

Rezumat

I. Stadiul actual al cunoașterii

Cancerul colorectal este una dintre cele mai frecvente neoplazii la nivel global, reprezentând a doua cauză principală de mortalitate prin cancer. Incidența sa este influențată de factori genetici, epigenetici, inflamatori și de mediu, ceea ce face ca diagnosticarea precoce și managementul terapeutic să fie provocări semnificative. Progresele recente în domeniul biomarkerilor au deschis noi perspective pentru o detecție mai rapidă și pentru personalizarea tratamentelor oncologice, având un impact semnificativ asupra ratei de supraviețuire a pacienților. Cancerul colorectal este o afecțiune răspândită la nivel mondial, cu o prevalență în creștere, în special în țările dezvoltate. Factorii de risc majori includ dieta bogată în grăsimi și carne roșie procesată, sedentarismul, obezitatea, consumul excesiv de alcool și fumatul. Pe lângă acești factori, predispoziția genetică joacă un rol esențial, mutațiile moștenite în gene precum APC, MLH1 și MSH2 fiind asociate cu sindroame de predispoziție la cancer colorectal, cum ar fi polipoza adenomatoasă familială și sindromul Lynch. Inflamația cronică a colonului, asociată cu boli precum colita ulcerativă și boala Crohn, este un factor predispozant important. Pacienții cu afecțiuni inflamatorii intestinale cronice prezintă un risc semnificativ mai mare de a dezvolta cancer colorectal, din cauza expunerii prelungite la un microambient inflamator ce favorizează proliferarea necontrolată a celulelor epiteliale intestinale.

Cancerul colorectal se dezvoltă printr-o serie de alterări genetice și epigenetice care determină transformarea malignă a celulelor epiteliale colonice. Instabilitatea genomică este un factor cheie în patogeneza acestei afecțiuni și poate apărea sub două forme principale. Prima formă este instabilitatea microsatelitară, care se manifestă la pacienții cu mutații în sistemul de reparare a nepotrivirilor ADN. Acest tip de cancer colorectal are un prognostic mai bun și poate răspunde favorabil la terapiile imunologice. A doua formă este instabilitatea cromozomială, caracterizată printr-o alterare majoră a numărului de cromozomi, ceea ce favorizează mutațiile în gene precum KRAS, TP53 și APC, fiind asociată cu forme mai agresive ale bolii. Pe lângă modificările genetice, modificările epigenetice, cum ar fi metilarea anormală a promotorilor genelor supresoare tumorale, contribuie la progresia tumorii. De exemplu, hipermetilarea promotorului genei MLH1 duce la defecte în repararea ADN-ului și la acumularea mutațiilor somatice. Inflamația cronică joacă un rol determinant în inițierea și progresia cancerului colorectal. Citokinele inflamatorii contribuie la crearea unui microambient tumoral favorabil supraviețuirii celulelor maligne. Printre cele mai studiate citokine în cancerul colorectal se numără interleukina-8, interleukina-17 și interleukina-33. Interleukina-8 stimulează angiogeneza și recrutarea celulelor imunosupresoare, facilitând astfel creșterea tumorală și metastazarea. Interleukina-17 este implicată în răspunsurile inflamatorii cronice, contribuind la promovarea proliferării celulare și la remodelarea țesutului tumoral. Interleukina-33 are un rol dual, putând favoriza atât răspunsurile imune antitumorale, cât și progresia tumorală, în funcție de contextul biologic în care acționează. Microambientul tumoral este compus

dintr-o varietate de celule non-neoplazice, inclusiv fibroblaste asociate cancerului, celule endoteliale și macrofage tumorale, care contribuie la evaziunea imună și la progresia neoplazică. Studiile recente sugerează că interacțiunea dintre aceste componente și celulele tumorale poate influența răspunsul la terapiile existente și dezvoltarea de noi abordări terapeutice.

