



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „CAROL
DAVILA” din BUCUREȘTI**



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**

**APLICAȚIILE TEHNICILOR DE BIOLOGIE MOLECULARĂ ÎN
MANAGEMENTUL PERSONALIZAT AL CANCERULUI COLORECTAL**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

Prof. Dr. Habil. DIACONU CAMELIA CRISTINA

Student-doctorand:

IONESCU VLAD-ALEXANDRU

2026

Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București
Strada Dionisie Lupu nr. 37 București, Sector 2, 020021 România, Cod fiscal: 4192910 Cont:
RO57TREZ70220F330500XXXX, Banca: TREZORERIE sect. 2
+40.21 318.0719; +40.21 318.0721; +40.21 318.0722
www.umfcd.ro

Cuprins

Introducere

I. Partea generală.....	1
1. Date epidemiologice și etiopatogenice.....	1
1.1 Epidemiologia cancerului colorectal.....	1
1.2 Etiopatogenia cancerului colorectal.....	1
1.3 Factori de risc pentru cancerul colorectal.....	4
2. Diagnosticul cancerului colorectal.....	12
2.1 Diagnosticul clinic al cancerului colorectal.....	12
2.2 Screeningul cancerului colorectal.....	13
3 Rolul biomarkerilor moleculari în managementul cancerului colorectal.....	18
3.1 Biomarkeri genomici și epigenomici.....	18
3.2 Biomarkeri transcriptomici.....	21
3.3 Biomarkeri proteomici.....	24
II. Contribuții personale.....	26
4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale ale cercetării.....	26
5. Metodologia generală a cercetării.....	35
6. Diferențe prognostice între cancerul colorectal cu debut precoce și cancerul colorectal cu debut tardiv	39
6.1 Introducere.....	39
6.2 Material și metodă.....	42
6.3 Rezultate.....	45
6.4 Discuții	48
6.5 Concluzii.....	53
7. Profil clinic, imunohistochimic și inflamator în cancerul colorectal: impactul statusului MMR.....	54
7.1 Introducere.....	54
7.2 Material și metodă.....	56



7.3 Rezultate.....	59
7.4 Discuții.....	65
7.5 Concluzii.....	72
8. Expresia plasmatică a sTNF-R, TNF-α, PDGF-AA, IL-17A și IL-1β ca potențiali biomarkeri în cancerul colorectal.....	73
8.1 Introducere.....	73
8.2 Material și metodă.....	75
8.3 Rezultate.....	79
8.4 Discuții.....	84
8.5 Concluzii.....	89
9. Expresia diferențială a unor transcripte HERV și corelațiile acestora cu biomarkeri moleculari în cancerul colorectal.....	90
9.1 Introducere.....	90
9.2 Material și metodă.....	92
9.3 Rezultate.....	96
9.4 Discuții.....	105
9.5 Concluzii.....	115
10. Concluzii și contribuții personale.....	117
Bibliografie.....	121
Anexe.....	162

Introducere

Titlul tezei de doctorat, „**Aplicațiile tehnicilor de biologie moleculară în managementul personalizat al cancerului colorectal**” reflectă preocupările actuale din domeniul oncologiei digestive cu privire la integrarea biomarkerilor moleculari în diagnosticul, evaluarea prognostică și optimizarea conduitei terapeutice a pacienților cu afecțiuni maligne. Cancerul colorectal (CRC) reprezintă una dintre cele mai importante probleme de sănătate publică, atât prin incidența și mortalitatea ridicate, cât și prin heterogenitatea sa clinică și biologică. În România, CRC este cel mai frecvent tip de cancer diagnosticat la ambele sexe, ocupând locul doi între cauzele de mortalitate oncologică, ceea ce justifică interesul crescut pentru dezvoltarea unor instrumente moderne utile pentru managementul diagnostic și terapeutic al acestei afecțiuni [1]. În acest context, evaluarea clinică, imagistică și histopatologică nu este întotdeauna suficientă pentru a surprinde diversitatea biologică a tumorilor colorectale, ceea ce justifică necesitatea utilizării unor tehnici moderne de biologie moleculară.

Motivația alegerii temei de cercetare a derivat din necesitatea depășirii limitelor abordării convenționale a CRC prin integrarea unor biomarkeri moleculari în managementul personalizat al acestor pacienți. Diferențele de agresivitate biologică, răspuns terapeutic și prognostic observate la pacienți cu același stadiu tumoral sugerează existența unor particularități moleculare importante, insuficient valorificate în practica medicală curentă. Actualitatea temei este susținută de creșterea incidenței CRC cu debut precoce (EO-CRC), definit drept CRC diagnosticat la o vârstă ≤ 50 ani, precum și de extinderea utilizării biomarkerilor moleculari și de interesul tot mai mare pentru testele non-invasive și pentru medicina personalizată. Astfel, deși implementarea unor programe de screening a îmbunătățit diagnosticul precoce al CRC la pacienții cu vârstă peste 50 ani și a contribuit la scăderea poverii globale asociate acestei afecțiuni, procentul pacienților cu EO-CRC a crescut constant în ultimele decenii [2-4]. Din punct de vedere molecular, EO-CRC, comparativ cu CRC diagnosticat după vârsta de 50 ani (LO-CRC), are o frecvență diferită a mutațiilor oncogene, o prevalență crescută a histologiei mucinoase (slab diferențiată), un profil distinct de metilare ADN, localizare mai distală și rate

mai slabe de supraviețuire [2,5]. În concordanță cu aceste date, în anul 2018, American Cancer Society a redus vârsta de inițiere a strategiilor de screening pentru CRC la 45 ani [6]. În Europa, însă, ghidurile recomandă, în continuare, aplicarea strategiilor de screening la indivizii cu vârstă cuprinsă între 50 și 74 de ani [7]. Date recente sugerează însă o tendință crescătoare a incidenței EO-CRC și la nivel european [8,9].

Pe de altă parte, biomarkerii genomici, epigenomici, transcriptomici și proteomici s-au dovedit a contura o direcție esențială pentru optimizarea managementului pacienților cu CRC. Astfel, până în prezent Food and Drug Administration (FDA) a aprobat o serie de teste moleculare pentru screeningul non-invaziv al CRC, precum Cologuard, Cologuard Plus, Colosense, Shield sau ColoHealth [6,10]. În plus, pe lângă contribuția la detectarea precoce a bolii, acești biomarkeri pot oferi informații valoroase privind prognosticul, riscul de progresie tumorală, probabilitatea de recidivă și răspunsul la tratamentele oncologice. Astfel, identificarea alterărilor moleculare precum mutațiile KRAS, NRAS, BRAF, statusul sistemului de reparare a erorilor de replicare ADN (MMR/MSI), amplificarea human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), sau modificările transcriptomice și proteomice asociate chimiorezistenței permit o stratificare biologică mai precisă a pacienților și susțin alegerea unei conduite terapeutice personalizate. În acest context, testele moleculare nu au doar valoare diagnostică, ci reprezintă instrumente cu utilitate predictivă, contribuind la individualizarea tratamentului și, implicit, la ameliorarea prognosticului pacienților cu CRC.

Teza de doctorat este structurată în două secțiuni principale: partea generală și partea dedicată contribuțiilor personale. Partea generală cuprinde trei capitole, care prezintă date epidemiologice și etiopatogenice, aspecte legate de diagnosticul și screeningul CRC, precum și rolul biomarkerilor moleculari în managementul acestei afecțiuni. Partea de contribuții personale cuprinde șapte capitole care prezintă ipoteza de lucru și obiectivele generale ale cercetării, metodologia cercetării, precum și rezultatele studiilor desfășurate pe parcursul cercetării doctorale. Conținutul tezei, rezultat atât din analiza critică a literaturii de specialitate, cât și din cercetarea original efectuată a fost valorificat prin publicarea a 19 articole originale și articole de tip review în reviste indexate internațional. În ansamblu, structura tezei integrează baza teoretică a temei și rezultatele cercetării doctorale privind CRC.

