

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“VICTOR BABEȘ” TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ DENTARĂ
DEPARTAMENTUL I

MOGA ALEXANDRA



TEZĂ DE DOCTORAT

SCREENINGUL NEINVAZIV ȘI MARKERII GENETICI ÎN CANCERUL ORAL

REZUMAT

Conducător Științific
PROF. UNIV. DR. LAURA-CRISTINA RUSU

Timișoara
2022

CUPRINS

Lista lucrărilor publicate	VI
Lista abrevierilor.....	VII
Indexul figurilor.....	IX
Indexul tabelor.....	XI
Dedicație	XII
Mulțumiri	XIII
INTRODUCERE.....	XV

PARTE GENERALĂ

Capitolul 1. CANCERUL ORAL –PERSPECTIVE ACTUALE EPIDEMIOLOGICE	1
1.1. Tendințe epidemiologice	1
1.2. Demografia și evoluția cancerului oral	5
1.3. Factorii de risc și dinamica lor	9
1.3.1. Tutunul și alcoolul	10
1.3.2. Mestecarea betelului.....	12
1.3.3. Papilomavirus uman.....	13
1.3.4. Obiceiurile alimentare	14
1.3.5. Igiena orală și bacteriile	15
Capitolul 2. ALTERĂRI GENETICE ASOCIATE CARCINOMULUI SCUAMOS ORAL	17
2.1. Genetica și epigenetica în cancerul oral	17
2.2. Mutațiile genetice asociate carcinomului scuamos oral	22
2.3. Genomica și medicina personalizată în carcinomul scuamos oral	26
Capitolul 3. TEHNOLOGII ALTERNATIVE PENTRU SCREENING ȘI MODALITĂȚI DIAGNOSTICE ALE CARCINOMULUI SCUAMOS ORAL	27
3.1. Dezvoltarea leziunilor și evoluția carcinomului scuamos oral	27
3.2. Diagnosticul și stadializarea tumorală.....	30
3.2.1. Biopsia carcinomului scuamos oral – considerații clinice.....	31
3.2.2. Stadializarea și evaluarea tumorală	32
3.3. Screeningul cancerului oral.....	33

3.3.1. Fluorescența tisulară ca tehnologie adjuvanta.....	36
3.3.2. Biomarkerii și medicina de precizie în carcinomul scuamos celular	38
 PARTEA SPECIALĂ	
Capitolul 4. ANALIZA RETROSPECTIVĂ A SUBTIPURILOR HISTOPATOLOGICE ALE CANCERULUI ORAL ȘI A OBICEIURILOR VICIOASE	40
4.1. Introducere și obiective	40
4.2. Materiale și Metode.....	42
4.2.1. Conceptul studiului.....	42
4.2.2. Variabilele studiului	43
4.2.3. Examinarea histologică a probelor tumorale.....	44
4.2.4. Analiza statistică	46
4.3. Rezultate.....	46
4.4. Discuții	59
4.5. Concluzii	61
Capitolul 5. GENOTIPAREA GENEI COL9A1 - O ANALIZĂ COMPARATIVĂ ÎN DIAGNOSTICUL CARCINOMULUI SCUAMOS ORAL: UN STUDIU PILOT	63
5.1. Introducere și scopul studiului	63
5.2. Materiale și Metode.....	65
5.2.1. Conceptul studiului	65
5.2.1.1. Cohorta de studiu.....	65
5.3. Procesarea probelor biologice	66
5.3.1. Analiza ADN.....	68
5.4. Analiza statistică	70
5.5. Rezultate.....	71
5.5.1. Analiza pe bază de vârstă și sex.....	71
5.5.2. SNP țintă în identificarea genei COL9A1	74
5.6. Discuții	79
5.7. Concluzii	84
Capitolul 6. EVALUAREA FLUORESCENȚEI TISULARE ÎN SCREENINGUL MUCOASEI ORALE - UN STUDIU CLINIC	86
6.1. Introducere și scopul studiului.....	86
6.2. Materiale și Metode.....	89

6.2.1. Conceptul studiului.....	89
6.2.2. Evaluarea variabilelor	90
6.2.3. Colectarea datelor și protocolul clinic.....	92
6.2.4. Analiza datelor	94
6.3. Rezultate	94
6.4. Discuții	103
6.5. Concluzii	105
CONTRIBUȚII PERSONALE	107
CONCLUZII	110
BIBLIOGRAFIE	112
ANEXE	I