Cercetările din ultimii ani s-au concentrat pe identificarea de biomarkeri cu valoare clinică pentru detectarea precoce și monitorizarea evoluției cancerului colorectal. MicroARN-urile sunt molecule mici de ARN necodant care reglează expresia genică și joacă un rol esențial în progresia cancerului. Studii recente au evidențiat că miR-101-3p, miR-106a-5p și miR-326 sunt dereglați în cancerul colorectal, având implicații în proliferarea celulară și răspunsul la tratament. De asemenea, biomarkerii inflamatori, precum interleukinele 8, 17 și 33, au fost asociați cu progresia cancerului colorectal și cu un prognostic nefavorabil. Markerii epigenetici, cum ar fi metilarea ADN-ului în gene precum SEPT9 și SFRP2, s-au dovedit promițători pentru detectarea timpurie a bolii. Pentru o detecție precoce a cancerului colorectal, au fost dezvoltate mai multe tehnici avansate de diagnostic. Testele bazate pe ADN tumoral circulant permit identificarea mutațiilor specifice în sângele pacienților și pot fi utilizate pentru monitorizarea răspunsului la tratament. Tehnica qRT-PCR și secvențierea ARN-ului sunt metode precise de cuantificare a expresiei biomarkerilor genetici, inclusiv a microARN-urilor și interleukinelor. Imagistica moleculară, prin colonoscopia cu substanțe de contrast fluorescente și rezonanța magnetică nucleară funcțională, oferă informații detaliate despre activitatea metabolică și vascularizarea tumorii, facilitând un diagnostic mai precis.

Cancerul colorectal este o afecțiune complexă, caracterizată printr-o etiologie multifactorială și un mecanism patogenic divers. Avansurile în înțelegerea rolului biomarkerilor moleculari și inflamatori oferă oportunități semnificative pentru dezvoltarea unor metode de diagnostic precoce și pentru optimizarea strategiilor terapeutice. Utilizarea interleukinelor și microARN-urilor în practica clinică ar putea reprezenta o direcție importantă pentru medicina de precizie, permițând identificarea pacienților cu risc crescut și personalizarea tratamentului în funcție de caracteristicile tumorale individuale. Studiile viitoare ar trebui să exploreze integrarea acestor biomarkeri în ghidurile clinice pentru îmbunătățirea prognosticului pacienților cu cancer colorectal.

Metodologia generală

În cadrul acestei teze de doctorat, metodologia utilizată a fost concepută pentru a permite investigarea biomarkerilor imunologici și genetici implicați în patogeneza cancerului colorectal. Studiul a fost realizat pe un eșantion de pacienți diagnosticați cu cancer colorectal, împărțit în funcție de stadializarea bolii, și un grup de control format din subiecți sănătoși. Obiectivul principal al cercetării a fost analiza expresiei interleukinelor și a microARN-urilor pentru evaluarea potențialului acestora ca biomarkeri diagnostici și prognostici.

Probele biologice au fost prelevate din sângele pacienților și al subiecților sănătoși prin puncție venoasă, utilizând tuburi vacutainere cu anticoagulant. Imediat după recoltare, probele au fost centrifugate la 3000 rpm timp de 10 minute pentru separarea plasmei, care a fost ulterior aliquotată și stocată la -80°C până la momentul analizelor. Lotul utilizat pentru analiza interleukinelor a fost alcătuit din 42 de pacienți diagnosticați cu cancer colorectal și 40 de subiecți sănătoși, care au servit drept grup de control. Probele de sânge au fost colectate înainte de inițierea tratamentului oncologic pentru a elimina influența acestuia asupra nivelurilor serice ale interleukinelor. Pe lângă probele plasmatiche, s-au colectat și probe tisulare tumorale și peritumorale în timpul intervențiilor chirurgicale efectuate la pacienții cu cancer colorectal. Fragmentele tisulare au fost prelevate de către chirurghi specializați și au fost conservate imediat în azot lichid, apoi stocate la -80°C pentru analiza ulterioară. Pentru evitarea degradării ARN-ului, procesul de extracție a fost realizat cât mai rapid posibil după recoltare. Aceste probe au fost utilizate pentru analiza expresiei microARN-urilor specifice implicate în carcinogeneza colorectală. Lotul destinat studiilor asupra microARN-urilor a fost format din 40 de pacienți cu cancer colorectal la care s-a recoltat țesut tumoral și peritumoral. Această selecție a permis compararea expresiei microARN-urilor între țesuturile tumorale și peritumorale care au servit drept grup de control.

