

RECEPȚIONAT

Agenția Națională pentru Cercetare
și Dezvoltare _____

_____ 2024

AVIZAT

Secția AȘM _____

_____ 2024

RAPORT ȘTIINȚIFIC ANUAL

pentru etapa 2023

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 proiectului 20.80009.80007.02

Prioritatea Strategică SĂNĂTATE

Directorul organizației

BALTAGA Ruslan



Consiliul științific

BULAT Iurie



Conducătorul proiectului

STRATAN Valentina



L.Ș.

Chișinău 2024

CUPRINS

1. Scopul.....	3
2. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor etapei 2023 (obligatoriu).....	3
3. Acțiunile realizate (obligatoriu).....	4
4. Rezultatele obținute (descriere narativă 3-5 pagini) (obligatoriu).....	5
5. Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului (obligatoriu).....	8
6. Colaborare la nivel național și internațional în cadrul implementării proiectului (după caz).....	9
7. Dificultățile în realizarea proiectului (financiare, organizatorice, legate de resursele umane etc.) (după caz).....	9
8. Diseminarea rezultatelor obținute în proiect în formă de publicații (obligatoriu).....	9
9. Diseminarea rezultatelor obținute în proiect în formă de prezentări la foruri științifice.....	13
10. Promovarea rezultatelor cercetărilor obținute în proiect în mass-media (Opțional):.....	13
11. Teze de doctorat / postdoctorat susținute și confirmate în anul 2023 de membrii echipei proiectului (opțional).....	14
12. Concluzii.....	14
13. Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect în anul 2023.....	15
Executarea devizului de cheltuieli.....	18
Componența echipei conform contractului de finanțare 2023.....	19

1. Scopul

Crearea modelelor predictive prognostice și de răspuns la tratament utilizând tehnici Machine Learning. Elaborarea recomandărilor clinice și algoritmilor de diagnostic pentru fiecare localizare în parte

Obiective

1. Utilizarea seturilor de date OnO (omics și non-omics) pentru dezvoltarea modelelor predictive prognostice și de răspuns la tratamentul antitumoral.
2. Colectarea probelor biologice pentru biobancă. Proces continuu
3. Scrierea a 3 articole științifice și publicarea acestora în jurnale cu factor de impact
4. Deplasări de serviciu la A III-a Ediției a Conferinței ONCOHUB
5. Elaborarea recomandărilor clinice și măsuri de screening a tumorilor studiate în baza biomarkerilor identificați și modelelor dezvoltate.
6. Organizarea Conferinței Științifice „Studiul comparativ al particularităților genomice, imunologice și funcționale ale carcinoamelor cu celule scuamoase în cinci localizări anatomice”
7. Deplasări de serviciu la A XIV-a Conferință Națională a Asociației de Medicină de Laborator din România, Conferințele Institutul Regional de Oncologie Iași CONFER2023 și CONGRES DE GENETICA MEDICALA CU PARTICIPARE INTERNATIONALA
8. Participare on-line și publicarea abstractelor științifice la „ESMO Immuno-Oncology Congress 2023”

2. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor etapei 2023 (obligatoriu)

1. Identificarea celor mai eficienți algoritmi pentru modelarea setului de date OnO obținute în urma cercetărilor din etapele precedente
2. Crearea modelelor predictive prognostice și de răspuns la tratamentul antitumoral
3. Determinarea in silico a performanței modelelor create
4. Diseminarea rezultatelor științifice obținute în urma cercetărilor
5. Elaborarea unor algoritmi de screening și îmbunătățire a prognosticului
6. Propunerea măsurilor pentru facilitarea diagnosticului precoce
7. Elaborarea recomandărilor clinice de adaptare a tratamentului personalizat
8. Îmbunătățirea managementului condițiilor canceroase studiate
9. Elaborarea unei monografii

