

CZU:616-006.6:612.017.1+575.1

<https://doi.org/10.52692/1857-0011.2021.3-71.05>

STUDIUL COMPARATIV AL PARTICULARITĂȚILOR GENOMICE, IMUNOLOGICE ȘI FUNCȚIONALE ALE CARCINOAMELOR CU CELULE SCUAMOASE ÎN CINCI LOCALIZĂRI ANATOMICE

Cod 20.80009.8007.02; Program de Stat (2020-2023)

Valentina STRATAN, dr. șt. biol., conf. cerc., conducător proiect

Instituția Medico-Sanitară Publică Institutul Oncologic

valentinastratan@yahoo.com

Rezumat.

Carcinoamele cu celule scuamoase (CCS) sunt cele mai frecvente tumori solide umane și o cauză majoră a mortalității prin cancer. Acestea prezintă un grup de neoplazii agresive, complexe din punct de vedere genetic și cu un risc mare de recurență și metastazare. Diagnosticul precoce, eficientizarea managementului bolii și adaptarea terapiei sunt cerințe actuale și necesare pentru reducerea mortalității. Schimbările genetice, alterarea căilor de semnalizare intracelulară precum și răspunsul sistemului imun în aceste cancere pot fi influențate de diverși factori precum: virusurile oncogene (HPV-ul), microbiomul local, localizarea tumorii, etc. Pentru a extinde înțelegerea și aria cunoștințelor despre aceste malignități, a pune în evidență similaritățile și diferențele biologice între anumite tipuri de CCS, sunt absolut necesare cercetări complexe, comparative ale evenimentelor genomice, epigenomice, proteomice, metabolice (Pan-Cancer Analysis), a modificărilor microbiomului, imunității și a impactului virusurilor oncogene. Această abordare complexă în plan comparativ nu a fost atinsă pe larg de studiile anterioare și va permite identificarea similarităților și deosebirilor dintre aspectele multi-omics și non-omics, determinarea biomarkerilor individuali și comuni în 5 tipuri de carcinoame scuamoase: piele, cap-gât, esofag, pulmonar și cervical.

Cuvinte cheie: analiză comparativă, bioinformatică, biomarkeri, date omics, genetică moleculară, imunologie.

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

Squamous cell carcinomas (SCCs) are the most common human solid tumors and a major cause of cancer mortality. They are a group of aggressive, genetically complex neoplasms with a high risk of recurrence and metastasis. In the Republic of Moldova in 2018 the incidence of head, neck, esophagus, lung, skin and cervical cancers constituted 3242 cases of which about 50% represented the histopathological form of Squamous Cell Carcinoma. Early diagnosis, improving the outcomes of disease management and adaptation of therapies are current and necessary requirements for reducing mortality. Genetic changes, alteration of intracellular signaling pathways, and immune system response in these cancers may be influenced by various factors such as: oncogenic viruses (HPV), local microbiome, tumor localization, etc. In order to extend the understanding and the area of knowledge about these malignancies, to highlight the biological similarities and differences between certain types of SCCs, are required complex, comparative studies of genomic, epigenomic, proteomic, metabolomic, immunological and microbiome events. This complex, comparative approach has not been widely applied in previous studies and will allow the identification of similarities and differences between the multi-omics and non-omics features, the determination of individual and common biomarkers in 5 types of Squamous Cell Carcinomas: skin, head-neck, esophagus, lung and cervical. The goal of the research is the comparative study of SCCs from different anatomical locations in order to improve the screening, early diagnosis, disease management and treatment of these tumors.

Keywords: comparative analysis, bioinformatics, biomarkers, omics data, molecular genetics, immunology.

Резюме. Сравнительное исследование геномных, иммунологических и функциональных особенностей плоскоклеточного карцинома в пяти анатомических локализациях.

Плоскоклеточная карцинома (ПК) является наиболее распространенной солидной опухолью человека и одна из основных причин смертности от рака. Они представляют группу агрессивных, генетически комплексных новообразований с высоким риском рецидива и метастазирования. В Республике Молдова в 2018 году, заболеваемость раком головы-шеи, пищевода, легких, кожи и шейки матки составила 3242 случая, из которых около 50% представляли собой гистопатологическую форму плоскоклеточного карцинома. Ранняя диагностика, эффективность управления болезнью и обеспечение эффективности методов лечения являются актуальными и необходимыми требованиями для снижения смертности. Генетические изменения, изменение внутриклеточных сигнальных путей и ответ иммунной системы при этих раках могут зависеть от различных факторов, таких как: онкогенные вирусы (ВПЧ), локальный микробиом, локализация опухоли и т.д. Чтобы расширить понимание и область знаний об этих злокачественных новообразованиях, выделить биологические сходства и различия между определенными типами ПК, необходимо провести комплексное сравнительное исследование геномных, эпигеномных,

протеомных, метаболических и микробиомных событий связанные с этими видами рака. Этот комплексный сравнительный подход не был широко рассмотрен в предыдущих мировых исследованиях и позволит выявить сходства и различия между аспектами multi-omics и non-omics, определить индивидуальные и общие биомаркеры в 5 типах плоскоклеточного карцинома: кожа, голова-шея, пищевода, легких и шейки матки. Целью проекта является сравнительное исследование ПК с различных анатомических локализациях для оптимизации скрининга, ранней диагностики и стратегий лечения этих типов рака.