Nivelurile serice ale interleukinelor IL-8, IL-17 și IL-33 au fost determinate utilizând tehnica ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), o metodă cu sensibilitate ridicată care permite cuantificarea citokinelor din probele biologice. Kiturile utilizate au fost selectate în funcție de specificitate și sensibilitate, iar citirea absorbției s-a realizat la 450 nm utilizând un spectrofotometru de plăci ELISA. Fiecare analiză a fost realizată în duplicate pentru a asigura reproducibilitatea rezultatelor, iar valorile obținute au fost interpretate comparativ între pacienții cu cancer colorectal și subiecții sănătoși.

Pentru analiza expresiei microARN-urilor miR-101-3p, miR-106a-5p și miR-326, ARN-ul total a fost extras din probele tisulare tumorale și peritumorale, utilizând kituri comerciale specializate. Extracția ARN-ului s-a realizat conform protocolului producătorului, cu etape de lizare celulară, purificare și eliminare a contaminanților. Concentrația și puritatea ARN-ului au fost determinate prin spectrofotometrie, iar integritatea acestuia a fost verificată prin electroforeză pe gel de agaroză. ARN-ul a fost ulterior transcris revers în ADN complementar (cDNA) utilizând un kit specific, iar amplificarea a fost realizată prin reacția de polimerizare în lanț în timp real (qRT-PCR) utilizând markeri specifici pentru fiecare microARN investigat. Ca gene de referință au fost utilizate U6 și GAPDH, iar analiza datelor s-a realizat prin metoda $\Delta\Delta C_t$, care permite compararea nivelului de expresie relativă a microARN-urilor între grupurile studiate.

Analiza statistică a fost efectuată utilizând software-ul SPSS și GraphPad Prism, aplicând metode descriptive și inferențiale. Pentru compararea grupurilor, au fost utilizate testul t-Student și analiza ANOVA, în funcție de distribuția datelor.

Corelațiile dintre nivelurile interleukinelor, expresia microARN-urilor și parametrii clinici ai pacienților au fost evaluate utilizând coeficienții Pearson și Spearman. Pragul de semnificație statistică a fost stabilit la $p < 0,05$, iar rezultatele au fost reprezentate grafic sub formă de boxplot-uri și diagrame de dispersie pentru o interpretare vizuală clară.

Această metodologie a fost aleasă pentru a asigura acuratețea și reproducibilitatea datelor obținute, facilitând o analiză detaliată a biomarkerilor imunologici și genetici în cancerul colorectal.

II. Contribuția personală

Studiul 1. Expresia miRNA în stadializarea cancerelor de colon.

Studiul a investigat expresia a trei microARN-uri, miR-101-3p, miR-106a-5p și miR-326, în țesuturile tumorale și peritumorale ale pacienților diagnosticați cu cancer de colon, analizând corelațiile acestora cu stadializarea bolii. Lotul de pacienți a inclus 40 de subiecți, distribuiți pe patru stadii TNM, iar metodele utilizate au inclus extracția ARN-ului total și analiza expresiei prin qRT-PCR. Această abordare a permis o cuantificare precisă a nivelurilor de expresie ale miARN-urilor, evidențiind diferențe notabile între țesuturile tumorale și cele peritumorale.

Expresia celor trei miARN-uri a fost semnificativ mai mare în țesuturile peritumorale comparativ cu cele tumorale, sugerând un posibil rol supresor tumoral. În stadiile avansate ale cancerului, expresia acestora a fost considerabil mai redusă, în special pentru miR-101-3p și miR-326, ceea ce indică o corelație inversă între progresia bolii și nivelul lor de expresie. MiR-106a-5p a prezentat o expresie stabilă în majoritatea stadiilor, cu un vârf notabil în stadiul 3, ceea ce poate indica o contribuție distinctă la progresia tumorală.