Contribuții personale

Capitolul 4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale ale cercetării

Ipoteza de cercetare a tezei a fost că heterogenitatea clinică și biologică a CRC poate fi caracterizată mai precis prin integrarea tehnicilor de biologie moleculară cu datele clinice, histopatologice și imunohistochimice, iar această abordare poate conduce la identificarea unor biomarkeri utili pentru diagnosticul precoce, stratificarea prognostică și personalizarea managementului terapeutic. În acord cu această ipoteză, cercetarea a urmărit, ca obiectiv principal, investigarea rolului tehnicilor moderne de biologie moleculară în caracterizarea CRC și în optimizarea managementului acestor pacienți, prin analiza integrată a markerilor moleculari, imunohistochimici și inflamatori, precum și a corelațiilor acestora cu particularitățile clinico-patologice ale bolii. Printre obiectivele specifice ale cercetării doctorale s-au numărat:

1. Evaluarea comparativă a caracteristicilor epidemiologice, clinice, imagistice, histopatologice și imunohistochimice la pacienții cu EO-CRC comparativ cu cei cu LO-CRC, pentru identificarea unor factori asociați cu evoluția mai agresivă a EO-CRC. De asemenea, am urmărit o mai bună caracterizare a EO-CRC în populația din România și identificarea unor elemente utile pentru optimizarea strategiilor de diagnostic și stratificarea riscului.
2. Evaluarea statusului MMR la pacienții cu CRC și analiza corelațiilor dintre deficitul MMR și caracteristicile clinice, histopatologice, imunohistochimice și inflamatorii, în vederea identificării unor markeri cu relevanță prognostică și potențială utilitate în orientarea managementului terapeutic.
3. Evaluarea profilului plasmatic al unor mediatori inflamatori implicați în carcinogeneza colorectală (TNF-R, TNF- α total, PDGF-AA, IL-17A, IL-1 β) la pacienți cu polipi colorectali, EO-CRC și LO-CRC, comparativ cu indivizi sănătoși, în vederea identificării unor semnături inflamatorii cu potențial diagnostic și prognostic.
4. Evaluarea profilului de expresie a unor transcripțe asociate HERV în țesutul tumoral colorectal comparativ cu țesutul adiacent non-tumoral și investigarea relației acestora cu

biomarkeri moleculari implicați în inflamație, proliferare celulară și controlul ciclului celular, adaptare la micromediul tumoral hipoxic, angieneză, integritate epitelială și invazie tumorală, în vederea clarificării relevanței lor biologice și a potențialului lor ca biomarkeri diagnostici, prognostici și potențiale ținte terapeutice.

Capitolul 5. Metodologia generală a cercetării

Cercetarea doctorală a avut un design mixt, incluzând două studii retrospective și două studii prospective, cu caracter exploratoriu. În cadrul acestora au fost înrolați pacienți ai Spitalului Clinic de Urgență București cu diagnostic de CRC confirmat histopatologic, pe o perioadă de trei ani, între februarie 2023 și februarie 2026, după cum urmează:

- Primul studiu a inclus 204 pacienți cu CRC, pe care i-am împărțit în două grupuri: grupul 1 – pacienți cu EO-CRC și grupul 2 – pacienți cu LO-CRC;
- Al doilea studiu a inclus 264 pacienți cu CRC, pe care i-am împărțit în două grupuri: grupul 1 – pacienți cu status MMR pozitiv și grupul 2 – pacienți cu status MMR negativ;
- Al treilea studiu a inclus 51 pacienți cu LO-CRC, 11 pacienți cu EO-CRC, 16 pacienți cu polipi colorectali și 10 subiecți sănătoși, fără leziuni colorectale cunoscute, de la care s-au recoltat probe de sânge periferic;
- Al patrulea studiu a inclus 21 pacienți cu CRC, de la care s-au recoltat probe tisulare și probe de sânge periferic;

Înainte de inițierea cercetării, a fost obținut avizul Comisiei de Etică a Spitalului Clinic de Urgență București (numărul 1400/07.02.2023), iar pentru prelucrarea probelor biologice în cadrul Institutului de Virusologie Ștefan S. Nicolau din București a fost încheiat un contract cadru de colaborare între cele două instituții (numărul 560/12.04.2022). Pacienții incluși în studiile retrospective și-au exprimat acordul pentru utilizarea datelor medicale în scop de cercetare, iar cei incluși în studiile prospective au semnat suplimentar un consimțământ informat pentru recoltarea probelor biologice.

Criteriile generale de includere au fost reprezentate de diagnosticul histopatologic confirmat de CRC și de semnarea consimțământului informat, la care s-au adăugat criterii specifice fiecărui studiu, precum disponibilitatea rezultatelor examenului imunohistochimic sau absența

unor cancere cu altă localizare, a infecțiilor recente și a bolilor autoimune. Criteriile de excludere au inclus refuzul participării la studiu, prezența unor malignități sincrone, infecții recente sau boli autoimune și lipsa unor date clinice sau paraclinice relevante pentru analiza statistică.

Metodologia cercetării a cuprins mai multe etape succesive: definirea cadrului teoretic prin analiza literaturii de specialitate, formularea ipotezei și a obiectivelor, elaborarea protocolului de studiu, constituirea loturilor de pacienți și standardizarea procedurilor de recoltare, transport, prelucrare și depozitare a probelor biologice. Datele demografice, clinice și paraclinice au fost colectate din documentele medicale și centralizate în baze de date dedicate. Pentru studiile prospective au fost recoltate probe de sânge periferic și, după caz, probe pereche de țesut tumoral și țesut adiacent non-tumoral. Probele de sânge au fost centrifugate, cu separarea plasmei și depozitarea acestora la -80° Celsius, iar probele tisulare au fost prelevate din piesele chirurgicale, transportate în condiții standardizate și conservate în aceleași condiții până la analiză.

Determinarea concentrațiilor citokinelor plasmatice s-a realizat prin metoda enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), iar analiza expresiei genice la nivel tisular a fost efectuată prin reacția de polimerizare în lanț (PCR) cantitativă în timp real, după extracția ARN total și revers-transcriere. Astfel, au fost determinate concentrațiile plasmatice ale unor citokine cu rol dovedit în oncogeneză, respectiv: superfamilia de receptori ai factorului de necroză tumorală (sTNF-R), factorul de necroză tumorală alpha total (TNF- α total), factorul de creștere derivat din plachete AA (PDGF-AA), interleukina 17A (IL-17A) și interleukina 1 β (IL-1 β), conform protocoalelor în vigoare. De asemenea, s-a evaluat expresia tisulară pentru o serie de transcripți asociate elementelor retrovirale endogene umane - HERV (HERV-FRD, HERV-R, HERV-V1, HERV-1, HERV-H, HERV-K, endogenous retroviral family W, ENV member 1 - ERVWE1), molecule imunomodulatoare, precum human endogenous retrovirus-H long terminal repeat-associating 1 (HHLA1) și human endogenous retrovirus-H long terminal repeat-associating 2 (HHLA2), familia de interleukine 17 (IL-17A-F) și nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF κ B). Ulterior, am evaluat un panel extins de markeri implicați în proliferarea celulară, angiogeneză, adeziunea celulară și integritatea barierei epiteliale (dihidrofolat reductaza- DHFR, proliferating cell nuclear antigen - PCNA, antigenul Kiel 67 - Ki67, tyrosine

kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domains - TIE1, cyclin B1 - CCNB1, angiopoietina 1 - ANGPT1, ocludina - OCLN, tight junction protein 1 - TJP1, Egl-9 family hypoxia inducible factor 2 - EGLN2, inhibitorul tisular al metaloproteinazei 1 - TIMP1, CD62 (L-selectina), beta-catenina, intercellular adhesion molecule - ICAM, vascular cell adhesion molecule - VCAM, epidermal growth factor receptor - EGFR, vascular endothelial growth factor receptor 2 - VEGFR2, endotelina 1 - EDN1). Nivelurile relative de expresie au fost calculate prin metoda comparativă $Ct (2^{-\Delta\Delta Ct})$, normalizată la gena de referință glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). Analiza statistică a fost realizată cu ajutorul programelor SPSS, R și Python, în funcție de obiectivele fiecărui studiu. În final, rezultatele au fost integrate pentru conturarea unui profil specific carcinogenezei colorectale și pentru identificarea unor biomarkeri cu potențial diagnostic, prognostic și terapeutic. Semnificația statistică a fost stabilită pentru $p < 0,05$.