Ключевые слова: сравнительный анализ, биоинформатика, биомаркеры, омиксные данные, молекулярная генетика, иммунология.

Scopul proiectului

Studiul comparativ al CCS cu diferite localizări anatomice, în vederea eficientizării screening-ului, diagnosticului precoce, stabilirii strategiilor de tratament și abordarea corectă a managementului acestor tipuri de cancer.

Actualitatea problemei

Carcinoamele cu celule scuamoase (CCS) sunt cele mai frecvente tumori solide umane și reprezintă o cauză majoră a mortalității în cancer. Acestea prezintă un grup de neoplazii agresive, complexe din punct de vedere genetic și cu un risc mare de recurență și metastazare. În Republica Moldova, în anul 2018 incidența cancerelor de cap-gât, esofag, pulmonar, de piele și cervical a constituit 3242 cazuri dintre care aproximativ 50% au reprezentat forma histopatologică de carcinom cu celule scuamoase.

Este de menționat că carcinoamele scuamoase sunt tumori complexe, care implică multiple anomalii la nivel de ADN, ARN, proteine, metabolism, imunitate și microbiom. Diagnosticul precoce, eficientizarea managementului bolii și adaptarea terapiei sunt cerințe actuale și necesare pentru reducerea mortalității. Orice studiu individual a unui singur nivel este insuficient pentru a clarifica patogeneza complicată a unui cancer. În prezent, studiile asupra aberațiilor moleculare ale pacienților cu cancer au crescut fără precedent atât în număr cât și accesibilitate, permițând analiza comparativă integrată la scară largă a cancerului. Studiul Pan-Cancer a devenit o paradigmă valoroasă pentru biologia cancerului. În prezent, sunt limitați biomarkerii acționabili care modifică deciziile de gestionare a tratamentului de precizie în carcinoamele scuamoase, dar apariția relativ recentă a tehnologiilor de cercetare cu randament ridicat și în consecință, abordările integrative moleculare pe mai multe niveluri oferă oportunitatea de a stratifica pacienții cu carcinom scuamos pe subgrupuri în funcție de profilurile lor moleculare și clinice. Integrarea profilului multi-omics cu profilul non-omics va permite o mai bună înțelegere a răspunsului celular la chimioterapie, radioterapie sau terapie țintită dar și descoperirea candidaților moleculari cu valoare de diagnostic și/sau prognostic. Incidența în creștere la nivel mondial a CCS face ca acest studiu bazat pe analiza bioin-

formatică integrată să fie necesar pentru o înțelegere mai detaliată atât a aspectelor fundamentale ale cauzelor și comportamentului bolii cât și aplicative cum ar fi îmbunătățirea diagnosticului precoce, prognosticului, dezvoltarea noilor abordări terapeutice, toate acestea favorizând îmbunătățirea calității vieții și rata de supraviețuire pe termen lung.

În prezent instrumentele bioinformaticice sunt cruciale pentru procesarea volumului mare de date moleculare și permit interpretarea și înțelegerea acestora în majoritatea domeniilor de cercetare biomedicală. Studiile *in vitro* în domeniul oncologiei moleculare necesită resurse semnificative și tind să simplifice mediul dinamic și complicat al organismului uman. În combinație cu cercetarea *in silico* (care presupune utilizarea instrumentelor bioinformaticice) este posibilă o abordare mai complexă și manipularea mai multor variabile simultan, acest lucru având o serie de avantaje: reducerea costurilor pentru efectuarea cercetărilor (accesul liber la bazele de date biomedicale globale este un avantaj enorm în special pentru țările cu resurse limitate); posibilitatea efectuării adnotării clinice și selectarea celor mai eficienți agenți terapeutici pentru diferite subtipuri de cancer, ținte moleculare și etape de dezvoltare a tumorii; posibilitatea identificării biomarkerilor cu rol prognostic, diagnostic și predictiv. Volumul mare de date biomedicale brute (care nu au fost analizate) prezente în bazele de date publice, reprezintă avantajul cheie al cercetărilor bioinformaticice în oncologie. Reieșind din aceste afirmații, în studiul nostru, bioinformatica ocupă un loc major.