Analiza comparativă între genuri și grupe de vârstă a arătat că miR-101-3p și miR-106a-5p au fost exprimate mai mult la femeile tinere, însă odată cu înaintarea în vârstă, nivelurile acestora au devenit mai ridicate la bărbați. MiR-326 a fost semnificativ mai exprimat la femei în majoritatea grupelor de vârstă, ceea ce sugerează o influență posibilă a factorilor hormonalți asupra expresiei sale. Aceste observații indică faptul că expresia miARN-urilor nu este influențată doar de prezența cancerului, ci și de vârstă și gen, ceea ce poate avea implicații în înțelegerea mecanismelor tumorale și în dezvoltarea unor abordări personalizate pentru diagnosticul și tratamentul cancerului de colon.

Corelațiile dintre cei trei miARN-uri au fost semnificative, sugerând o interdependență a expresiei lor în cancerul de colon. MiR-101-3p a fost puternic corelat pozitiv cu miR-106a-5p și miR-326, ceea ce sugerează un mecanism comun de reglare. În plus, s-a observat o corelație puternică între miR-106a-5p și miR-326 în stadiile avansate ale bolii, sugerând un rol important în progresia tumorală. Aceste relații indică faptul că nivelurile de expresie ale acestor miARN-uri nu sunt independente, ci sunt parte a unui mecanism biologic complex care influențează creșterea și dezvoltarea tumorii.

Rezultatele studiului indică faptul că scăderea expresiei miR-101-3p și miR-326 în țesuturile tumorale ar putea avea implicații funcționale semnificative, fiind posibil implicate în menținerea homeostaziei celulare și în suprimarea proliferării maligne. Compararea expresiei miR-106a-5p în țesuturile sănătoase și tumorale a sugerat o relație predictivă moderată, în timp ce miR-326 nu a prezentat o corelație clară între cele două tipuri de țesuturi. Acest lucru sugerează că reglarea expresiei acestor miARN-uri este complexă și poate depinde de multiple variabile biologice și de mediu.

Analiza funcțională a acestor miARN-uri a evidențiat implicarea lor în căile de semnalizare PI3K-Akt și MAPK, cunoscute pentru rolul lor în progresia cancerului. Această observație susține ipoteza că aceste microARN-uri ar putea avea un impact semnificativ asupra mecanismelor de reglare a tumorigenezei și ar putea reprezenta ținte terapeutice potențiale. Identificarea unor astfel de conexiuni moleculare oferă perspective asupra modului în care aceste miARN-uri pot influența procesele de supraviețuire, proliferare și diferențiere celulară în cancerul de colon.

Acest studiu a demonstrat că miR-101-3p, miR-106a-5p și miR-326 prezintă o expresie mai mare în țesuturile peritumorale decât în cele tumorale și că nivelurile lor sunt reduse în stadiile avansate ale cancerului de colon. Corelațiile semnificative dintre acești biomarkeri sugerează o posibilă interdependență funcțională în carcinogeneză. Aceste descoperiri subliniază potențialul acestor miARN ca biomarkeri diagnostici și prognostici în cancerul colorectal, oferind o posibilă cale către utilizarea acestora în screening-ul și monitorizarea bolii. Expresia scăzută a acestor miARN-uri în stadiile avansate ale bolii indică faptul că acestea ar putea avea un rol protector și că pierderea lor ar putea facilita progresia tumorală. În viitor, studii extinse pe loturi mai mari de subiecți ar putea contribui la validarea acestora ca instrumente utile pentru detectarea precoce și monitorizarea progresiei bolii, facilitând dezvoltarea unor terapii personalizate bazate pe profilul molecular al fiecărui pacient. Astfel de studii ar putea deschide calea pentru dezvoltarea unor noi metode de diagnostic și tratament care să îmbunătățească prognosticul pacienților cu cancer de colon. Integrarea profilurilor de expresie a miARN-urilor cu parametrii clinici poate oferi o înțelegere mai detaliată a biologiei cancerului și poate contribui la dezvoltarea unor strategii mai eficiente de management al bolii.