Capitolul 6. Diferențe prognostice între cancerul colorectal cu debut precoce și cancerul colorectal cu debut tardiv

Introducere. Studiile ultimilor ani au raportat o creștere a incidenței EO-CRC, care pare să reprezinte o entitate distinctă față de LO-CRC, prin particularități epidemiologice, anatomice, histopatologice și moleculare [11]. Mai mult, cercetările recente estimează că până în anul 2030, ratele de diagnostic ale cancerului de colon cu debut precoce vor crește cu 27,7%, iar cele ale cancerului rectal cu debut precoce cu 46% [12]. Din păcate, creșterea alarmantă a incidenței EO-CRC, descrisă de studiile epidemiologice, nu a fost însoțită de un număr semnificativ de studii observaționale sau experimentale care să permită atât îmbunătățirea ratelor de diagnostic precoce ale acestei afecțiuni, cât și optimizarea managementului terapeutic [13]. În acest context, obiectivul studiului nostru a fost evaluarea comparativă a unor variabile demografice, clinice, histopatologice și imunohistochimice la pacienții cu EO-CRC și cei cu LO-CRC, în vederea identificării unor elemente care ar putea explica caracterul mai agresiv al EO-CRC și ar putea contribui la optimizarea managementului acestor pacienți [11].

Material și metodă. Am realizat un studiu retrospectiv, observațional, desfășurat pe o perioadă de doi ani (ianuarie 2021 – ianuarie 2023), în care am inclus 204 pacienți internați în

cadrul Spitalului Clinic de Urgență București cu diagnostic histopatologic confirmat de CRC. Pacienții au fost împărțiți în două loturi, în funcție de vârstă la diagnostic: lotul EO-CRC, format din pacienți diagnosticați cu CRC la vârsta de cel mult 50 ani și lotul LO-CRC, format din pacienți diagnosticați după vârsta de 50 ani [11].

Au fost analizate variabile demografice, clinice, endoscopice, histopatologice și imunohistochimice, precum și comorbiditățile, antecedentele heredocolaterale, valorile serice ale unor markeri biologici și durata de spitalizare. Prelucrare statistică a datelor a fost realizată cu ajutorul programului IBM SPSS Statistics, utilizând teste de comparație pentru variabilele categoriale și continue, precum și modele de regresie liniară și logistică pentru evaluarea asocierilor independente și controlul potențialilor factori de confuzie [11].

Rezultate, discuții și concluzii. Din totalul pacienților incluși în studiu, 11,3% au fost diagnosticați cu EO-CRC, majoritatea acestora încadrându-se în grupa de vârstă 45-50 ani (61%) [11]. Validăm astfel, datele din literatura de specialitate conform cărora screeningul pentru CRC, la grupa de vârstă 45-50 ani, ar putea avea un impact semnificativ asupra prognosticului acestor pacienți [11,14]. De asemenea, s-a observat o ușoară predominanță a sexului masculin în ambele loturi de studiu, mai accentuată însă în rândul pacienților cu EO-CRC (64,4% versus 53,6%), dar fără semnificație statistică ($p = 0,509$) [11].

Pacienții cu EO-CRC au prezentat mai frecvent tumori cu localizare distală și aspect endoscopic stenoizant (43,5% versus 29,3%), însă această diferență nu a atins pragul de semnificație statistică [11]. De asemenea, am urmărit stadializarea TNM și am identificat tendința la diagnostice în stadii avansate pentru ambele loturi de pacienți [11]. În schimb, din punct de vedere histopatologic, adenocarcinomul mucinos a fost mai frecvent la pacienții cu EO-CRC, comparativ cu cei cu LO-CRC (34,8% versus 14,4%) [11]. În mod similar, acești pacienți au prezentat un procent mai mare de tumori slab diferențiate (39,1% versus 14,2%; $p = 0,010$), rezultate ce susțin caracterul mai agresiv al acestei forme de boală [11].

Rezultatele examenului imunohistochimic, disponibile la un număr limitat de pacienți, au evidențiat diferențe semnificative statistic pentru expresia caudal-type homeobox transcription factor 2 (CDX2) și HER2 între cele două loturi de studiu. Astfel, CDX2 a fost negativ la toți pacienții cu EO-CRC evaluați, în timp ce 58,5% dintre pacienții cu LO-CRC au avut expresie

pozitivă pentru CDX2 ($p = 0,012$). În contrast, HER2 a fost pozitiv la 50% dintre pacienții cu EO-CRC și la niciun pacient cu LO-CRC ($p = 0,002$) [11]. De asemenea, rata de pozitivitate a mutS homolog 2 (MSH2) a fost mai mare în lotul LO-CRC (76,5% versus 33,3%), diferență aflată la limita semnificației statistice ($p = 0,056$) [11]. Supraexpresia HER2 în EO-CRC poate contribui la agresivitatea tumorală prin activarea unor căi oncogenice esențiale, incluzând semnalizarea PI3K/AKT și MAPK, care promovează proliferarea celulară, supraviețuirea și metastazarea [15,16]. În plus, alterările HER2 au fost corelate cu rezistența la chimioterapia convențională, fapt ce sugerează un potențial beneficiu al terapiilor țintite anti-HER2 la pacienți selectați cu EO-CRC [17].

Analiza regresiei logistice a identificat fumatul și hipertensiunea arterială (HTA) ca factori asociați independent cu EO-CRC. Pentru fumat, valoarea odds ratio (OR) a fost de 3,450, indicând un risc de 3,45 ori mai mare de EO-CRC la fumători, comparativ cu nefumătorii [11]. În ceea ce privește legătura dintre prezența HTA și creșterea riscului de EO-CRC, considerăm că este vorba, mai degrabă, de HTA din cadrul sindromului metabolic [11]. În ceea ce privește markerii biologici, nu s-au identificat diferențe semnificative pentru antigenul carcinoembrionar (CEA) și antigenul carbohidrat 19-9 (CA 19-9), însă valorile albuminei au fost semnificativ mai mari la pacienții cu EO-CRC ($p = 0,002$) [11]. Durata medie de spitalizare a pacienților incluși în studiul nostru a fost de 14,51 zile, iar singurul parametru care a influențat durata de spitalizare, într-o manieră semnificativă statistic, a fost nivelul seric al albuminei [11].

În concluzie, rezultatele studiului nostru susțin caracterul mai agresiv al EO-CRC comparativ cu LO-CRC, explicat prin frecvența mai mare a tipului histologic mucinos, a gradului slab de diferențiere tumorală, a expresiei crescute a unor factori pro-oncogeni, precum HER2, respectiv a expresiei reduse a unor factori supresori tumorali, precum CDX2 [11]. Totodată, asocierea cu factori de risc modificabili, precum fumatul și HTA, subliniază necesitatea unor strategii preventive și de screening personalizat [11].

Capitolul 7. Profil clinic, imunohistochimic și inflamator în cancerul colorectal: impactul statusului MMR

Introducere. Evaluarea statusului MMR s-a dovedit a avea un rol important în

managementul pacienților cu CRC, prin implicațiile sale diagnostice, prognostice și terapeutice [18]. Deficitul MMR determină instabilitate microsatelitară (MSI) și se asociază frecvent cu anumite particularități clinico-patologice, precum localizare proximală, stadiu tumoral avansat, diferențiere slabă și infiltrat tumoral limfocitar abundent [19]. Rolul prognostic al MSI în evaluarea pacienților cu CRC rămâne însă controversat. În acest context, ne-am propus evaluarea statusului MMR la pacienții cu CRC, precum și identificarea unor corelații între profilurile clinice, imunohistochimice și inflamatorii ale acestora [18]. Obiectivul secundar a fost reprezentat de identificarea unor potențiali biomarkeri prognostici care pot ghida managementul terapeutic al CRC în vederea ameliorării calității și duratei de viață a acestor pacienți [18].

Material și metodă. Am realizat un studiu retrospectiv, observațional, care a inclus 264 de pacienți cu diagnostic histopatologic confirmat de CRC, internați în cadrul Spitalului Clinic de Urgență București, pe o perioadă de 10 ani (ianuarie 2015 – ianuarie 2025). Pacienții au fost împărțiți în două grupuri, în funcție de statusul MMR: grupul cu expresie păstrată a tuturor proteinelor MMR (status MMR pozitiv) și grupul cu pierderea expresiei a cel puțin uneia dintre proteinele mutL homolog 1 (MLH1), MSH2, mutS homolog 6 (MSH6) sau postmeiotic segregation increased 2 (PMS2) (status MMR negativ). Au fost analizate variabilele clinice, histopatologice, imunohistochimice și inflamatorii, incluzând localizarea tumorală, gradul de diferențiere, stadiul TNM, expresia unor markeri precum CDX2, citokeratina 7 (CK7), citokeratina 20 (CK20) și Ki67, precum și markerii inflamatori sistemici, NLR (raportul neutrofile/limfocite) și PLR (raportul plachete/limfocite) [18]. Analiza statistică a fost realizată cu ajutorul limbajului Python, utilizând teste comparative, modele de regresie și interpretarea valorilor SHAP pentru evaluarea impactului predictorilor asupra evoluției clinice [18].