Etapele de realizare a proiectului

1. Managementul și logistica grupurilor de studiu, crearea biobăncii de probe biologice și a infrastructurii pentru cercetările bioinformaticice
2. Identificarea *in silico* a biomarkerilor molecular-genetici
3. Identificarea biomarkerilor imunologici și de microbiom
4. Testarea *in vitro* a celor mai importanți biomarkeri identificați
5. Integrarea datelor omics și non-omics a tumorilor studiate
6. Crearea modelelor predictive prognostice și de răspuns la tratament utilizând tehnici Machine Learning

7. Elaborarea recomandărilor clinice și algoritmilor de screening pentru fiecare localizare în parte

Noutatea și originalitatea cercetărilor trasate

Clasificarea cancerelor utilizând o perspectivă vastă și încrucișată a tumorii oferă nu numai o perspectivă biologică, ci și informații relevante din punct de vedere clinic iar identificarea relațiilor funcționale între grupuri de gene, căi de semnalizare și impactul altor variabile va permite identificarea de noi biomarkeri și crearea modelelor predictive cu aplicabilitate clinică. Pentru prima dată, în Republica Moldova, în cadrul proiectului se crează 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 precanceroase, 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, subtipizării moleculare, managementului bolii, adaptării terapiilor personalizate și țintite în 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*.

Material și metodele de executare

Pentru realizarea investigațiilor propuse în cadrul studiului se vor utiliza următoarele metode și tehnici, având ca și scop studierea următoarelor probe biologice prelevate, caracteristice pentru fiecare localizare în parte (Tabelul 1), respectând toate condițiile de colectare, păstrare și transportare a probelor biologice (Tabelul 2).

1. Pentru recoltarea probelor biologice pentru toate localizările vor fi folosite: bronhoscopia, video-endoscopia ORL, endoscopia esofagiană, colposcopia, etc.

2. Pentru investigațiile de laborator imunologice și molecular genetice: RT-PCR, RT-qPCR, MS-PCR, RFLP-PCR, electroforeza, ELISA, examenul histopatologic;

3. Pentru investigațiile bioinformatiche: data mining, analiza semnăturii mutaționale, analiza expresiei diferențiate a genelor, determinarea perechilor de gene letal sintetice, determinarea TMB (Tumor Mutational Burden) și secvențelor Kataegis, adnotarea clinică a țințelor moleculare, analiza funcțională a genelor și proteinelor, crearea rețelelor de gene, modelarea predictivă (tehnici și algoritmi Machine Learning), cuantificarea și analiza statistică a datelor.

Rezultate științifice preconizate și potențialii beneficiari.

Se preconizează obținerea următoarelor rezultate:

1. Extinderea înțelegerii și ariei cunoștințelor despre biologia carcinoamelor scuamoase;

2. Dezvoltarea bioinformaticii cancerului în Republica Moldova;

3. Identificarea biomarkerilor comuni și individuali care vor avea un impact major asupra îmbunătățirii metodelor de diagnostic, subtipizării moleculare, managementului bolii, adaptării terapiilor personalizate și țintite în 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;

4. Confirmarea prin investigații proprii de laborator a biomarkerilor selectați prin analiza bioinformatică;

5. Identificarea mecanismelor moleculare potențiale care provoacă dezvoltarea rezistenței tumorilor la agenții medicamentoși cu acțiune țintită;

6. Determinarea asemănărilor și diferențelor profilelor moleculare a celor 5 tipuri de CCS studiate. Aceste rezultate vor permite adaptarea terapiilor personalizate între aceste cancere;

7. Crearea modelelor predictive prognostice și de răspuns la tratament utilizând tehnici Machine Learning;

8. Elaborarea recomandărilor clinice și algoritmilor de screening pentru fiecare localizare în parte.

9. Editarea unei monografii în baza rezultatelor obținute în studiu.

Tabelul 1.

Tipul de probe biologice pentru biobancă per fiecare 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 (plasmă, ADNtc)
Cap și gât	☑	☑	☑	☑		☑	☑	☑	☑
Pulmonar	☑	☑					☑	☑	☑
Cervical	☑	☑			☑		☑	☑	☑
Piele	☑	☑					☑	☑	☑
Esofag	☑	☑		☑			☑	☑	☑

Tabelul 2.

Condiții de colectare, păstrare și transportare a probelor biologice.

Volum	Tip	Container	Cod container	Mod de colectare	Stocare pe termen scurt/condiții de transport	Criterii de respingere a probei
Nespecificat	Țesut tumoral	Criotub cu alcool/izopentan	E1	Conform procedurii operaționale	Păstrați/transportați nu mai mult de o oră de la excizie/biopsie. Transportați în container steril închis la 4°C.	Nerespectarea condițiilor de stocare și transportare. (Se evită prelevarea marginilor tumori i.)
Nespecificat	Țesut normal adiacent	Criotub cu alcool/izopentan	C1	Conform procedurii operaționale	Păstrați/transportați nu mai mult de o oră de la excizie/biopsie. Transportați în container steril închis la 4°C.	Nerespectarea condițiilor de stocare și transportare.
2.5 mL	Sânge integru	K3EDTA	C3	Sistem de colectare în vacuum	4 °C sau pe gheață umedă < 24 ore.	Hemoliză sau lipemie intensă Nerespectarea condițiilor de stocare și transportare
2*5 mL	Sânge (ser)	Gel separator	E5	Sistem de colectare în vacuum		
2*6 mL	Sânge (plasmă, ADNtc)	K3EDTA	E6	Sistem de colectare în vacuum	4 °C sau pe gheață umedă < 1 ore.	
Nespecificat	Tampon al leziunilor bucale cronice benigne	Tub cu mediu de transport	E2	Conform procedurii operaționale	Temperatura camerei < 28 zile.	Nerespectarea condițiilor de stocare și transportare
Nespecificat	Tampon al mucoasei bucale sănătoase		C2	După clătirea cu soluție fiziologică		Nerespectarea condițiilor de stocare și transportare
1 mL	Salivă	Container steril	E3	Conform standardelor	Temperatura camerei < 24 ore.	Nerespectarea condițiilor de stocare și transportare
Nespecificat	Tampon cervical	Tub cu mediu de transport	E4	Conform standardelor	Temperatura camerei < 28 zile.	Nerespectarea condițiilor de stocare și transportare