Studiu 2. Expresia miRNA în funcție de grad, invazie și localizare a cancerelor de colon

Studiul analizează expresia miR-101-3p, miR-106a-5p și miR-326 în cancerul de colon, evaluând corelațiile acestora cu gradul tumoral, invazia în straturi și localizarea tumorii. Expresia miRNA variază semnificativ în funcție de acești factori, sugerând un rol potențial al acestor molecule ca biomarkeri pentru diagnostic și prognostic.

În ceea ce privește gradul tumoral, expresia miR-101-3p și miR-326 este mai ridicată în tumorile de grad 2, dar scade în tumorile de grad 3, ceea ce indică o posibilă implicare în tranziția către un fenotip mai agresiv. MiR-106a-5p urmează un model

distinct, având cea mai mare expresie în tumorile de grad 2 și scăzând semnificativ în tumorile de grad 3, ceea ce sugerează o funcție importantă în etapele intermediare ale progresiei tumorale. Aceste variații ale expresiei sugerează o posibilă contribuție a acestor miRNA la mecanismele de proliferare și diferențiere tumorală. Analiza invaziei în straturi evidențiază diferențe semnificative în expresia miRNA în funcție de tipul de invazie. MiR-101-3p prezintă o expresie ridicată în tumorile cu invazie musculară, ceea ce poate indica un rol în etapele inițiale ale expansiunii tumorale. Expresia miR-106a-5p este cea mai ridicată în tumorile cu invazie limfovasculară, sugerând o implicare în diseminarea celulelor tumorale prin sistemul circulator. MiR-326 înregistrează cele mai mari valori în tumorile cu metastaze organice, ceea ce sugerează o asociere cu fenotipurile tumorale agresive. Aceste date indică o legătură între profilul de expresie al acestor miRNA și severitatea invaziei tumorale. Expresia miRNA diferă semnificativ și în funcție de localizarea tumorii. Nivelurile miR-101-3p, miR-106a-5p și miR-326 sunt mai ridicate în tumorile localizate în colonul stâng decât în cele din colonul drept. Această diferență este cea mai pronunțată pentru miR-106a-5p, ceea ce sugerează mecanisme oncogenice distincte între tumorile din cele două regiuni. Expresia mai scăzută în tumorile din colonul drept poate reflecta caracteristici moleculare diferite, cum ar fi instabilitatea microsatelitară și variațiile în căile de semnalizare tumorală.

Corelațiile dintre miRNA evidențiază interacțiuni semnificative între acești markeri moleculari. MiR-101-3p și miR-106a-5p prezintă o relație pozitivă, cu o expresie crescândă odată cu gradul tumoral, în special în tumorile de grad 3. MiR-101-3p și miR-326 sunt corelate, ceea ce sugerează o posibilă co-reglare în etapele inițiale ale progresiei tumorale. MiR-106a-5p și miR-326 sunt puternic asociate în tumorile cu metastaze organice și invazie limfovasculară, indicând o contribuție comună la agresivitatea tumorală. Analizele de regresie multiplă confirmă aceste relații, sugerând că aceste miRNA sunt interdependente și ar putea fi utilizate ca markeri predictivi pentru progresia cancerului colorectal.

Aceste descoperiri subliniază importanța miRNA ca biomarkeri pentru caracterizarea cancerului colorectal, oferind informații valoroase despre mecanismele moleculare implicate în progresia bolii. Studiul evidențiază potențialul utilizării acestor miRNA în diagnosticul precoce, stratificarea pacienților și dezvoltarea unor terapii țintite, justificate de modelele lor specifice de expresie în funcție de gradul tumoral, invazie și localizare.

Studiul 3. Interleukinele 8,17 și 33 acționează ca potențiali biomarkeri pentru cancerul colorectal

Interleukinele IL-8, IL-17A și IL-33 joacă un rol esențial în progresia cancerului colorectal prin influențarea inflamației, angiogenezei și microambientului tumoral. Expresia acestor interleukine variază în funcție de stadiul cancerului, vârsta și sexul pacienților, având implicații importante pentru diagnostic și prognostic. Studiul a inclus

42 de pacienți diagnosticați cu cancer colorectal și 40 de subiecți sănătoși, analizând nivelurile serice ale IL-8, IL-17A și IL-33 prin tehnica ELISA.