3. Acțiunile realizate (obligatoriu)

1. Identificarea celor mai eficienți algoritmi pentru modelarea setului de date OnO obținute în urma cercetărilor din etapele precedente – *au fost identificați algoritmi bioinformatici în limbajul R pentru analiza integrată a datelor numerice și celor categorice obținute pe parcursul realizării proiectului.*
2. Crearea modelelor predictive prognostice și de răspuns la tratamentul antitumoral – *în baza rezultatelor infecției cu HPV în cancerul de orofaringe și expresia proteinelor p16 s-a stabilit modelul pentru îmbunătățirea diagnosticului, prezicerea prognosticului bolii și selectarea strategiilor de tratament la pacienții cu carcinom de orofaringe HPV+ sau HPV- confirmați imunohistochimic.*
3. Determinarea in silico a performanței modelelor create – *au fost utilizate date complexe descărcate din bazele de date publice care au reprezentat cohorta model pentru aprecierea capacității de prezicere a prognosticului și răspunsului la tratament la pacienții cu carcinom scuamos de orofaringe.*
4. Diseminarea rezultatelor științifice obținute în urma cercetărilor – *rezultatele obținute în proiect au fost diseminate la diverse conferințe științifice internaționale și naționale care abordau atât subiectul oncologic cât și diagnosticul de laborator.*
5. Elaborarea unor algoritmi de screening și îmbunătățire a prognosticului – *a fost elaborat un algoritm de screening pentru pacienții diagnosticați cu sindromul Li-Fraumeni și pentru îmbunătățirea prezicerii prognosticului bolii la pacienții cu carcinom de orofaringe HPV+ sau HPV-.*
6. Propunerea măsurilor pentru facilitarea diagnosticului precoce – *au fost propuse modificări la Protocolul Clinic Național „Cancerul cavității bucale” ceea ce vizează diagnosticul pacienților cu cancer de orofaringe.*
7. Elaborarea recomandărilor clinice de adaptare a tratamentului personalizat – *au fost elaborate recomandări clinice practice pentru Protocolul Clinic Național „Cancerul cavității bucale” ceea ce vizează tratamentul diferențiat al carcinomului de orofaringe HPV+ și HPV-.*
8. Îmbunătățirea managementului condițiilor canceroase studiate – *s-au identificat unele aspecte moleculare care ar putea îmbunătăți managementul pacienților cu carcinom scuamos de cap și gât, carcinom scuamos pulmonar, carcinom scuamos cervical, carcinom scuamos de esofag și carcinom scuamos de piele, dar necesită studii suplimentare pentru acuratețea statistică a rezultatelor.*
9. Elaborarea unei monografii – *a fost inițiat procesul de acumulare și de prelucrare a datelor pentru monografie*

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

În ultimul deceniu tehnologiile moleculare de studiu a genomului tumoral au cunoscut progrese semnificative, iar analiza cohortelor mari de probe tumorale a devenit calea principală de acumulare a cunoștințelor despre anormalitățile genetice asociate cu cancerul. Rata mare de acumulare a datelor biomedicale brute (*raw biomedical data*) precum și dezvoltarea algoritmilor bioinformatici necesari pentru analiza, reanaliza, compararea cohortelor, reprezintă elemente cheie pentru obținerea noilor cunoștințe fundamentale (transformare *raw data* în *smart data*) în domeniul biologiei cancerului. Pentru studierea seturilor de date genomice, epigenomice, transcriptomice, imunologice, de microbiom și datelor clinice au fost identificate și utilizate unele pachete din limbajul de programare R, stocate într-un director numit „bibliotecă” în mediul R.

Pentru extragerea datelor moleculare, în scopul testării ipotezelor privind modificările genetice ale carcinoamelor incluse în studiu și de a plasa datele în contextul cunoștințelor biologice anterioare am utilizat baza de date „cBioPortal for Cancer Genomics”, iar pentru identificarea patogenității variantelor genetice testate cât și celor obținute din datele extrase din cBioPortal, am utilizat platforma „Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC)”.

În scopul clasificării variantelor genetice în cancer, comparării cohortelor, identificării interacțiunilor genă-medicament, determinării semnăturilor mutaționale și expresiei diferențiate a genelor, a fost studiat limbajul de programare R și următorii algoritmi R: maftools, BiSEp, DESeq2, rDGIdb. Am utilizat algoritmul Maftools pentru caracterizarea seturilor largi de date care au facilitat procesele axate pe re-analiza și analiza comparativă a seturilor de date oncogenomice extrase în cBioPortal în testarea modelelor. Pachet de analiză „BiSEp (Bimodality Subsetting Expression)” l-am utilizat cu scopul identificării perechile de gene aflate în relație de letalitate sintetică, în special identificarea relațiilor SL pentru genele implicate activ în procesul de tumorigeneză (ex. gena TP53). Pentru detectarea expresiei diferențiate a genelor în funcție de diferite condiții clinice (în cazul nostru am utilizat țesutul tumoral și țesutul normal histologic adiacent tumorii) am utilizat algoritmul DESeq2, iar pentru determinarea asocierilor dintre gene și medicamente am utilizat algoritmul rDGIdb care permite asocierea atât cu datele atât despre medicamentele aprobate clinic cât și despre cele aflate în stadiu experimental.