10. Susținerea unei teze de doctor în științe medicale de către unul din cercetătorii științifici a Laboratorului, doctoranda USM.

Rezultate obținute până în prezent

În cadrul primelor etape ale proiectului a fost studiată statistica cazurilor de carcinom scuamos în țară și în lume și a fost definitivată structura și mărimea grupurilor de studiu. De asemenea au fost stabilite tipul, trasabilitatea și condițiile de recoltare a probelor pentru fiecare tip de carcinom scuamos inclus în studiu. În scopul colectării datelor clinice au fost elaborate ancheta și consimțământul informat al pacientului. S-a finalizat procesul de achiziționare a unui ultracongelator performant (-86°) și au fost formulate procedurile operaționale pentru biobancă. Pentru prima dată, în cadrul IMSP Institutul Oncologic, a fost creat un grup de lucru și infrastructura necesară pentru cercetări de bioinformatică a cancerului. Au fost achi-

ziționate două stații de lucru care permit procesarea volumelor mari de date molecular-biologice și instalate softurile necesare. Explorarea bazelor de date globale de profil oncogenomic a permis identificarea, stocarea și sumarizarea mai multor seturi de date asociate celor cinci tipuri de carcinom scuamos. Analiza bioinformatică a permis identificarea genelor care mutează cel mai frecvent în localizările studiate și integrarea rezultatelor sub formă de heatmap (Figura 1). În patru tipuri de carcinoame scuamoase (piele (SCC), pulmonar (LUSC), cap și gât (HNSCC) și esofag (ESCC)) gena supresoare de tumori TP53 prezintă cele mai multe alterații pe când în carcinomul scuamos cervical (CSCC) cea mai afectată este gena PIK3CA (30%).

În aspect molecular se observă o clusterizare a tipurilor ESCC și HNSCC și o diferențiere majoră a SSCC față de celelalte localizări. De asemenea în plan comparativ SSCC, prezintă cea mai mare frec-

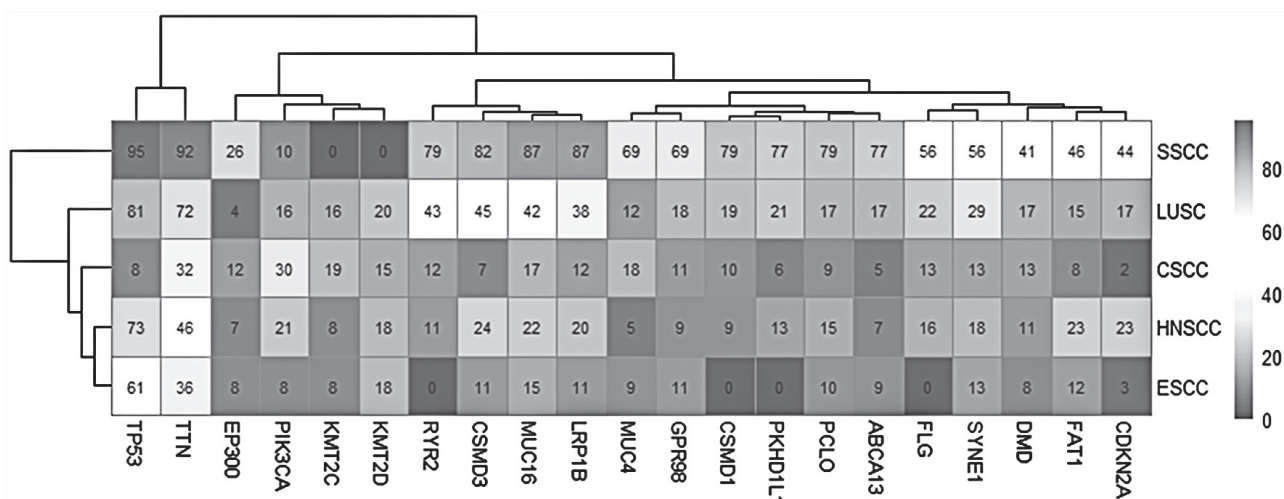


Figura 1. Frecvența mutațiilor (%) în diferite tipuri de carcinom scuamos: de esofag (CSE), de cap și gât (CSCG), cervical (CSC), pulmonar (CSP) și de piele (CSPI).