Rezultate, discuții și concluzii. Deficitul MMR a fost identificat la 18,18% dintre pacienți. Dintre cei cu status MMR negativ, 6,25% au prezentat pierderea expresiei unei singure proteine, 91,67% pierderea expresiei a două proteine, iar 2,08% (un singur pacient) pierderea expresiei tuturor celor patru proteine [18]. Cea mai frecventă alterare a fost reprezentată de pierderea expresiei MLH1, urmată de PMS2, iar asocierea pierderii concomitente a expresiei MLH1/PMS2 a fost observată la 77,08% dintre pacienții cu deficit MMR [18]. În ceea ce

privește indicele de proliferare Ki67, evaluat la 39% dintre pacienți, 97,08% au prezentat valori peste pragul de 25% [18]. Analiza comparativă a arătat că deficitul MMR a fost mai frecvent la femei ($p < 0,001$), la pacienții cu tumori localizate la nivelul colonului drept ($p < 0,001$) și la cei cu tumori slab diferențiate (62,5% G3 în lotul MMR negativ; $p < 0,001$) [18]. De asemenea, pierderea expresiei CDX2 a fost semnificativ mai frecvent asociată cu deficitul MMR (42,85% versus 5,36%; $p < 0,001$) [18]. În schimb, markerii inflamatori sistemici, NLR și PLR, nu au prezentat diferențe semnificative statistic între grupuri.

Analiza individuală a proteinelor MMR a evidențiat asocieri distincte. Astfel, pierderea expresiei MLH1 a fost mai frecventă la femei ($p = 0,004$), la pacienții cu tumori localizate la nivelul colonului drept ($p < 0,001$) și la cei cu tumori slab diferențiate ($p < 0,001$) [18]. De asemenea, pierderea expresiei MLH1 s-a asociat cu pierderea expresiei CDX2 ($p < 0,001$) [18]. Pierderea expresiei MSH2 a fost rară ($\leq 3,6\%$) și s-a corelat semnificativ doar cu tumorile slab diferențiate ($p = 0,01$) [18]. În mod similar, pierderea expresiei MSH6, observată la mai puțin de 3% dintre pacienți, s-a asociat semnificativ cu tipul histologic, fiind identificată la 20% dintre adenocarcinoamele cu celule în inel cu pecete, 6,5% dintre adenocarcinoamele mucinoase, 0,8% dintre adenocarcinoamele NOS și 0% dintre tumorile neuroendocrine ($p = 0,001$) [18]. Pierderea expresiei PMS2 s-a asociat semnificativ cu sexul feminin ($p = 0,015$), localizarea la nivelul colonului drept ($p = 0,003$) și gradul slab de diferențiere tumorală ($p < 0,001$) [18].

Durata medie de spitalizare a fost de 13,9 zile, iar rata de deces intraspitalicesc de 7,69% [18]. Analizele de regresie multivariată și modelele de tip Random Forest, completate de interpretarea valorilor SHAP, au arătat că principalii factori asociați cu prelungirea duratei de spitalizare au fost statusul MMR pozitiv și gradul slab de diferențiere tumorală, iar localizarea la nivelul colonului drept a avut un efect mai modest [18]. Cel mai puternic predictor al mortalității intraspitalicești a fost adenocarcinomul mucinos, urmat de localizarea la nivelul colonului drept și gradul slab de diferențiere tumorală [18]. În ceea ce privește supraviețuirea globală, nu au fost identificate diferențe semnificative statistic între pacienții cu status MMR pozitiv și cei cu deficit MMR, rata de deces fiind similară între cele două grupuri (35,6% versus 35,4%, 95% CI 0,51 – 1,90) [18]. Totuși, analiza SHAP a sugerat că gradul slab de diferențiere tumorală și localizarea la nivelul colonului drept s-au asociat cu un risc crescut de mortalitate

de orice cauză, în timp ce statusul MMR pozitiv a avut un efect modest, dar în general nefavorabil [18].

În concluzie, rezultatele noastre susțin faptul că deficitul MMR se asociază cu un profil clinico-patologic distinct, caracterizat prin vârstă mai tânără, sex feminin, localizare proximală a tumorilor, grad slab de diferențiere și pierderea expresiei CDX2, confirmând valoarea statusului MMR ca biomarker relevant pentru caracterizarea biologică și stratificarea prognostică a pacienților cu CRC [18].

Capitolul 8. Expresia plasmatică a sTNF-R, TNF- α , PDGF-AA, IL-17A și IL-1 β ca potențiali biomarkeri în cancerul colorectal

Introducere. Studiile ultimilor ani s-au focusat atât pe elucidarea mecanismelor fiziopatologice ce conduc la apariția CRC, cât și pe identificarea unor noi instrumente care să faciliteze diagnosticul precoce și să optimizeze managementul terapeutic al acestor pacienți. Astfel, accesibilitatea și caracterul non-invaziv al testelor sangvine au generat un interes considerabil [20-23]. De asemenea, dintre diferitele mecanisme implicate în carcinogeneză, calea inflamatorie a atras în mod deosebit atenția, numeroase studii descriind rolurile celulare și moleculare ale inflamației în inițierea și progresia tumorală [23-25]. Totuși, mecanismele exacte prin care inflamația cronică contribuie la carcinogeneză nu sunt pe deplin elucidate [26].

În acest context, prezentul studiu a urmărit investigarea relației dintre mediatorii inflamatori sistemici și CRC, prin analiza nivelurilor plasmatică a cinci citokine cu roluri bine stabilite în biologia tumorală: sTNF-R, TNF- α total, PDGF-AA, IL-17A și IL-1 β [27]. Aceste citokine au fost selectate deoarece reprezintă componente esențiale și complementare ale semnalizării inflamatorii pro-oncogene: IL-1 β și TNF- α sunt activatori centrali ai căilor NF- κ B/STAT3, sTNF-R este un indicator sistemic stabil al inflamației mediate de TNF, PDGF-AA reflectă activarea stromală și angiogeneza, în timp ce IL-17A surprinde axa T helper 17 (Th17) implicată în invazia tumorală [27]. Originalitatea acestui studiu a constatat în evaluarea comparativă a acestor biomarkeri în patru grupuri distincte: martori sănătoși, pacienți cu polipi colorectali, pacienți cu EO-CRC și LO-CRC [27]. Obiectivul principal a fost identificarea unor diferențe de expresie care să distingă între etapele carcinogenezei colorectale, iar obiectivul

secundar a fost evaluarea potențialului combinat al acestor citokine pentru dezvoltarea cu kit diagnostic [27].

Material și metodă. Am realizat un studiu exploratoriu, prospectiv, de tip caz-control, desfășurat între februarie 2023 și octombrie 2025, în care am inclus 10 subiecți sănătoși, 16 pacienți cu polipi adenomatoși colorectali, 11 pacienți cu EO-CRC și 51 pacienți cu LO-CRC [27]. Toți subiecții și-au exprimat acordul cu privire la recoltarea de probe biologice și utilizarea datelor medicale în scop de cercetare, iar studiul a fost aprobat de către Comisia de Etică a Spitalului Clinic de Urgență București. De la fiecare subiect s-au recoltat probe de sânge periferic, care au fost transportate la Institutul de Virusologie Ștefan S. Nicolau din București pentru prelucrare și depozitare. Astfel, după centrifugare, plasma a fost depozitată la -80° Celsius până la analiză. Determinarea concentrațiilor plasmatice ale sTNF-R, TNF- α total, PDGF-AA, IL-17A și IL-1 β s-a realizat prin metoda ELISA, utilizând kituri comerciale validate. Analiza statistică a fost efectuată cu ajutorul programelor R și Python, folosind teste neparametrice, ajustarea pentru testări multiple prin metoda Benjamini-Hochberg (FDR), estimarea mărimii efectului, analize ROC și modele de regresie logistică multivariată [27].

Rezultate, discuții și concluzii. Analiza descriptivă a identificat diferențe semnificative statistic între grupurile patologice pentru vârstă, statusul de fumător, localizarea formațiunilor tumorale și stadiul tumoral [27]. Lotul pacienților cu polipi colorectali a prezentat cea mai mare proporție de fumători (75%), urmat de lotul pacienților cu EO-CRC (63,6%) și ulterior, de cel al pacienților cu LO-CRC (33,3%) [27]. De asemenea, pacienții cu polipi colorectali au prezentat mai frecvent leziuni localizate la nivelul colonului stâng, pacienții cu EO-CRC au avut o distribuție predominant distală a formațiunilor tumorale, iar cei cu LO-CRC au prezentat mai frecvent tumori localizate la nivelul colonului drept ($p = 0,010$) [27]. Raportat la stadiul tumoral, pacienții cu EO-CRC au fost diagnosticați mai frecvent în stadiul IV de boală comparativ cu pacienții cu LO-CRC (45,5% versus 15,7%; OR = 4,48; $p = 0,043$) [27].