REZUMAT

Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a raportat faptul că sistemul de sănătate se confruntă cu o creștere alarmantă a unor multiple patologii, printre care și cancerul oral. Expunerea continuă la numeroși carcinogeni determină o modificare în dinamică a întregului proces și influențează rata de dezvoltare a patologiei maligne. Așa cum a fost deja descris, cancerul și în special cancerul oral este o afecțiune complexă și multifactorială. Creșterea incidenței determină îngrijorarea în rândul cercetătorilor și lasă loc unor noi discuții cu privire la etiologia acestuia, metodelor de diagnostic și prognostic, subliniind necesitatea de a implementa noi metode de prevenție, diagnostic precoce, tratament și monitorizare. Deși, de-a lungul timpului au fost identificați și asociați factori de risc și obiceiuri vicioase, recent, incidența nu mai poate fi încadrată într-un tipar deja cunoscut.

Prima parte a tezei este împărțită în trei capitole principale menite să introducă și să discute informațiile actuale existente legate de incidența, epidemiologia și factorii de risc asociați ai cancerului oral. De asemenea, oferind o descriere a modificărilor genetice care pot fi asociate întregului proces de carcinogeneză al carcinomului oral cu celule scuamoase. Importanța screening-ului oral este un alt aspect, subliniind contribuțiile acestuia la îmbunătățirea examenului oral convențional cu ajutorul informațiilor suplimentare oferite de potențiala utilizare a tehnologiilor alternative.

Preocuparea actuală a sistemului de sănătate este, pe lângă îmbunătățirea diagnosticului și a etapelor clinice, conștientizarea în rândul populației cu privire la această malignitate și consecințele ei. Timp de mulți ani, etiologia a fost legată de un anumit statut socio-economic, de obiceiuri și factori de risc, precum și de afecțiuni orale. În prezent, acești factori care au fost asociați etiologiei au suferit o redistribuire și reorganizare, și deși celulele maligne prezintă modificări genetice, relația corectă dintre acest eveniment și expunerea potențială la agenți cancerigeni nu este pe deplin înțeleasă pentru a putea îmbunătăți măsurile preventive și managementul acestei malignități.

Analizele epidemiologice actuale relevă aspecte importante legate de cancerul oral, evidențiind importanța impactului pe care obiceiurile de viață îl au

asupra riscului individual. Acești factori contribuie activ la direcția implementării conceptului de „medicină personalizată”, concentrându-se pe fiecare individ prin evaluarea riscului personal. Introducerea utilizării biomarkerilor ar putea îmbunătăți diagnosticul precoce și procesul de screening și evaluare a riscului individual, oferind o abordare neinvazivă, simplă și rapidă pentru clinician și acceptată de pacient.

Luând în considerare faptul că principalii factori de risc ai cancerului oral sunt cunoscuți și gestionabili, se poate presupune că acesta poate deveni o malignitate care poate fi prevenită. Deși, studiile care evaluează diagnosticul cancerului oral în rândul populației cu risc scăzut, subliniază faptul că există un proces de inițiere mai complex, precum o alterare genetică și epigenetică, asociate acestui tip de cancer. Cu toate acestea, măsurile primare de prevenire a cancerului oral ar trebui să constea în educarea indivizilor, limitarea factorilor de risc existenți și încurajarea controalelor de rutină. Cancerul oral este reprezentat de carcinomul oral cu celule scuamoase (OSCC) în majoritatea cazurilor, urmat de tumori ale glandelor salivare, melanoame și limfoame. OSCC include toate tumorile maligne bucale care apar direct din stratul epitelial, ținând cont de expunerea permanentă a acestuia la acțiunea directă a diverșilor factori de risc.