Tabelul 3

Spectrul de investigații preconizate pentru cercetare.

Tip carcinom scuamos	Mutații (Real-Time PCR)	Expresie (Real-Time PCR)	Microbiom (Real-Time PCR)	Epigenetică (ELISA)	Imunologie (ELISA)	HPV (Real-Time PCR)
Cap-gât	TP53: R175H, R273H, R273C, R282W		Porphyromonas endodontalis Porphyromonas gingivalis Aggregatibacter actinomycetemcomitans Treponema denticola Prevotella intermedia Fusobacterium nucleatum			12 genotipuri de risc înalt
Pulmonar			-			
Piele			-			
Esofag			-			
Cervical	PIK3CA: E542K, E545K, H1047R	TP53, WEE1, SLC711, mTOR	Gardnerella vaginalis Atopobium vaginae Prevotella species Leptotrichia amnionii group Streptococcus species Enterococcus species Staphylococcus species Lactobacillus species Candida albicans Candida glabrata Candida krusei Candida parapsilosis/tropicalis	Cuantificarea metilării globale a ADN-ului	PD-L1 PD1 p16	12 genotipuri de risc înalt

vență a mutațiilor în majoritatea genelor. Conform obiectivelor propuse au fost identificați biomarkerii care urmează a fi testați în laborator și anume:

- mutațiile c.524G>A, c.818G>A și c.817C>T în gena TP53 (comune pentru SSCC, LSCC, HNSCC și ESCC și selectate în baza frecvenței și afectării structurale și funcționale a proteinei (scor Vipur));

- mutațiile c.1624G>A, c.1633G>A și c.3140A>G în gena PIK3CA (individuale pentru CSCC);

- expresia și relația de letalitate sintetică între genele TP53 și WEE1 (HNSCC), SLC7A11 (cSCC), MTOR, ACTB;

- expresia proteinelor PD1, PD-L1, p16;
- microorganismele indicate în Tabelul 3;
- metilarea globală a genelor în toate localizările studiate utilizând metoda ELISA;

Confirmarea experimentală a relației letale sintetice dintre unele gene ar putea promova identificarea noilor ținte terapeutice, iar analiza corelației dintre

metilarea globală a citozinei și instabilitatea microsatelitară, ar putea elucida noi metode indirecte de prezicere a răspunsului la imunoterapie.



Figura 2. Ultracongelator pentru biobanca de probe biologice.

În primele două etape ale proiectului a fost lansată **crearea biobăncii de probe biologice**, cu respectarea tuturor standardelor internaționale de prelevare, transportare, procesare, stocare la regimul de temperatură -86°C . Fiecare proba biologică este împărțită în 5 alicote. Astfel, până în prezent, au fost acumulate mai multe probe de sânge, țesut tumoral, țesut adia-

cent, etc. (Tabelul 1), de la: **85** pacienți cu cancer de cap-gât, **59** pacienți – cancer pulmonar, **36** pacienți – cancer de esofag, **26** pacienți – cancer de piele, **60** 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, care conține toate datele din anchetele completate la intrarea în studiu, cât și peste 3-6 luni de supraveghere în dinamică a pacienților.

Procesul de creare a biobăncii este în deplină desfășurare și va continua în următoarea perioadă, și acest lucru ne oferă noi perspective de analiză integrată a factorilor care promovează tumorigeneza. Toate probele biologice adunate sunt supuse tuturor etapelor de cercetare, conform Procedurilor Specifice aprobate.

În cadrul proiectului:

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

2) a fost susținută teza de master la tema: *Evaluarea rolului mutației Ser326Cys a genei HOGG în dezvoltarea cancerului pulmonar la populația din Republica Moldova*, absolvent USM, **Cristina Popa**, actualmente cercetătoare științifică stagiară în laborator și **doctorandă în** Programul de doctorat USMF.

3) În luna iulie, 2021 a fost finalizat proiectul de cercetare: *Comparative bioinformatics study of*