Dintre cele cinci citokine analizate, PDGF-AA a prezentat cele mai marcate diferențe între lotul control și toate loturile patologice, cu valori mult mai mari la pacienții cu polipi colorectali și CRC comparativ cu subiecții sănătoși [27]. După ajustarea pentru testări multiple, diferențele privind nivelul plasmatic al PDGF-AA între loturile analizate au rămas semnificative statistic,

confirmându-se că acest biomarker a fost cel mai robust dintre cei analizați. În schimb, sTNF-R a prezentat niveluri mai ridicate la subiecții control comparativ cu loturile patologice, însă aceste diferențe nu și-au menținut semnificația statistică după corecția FDR [27]. Pentru TNF- α total și IL-1 β nu au fost identificate diferențe semnificative statistic între grupuri [27]. IL-17A a prezentat diferențe modeste: subiecții control au avut niveluri ușor mai mari față de pacienții cu LO-CRC, iar pacienții cu EO-CRC au avut valori ușor mai mari comparativ cu cei cu LO-CRC, diferențe care nu și-au menținut însă semnificația statistică după ajustarea FDR [27].

Evaluarea performanței diagnostice a panelului format din cele cinci citokine a arătat o bună capacitate aparentă de discriminare între subiecții sănătoși și loturile patologice, cu valori AUC între 0,90 și 0,99. În schimb, capacitatea de diferențiere între subgrupurile patologice a fost modestă, cu valori AUC între 0,60 și 0,66 [27]. Un panel redus, alcătuit din sTNF-R, PDGF-AA și IL-17A a demonstrat, de asemenea, o bună capacitate aparentă de discriminare între subiecții sănătoși și grupurile patologice, însă după validarea internă prin bootstrap, valorile AUC corectate s-au redus, iar în comparațiile dintre subgrupurile patologice s-a evidențiat, de asemenea, o capacitate modestă de discriminare [27].

În concluzie, rezultatele noastre sugerează că semnalizarea inflamatorie sistemică poate reflecta anumite aspecte ale oncogenezei colorectale. PDGF-AA este cel mai promițător biomarker plasmatic dintre cei analizați pentru diferențierea subiecților sănătoși de pacienții cu leziuni colorectale, în concordanță cu rolul său cunoscut în activarea stromală și semnalizarea angiogenică [27]. Kitul multimarker extins la cele cinci citokine, dar și cel redus la citokinele care au prezentat cele mai mari diferențe între loturile analizate, a demonstrat o bună capacitate aparentă de discriminare între subiecții sănătoși și pacienții cu leziuni colorectale, însă a prezentat doar o acuratețe modestă în diferențierea subgrupurilor patologice între ele. Sunt necesare studii viitoare, pe cohorte mai mari, pentru validarea rezultatelor noastre.

Capitolul 9. Expresia diferențială a unor transcripte HERV și corelațiile acestora cu biomarkeri moleculari în cancerul colorectal

Introducere. Studiile ultimilor ani s-au concentrat pe etiopatogeneza CRC, o atenție deosebită atrăgând rolul microbiomului intestinal, precum și al HERV [28-30]. HERV

reprezintă aproximativ 8% din genomul uman [31]. Legătura dintre expresia HERV și oncogeneză este controversată, putând fi explicată fie prin dereglări epigenetice, fie prin activitatea lor de promotor asupra oncogenelor [32]. Mecanismele prin care HERV pot influența procesele de sinteză proteică sunt multiple: producția directă de proteine derivate din secvențele interne HERV (Env, Gag, Pol), fenomenul de oncoexaptare între o genă și un HERV, acțiunea HERV ca long non-coding ARN (lncARN) capabil să moduleze expresia unei gene [32,33]. Având în vedere aceste aspecte, scopul prezentului studiu a fost de a evalua profilul de expresie al unor transcripte HERV atât la nivelul țesutului tumoral colorectal, cât și la nivelul țesutului adiacent non-tumoral și de a explora relațiile acestora cu un panel extins de biomarkeri implicați în procese-cheie ale oncogenezei. Am ales transcriptele HERV-FRD, HERV-R, HERV-K, HERV-V1, HERV-1, HERV-H și ERVWE1, precum și moleculele imunoreglatoare HHLA1 și HHLA2 datorită relevanței lor biologice în carcinogeneză, inclusiv prin potențialul unor membri ai acestui grup de a genera proteine de tip Env, de a se asocia cu dereglări epigenetice și de a contribui la fenomene de mimică virală, activare interferonică și remodelare a contextului imun tumoral. În paralel, am selectat biomarkeri care acoperă dimensiuni complementare ale biologiei CRC: inflamație tumorală și semnalizarea imună (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F, NFκB), proliferare celulară și controlul ciclului celular (Ki67, PCNA, DHFR, CCNB1, EGFR), angiogeneză și adaptare la micromediul tumoral hipoxic (TIE1, VEGFR2, ANGPI1, EGLN2, EDN1), invazie, metastazare și tranziție epitelio-mezenchimală (markeri de adeziune/invazie - ICAM, VCAM, CD62/L-selectin, TIMP1; markeri de integritate epitelială – beta-catenina, OCLN, TJP1). În mod particular, ne-am propus să caracterizăm tiparele de co-expresie dintre familiile HERV și acești biomarkeri și să evaluăm dacă variațiile lor se aliniază cu semnături moleculare sugestive pentru un microambient tumoral specific. Prin această abordare integrativă, studiul nostru a urmărit să clarifice semnificația biologică a expresiei HERV în CRC și să exploreze potențialul acestora ca biomarkeri moleculari diagnostici, prognostici și terapeutici. De asemenea, având în vedere datele foarte limitate cu privire la implicarea HERV în carcinogeneza colorectală am urmărit deschiderea unor noi direcții de cercetare.

Material și metodă. Am realizat un studiu exploratoriu, unicentric, care a inclus 21

pacienți cu CRC, supuși intervenției chirurgicale în scop curativ sau paliativ, fără tratamente oncologice anterioare. Studiul s-a desfășurat între februarie 2023 și februarie 2025, în cadrul Spitalului Clinic de Urgență București și al Institutului de Virusologie Ștefan S. Nicolau din București. Toți participanții au semnat consimțământ informat, iar studiul a fost aprobat de Comisia de Etică a Spitalului Clinic de Urgență București.

De la fiecare pacient au fost recoltate probe pereche de țesut tumoral și țesut adiacent non-tumoral, obținute din piesele de rezecție chirurgicală, înaintea fixării acestora în formol. După transport și depozitare -80° Celsius, ARN-ul total a fost extras cu reactiv TRIzol, urmat de evaluarea purității și integrității acestuia. Ulterior, s-a realizat sinteza ADNc, utilizând High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, iar expresia genelor țintă a fost analizată prin PCR cantitativ în timp real cu Maxima SYBR Green qPCR Master Mix, folosind primeri validați de OriGene Technologies. Expresia relativă a genelor a fost calculată utilizând metoda Ct ($2^{-\Delta\Delta Ct}$), normalizată la gena de referință GAPDH. Analiza statistică a fost realizată cu ajutorul programului R, utilizând teste neparametrice pentru eșantioane pereche, testul Wilcoxon signed-rank, testul McNemar exact, corelații Spearman pentru expresia diferențială pereche $\Delta(T-N)$, și corecția Benjamini-Hochberg pentru controlul erorii de tip I.

Rezultate, discuții și concluzii. Cohorta de studiu a inclus 21 pacienți, cu distribuție relativ omogenă pe sexe și vârstă medie de 64,2 ani. Tumorile au fost localizate mai frecvent la nivelul colonului stâng (42,9%), iar cele de la nivelul colonului drept și rectului au avut proporții comparabile (28,6% fiecare). Din punct de vedere histologic, a predominat adenocarcinomul NOS (90,5%), iar majoritatea tumorilor au fost moderat diferențiate (81% G2). Stadiul II a fost cel mai frecvent întâlnit, iar dintre comorbidități au predominat HTA (52,4%) și diabetul zaharat (38,1%).