Aplicarea algoritmilor bioinformatici pentru analiza datelor biomedicale a devenit o paradigmă valoroasă pentru biologia cancerului. În prezent, numărul biomarkerilor acționabili care modifică deciziile de gestionare a tratamentului de precizie în carcinoamele scuamoase este limitat, iar apariția relativ recentă a tehnologiilor de cercetare cu randament ridicat și în consecință, abordările integrative moleculare pe mai multe niveluri, oferă oportunitatea de a obține noi cunoștințe fundamentale și de a descoperi noi candidați moleculari de importanță clinică.

Aplicarea acestor algoritmi cât și analizele statistice de bază ne-a ajutat să identificăm unii markeri importanți în clasificarea carcinoamelor cu celule scuamoase incluse în studiu în scopul îmbunătățirii prezicerii prognosticului și promovării deciziilor clinice de tratament în baza profilelor moleculare. Unul din aspectele importante cercetate a fost frecvența carcinoamelor cu celule scuamoase de orofaringe cauzate de infecția cu HPV în Republica Moldova astfel, luând în considerare cercetările la nivel global s-a observat că prezența ADN-ului HPV de risc înalt este insuficientă pentru a clasifica cu exactitate tumorile orofaringiene cauzate de infecția cu HPV, deoarece poate fi inactiv din punct de vedere biologic și nu cauza malignități sau poate fi infecție

asociată. Alături de identificarea HPV, am detectat imunohistochimic expresia proteinei p16 (p16-IHC) ca marker surogat pentru infecția cu HPV și a activității oncoproteinelor virale. Pentru aceasta am efectuat IHC pentru proteina p16 pe secțiuni reprezentative de 4 μ m tăiate din blocuri de țesut fixat în formalină și incorporat în parafină (FFPE) folosind un anticorp monoclonal care se leagă la proteina p16, la pacienții confirmați prin PCR cu infecția cu HPV utilizând un set care asigură recunoașterea tipurilor de HPV cu risc înalt 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59. ADN-ul viral l-am izolat din salivă și din tampon bucal, acestea prezentând rezultate similare. Pentru confirmarea prezenței infecției cu HPV am efectuat genotiparea inclusiv pe ADN-ul izolat din țesutul tumoral.

Conform literaturii de specialitate, independent de modalitatea de tratament, pacienții cu carcinom scuamos de orofaringe (OPSCC) cu supraexpresie p16 au un prognostic și un rezultat clinic mai bun. Astfel, prezentarea clinică a OPSCC asociat cu HPV este diferită de OPSCC non-HPV asociat.

În baza rezultatelor obținute în cadrul proiectului, care se aliniază cu rezultatele obținute la nivel global, am propus determinarea IHC a expresiei proteinei p16 pentru toți pacienții diagnosticați primar cu OPSCC, expresia crescută a acesteia fiind un marker de precizie a unui prognostic mai bun datorită încărcăturii mutaționale relativ mică comparativ cu OPSCC cauzat de alți factori cum ar fi fumatul, consumul de alcool sau altele. În cazul rezultatelor IHC echivoce, se va utiliza ca marker de confirmare a infecției cu HPV (factor cauzal) testul de genotipare HPV (genotipurile cu risc înalt, în special HPV16 și HPV18). Un rezultat IHC p16 echivoc dar cu prezența ADN viral HPV ne va permite clasificarea OPSCC ca OPSCC HPV+. Ca urmare a confirmării cauzei declanșării apariției și dezvoltării carcinomului scuamos de orofaringe, medicii oncologi vor modifica strategia terapeutică și vor fi capabili să prezică cu o probabilitate mai mare răspunsul la tratament.

Pentru a testa capacitatea de predicție a expresiei proteinei p16 și infecției cu HPV a prognosticului și tratamentul OPSCC am descărcat un set de date din baza de date cBioPortal care include atât date a expresiei p16, HPV, date de supraviețuire cât și date despre răspunsul la tratament. Această cohortă am analizat-o cu ajutorul limbajului de programare R pentru realizarea predicțiilor cu privire la rezultatele viitoare.

