



SEASON ONE
18 Marzo 2021

Validazione del brushing orale come tecnica non invasiva per l'identificazione del carcinoma squamocellulare orale felino tramite analisi genetiche ed epigenetiche

Silvia Sabattini¹, Andrea Renzi¹, Luca Morandi², Antonella Rigillo¹, Emma Bellei³, Giuliano Bettini¹

¹ DIMEVET – Servizio di Anatomia Patologica

² DIBINEM – Servizio di Anatomia Patologica

³ Ospedale Veterinario "I Portoni Rossi"

Background - Il carcinoma squamocellulare orale felino (FOSCC) è una neoplasia frequente, caratterizzata da rapida progressione locale, diagnosi tardiva ed esito infausto. Per migliorare la prognosi sono indispensabili diagnosi precoce e trattamento tempestivo; tuttavia, le lesioni in fase iniziale sono difficilmente riconoscibili all'esame clinico e possono essere interpretate erroneamente come non neoplastiche [1]. In un recente studio del nostro gruppo di ricerca, l'analisi della metilazione del DNA (un meccanismo epigenetico che può essere disregolato precocemente nella cancerogenesi) e dello stato mutazionale del gene oncosoppressore *TP53* ha permesso di differenziare campioni istologici di FOSCC dalla mucosa orale non neoplastica con un'accuratezza del 97% [2,3].

Scopo del lavoro - Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'attendibilità di un test biomolecolare non invasivo per la diagnosi precoce del FOSCC basato sull'identificazione di alterazioni genetiche ed epigenetiche.

Materiali e metodi - Abbiamo analizzato in modo prospettico, tramite *Next Generation Sequencing*, lo stato mutazionale di *TP53* e il pattern di metilazione di 17 geni noti per essere disregolati nel FOSCC e/o nel carcinoma squamocellulare dell'uomo. Le analisi sono state svolte su campioni di FOSCC e su un gruppo di controllo composto da lesioni infiammatorie croniche, altre neoplasie e mucose orali sane, a partire da campioni citologici raccolti mediante una tecnica non-invasiva: il brushing orale. Le stesse indagini sono state svolte anche sui corrispondenti campioni istologici, quando questi erano disponibili.

Risultati e conclusioni - Sono stati inclusi 35 FOSCC e 60 controlli (20 parodontopatie, 15 gengivostomatiti croniche, 4 granulomi piogenici, 3 granulomi eosinofili, 3 sarcomi e 15 mucose sane). Diciassette FOSCC (48%) presentavano mutazioni di *TP53*, contro nessuno dei controlli ($P < 0.001$). Lo stato di metilazione è stato quantificato tramite un punteggio (*Methylation score*), calcolato su 6 geni differenzialmente metilati fra i due gruppi (*FLI1*, *MiR124-1*, *KIF1A*, *MAGEC2*, *ZAP70* e *MiR363*). Diciassette brushing di FOSCC (48%) hanno mostrato un *methylation score* positivo, contro 2 controlli (3%; $P < 0.001$). La concordanza rispetto ai corrispettivi campioni istologici è stata più elevata per *TP53* rispetto al *Methylation score*. È stato poi impostato un algoritmo diagnostico basato su stato mutazionale di *TP53* e *Methylation score*, che ha mostrato un'accuratezza dell'86% (sensibilità: 69%; specificità: 97%), significativamente superiore nei casi in cui il prelievo era stato effettuato in anestesia generale ($P = 0.014$). Questi risultati sono promettenti, anche se alcuni

fattori possono limitare l'accuratezza della metodica, come un prelievo poco preciso con conseguente diluizione delle cellule neoplastiche con cellule normali di sfaldamento. Saranno necessari ulteriori studi per valutare l'applicabilità clinica di questa tecnica e migliorarne la sensibilità.

Bibliografia

- [1] Liptak JM. Cancer of the gastrointestinal tract. In: Vail DM, Thamm DH, Liptak JM, Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 432-448, 2019.
- [2] Gissi DB, Gabusi A, Tarsitano A, Asioli S, Rossi R, Marchetti C, Montebugnoli L, Foschini MP, Morandi L. Application of a non-invasive oral brushing procedure based on bisulfite sequencing of a 13-gene panel to study high-risk OSCC patients. *Cancer Biomarkers*; 28(4): 499-510, 2020.
- [3] Renzi A, Morandi L, Lenzi J, Rigillo A, Bettini G, Bellei E, Giacomini A, Tinto D, Sabattini S. Analysis of DNA methylation and TP53 mutational status for differentiating feline oral squamous cell carcinoma from non-neoplastic mucosa: A preliminary study. *Veterinary and Comparative Oncology*; 18(4): 825-837, 2020.

▪ La **casata** di appartenenza

One Health

Blue Growth

Fundamental Sciences

Clinical Sciences

Animal Production

▪ La **tipologia** del proprio progetto

Individual Research

Team Work

Travelling Scientists