Analiza pereche a expresiei transcriptelor HERV a evidențiat un tipar selectiv de dereglare la nivel tumoral. HERV-FRD, HERV-R, HERV-K, HERV-V1, ERVWE1, HHLA1 și HHLA2 au prezentat supraexpresie semnificativă în țesutul tumoral comparativ cu țesutul adiacent non-tumoral ($p \leq 0,031$). În contrast, HERV-1 și HERV-H nu au evidențiat diferențe consistente între țesutul tumoral și cel adiacent non-tumoral. În ceea ce privește biomarkerii inflamatori și imunologici, IL-17E a fost singura citokină din familia IL-17 care a prezentat o creștere

semnificativă a expresiei la nivel tumoral ($p = 0,001$). IL-17C a prezentat o tendință spre supraexpresie tumorală, dar fără semnificație statistică. Pentru IL-17A, IL-17B și IL-17F, numărul redus de probe cuantificabile a limitat analiza inferențială. Totuși, IL-17A a prezentat o detectabilitate semnificativ mai mare în țesutul tumoral decât în țesutul adiacent non-tumoral (McNemar $p = 0,031$). NF κ B nu a prezentat diferențe semnificative statistic între cele două tipuri de țesut.

Analiza markerilor de proliferare și metabolism celular a evidențiat supraexpresie tumorală semnificativă pentru Ki67, PCNA și DHFR, toate cu valori p semnificative statistic, susținând existența unui fenotip proliferativ activ la nivel tumoral. În schimb CCNB1 a prezentat o diferență mediană pereche negativă, sugerând o expresie mai mare în țesutul adiacent non-tumoral ($p = 0,014$), iar EGFR a prezentat o tendință discretă de scădere a expresiei la nivel tumoral, fără semnificație statistică. Dintre markerii implicați în procesele de angiogeneză și adaptare la hipoxie, TIE1 a fost detectat exclusiv în țesutul tumoral, apropiindu-se de pragul de semnificație statistică, VEGFR2 a avut o detectabilitate mai mare în tumoră (McNemar $p = 0,049$), iar EGLN2 a fost semnificativ supraexprimat la nivel tumoral ($p = 0,030$). EDN1 a prezentat doar o tendință de creștere a expresiei la nivel tumoral, fără semnificație statistică. În ceea ce privește markerii de adeziune și integritate epitelială, ICAM, VCAM și TIMP1 au avut creșteri modeste ale expresiei tumorale, fără semnificație statistică. În contrast, beta-catenina a fost semnificativ subexprimată în țesutul tumoral ($p = 0,024$), iar OCLN a prezentat o tendință de reducere a expresiei tumorale.

Analiza corelațiilor Spearman pe expresia diferențială pereche $\Delta(T-N)$ a evidențiat un tipar coerent de covariație între mai multe transcripte HERV (HERV-FRD, HERV-K, HERV-V1, HERV-R, ERVWE1), sugerând o posibilă dereglare coordonată a expresiei acestora în context tumoral. De asemenea, transcriptele HERV supraexprimate tumoral s-au corelat pozitiv cu IL-17E, sugerând asocierea acestui subset HERV/ERVWE1 cu un microambient inflamator legat de axa IL-17E, în absența unor corelații semnificative cu NF κ B. Totodată, HERV-FRD, HERV-K, HERV-V1, HERV-R, ERVWE1 și HHLA2 au prezentat corelații pozitive semnificative cu markerii de proliferare Ki67, PCNA și DHFR, susținând integrarea reactivării HERV într-un program proliferativ-metabolic activ. În plus, dintre markerii implicați în

procesul de adaptare la micromediul hipoxic, EGLN2 a prezentat corelații pozitive consistente cu transcriptele HERV supraexprimate tumoral, sugerând o legătură între reactivarea acestora și răspunsul hipoxic tumoral. În ceea ce privește markerii de invazie și remodelare tisulară, TIMP1 s-a corelat cu HERV-FRD, HERV-K, HERV-V1 și HERV-R, iar ERVWE1 a prezentat corelații pozitive semnificative cu ICAM și VCAM. În contrast, aceste transcripte HERV au prezentat corelații negative semnificative cu beta-catenina și OCLN, susținând ipoteza unei legături între reactivarea HERV, pierderea integrității epiteliale și activarea proceselor de tranziție epitelio-mezenchimală.

Nu au fost identificate asocieri robuste între expresia transcriptelor HERV și localizarea tumorală, tipul histologic, stadiul tumoral sau gradul de diferențiere, majoritatea comparațiilor evidențiind dimensiuni reduse ale efectului și valori *p* ne semnificative statistic. Aceste rezultate trebuie interpretate însă în contextul dimensiunii reduse a eșantionului și al distribuției relativ neomogene a caracteristicilor clinico-patologice.

În concluzie, studiul nostru a evidențiat un profil selectiv de reactivare a transcriptelor HERV în CRC, caracterizat prin supraexpresia tumorală a HERV-FRD, HERV-R, HERV-K, HERV-V1, ERVWE1, HHLA1 și HHLA2. Integrarea acestor date cu expresia unui panel extins de biomarkeri sugerează că reactivarea HERV nu reprezintă un fenomen izolat, ci se asociază cu axe biologice relevante, precum inflamația tumorală de tip IL-17E, proliferarea și metabolismul celular, adaptarea la hipoxie, remodelarea tisulară, evaziunea imună și alterarea integrității epiteliale. Rezultatele noastre susțin ipoteza că reactivarea selectivă a HERV poate reprezenta un element biologic relevant în carcinogeneza colorectală și oferă o bază pentru studii viitoare destinate validării mecanistice și explorării acestor transcripte ca biomarkeri diagnostici, prognostici sau potențiale ținte terapeutice.

Capitolul 10. Concluzii și contribuții personale

Prezenta teză de doctorat a avut ca obiectiv principal investigarea rolului tehnicilor de biologie moleculară în caracterizarea CRC și în optimizarea managementului acestor pacienți. Am efectuat astfel, o analiză integrată a particularităților epidemiologice, clinice, histopatologice, imunohistochimice, proteomice și transcriptomice ale bolii. Rezultatele

obținute demonstrează că obiectivele de cercetare propuse au fost atinse și susțin utilitatea unei abordări multimodale pentru înțelegerea heterogenității CRC. Printre contribuțiile personale se numără:

1. Realizarea unei caracterizări comparative a EO-CRC versus LO-CRC într-o cohortă de pacienți din România, evidențiind diferențe clinico-patologice și imunohistochimice sugestive pentru un comportament biologic mai agresiv al EO-CRC. Am demonstrat astfel, asocierea EO-CRC cu un procent mai mare de tumori slab diferențiate, histologie mucinoasă, expresie crescută a HER2 și expresie redusă a CDX2, caracteristici ce contribuie la definirea unei semnături biologice distincte pentru această subcategorie de pacienți.
2. Realizarea unei analize clinice, imunohistochimice și inflamatorii în relație cu statusul MMR, într-o cohortă de pacienți cu CRC, din România și demonstrarea asocierii semnificative a deficitului MMR cu sexul feminin, localizarea tumorală proximală, gradul slab de diferențiere și pierderea expresiei CDX2.
3. Analiza separată a pierderii expresiei fiecăreia dintre proteinele MLH1, MSH2, MSH6 și PMS2 și relația acestora cu parametrii clinico-patologici, ceea ce constituie o contribuție originală cu relevanță diagnostică și prognostică.
4. Evidențierea rolului PDGF-AA ca biomarker inflamator plasmatic cu capacitate bună pentru diferențierea indivizilor sănătoși de pacienții cu leziuni colorectale benigne sau maligne și evaluarea comparativă a unor paneluri de citokine cu potențial exploratoriu pentru screeningul non-invaziv al CRC.
5. Identificarea unui profil selectiv de reactivare tumorală a transcriptelor HERV în CRC, caracterizat prin supraexpresia HERV-FRD, HERV-R, HERV-K, HERV-V1, ERVWE1, HHLA1 și HHLA2, contribuind la definirea unui nou cadru biologic pentru carcinogeneza colorectală.
6. Demonstrarea existenței unor corelații semnificative între transcriptele HERV supraexprimate la nivel tumoral și biomarkeri implicați în inflamație (IL-17E), proliferare și metabolism celular (Ki67, PCNA, DHFR), hipoxie (EGLN2), remodelare tisulară și alterarea integrității epiteliale (TIMP1, ICAM, VCAM, beta-catenina, OCLN) propunând ipoteze originale cu privire la asocierea reactivării HERV cu un profil biologic particular.