Este important să recunoaștem contribuția biologiei moleculare, acțiunea moleculelor din interiorul celulelor și interacțiunea celulelor din țesut pentru a evalua corect procesul de carcinogeneză. Evaluarea genelor specifice care pot fi legate direct de procesul malign al OSCC este primul pas într-o posibilă nouă eră a diagnosticului, tratamentului și prognosticului. Investigațiile bazate pe analiza ADN-ului permit cuantificarea profilului de expresie genică pentru a sublinia potențialele modificări care ar putea fi legate de OSCC. Principalele modificări genetice legate de cancerul oral sunt mutațiile în oncogene, genele supresoare tumorale, gene implicate în repararea ADN-ului și alte gene care sunt influențate de factori de risc asociați precum betel, alcool, tutun și viruși. Analiza genomică a cancerului oral trebuie să depășească mai multe provocări din cauza complexității moleculare și a heterogenității tumorilor orale. Atlasul genomului cancerului (TCGA), cu contribuția Institutului Național de Cercetare a Genomului Uman (NHGRI) și a Institutului Național al Cancerului (NCI), a avut ca scop cuantificarea modificărilor genetice și epigenetice în diferite boli maligne. Baza de date furnizată de TCGA a subliniat existența unor mutații genetice specifice asociate cu OSCC, descoperind noi căi de screening și diagnostic.

Carcinomul oral cu celule scuamoase este de obicei precedat de leziuni clinice incluse în categoria leziunilor premaligne orale (OPMD), fiind caracterizat prin mai multe modificări neoplazice care sunt cunoscute sub denumirea de displazie orală. Evoluția displaziei epiteliale bucale și transformarea în OSCC implică un progres al procesului de carcinogeneză spre dezvoltarea unor caracteristici maligne specifice. Detectarea și managementul precoce al acestor leziuni este crucială pentru deznodământul clinic, deși au existat discuții cu privire la conceptul de "câmp de cancerizare" și reapariția acestor leziuni pe baza modificărilor moleculare care afectează în același timp mucoasa orală aparent normală, precedând starea precanceroasă.

Evaluarea clinică a mucoasei bucale și evaluarea expunerii potențiale la diferiți agenți cancerigeni reprezintă o prioritate pentru clinician. Mucoasa bucală este expusă efectelor "câmpului de cancerizare" și poate dezvolta leziuni în diferite stadii, fapt care ar putea implica mai multe biopsii multiple. Detectarea precoce este un factor important pentru îmbunătățirea ratei de supraviețuire și a prognosticului, iar o examinare clinică completă a cavității bucale și a regiunilor capului și gâtului poate identifica în majoritatea cazurilor leziunile maligne.

O leziune a mucoasei orale identificată trebuie evaluată așa cum sugerează Organizația Mondială a Sănătății, în principal orice leziune a mucoasei bucale care a persistat mai mult de 2 săptămâni, deși orice factori locali cunoscuți au fost excluși, trebuie supusă biopsiei și examinării histopatologice suplimentare. O opțiune în unele cazuri ar putea fi examinarea citologică a suprafeței epiteliale, dar sensibilitatea și specificitatea acestei examinări este scăzută pentru diagnosticul de OSCC. Recent, au fost introduse abordări moderne și mai puțin invazive pentru a îmbunătăți examenul clinic distingând leziunile benigne de cele potențial maligne.

Screening-ul cancerului bucal și al leziunilor premaligne orale ar trebui să fie o examinare de rutină, în special în populațiile cu risc ridicat. Examenul este simplu, neinvaziv și nedureros, bazat pe examinarea vizuală directă a mucoasei bucale și palparea loco-regională. De obicei, există zone de risc specifice cu o incidență mare în dezvoltarea leziunilor. Screening-ul este definit ca având scopul de a identifica o boală nerecunoscută la indivizi aparent sănătoși și asimptomatici prin aplicarea unui test pentru a distinge prezența sau absența anumitor caracteristici. Este important să recunoaștem faptul că procedura de screening nu este un test de diagnostic și are scopul de a recunoaște modificări specifice care sunt asociate cu un risc ridicat de a

dezvolta cancer oral. Screening-ul cancerului oral este conceput pentru a se concentra pe prezența modificărilor mucoasei, a leziunilor potențial maligne și a debutului precoce al cancerului. Medicii stomatologi pot juca un rol major în screening-ul și identificarea precoce a leziunilor cu potențial de malignizare și a leziunilor maligne, fapt care poate influența pozitiv debutul și rezultatul tratamentului. Din păcate, rapoartele sugerează că există rezultate nesatisfăcătoare legate de practica și cunoștințele medicilor stomatologi cu privire la aceste tipuri de leziuni.