Expresia IL-8 a fost semnificativ mai mare la pacienții cu cancer colorectal comparativ cu grupul sănătos, cu o medie de 29.15 pg/ml față de 19.16 pg/ml. Cele mai mari concentrații au fost observate în stadiile incipiente ale bolii, în special în stadiul 1 (34.6 pg/ml) și stadiul 2 (32.29 pg/ml), urmate de o scădere progresivă în stadiile avansate. Corelațiile indică faptul că IL-8 este un marker inflamator puternic, cu un rol major în inițierea procesului tumoral, având o influență semnificativă asupra angiogenezei și migrației celulare. IL-17A a prezentat, de asemenea, o expresie crescută la pacienții cu cancer colorectal, media fiind de 26.05 pg/ml comparativ cu 7.10 pg/ml la subiecții sănătoși. Expresia acestei interleukine a fost cea mai ridicată în intervalul de vârstă 60-69 de ani, atingând un maxim de 43.5 pg/ml, iar apoi scăzând semnificativ la pacienții mai în vârstă. În funcție de stadiul bolii, IL-17A a avut concentrații maxime în stadiul 1 (32.1 pg/ml) și stadiul 2 (35.77 pg/ml), cu o scădere marcantă în stadiul 4 (7.29 pg/ml). Acest declin în stadiile avansate poate indica o reglare negativă a răspunsului inflamator pe măsură ce tumora progresează, posibil datorită mecanismelor imunosupresoare dezvoltate de microambientul tumoral. IL-33 a avut o expresie paradoxală, fiind semnificativ mai ridicată în grupul sănătos (121.4 pg/ml) comparativ cu pacienții oncologici (42.47 pg/ml). Aceasta sugerează că IL-33 ar putea avea un rol protector în homeostazia tisulară, iar scăderea sa în cancerul colorectal ar putea favoriza progresia tumorală. În funcție de stadializare, IL-33 a prezentat cele mai mari valori în stadiul 1 (48.4 pg/ml) și stadiul 2 (46.5 pg/ml), cu o scădere progresivă în stadiile avansate. Această dinamică sugerează că IL-33 poate acționa inițial ca un mediator proinflamator, dar ulterior ar putea fi supresată pe măsură ce tumora dezvoltă mecanisme de evaziune imună.

Corelațiile dintre interleukine au evidențiat relații semnificative, în special între IL-8 și IL-17A, care au prezentat o asociere pozitivă la pacienții cu cancer ($p = 0.001$), indicând o interdependență între inflamația sistemică și progresia tumorală. La subiecții sănătoși, această corelație a fost absentă, ceea ce sugerează că interacțiunea dintre aceste interleukine este specifică microambientului tumoral. Relația dintre IL-33 și IL-17A a fost, de asemenea, semnificativă ($p = 0.007$), dar a prezentat un model nelinear, ceea ce sugerează un mecanism complex de reglare în cancerul colorectal. În schimb, nu s-a observat o corelație clară între IL-8 și IL-33, indicând că aceste două interleukine acționează probabil prin căi distincte în contextul bolii.

Diferențele de expresie în funcție de gen au evidențiat niveluri mai ridicate ale interleukinelor la bărbați comparativ cu femeile, în special pentru IL-8 (38.94 pg/ml față de 21.07 pg/ml) și IL-17A (33.31 pg/ml față de 20.06 pg/ml). Aceste rezultate sugerează un răspuns inflamator mai intens la bărbați, posibil asociat cu o progresie mai agresivă a bolii. În ceea ce privește vârsta, expresia interleukinelor a fost mai ridicată în intervalul 60-69 de ani, ceea ce ar putea indica o fereastră critică pentru dezvoltarea și progresia cancerului colorectal.