Pe lângă datele obținute ce vizează OPSCC HPV+ și HPV-, care au o importanță majoră pentru îmbunătățirea diagnosticului, prezicerii prognosticului și deciziilor de tratament, am obținut date cu referire la mutațiile patogene TP53 pe linia germinală. Toți pacienții pozitivi pentru una din cele trei mutații testate în gena TP53 pe țesutul tumoral au fost testați inclusiv utilizând ca material biologic sângele integru venos. Cazurile cu mutații a liniei germinale în gena TP53 sunt de obicei recunoscute ca tumori asociate sindromului Li-Fraumeni. Conform literaturii de specialitate, pacienții afectați de acest sindrom au un risc dramatic crescut de a dezvolta alte cancere sau cancere multiple, de asemenea rudele acestora cu aceleași mutații pot dezvolta cancer de-a lungul vieții, aproximativ 90% dezvoltând o afecțiune malignă până la vârsta de 60 de ani. Din cohortele analizate cu cancer scuamos de cap și gât (HNSCC), carcinom scuamos de esofag (ESCC), carcinom scuamos pulmonar (LSCC) și carcinom scuamos de piele (SSCC) pentru mutații TP53 a liniei germinale am identificat 4 pacienți cu sindromul Li-Fraumeni: un pacient cu ESCC, un pacient cu carcinom scuamos de laringe (LXSC) și doi pacienți cu carcinom scuamos al cavității bucale (OCSC).

În baza rezultatelor obținute am propus ca pacienții din Republica Moldova diagnosticați primar cu ESCC, LXSC sau OCSC asociate cu alte condiții cum ar fi rude multiple afectate cu cancere identice sau asociate, boli bilaterale sau multifocale, cancere primare multiple sau ESCC, LXSC și OCSC în stadiu avansat cu metastaze să fie testați pentru mutații TP53 în linia germinală pentru diagnosticul sindromului Li-Fraumeni. Identificarea mutațiilor germinale la pacienții cu astfel de cancere din Republica Moldova ne permite, de asemenea, să țintim membrii familiei, aplicând principiul screening-ului în cascadă. Astfel, diagnosticul sindromului Li-Fraumeni va avea implicații semnificative pentru prevenirea cancerului. O parte substanțială a rentabilității asociate cu testarea genetică este obținută prin prevenirea cancerelor la membrii sănătoși ai familiei prin screening, intervenții chirurgicale profilactice și alte intervenții.

Un alt aspect important cercetat în cadrul proiectului este prevalența genotipurilor HPV la pacientele diagnosticate cu carcinom scuamos cervical (CSCC) în populația Republicii Moldova. Cunoștințele despre prevalență contribuie la selectarea tipului de vaccin anti-HPV pentru prevenirea infecției. Am identificat 42,39% cazuri cu genotipul HPV16, 20,65% cazuri de coinfecție prezentând genotipurile HPV16 și alte genotipuri, 4,35% cazuri cu genotipul HPV18, 3,26 cazuri de coinfecție prezentând genotipurile HPV16, HPV18 și alte genotipuri, câte 2,17 cazuri cu genotipul HPV18 și respectiv HPV18 și alte genotipuri. Celelalte cazuri au fost negative pentru genotipurile testate sau au prezentat alte genotipuri decât HPV16 și HPV18.

Pe lângă propunerile înaintate la nivel de administrație IMSP Institutul Oncologic, o prioritate a prezentului studiu a fost să contribuim la îmbunătățirea unor Protocoale Clinice Naționale. Astfel, am înaintat spre a fi introdusă în Protocolul Clinic Național PCN160 „*Cancerul cavității bucale*”, propunerea ce vizează diagnosticul și tratamentul pacienților cu cancer scuamos de orofaringe: Efectuarea de către specialiștii morfopatologi a testării expresiei proteinei p16 prin metoda imunohistochimică (IHC) la toți pacienții diagnosticați primar cu OPSCC. Această testare poate fi efectuată pe tumoarea primară sau pe o metastază ganglionară regională atunci când constatările clinice sunt în concordanță cu diagnosticul de OPSCC primar (expresia proteinei p16 este strâns corelată cu statutul și prognosticul HPV și este disponibilă pe scară largă). Datorită variațiilor sensibilității și specificității analitice a opțiunilor de testare, mai multe metode pot fi utilizate în combinație pentru detectarea statutului tumoral HPV. Detectarea HPV prin PCR și ISH poate oferi sensibilitate suplimentară pentru PCR și specificitate pentru ISH în cazul unui rezultat p16 echivoc sau scenariu clinic neclar.