Proprietatea fluorescenței tisulare a devenit utilă pentru screening-ul și potențialul diagnostic precoce în cancerul de piele, plămâni și uter, iar recent a fost introdusă pentru evaluarea mucoasei bucale. Principiul pe care se bazează această abordare imagistică este proprietatea mucoasei bucale de a deveni autofluorescentă în anumite circumstanțe. Modificări ale structurii celulelor mucoasei bucale (o creștere a pleomorfismului celular sau nuclear, hiperkeratoză sau o alterare a hiperchromatinei), în metabolismul celulelor sau modificări localizate în stroma subepitelială vor influența reacția acestora la o anumită lungime de undă a luminii. Alterările din epiteliu și stromă vor influența prezența componentelor tisulare, cunoscute sub numele de fluorofori, și modul în care acestea emit după interacțiunea cu o lumină albastră intensă, proces descris ca autofluorescență. Imaginea rezultată după interacțiunea luminii albastre cu mucoasa bucală poate fi văzută și evaluată de către clinician. Tehnologia fluorescenței poate îmbunătăți examinarea vizuală convențională și poate oferi informații suplimentare pentru a distinge zonele normale ale mucoasei de zonele care prezintă modificări. În ultimii ani, proprietatea autofluorescenței a fost investigată pe scară largă ca instrument adjuvant pentru diagnostic.

Partea specială a tezei se concentrează pe trei studii principale care urmăresc traseul temelor din capitolele discutate în partea generală, relevând contribuția personală. Primul studiu este o cercetare retrospectivă pe parcursul a cinci ani care a urmărit să evidențieze tendințele epidemiologice ale cancerului bucal, evidențiind incidența subtipurilor histopatologice, gradul de diferențiere a acestora și clasificarea TNM (tumor, ganglioni, metastaze), în relație cu vârsta, sexul și asociate. obiceiuri de risc. Prin compararea rezultatelor cu cele existente în literatura de specialitate s-au putut evalua concluzii valabile privind aspectele și tendințele epidemiologice locale.

Cel de-al doilea studiu de cercetare este un studiu clinic pilot care gravitează în jurul mutațiilor genetice existente care pot fi legate de pacienții cu carcinom oral cu celule scuamoase, introducând posibilitatea identificării mutației genei COL9A1 în țesut tumoral proaspăt și probe de sânge ale pacienților cu carcinom oral cu celule scuamoase. Până acum, acesta este primul studiu care a inclus genotiparea probelor de sânge pentru a identifica mutațiile genei COL9A1, iar rezultatele au arătat o corelație pozitivă între prezența mutației genei în cele două tipuri de probe. Al treilea studiu a constatat într-o evaluare comparativă a examenului oral convențional efectuat în timpul unui proces de screening oral și utilizarea potențială a tehnologiei bazate pe fluorescență ca adjuvant în detectarea și îmbunătățirea examenului vizual. Rezultatele evidențiază sensibilitatea ridicată a tehnologiei de fluorescență în comparație cu constatările clinice și importanța efectuării unui screening oral precis al mucoasei pentru a identifica precoce modificările anormale.

Rezultatele studiilor efectuate evidențiază etiologia complexă a acestei malignități, relevând tendințele epidemiologice și implicarea multiplilor factori de risc, precum și rolul major pe care îl joacă modificările genetice în procesul de carcinogeneză. Prin introducerea posibilei utilizări a probelor de sânge și a prezenței mutațiilor genei COL9A1 (colagen tip 9 alfa lanț 1), procesul de screening și diagnostic precoce ar putea fi îmbunătățit substanțial în viitor. Procesul de screening oral are rolul major în ameliorarea diagnosticului precoce, cu ajutorul unui examen clinic pas cu pas efectuat de către clinician, a unei anamnezei precise și a evaluării factorilor de risc, prin creșterea gradului de conștientizare în rândul pacienților, iar rata de supraviețuire poate fi îmbunătățită substanțial. Cu informațiile suplimentare oferite de tehnologia bazată pe fluorescență, examinarea clinică poate fi îmbunătățită, iar modificările celulare timpurii pot fi identificate timpuriu.

Cu toate acestea, cancerul bucal se caracterizează printr-un debut insidios, simptomatologie deloc sau puțin, evoluție agresivă și diagnosticare tardivă. Această malignitate este descrisă ca o acțiune cumulativă a modificărilor genetice, a factorilor de risc locali și generali și a obiceiurilor care conduc evoluția bolii, fapt ce trebuie reflectat și în abordările de screening și planul de tratament.