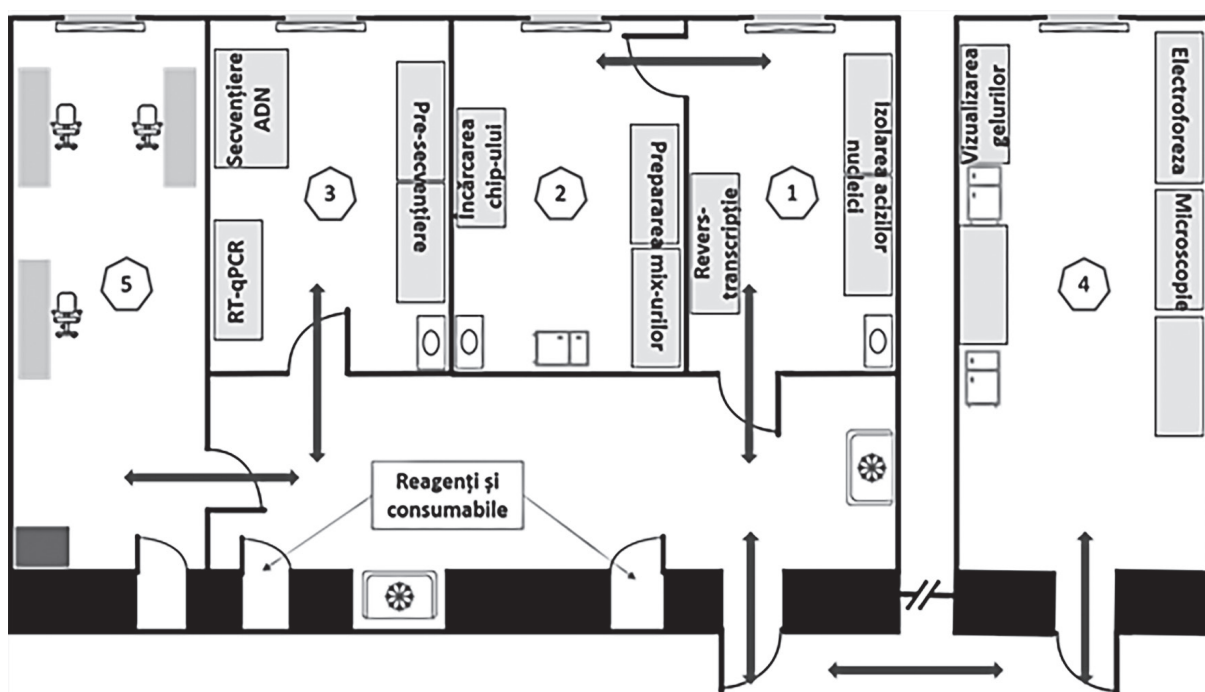


Figura 3. Structura Laboratorului Științific Biologia Cancerului.

squamous cell carcinomas in five anatomical localizations, proiect susținut de World Federation of Scientists și derulat în cadrul IMGENCCS, prin intermediul Academiei de Științe din Moldova. Bursier: cercetător științific, **Victor Sîtnic**. Locul desfășurării cercetărilor: IMSP Institutul Oncologic

Conducător științific la toate aceste lucrări științifice, este **Valentina Stratan**, doctor în biologie, conferențiar cercetător, Conducătoarea proiectului menționat.

Realizarea proiectului se bazează pe echipa de executori care întrunește cca 29 de cercetători științifici (stagiați, superiori, coordonatori și principali) cu diferit profil profesional: biologie moleculară, morfopatologie, citologie, pneumologie, endoscopie, ginecologie, imunologie, oncologie chirurgicală, oncologie cap/gât, precum și pe structura funcțională a Laboratorului științific „Biologia cancerului”, care este dotată cu cea mai modernă infrastructură, care ne asigură și dezvoltarea oncologiei translaționale, îm-

binând cercetările științifice cu cele clinice. Ponderea tinerilor în proiect până la 35 ani, constituie 35%.

Concluzii

1. Cercetările vor contribui la acumularea cunoștințelor extinse despre procesele biologice implicate în debutul, creșterea și răspândirea carcinoamelor scuamoase (cap-gât, cervical, pulmonar, piele și esofag) în organism și despre mecanismele moleculare de creare a rezistenței tumorilor în cauză la chimioterapie, radioterapie și terapie țintită

2. Biomarkerii depistați (atât cauzali cât și corelativi); modelele predictive pentru evoluarea bolii, apariția metastazelor, recidivelor ș.a. vor avea impact asupra eficientizării screening-ului, diagnosticului precoce, prognosticului și tratamentului CCS, astfel reducând mortalitatea și îmbunătățind calitatea vieții persoanelor cu aceste tipuri de cancer.

3. În mod direct și indirect, rezultatele obținute, vor putea asigura realizarea Obiectivelor principale tratate

Denumire	Aplicare	Producător
Fluorometru Qubit 3.0	Cuantificarea ADN-ului, ARN-ului și proteinelor	Thermo Fisher
Sistem de izolare a AN AutoMate Express	Izolarea automată a acizilor nucleici	Thermo Fisher
Termociclor Veriti	Amplificarea fragmentelor de ADN	Thermo Fisher
Denumire	Aplicare	Producător
Hettich Mikro 220R	Centrifugare	Hettich
pH-meter	Măsurarea pH	Gomel Plant
Vortex 4 digital	Agitare	IKA
Multi-Vortex V-32	Agitare	Biosan
Vortex V-1plus	Agitare	Biosan
UV-cleaner box UVT-S-AR	Operare cu probe de ADN în condiții curate	Biosan
TissueRuptor II	Omogenizarea țesuturilor	Qiagen

Figura 4. Camera de izolare a acizilor nucleici și revers-transcrierea ARN-ului

Denumire	Aplicare	Producător
Ion Chip Minifuge	Centrifugare Chip-urilor PGM	Thermo Fisher
V-cleaner box UVC/T-AR	Operare cu probe de ADN în condiții curate	Thermo Fisher
Minicentrifugă Microspin 12	Centrifugare	Biosan
Multi-Vortex V-32	Agitare	Biosan
Lab Refrigerator MPR-S163	Păstrarea regenților	Panasonic