Suplinirea Protocolul Clinic Național PCN160 „*Cancerul cavității bucale*” cu recomandarea pentru clasificarea OPSCC în HPV pozitive și HPV negative (sau p16 hiperexpresie și p16 subexpresie) va îmbunătăți considerabil managementul acestor pacienți astfel aliniindu-ne la standardele internaționale ce vizează diagnosticul și tratamentul pacienților cu acest tip de tumoare.

Rezultatele noastre au evidențiat unele mecanisme moleculare distincte în cohortele testate, inclusiv unele asemănări care pot fi atribuite carcinoamelor scuamoase per general. Un rezultat important este asocierea concentrației unor microorganisme implicate în bolile parodontale și expresia proteinelor PD-L1 de pe suprafața celulelor inflamatorii prezentând o corelație pozitivă puternică.

Rezultatele au fost publicate în anul 2023 la diverse conferințe naționale și internaționale cât și în unele jurnale științifice: Congresul național cu participare internațională „Săptămâna a XXXVII-a

a Uniunii Medicale Balcanice”, Chișinău, Conferința Națională a Asociației de Medicină de Laborator din România, cu participare internațională, Timișoara, Conferința științifică anuală “Cercetare în biomedicină și sănătate: Calitate, excelență și performanță” , Chișinău, National Conference with international participation “One Health Approach - achievements and challenges.”, Chișinău, Conference with international participation „Natural sciences in the dialogue of generations”, Chisinau, A XIII-A CONFERINȚĂ DE GENETICĂ MEDICALĂ CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ, Timișoara, 3ed Edition of the OncoHub Conference, București, Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași Confer2023, Iași, One Health & Risk Management Journal, Revista Română de Medicină de Laborator.

5. Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului (obligatoriu)

Asocierea virusului papiloma uman (HPV) rămâne unul dintre cei mai importanți predictorii ai rezultatului clinic în carcinomul scuamos de orofaringe (OPSCC). Clasificarea OPSCC în HPV pozitive și HPV negative pot avea implicații semnificative pentru îmbunătățirea politicilor interne, extinderea accesului la asistență medicală și intervențiile preventive și comportamentale. OPSCC care conține HPV cu risc ridicat activ din punct de vedere transcripțional în celulele sale tumorale (OPSCC HPV-pozitive) este clasificat ca o entitate clinică distinctă conform clasificării recente a Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) a tumorilor capului și gâtului. Starea HPV a tumorii este determinantul major al ratei de supraviețuire globală, iar rata sa mai mare reflectă o sensibilitate intrinsecă crescută la radiații sau o radiosensibilizare mai bună la tratamentele realizate. Astfel, recomandarea pentru testarea HPV regulată reflectă rolul său de predicție a prognosticului important pentru pacienții cu OPSCC.

Totodată, ADN-ul HPV este un biomarker util pentru monitorizarea stării bolii post-tratament, ceea ce permite îmbunătățirea managementului pacientului pentru depistarea recidivei bolii.

Pe lângă aceasta, rudele pacienților diagnosticați cu cancer asociat sindromului Li-Fraumeni pot fi incluși în programe de screening în cascadă pentru identificarea mutațiilor TP53 în linia germinală. Persoanele identificate cu una din variantele genetice patogene în linia germinală pot fi monitorizați în concordanță cu standardele internaționale ce vizează cancererele ereditare, astfel contribuind la prevenirea apariției cancerului sau diagnosticul precoce care va permite intervențiile timpurii cu impact asupra succesului tratamentului.

Pentru prima dată în Republica Moldova se creează o biobancă de cancer cu material biologic divers recoltat de la pacienții cu carcinoame scuamoase. Această biobancă care include diverse biospecimene și o bază de date cu date clinice va permite dezvoltarea de noi proiecte științifice și va promova cercetările translaționale în oncologie accelerând acumularea de noi cunoștințe fundamentale care vor fi aplicate practic pentru îmbunătățirea protocoalelor naționale clinice în contextul diagnosticului precoce, screening, precizarea prognosticului bolii și a răspunsului la tratament în vederea obținerii unei eficiențe înalte. Tote acestea pot avea un impact pozitiv pentru întregul sistem de sănătate din Republica Moldova, precum și a domeniului oncologic.

