

**Studiul comparativ al particularităților genomice, imunologice și funcționale ale
carcinoamelor cu celule scuamoase în cinci localizări anatomice
cifru 20.80009.8007.02**

Au fost colectate și stocate în biobancă 121 probe biologice de la pacienți cu cancer de cap-gât, 83 – cancer pulmonar, 48 – cancer de esofag, 46 – cancer de piele și 92 – cancer cervical. Conform rezultatelor histopatologice și/sau imunohistochimice au fost confirmate 120 (99.17%) cazuri de cancer scuamos de cap și gât (HNSCC), 35 (44.87%) cancer scuamos pulmonar (LSCC), 41 (85.42%) cancer scuamos de esofag (ESCC), 35 (85.37%) cancer scuamos de piele (SSCC) și 59 (95.16%) cancer scuamos cervical (CSCC). Pentru o parte din probele respective, în dependență de localizare, au fost testate unele grupuri de markeri genetici, markeri de expresie, markeri epigenetici, markeri de microbiom, markeri imunologici și markeri virali.

S-a efectuat genotiparea HPV-ului pentru probe biologice de cancer cervical, cancer de cap și gât și cancer pulmonar prin metoda RT-PCR. 82/87 probe biologice testate cu cancer cervical au fost HPV+, cel mai frecvent genotip fiind HPV16 (47.56%, dintre toate cazurile HPV pozitive). În 32.93% probe s-au întâlnit infecții multiple unde HPV16 a fost genotipul cel mai frecvent întâlnit. În cazul probelor biologice de cancer de cap și gât au fost identificate 8 HPV+ (9.52%) cu o prevalență de 100 % la bărbați dintre care 50.00% cu cancer orofaringian, 25.00% cancer laringian și 25.00% cancer al cavității bucale. În probele biologice de cancer pulmonar, frecvența infecției cu HPV a fost de 5.88% (2 cazuri), un caz cu LSCC și un caz cu LSCC și adenocarcinom pulmonar (LAUD).

Expresia relativă a genelor TP53, WEE1, SLC7A11 și mTOR a relatat o scădere a expresiei genei TP53 în probele de țesut tumoral HNSCC, LSCC și SSCC, genele WEE1 și mTOR au o expresie ușor crescută în HNSCC și LSCC în timp ce expresia relativă a genei SLC7A11 crește de 1.4 ori în HNSCC și de 4,7 ori în LSCC. În tumorile HNSCC a fost observată o medie a metilării globale de 19,3 ng/ml iar probele CSCC prezintă o valoare mai ridicată ce constituie în medie 29,96 ng/ml. Procesul de metilare și demetilare a genelor au un efect major asupra expresiei oncogenelor și genelor supresoare de tumoare.

La pacienții cu CSCC și HNSCC au fost analizați unii markeri de microbiom în dependență de implicarea acestora în menținerea stării normale a cenozei locale cât și în persistența infecției cu HPV. În 86.21% probe biologice cu CSCC sa identificat un nivel scăzut de *Lactobacillus* spp. iar 13.79% de probe cu nivel normal de *Lactobacillus* spp. au prezentat și un nivel normal (sau lipsa) a speciilor (*G. vaginalis* și *A. vaginae*) implicate în persistența infecției cu HPV. Deasemnea toate probele cu nivel patologic de *G. vaginalis* și *A. vaginae* au prezentat și un nivel scăzut de *Lactobacillus* spp.. În cazul HNSCC, din 7 specii de bacterii testate, *F. nucleatum* a prezentat un nivel patologic în marea majoritate a probelor biologice (20/27, 74.07%) iar probele cu nivel patologic de *A. actinomycetemcomitans* prezintă și un nivel patologic al celorlalte 6 specii.