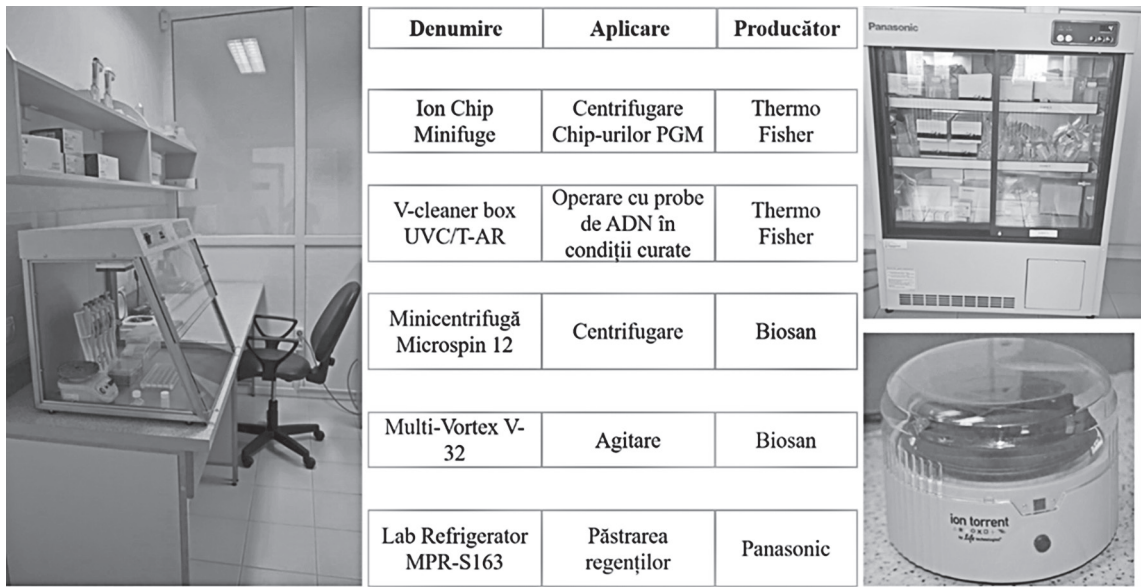


Figura 5. Camera de preparare a mix-urilor/librăriiilor genomice și încărcare a chip-urilor Ion PGM

Denumire	Aplicare	Producător
Sistem de secvențiere Ion PGM	Secvențierea acizilor nucleici	Thermo Fisher
Sistem PCR în timp real	Amplificarea ADN	Thermo Fisher
Elga PURELAB Flex 3	Purificarea apei	Thermo Fisher