Studiul susține ideea că interleukinele IL-8, IL-17A și IL-33 sunt implicate în mecanismele inflamatorii și de progresie tumorală, având potențial ca biomarkeri pentru stadializarea cancerului colorectal. Nivelurile crescute de IL-8 și IL-17A în stadiile incipiente sugerează că acestea ar putea fi utilizate pentru diagnostic precoce și monitorizarea răspunsului la tratament. Pe de altă parte, scăderea IL-33 în cancerul colorectal ridică întrebări asupra rolului său exact, fiind necesare studii suplimentare pentru a clarifica funcția sa în carcinogeneză. Rezultatele obținute confirmă importanța evaluării profilului inflamator în cancerul colorectal și subliniază necesitatea unor cercetări suplimentare pentru a înțelege mai bine interacțiunile dintre aceste interleukine. Studiile viitoare ar trebui să investigheze și expresia miARN-urilor care reglează aceste interleukine, pentru a determina mecanismele transcripționale și post-transcripționale implicate în progresia cancerului colorectal.

Studiul 4. Impactul localizării, gradului și invaziei cancerului de colon asupra expresiei interleukinelor

Studiul analizează expresia interleukinelor IL-8, IL-17A și IL-33 în cancerul de colon, luând în considerare localizarea tumorală, gradul histologic și invazia în straturi. Aceste interleukine joacă un rol semnificativ în progresia tumorală, influențând inflamația, răspunsul imun și angiogeneza. Expresia lor variază în funcție de parametrii menționați, indicând posibile implicații în prognostic și terapii țintite.

Rezultatele studiului indică o expresie mai ridicată a IL-8 în tumorile localizate în colonul stâng, comparativ cu cele din colonul drept, sugerând o inflamație mai intensă în această zonă. IL-17A și IL-33 au de asemenea niveluri ușor mai ridicate în colonul stâng, ceea ce poate reflecta un răspuns imun mai accentuat sau o interacțiune diferită cu microambientul tumoral. Aceste diferențe de expresie pot fi corelate cu variațiile anatomice și fiziologice ale colonului și cu posibile diferențe în mecanismele de dezvoltare tumorală între cele două segmente. Analiza în funcție de gradul histologic al tumorii arată că IL-8 are cea mai mare expresie în tumorile bine diferențiate (G1), dar cu o variabilitate mare în tumorile moderat diferențiate (G2). Această observație sugerează un rol proinflamator marcat al IL-8 în stadiile incipiente ale cancerului, urmat de o scădere pe măsură ce tumorile devin mai agresive. IL-17A și IL-33 prezintă un model similar, având expresii mai ridicate în tumorile bine diferențiate și scăzând progresiv în cele slab diferențiate (G3). Acest fapt poate indica o funcție inițial protectoare a IL-17A și IL-33, urmată de o suprimare a răspunsului inflamator și imun în stadiile avansate ale bolii. În ceea ce privește invazia tumorală, IL-8 are niveluri ridicate în cazul tumorilor care invadează seroasa și stratul submucos, ceea ce sugerează o contribuție importantă la promovarea metastazelor. IL-17A atinge concentrații maxime în tumorile cu invazie submucoasă, dar scade semnificativ în cazul metastazelor organice, indicând o reducere a răspunsului imun în fazele avansate ale bolii. IL-33 prezintă niveluri crescute în tumorile cu invazie musculară și seroasă, ceea ce poate reflecta implicarea sa în invazia profundă a tumorii și remodelarea microambientului tumoral.

Analiza corelațiilor între aceste interleukine indică relații diferite în funcție de gradul tumoral și invazie. Corelația între IL-8 și IL-17A este semnificativă, dar neliniară, cu IL-17A crescând inițial odată cu IL-8, apoi scăzând după un anumit prag, în special în tumorile slab diferențiate. Acest fenomen sugerează un mecanism complex de reglare a inflamației în cancerul de colon. În schimb, nu s-a identificat o corelație semnificativă între IL-8 și IL-33, ceea ce indică roluri independente ale acestor citokine în progresia tumorală. De asemenea, IL-33 nu influențează direct IL-17A, ceea ce sugerează că aceste interleukine sunt reglate de factori diferiți în microambientul tumoral.