6. Colaborare la nivel național și internațional în cadrul implementării proiectului (după caz)

7. Dificultățile în realizarea proiectului (financiare, organizatorice, legate de resursele umane etc.) (după caz)

Cea mai mare problemă în realizarea proiectului a fost și rămâne salarizarea ne motivantă pentru cercetătorii științifici executori. Astfel, la etapa de lansare a proiectului în anul 2020, în cadrul proiectului, din 26 de angajați (per total 14,5 unități de personal), au fost angajate 14 persoane cu funcții de bază, iar la sfârșit de proiect (decembrie 2023), în proiect au rămas doar 5 persoane de bază cu 4,5 unități/state de personal. Majoritatea celor plecați au migrat și au fost încadrați în subdiviziunile clinice, unde salarizarea este asigurată de către CNAM și este de 2-3 ori mai mare decât cel din cercetare, asigurată din Bugetul de Stat. Unii au plecat în instituții medicale private.

Această fluctuație de cadre s-a reflectat negativ asupra procesului de realizare a obiectivelor stabilite pentru cercetare la proiect și a devenit mai dificilă în multe aspecte.

O altă mare problemă legată de cadre, a fost și eliberarea specialistului în economie (economist), persoana care a gestionat și a fost responsabilă pe parcursul anilor de aspectul rapoartelor financiare, care a avut memorie instituțională și cu care ne-a fost ușor să lucrăm în ambele componente (financiar și științific). Odată cu plecarea ei ne-am confruntat cu mari probleme în realizarea Rapoartelor financiare, la solicitarea finanțării etapelor de realizare a proiectului, precum și de prezentare a Raportului de capitalizare la proiect. În acest aspect, exprim mulțumiri dnei Natalia Bragarenco, șef adjunct direcție de cercetare (ANCD), care a manifestat deschidere și receptivitate în oferirea de consultanță echipei noastre și personal mie, în calitate de conducător de proiect pentru a face față la aceste provocări asumate și a prezenta la timp toată informația necesară.

8. Diseminarea rezultatelor obținute în proiect în formă de publicații (obligatoriu)

**Lista lucrărilor științifice, științifico-metodice și didactice
publicate în anul 2023 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. Capitole 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)

1. STRATAN, Valentina, TUȚUIANU, Valeri, SÎTNIC, Victor, PREPELIȚA, Comeliu, POPA, Cristina, BÎLBA, Valeriu, BRENIȘTER, Sergiu. *Detection of mutations and fusions*

in lung adenocarcinoma using Ion Torrent sequencing technology. In: One Health and Risk Management, 2023, nr. 4(1), pp. 75-80. ISSN 2587-3458. DOI: <https://doi.org/10.38045/ohrm.2023.1.09>.

2. STRATAN, Valentina, ȚUȚUIANU, Valeri, SÎTNIC, Victor, POPA, Cristina, BALAN, Veronica, CLIPCA, Adrian, SCLIFOS, Ina, MONASTIRSCAIA, Anastasia, TROHIN, Victoria, SPRINCEAN, Mariana, *Molecular and clinical aspects of HNSCC in the Republic of Moldova*. Revista Română de Medicină de Laborator, Volume & Issue: Volume 31 (2023) - Issue 4 (October 2023), eISSN:2284-5623, Impact Factor 0.5, DOI: <https://doi.org/10.2478/rrlm-2023-0026>.

4.2. în alte reviste din străinătate recunoscute

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

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)