7. Integrarea într-o manieră unitară a datelor epidemiologice, clinice, histopatologice, imunohistochimice, proteomice și transcriptomice, contribuind la standardizarea etapelor metodologice ale studiilor prospective. Am formulat totodată direcții concrete de cercetare viitoare pentru dezvoltarea de paneluri multimarker utile în evaluarea diagnostică, prognostică și personalizarea tratamentului în CRC.

Bibliografie selectivă

1. Romania. Globocan 2022. Disponibil online: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/642-romania-fact-sheets.pdf>. Accesat pe 3 martie 2026.
2. Ionescu VA, Gheorghe G, Bacalbasa N, Chiotoroiu AL, Diaconu C. Colorectal cancer: From Risk Factors to Oncogenesis. *Medicina (Kaunas)*, 59, 1646, 2023.
3. Siegel RL, Miller KD, Goding Sauer A, Fedewa SA, Butterly LF, Anderson JC, Cercek A, Smith RA, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin*, 70, 145-164, 2020.
4. Buica V, Nastac A, Gheorghe G, Georgescu TF, Diaconu CC, Ionescu VA. Toward Earlier Detection: Revisiting Colorectal cancer Screening Age in the U.S and Europe. *Gastrointestinal Disorders*, 7, 66, 2025.
5. Marx O, Mankarious M, Ychum G. Molecular genetics of early-onset colorectal cancer. *World J Biol Chem*, 14, 13-27, 2023.
6. American Cancer Society. Disponibil online: <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8606.00.pdf>. Accesat pe 5 iunie 2024.
7. Ola I, Cardoso R, Hoffmeister M, Brenner H. Utilization of colorectal cancer screening tests across European countries: a cross-sectional analysis of the European health interview survey 2018–2020. *Lancet Reg Health Eur*, 41, 100920, 2024.
8. The Lancet Gastroenterology Hepatology. The rise in early-onset colorectal cancer: now a global issue. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 10, 95, 2025.

9. Daca-Alvarez M, Perea J, Corchete L, Spinelli A, Foppa C, de Miranda NFCC, Nielsen M, Palles C, Curley HM, Marti-Gallostra M, Verdaguer M, Vivas A, Lorenzo S, Latchford A, Faiz O, Monahan K, Pawa N, Szczepkowski M, Ziolkowski B, Tarnowski W, Uryszek M, Makkai-Popa ST, Azagra JS, Llach J, Moreria L, Pellise M, Holowatyj AN, Gonzalez-Sarmiento R, Balaguer F. Regional patterns of early-onset colorectal cancer from the GEOCODE (Global Early-Onset COlorectal Cancer DatabasE)-European consortium: retrospective cohort study. *BSJ Open*, 9, zraf024, 2025.
10. Hewitson P, Glasziou P, Watson E, Towler B, Irwig L. Cochrane systematic review of colorectal cancer screening using the fecal occult blood test (hemoccult): an update. *Am J Gastroenterol*, 103, 1541–9, 2008.
11. **Ionescu VA, Gheorghe G, Baban IA, Barbu A, Georgescu TF, Tiuca LC, Iacobus NA, Diaconu CC. Prognostic Differences Between Early-Onset and Late-Onset Colorectal Cancer. *Medicina*, 61, 390, 2025.**
12. Mauri G, Sartore-Bianchi A, Russo AG, Marsoni S, Bardelli A, Siena S. Early-onset colorectal cancer in young individuals. *Mol Oncol*, 13, 109-131, 2019.
13. Hofseth LJ, Hebert JR, Chanda A, Chen H, Love BL, Pena MM, Murphy EA, Sajish M, Sheth A, Buckhaults PJ, Berger FG . Early-onset colorectal cancer: initial clues and current views. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17, 352-364, 2020.
14. Anderson JC, Samadder JN. To Screen or Not to Screen Adults 45-49 Years of Age: That is the Question. *Am J Gastroenterol*, 113(12), 1750-1753, 2018.
15. Cheng X. A Comprehensive Review of HER2 in Cancer Biology and Therapeutics. *Genes (Basel)*, 15, 903 2024.
16. Li Q, Geng S, Luo H, Wang W, Mo YQ, Luo Q, Wang L, Song GB, Sheng JP, Xu B. Signaling pathways involved in colorectal cancer: pathogenesis and targeted therapy. *Signal Transduct Target Ther*, 9, 266, 2024.
17. Chen N, He L, Zou Q, Deng H. HER2 targeted therapy in colorectal Cancer: Current landscape and future directions. *Biochem Pharmacol*, 223, 116101, 2024.
18. **Ionescu VA, Gheorghe G, Baban IA, Barbu A, Antonie NI, Georgescu TF, Bratu RM, Diaconu CC, Mambet C, Bleotu C, Enache V, Diaconu CC. Clinical,**

Immunohistochemical, and Inflammatory Profiles in Colorectal Cancer: The Impact of MMR Deficiency. *Diagnostics*, 15, 2141, 2025.

19. De'Angelis GL, Bottarelli L, Azzoni C, De'Angelis N, Leandro G, Di Mario F, Gaiani F, Negri F. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Acta Biomed*, 89, 97-101, 2018.
20. Wang M, Long Z, Xue W, Peng C, Jiang T, Tian J, Su H, Gao Y, Yu Y, Yu Y, Gong C, Wang F, Zhou J, Zhao Y. Discovery of plasma biomarkers for colorectal cancer diagnosis via untargeted and targeted quantitative metabolomics. *Clin Transl Med*, 12, e805, 2022.
21. Hauptman N, Glavac D. Colorectal cancer Blood-Based Biomarkers. *Gastroenterol Res Pract*, 2017, 2195361, 2017.
22. Gheorghe G, Diaconu CC, Mambet C, Bleotu C, Ionescu VA, Diaconu CC. Comparative analysis of leptin and carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 plasma expression in pancreatic cancer and chronic pancreatitis patients. *Heliyon*, 10, e37410, 2024.
23. Zhao H, Wu L, Yan G, Chen Y, Zhou M, Wu Y, Li Y. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduct Target Ther*, 6, 263, 2021.
24. Tripathi S, Sharma Y, Kumar D. Unveiling the link between chronic inflammation and cancer. *Metabolism Open*, 25, 100347, 2025.
25. Bhat AA, Nisar S, Singh M, Ashraf B, Masoodi T, Prasad CP, Sharma A, Maacha S, Karedath T, Hashem S, Yasin SB, Bagga P, Reddy R, Frennaux MP, Uddin S, Dhawan P, Haris M, Macha MA. Cytokine- and chemokine-induced inflammatory colorectal tumor microenvironment: Emerging avenue for targeted therapy. *Cancer Communications*, 42, 689-715, 2022.
26. Li W, Chen F, Gao H, Xu Z, Zhou Y, Wang S, Lv Z, Zhang Y, Xu Z, Huo J, Zhao J, Zong Y, Feng W, Shen X, Wu Z, Lu A. Cytokine concentration in peripheral blood of patients with colorectal cancer. *Front. Immunol*, 14, 1175513, 2023.
27. **Ionescu VA, Gheorghe G, Turculet CS, Georgescu TF, Bratu RM, Mambet C, Enache V, Gheorghiu M, Pasarica D, Diaconu CC, Diaconu CC, Bleotu C. Differential Plasma Expression of sTNF-R, TNF- α , PDGF-AA, IL-17A, and IL-1 β Across the Colorectal Neoplasia Spectrum. *Biomolecules*, 16, 426, 2026.**

28. Ionescu VA, Gheorghe G, Georgescu TF, Buica V, Catanescu MS, Cercel IA, Budeanu B, Budan M, Bacalbasa N, Diaconu C. Exploring the Role of the Gut Microbiota in Colorectal Cancer Development. *Gastrointest. Disord*, 6, 526-537, 2024.
29. Grandi N, Liu CH, Chabukswar S, Carta D, Yen Y, Lin LT, Tramontano E. HERV Modulation in Colorectal Carcinoma Patients: A Snapshot of Endogenous Retroviral Transcriptome. *Journal of Medical Virology*, 97, e70249, 2025.
30. Ionescu VA, Diaconu CC, Gheorghe G, Mihai MM, Diaconu CC, Bostan M, Bleotu C. Gut microbiota and colorectal cancer: a balance between risk and protection. *International Journal of Molecular Sciences*, 26, 3733, 2025.
31. Johnson WE. Origins and evolutionary consequences of ancient endogenous retroviruses. *Nat Rev Microbiol*, 17, 355-370, 2019.
32. Grandi N, Tramontano E. HERV Envelope Proteins: Physiological Role and Pathogenic Potential in Cancer and Autoimmunity. *Front Microbiol*, 9, 462, 2018.