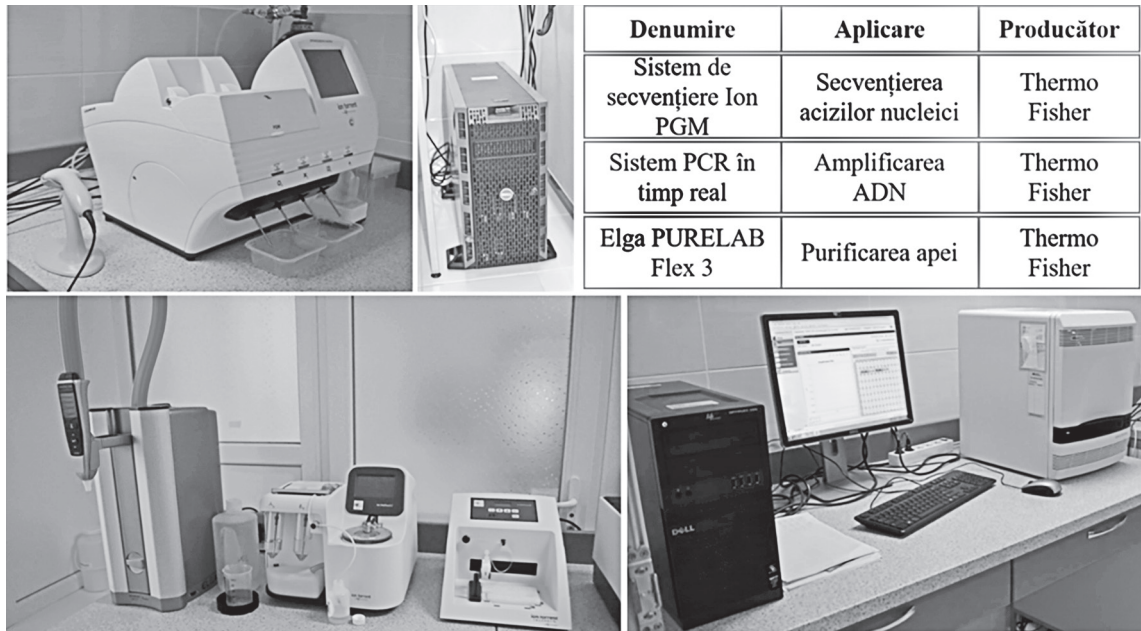


Figura 6. Camera de preparare ISPs, secvențiere și Real-Time PCR



Figura 7. Camera pentru electroforeză și vizualizarea gelului



Figura 8. Camera de analiză bioinformatică a datelor

de Programul Național de control al cancerului (2016-2025). Potențialii beneficiari vor fi: Ministerul Sănătății care va putea utiliza datele obținute în elaborarea de politici de prevenție și reducere a mortalității în Sistemul de sănătate, precum și cetățenii Republicii Moldova care vor fi înrolați în diferite acțiuni de medicină participativă și de prevenție, pacienții oncologici și specialiștii care activează în domeniul oncologiei moleculare și clinice, institutiile de învățământ superior cu profil medico-biologic la elaborarea programelor de studii.

4. Crearea biobăncii de probe biologice și acumularea experienței de utilizare a tehnicilor bioinformatică vor avea un impact mare asupra cercetărilor ulterioare privind descoperirea de noi biomarkeri și de optimizare a tratamentului cancerului, precum și va asigura continuitatea diferitor inițiative și programe europene de cercetare cum sunt proiectele europene transfrontaliere, inclusiv cele în care suntem implicați în prezent. Biobanca va asigura cercetătorii cu bio-specimene de bună calitate, reducând astfel erorile experimentale și adăugând valoare rezultatelor cercetărilor.

5. Componentele bioinformatică, dezvoltate în studiu, vor pune bazele bioinformaticii cancerului în Republica Moldova.

Bibliografie

1. Bailiang Li, Yi Cui et al., The Immune Subtypes and Landscape of Squamous Cell Carcinoma, *Clin Cancer Res*, 2019 Jun 15;25(12):3528-3537, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-4085;
2. Daniele Ramazzotti, Avantika Lal, Bo Wang, Serafim Batzoglou & Arend Sidow, *Multi-omic tumor data reveal diversity of molecular mechanisms that correlate with survival*, *Nature Communications* volume 9, 4453, 26 October 2018, DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06921-8>;
3. Francisco Azuaje, *Artificial intelligence for precision oncology: beyond patient stratification*, *npj Precision Oncology* volume 3, Article number: 6, 25 February 2019, DOI: <https://doi.org/10.1038/s41698-019-0078-1>;
4. Francisco Sanchez - Vega et al., *Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas*, *Cell*, Volume 173, ISSUE 2, April 05, 2018, P321-337.e10, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.035>;

5. Freddie Bray, BSc, MSc, PhD et al., Global cancer statistics 2018: *GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*, *CA Cancer J Clin* 2018 Nov;68(6):394-424, doi: 10.3322/caac.21492;

6. Jianfang Liu et al., *An Integrated TCGA Pan-Cancer Clinical Data Resource to Drive High-Quality Survival Outcome Analytics*, *Cell*, Volume 173, ISSUE 2, April 05, 2018, P400-416.e11, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.052>;

7. Matthew H. Bailey et al., *Comprehensive Characterization of Cancer Driver Genes and Mutations*, *CELL*, Volume 173, ISSUE 2, April 05, 2018, P371-385.e18, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.060>;

8. Nezar N. Al-Hebshi, Wenche S. Borgnakke, Newell W. Johnson, *The Microbiome of Oral Squamous Cell Carcinomas: a Functional Perspective*, Springer International Publishing, 18 April 2019, DOI: <https://doi.org/10.1007/s40496-019-0215-5>;

9. Otilia Menyhart and Balázs Györfy, *Multi-omics approaches in cancer research with applications in tumor subtyping, prognosis, and diagnosis*, *Computational and Structural Biotechnology Journal*, Volume 19, 2021, Pages 949-960, doi: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.01.009>;

10. Sajib Chakraborty, Md. Ismail Hosen, Musaddeque Ahmed, and Hossain Uddin Shekhar, *Onco-Multi-OMICS Approach: A New Frontier in Cancer Research*, *BioMed Research International*, 3 October 2018, doi: 10.1155/2018/9836256;

11. Serghei Mangul et al., *How bioinformatics and open data can boost basic science in countries and universities with limited resources*, *Nature Biotechnology*, VOL 37, MARCH 2019, 324-326, DOI: <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0053-y>;

12. Shankargouda Patil et al., *Cancer oriented biobanks: A comprehensive review*, *Oncol Rev*. 2018 Jan 30; 12(1): 357., DOI: 10.4081/oncol.2018.357;

13. Singer J et al., *Bioinformatics for precision oncology*, *Brief Bioinform*. 2019 May 21;20(3):778-788, DOI: 10.1093/bib/bbx143

14. Vésteinn Thorsson et al., *The Immune Landscape of Cancer*, *Cell*, Volume 173, ISSUE 4, April 17, 2018, P812-830.e14, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.03.023>;

15. Yingxia Zheng et al., *Immune suppressive landscape in the human esophageal squamous cell carcinoma microenvironment*, *Nature Communications*, Article number: 6268, 08 December 2020, doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20019-0>.