În urma analizei mutațiilor în gena TP53 (c.524G>A, c.818G>A și c.817C>T) și gena EGFR (Ex19Del, L858R și T790M) efectuate pe ADN-ul izolat din țesutul tumoral au fost identificate 28/85 (32.94%) probe cu HNSCC pozitive pentru una sau mai multe mutații în gena TP53, 4/19 (21.05%) probe cu SSCC pozitive, 4/21 (19.05%) probe cu ESCC și 10/30 (33.33%) probe izolate din țesut tumoral pulmonar. În cazul mutațiilor în gena EGFR, a fost identificată o probă (1/23, 4.36%) cu ESCC pozitivă, 2 (2/34, 5.88%) probe de cancer pulmonar pozitive și nici un caz pozitiv pentru HNSCC (0/66).

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

cipher 20.80009.8007.02

There were collected and stored in the biobank 121 biological samples from patients with head and neck cancer, 83 – lung cancer, 48 – esophagus cancer, 46 – skin cancer and 92 – cervical cancer. According to the histopathological and/or immunohistochemical results were confirmed 120 (99.17%) cases of head and neck squamous cancer (HNSCC), 35 (44.87%) lung squamous cancer (LSCC), 41 (85.42%) esophageal squamous cancer (ESCC), 35 (85.37%) squamous skin cancer (SSCC) and 59 (95.16%) cervical squamous cancer (CSCC). Depending on the location certain samples were tested for genetic, expression, epigenetic, microbiome, immunological and viral markers.

HPV genotyping has been performed for biological samples of cervical cancer, head and neck cancer and lung cancer using RT-PCR method. 82/87 biological samples tested with cervical cancer were HPV+, the most frequent genotype being HPV16 (47.56%, of all HPV positive cases). In 32.93% samples, multiple infections were encountered where HPV16 was the most frequently encountered genotype. In the case of head and neck cancer there were identified 8 HPV+ (9.52%) samples with a prevalence of 100% in men of which 50.00% with oropharyngeal cancer, 25.00% laryngeal cancer and 25.00% oral cavity cancer. The frequency of HPV infection in lung cancer was 5.88% (2 cases), and one case for each in: LSCC and LSCC with lung adenocarcinoma (LAUD).

The relative expression of TP53, WEE1, SLC7A11 and mTOR genes reported a decrease in TP53 gene expression in HNSCC, LSCC and SSCC tumor tissue samples, while WEE1 and mTOR genes have slightly increased expression in HNSCC and LSCC. The SLC7A11 relative gene expression was increased with 1.4-fold in HNSCC and 4.7-fold in LSCC. The average global methylation observed in HNSCC tumors was 19.3 ng/ml while CSCC samples showed an average value of 29.96 ng/ml. The process of gene methylation and demethylation have a major effect on the expression of oncogenes and tumor suppressor genes.

In patients with CSCC and HNSCC, some microbiome markers were analyzed depending on their involvement in maintaining the normal state of the local cenosis as well as in the persistence of HPV infection. In 86.21% of biological samples with CSCC was identified a low level of *Lactobacillus* spp. while in 13.79% samples - a normal level. The samples with a healthy *Lactobacillus* concentration also showed a normal level (or the absence) of the species (*G. vaginalis* and *A. vaginae*) involved in the persistence of HPV infection. Also, all samples with pathological level of *G. vaginalis* and *A. vaginae* also showed a low level of *Lactobacillus* spp.. In the case of HNSCC, out of 7 species of bacteria tested, *F. nucleatum* showed a pathological concentration in the vast majority of biological samples (20/27, 74.07%). The samples with a pathological level of *A. actinomycetemcomitans* also present a pathological level of the other 6 species.

Following the analysis of the mutations in the TP53 gene (c.524G>A, c.818G>A and c.817C>T) and the EGFR gene (Ex19Del, L858R and T790M) carried out on the DNA isolated from the tumor tissue there were obtained next results: 28/ 85 (32.94%) HNSCC samples positive for one or more mutations in the TP53 gene, 4/19 (21.05%) SSCC positive samples, 4/21 (19.05%) ESCC positive samples and 10/30 (33.33%) positive samples isolated from pulmonary tumor tissue. For mutations in the EGFR gene, there were identified one positive sample (1/23, 4.36%) in ESCC, and 2 positive (2/34, 5.88%) in lung cancer. No positive cases for HNSCC (0/66)