Listă cu lucrările științifice publicate

Articole publicate în reviste cotate ISI Clarivate Analytics (SCIE) cu factor de impact

1. Ionescu VA, Gheorghe G, Turculet CS, Georgescu TF, Bratu RM, Mambet C, Diaconu CC, Enache V, Dragu DL, Neagu AI, Pitica IM, Constantin M, Diaconu CC, Bleotu C. Differential Expression and Co-Variation of HERV-Associated Transcripts, IL-17 Cytokines, and NFκB in Paired Colorectal Cancer Tissues. (under review) (Capitolul 9).
2. Ionescu VA, Gheorghe G, Turculet CS, Georgescu TF, Bratu RM, Mambet C, Enache V, Gheorghiu M, Pasarica D, Diaconu CC, Diaconu CC, Bleotu C. Differential Plasma Expression of sTNF-R, TNF-α, PDGF-AA, IL-17A, and IL-1β Across the Colorectal Neoplasia Spectrum. *Biomolecules*, 2026, 16(3), 426. <https://doi.org/10.3390/biom16030426>. IF 4.8 (Capitolul 8).
3. Ionescu VA, Gheorghe G, Bleotu C, Puiu L, Mambet, C, Diaconu CC, Diaconu CC. Circulating miRNAs as Non-Invasive Biomarkers in Pancreatic Cancer: A Two-Phase

- Plasma-Based Study. Journal of Clinical Medicine, 2025, 4(18), 6430.
<https://doi.org/10.3390/jcm14186430>. IF 2.9 (Capitolul 2, Capitolul 3)
4. **Ionescu VA**, Gheorghe G, Baban IA, Barbu A, Antonie NI, Georgescu TF, Bratu RM, Diaconu CC, Mambet C, Bleotu C, Enache V, Diaconu CC. Clinical, Immunohistochemical, and Inflammatory Profiles in Colorectal Cancer: The Impact of MMR Deficiency. Diagnostics, 2025, 15(17), 2141. DOI:10.3390/diagnostics15172141. IF 3.3 (Capitolul 7).
 5. **Ionescu VA**, Diaconu CC, Gheorghe G, Mihai MM, Diaconu CC, Bostan M, Bleotu C. Gut microbiota and colorectal cancer: a balance between risk and protection. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(8), 3733. DOI: 10.3390/ijms26083733. IF 4.9 (Capitolul 1, Capitolul 2).
 6. **Ionescu VA**, Gheorghe G, Baban IA, Barbu A, Georgescu TF, Tiuca LC, Iacobus NA, Diaconu CC. Prognostic Differences Between Early-Onset and Late-Onset Colorectal Cancer. Medicina, 2025, 61(3), 390. DOI:10.3390/medicina61030390. IF 2.4 (Capitolul 6).
 7. **Ionescu VA**, Gheorghe G, Bacalbasa N, Diaconu CC. Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease: Pathogenetic Links to Cardiovascular Risk. Biomolecules, 2025, 15(2), 163. DOI:10.3390/biom15020163. IF 4.8 (Capitolul 1).
 8. **Ionescu VA**, Gheorghe G, Georgescu TF, Bacalbasa N, Gheorghe F, Diaconu CC. The Latest data Concerning the Etiology and Pathogenesis of Irritable Bowel Syndrome. Journal of Clinical Medicine, 2024, 13(17), 5124. <https://doi.org/10.3390/jcm13175124>. IF 2.9 (Capitolul 1)
 9. **Ionescu VA**, Gheorghe G, Adrian C, Bebliuc A, Pavelescu C, Enache V, Gheorghe F, Bacalbasa N, Diaconu CC. Two Different Tumors and Lung Aspergilloma: An Uncommon Etiopathogenic Association. Medicina, 2024, 60(6), 953. <https://doi.org/10.3390/medicina60060953>. IF 2.4 (Capitolul 2).
 10. **Ionescu VA**, Gheorghe G, Bacalbasa N, Chiotoroiu AL, Diaconu C. Colorectal Cancer: From Risk Factors to oncogenesis. Medicina, 2023, 59(9), 1646. <https://doi.org/10.3390/medicina59091646>. IF 2.4 (Capitolul 1,2).

Articole publicate în reviste cotate ISI Clarivate Analytics (ESCI)

1. **Ionescu VA**, Ciontu AE, Ianus GI, Buica V, Nastac A, Baban IA, Barbu A, Tiuca LC, Antonie NI, Gheorghe G, Diaconu CC. Celiac Disease: Diagnostic Advances, Differential Challenges, and Interface with Non-Celiac Gluten Sensitivity. *Gastrointestinal Disorders*, 2025, 7(4), 79. <https://doi.org/10.3390/gidisord7040079>. IF 0.8 (Capitolul 1, Capitolul 2).
2. Buica V, Nastac A, Gheorghe G, Georgescu TF, Diaconu CC, **Ionescu VA**. Toward Earlier Detection: Revisiting Colorectal cancer Screening Age in the U.S and Europe. *Gastrointestinal Disorders*, 2025, 7(4), 66. <https://doi.org/10.3390/gidisord7040066>. IF 0.8 (Capitolul 2).
3. **Ionescu VA**, Gheorghe G, Georgescu TF, Buica V, Catanescu MS, Cercel IA, Budeanu B, Budan M, Nastac A, Antonie NI, Costache DO, Costache RS, Bacalbasa N, Tiuca LC, Diaconu CC. Cutaneous Paraneoplastic Syndromes in Colorectal Cancer Patients. *Gastrointestinal Disorders*, 2025, 7(1), 8. DOI:10.3390/gidisord7010008. IF 0.8 (Capitolul 2).
4. **Ionescu VA**, Gheorghe G, Georgescu TF, Buica V, Catanescu MS, Cercel IA, Budeanu B, Budan M, Bacalbasa N, Diaconu C. Exploring the Role of the Gut Microbiota in Colorectal Cancer Development. *Gastrointestinal Disorders*, 2024, 6, 526-537. <https://doi.org/10.3390/gidisord6020036>. IF 0.8 (Capitolul 1, Capitolul 2).
5. **Ionescu VA**, Diaconu C, Costache RS, Gheorghe F, Andronesi A, Gheorghe G. Predictive Factors for Death among Patients with Clostridium difficile Infection. A Single Center Experience Study. *Rom J Mil Med*, 2023, 126(4), 492-501. <https://doi.org/10.55453/rjmm.2023.126.4.21> (Capitolul 1, Capitolul 2).

Articole publicate în reviste indexate în alte Baze de Date Internaționale

1. Ionescu VA, Barbu AE, Gheorghe G, Buica V, Tiuca CL, Diaconu C. Thromboembolic Complications in Patients with Digestive Malignancies. *Annals of the Academy of Romanian Scientists Series of Medicine*, 2024, 5(2), 50. <https://www.aos.ro/wp-content/anale/MedVol5Issue2Art.5.pdf>. DOI:10.56082/annalsarscimed.2024.2.50. (Capitolul 1, Capitolul 2).
2. **Ionescu VA**, Tiuca CL, Deacanu AB, Bentia AM, Bejan A, Belchita AA, Belchita MA,

- Belu IM, Berghila B, Gheorghe G, Diaconu C. Beyond the Obvious: Unveiling the Diagnosis When Symptoms Mislead. *Annals of the Academy of Romanian Scientists Series of Medicine*, 2024, 5(2), 65. <https://www.aos.ro/wp-content/anale/MeDVol5Issue2Art.6.pdf>. DOI:10.56082/annalsarscimed.2024.2.67. (Capitolul 2)
3. **Ionescu VA**, Baban IA, Gheorghe G, Deacanu AB, Tiuca CL, Diaconu C. Clinical and Epidemiological Characteristics of Colorectal Cancer Patients. *Annals of the Academy of Romanian Scientists Series of Medicine*, 2024, 5(2), 6. <https://www.aos.ro/wp-content/anale/MeDVol5Issue2Art.1.pdf>. DOI:10.56082/annalsarscimed.2024.2.6. (Capitolul 1).
4. Bacanu I, **Ionescu VA**, Gheorghe G, Nastac A, Tiuca CL, Diaconu C. Infectious Complications in Patients with Liver Cirrhosis. *Annals of the Academy of Romanian Scientists Series of Medicine*, 2024, 5(2), 17. <https://www.aos.ro/wp-content/anale/MeDVol5Issue2Art.2.pdf>. DOI 10.56082/annalsarscimed.2024.2.17. (Capitolul 1).