiect _____ / Valentina STRATAN

Data: _____

LS