1. STRATAN, Valentina, POPA, Cristina, ȚUȚUIANU, Valeri, SÎTNIC, Victor, BALAN, Veronica, CASIAN, Neonila, SPRINCEAN, Mariana, *FRECVENȚA UNOR GENOTIPURI HPV LA FEMEILE CU CARCINOM SCUAMOS CERVICAL DIN REPUBLICA MOLDOVA*. In: Revista Română de Medicină de Laborator SUPPLEMENT 1 LA VOL. 31, NR. 2, IUNIE, 2023, pp. 34-34, https://www.rrml.ro/articole/2023/2023_2_supliment.pdf.
2. STRATAN, Valentina, NOVAC, Mihail, SÎTNIC, Victor, c, POPA, Cristina, BALAN, Veronica, TROHIN, Victoria, ZATIC, Anatolie, *PREZENȚA UNOR MUTAȚII TP53 ȘI EGFR ÎN CARCINOMUL DE ESOFAG*, In: Revista Română de Medicină de Laborator SUPPLEMENT 1 LA VOL. 31, NR. 2, IUNIE, 2023, pp. 58-58, https://www.rrml.ro/articole/2023/2023_2_supliment.pdf.
3. STRATAN, Valentina, STRATAN, Valentina, POPA, Cristina, SÎTNIC, Victor, CLIPCA, Adrian, SCLIFOS, Ina, *PREVALENȚA HPV ÎN CARCINOAMELE SCUAMOASE DE CAP ȘI GÂT ÎN POPULAȚIA REPUBLICII MOLDOVA*, In: Revista Română de

3. Diseminarea activității științifice pe rețelele de socializare (multiple postări cu prezentarea echipei de cercetare și reflectarea proiectului)

11. Teze de doctorat / postdoctorat susținute și confirmate în anul 2023 de membrii echipei proiectului (opțional)

Proiectul a creat condiții propice pentru realizarea unei teze de doctor în științe medicale pentru doctoranda USMF „Nicolae Testemițanu” **Popa Cristina** cu tematica „*Particularitățile genomice și imunologice a carcinomului scuamos cap-gât și cervical*”. Rezultatele obținute au fost aprobate la diferite etape, conform cerințelor ANACEC. Aprobată la ședința catedrei Biologie Moleculară și Genetică Umană, 22.11.2022, aprobată la Comitetul de Etică a Cercetării, USMF în data 19.09.2023 și urmează a fi aprobată la Seminarul Științific de profil 315. Biochimie și Biologie Moleculară. Dosarul a fost depus în ianuarie 2024.

12. Concluzii

1. Suplinirea Protocolul Clinic Național PCN160 „*Cancerul cavității bucale*” cu recomandarea pentru clasificarea OPSCC în HPV pozitive și HPV negative va permite precizarea răspunsului aproape la toate formele de terapie, inclusiv intervenția chirurgicală, radioterapie cu fascicul extern și chimioterapie.
2. Utilizarea testelor imunohistochimice și RT-PCR pentru pacienții diagnosticați primar cu OPSCC contribuie la stratificarea lor după statutul HPV și îmbunătățirea stadializării.
3. Testarea mutațiilor germinale TP53 la pacienții diagnosticați cu ESCC, LXSC sau OCSC asociate cu alte condiții cum ar fi rude multiple afectate cu cancere identice sau asociate, boli bilaterale sau multifocale, cancere primare multiple, cancer avansat, ajută la luarea deciziilor privind tactica terapeutică, precum și evitarea radioterapiei și chimioterapiei genotoxice, care contribuie la dezvoltarea tumorilor primare ulterioare.
4. Testarea mutațiilor germinale TP53 la pacienții diagnosticați cu ESCC, LXSC sau OCSC permite identificarea rudelor purtătoare a acestor mutații și respectiv prevenirea sau diagnosticul precoce de cancer.
5. Cercetările efectuate au valorificat importanța instrumentelor bioinformatică și a specialiștilor în bioinformatică demonstrând necesitatea acestora în realizarea studiilor de calitate în domeniul genomice cancerului.

Conducătorul proiectului V. Stratan Valentina STRATAN

Data: V. Stratan 15.01.24
IMSP INSTITUTUL ONCOLOGIC
LABORATORUL ȘTIINȚIFIC
L.S. „BIOLOGIA CANCERULUI”
mun. Chișinău, str. Nicolae TESTEMITANU 30
Tel.: +373 22 852-188, 22 852-192

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 imunohistochimice (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.