Expresia interleukinelor variază și în funcție de vârsta pacienților și gen. Persoanele peste 70 de ani au mai frecvent tumori bine diferențiate, localizate în colonul drept, iar femeile cu tumori slab diferențiate tind să fie mai în vârstă decât bărbații. Aceste diferențe pot fi relevante pentru înțelegerea progresiei bolii și adaptarea strategiilor terapeutice.

În concluzie, IL-8, IL-17A și IL-33 sunt implicate în progresia cancerului colorectal, având expresii variabile în funcție de localizare, gradul tumoral și invazia în straturi. Nivelurile ridicate ale IL-8 și IL-17A în stadiile incipiente sugerează un rol proinflamator activ, în timp ce reducerea IL-17A și IL-33 în tumorile slab diferențiate indică o posibilă suprimare imună în stadiile avansate. IL-8 pare să fie un factor important în invazia tumorală și metastazare, în timp ce IL-33 are un rol mai ambivalent, cu implicații atât pro-, cât și anti-tumorale. Aceste rezultate susțin utilizarea interleukinelor ca biomarkeri potențiali pentru diagnosticul și tratamentul cancerului colorectal.

Această teză de doctorat aduce contribuții esențiale în domeniul oncologiei moleculare și imunologice, oferind perspective inovatoare asupra mecanismelor implicate în cancerul de colon. Originalitatea lucrării se remarcă prin abordarea complexă a biomarkerilor genetici și imunologici, propunând noi direcții de cercetare pentru diagnostic și tratament personalizat.

Una dintre principalele contribuții ale tezei constă în identificarea unor biomarkeri genetici și imunologici relevanți pentru stadializarea cancerului colorectal. Studiul demonstrează rolul microARN-urilor miR-101-3p, miR-106a-5p și miR-326 ca biomarkeri potențiali, analiza acestora fiind realizată atât în țesut tumoral, cât și în țesut peritumoral. Corelarea expresiei acestor microARN-uri cu progresia cancerului de colon sugerează că scăderea nivelurilor lor în stadiile avansate indică un rol esențial în reglarea oncogenezei și a căilor moleculare asociate. O altă contribuție majoră este realizarea primului studiu care investighează corelațiile circulante dintre interleukinele IL-8 și IL-17A în cancerul de colon. Cercetarea relevă o interdependență semnificativă între aceste interleukine, contribuind la o mai bună înțelegere a proceselor inflamatorii care înconjoară tumorile maligne și la identificarea unor noi ținte terapeutice. În plus, lucrarea demonstrează potențialul IL-33 ca biomarker antiinflamator, evidențiind niveluri crescute ale acestei interleukine în grupul de

control, comparativ cu pacienții diagnosticați cu cancer colorectal. Acest aspect sugerează un posibil rol protector al IL-33 în stadiile incipiente ale bolii, ceea ce deschide noi direcții de cercetare privind influența răspunsului imun asupra progresiei tumorale. Originalitatea lucrării se reflectă și în utilizarea analizei regresiei multiple pentru stabilirea interdependențelor dintre interleukine. Astfel, se confirmă relația dintre IL-8, IL-17A și IL-33 în funcție de gradul tumoral, evidențiind mecanismele de interacțiune care pot influența progresia cancerului colorectal. Aceste corelații aduc o contribuție semnificativă în dezvoltarea unor noi strategii de diagnostic și tratament bazate pe biomarkeri.

Prin această cercetare, se oferă o înțelegere aprofundată a proceselor moleculare și imunologice implicate în cancerul colorectal, facilitând dezvoltarea unor metode de diagnostic precoce și terapii țintite mai eficiente. Astfel, lucrarea reprezintă un progres important în oncologia personalizată, cu un impact semnificativ asupra viitorului abordărilor terapeutice în această patologie.

Școala doctorală de Medicină

Domeniul de doctorat: Medicină

TEZĂ DE DOCTORAT

IMPLICAȚII CLINICE, IMUNOLOGICE ȘI GENETICE ÎN PATOLOGIA TUMORALĂ MALIGNĂ DIGESTIVĂ

Doctorand:

Constantin-Dan Tâlván

Conducător de doctorat:

Prof. univ. dr. Manuela Mihalache