Componența echipei conform contractului de finanțare 2023
Cifrul proiectului 20.80009.80007.02

Echipea proiectului conform contractului de finanțare (la semnarea contractului) pentru 2023						
Nr	Nume, prenume (conform contractului de finanțare)	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării	Data eliberării
1.	Bulat Iurie	1962	d.h.	0.25	03.01.2023	
2.	Stratan Valentina	1962	d.m.	0.5	03.01.2023	
3.	Țuțianu Valeriu	1989		1	03.01.2023	
4.	Sîtnic Victor	1985		0.5	03.01.2023	
5.	Popa Cristina	1997		1	03.01.2023	
6.	Balan Veronica	1996		1	03.01.2023	
7.	Balan Veronica	1996		0.25	03.01.2023	
8.	Trohin (Băjireanu) Victoria	1997		1	03.01.2023	16.08.2023
9.	Barbuța Ala	1975		0.5	03.01.2023	
10.	Suceveanu-Păduraru Anelia	1964		0.5	03.01.2023	
11.	Zatfc Anatolii	1975		0.25	03.01.2023	31.07.2023
12.	Casian Neonila	1967	d.m.	0.25	03.01.2023	31.07.2023
13.	Monastîrscăia Anastasia	1990		0.5	03.01.2023	31.07.2023
14.	Clipca Adrian	1970	d.m.	0.25	03.01.2023	31.07.2023
15.	Cojocaru Corneliu	1970	d.m.	0.5	03.01.2023	
16.	Sclifos Ina	1987		0.25	03.01.2023	31.07.2023
17.	Bîlba Valeriu	1969	d.m.	0.5	03.01.2023	
18.	Doruc Sergiu	1975		0.25	03.01.2023	31.07.2023
19.	Eftodii Victor	1956	d.h.	0.5	03.01.2023	
20.	Brenișter Sergiu	1973	d.m.	0.75	03.01.2023	
21.	Dolganiuc Nicolae	1981		0.5	03.01.2023	31.07.2023
22.	Urechi Virgiliu	1982	d.m.	0.25	03.01.2023	03.01.2023 - suspendat 01.06.2023 - eliberat
23.	Novac Mihail	1997		0.75	03.01.2023	
24.	Chemencedji Inga	1978		0.25	03.01.2023	
25.	Portnoi Elena	1991		0.25	03.01.2023	01.02.2023
26.	Cebotari Diana	1977		0.25	03.01.2023	31.07.2023
27.	Coltuclu Galina	1992		0.5	03.01.2023	

Ponderea tinerilor (%) din numărul total al executorilor conform contractului de finanțare - 8 (29,7 %) (până la 40 ani)

Modificări în componența echipei pe parcursul anului 2023					
Nr	Nume, prenume	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării
1.					
2.					
3.					

Ponderea tinerilor (%) din numărul total al executorilor

Conducătorul organizației  Ruslan BALTAGA

Contabil șef adjunct  / Nadejda MOCANU

Conducătorul de proiect  / Valentina STRATAN

Data: _____



EXTRAS

din procesul verbal Nr. 1 al ședinței Consiliului Științific
al IMSP Institutul Oncologic din 12.01.2024

(Eliberat în baza actelor autentice păstrate în sectorul științific al IMSP Institutul Oncologic)

La ședință au participat 7 din 7 membri ai Consiliului Științific.

La ședința Consiliul Științific nr. 1 din 12.01.2024 a fost audiat public raportul anual, etapa anului 2023, privind implementarea proiectului din concursul Program de Stat (2020-2023) cu cifrul 20.80009.80007.02 „*Studiul comparativ al particularităților genomice, imunologice și funcționale ale carcinoamelor cu celule scuamoase în cinci localizări anatomice*”, conducătorul proiectului, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător **Valentina Stratan**.

Din cele expuse în raportul prezentat la ședință, Consiliul Științific decide:

A aproba rezultatele științifice obținute pe perioada anului 2023 în proiectul din cadrul concursului Program de Stat (2020-2023) cu cifrul 20.80009.80007.02 „*Studiul comparativ al particularităților genomice, imunologice și funcționale ale carcinoamelor cu celule scuamoase în cinci localizări anatomice*”. A considera acțiunile planificate pentru realizarea proiectului și obiectivelor etapei 2023 realizate.

A transmite raportul anual la ANCD pe suport de hârtie în 3 exemplare și raportul complet în format electronic (WORD și PDF) și rezumatul raportului științific în limba română și engleză în format electronic (Word) se transmite la adresa electronică: raport2023@ancd.gov.md până 15 ianuarie 2024, ora 17.00.

Președinte CȘ IMSP IO
Profesor cercetător

Iurie Bulat

Secretar științific CȘ IMSP IO
Conferențiar cercetător

Valeriu Bîlba