

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
Departamentul IX**

GURAN KRISTINE



**ASPECTE CURENTE LEGATE DE METODELE
PRECLINICE, PROTOCOLUL TERAPEUTIC ȘI
PREVENȚIA ÎN CARCINOMULUI NAZOFARINGIAN**

REZUMAT

Conducător științific

PROF. UNIV. DR. POENARU MARIOARA

**Timișoara
2021**

CUPRINS

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE.....	Error! Bookmark not defined.
LISTA CU ABREVIERI ȘI SIMBOLURI.....	Error! Bookmark not defined.I
LISTA CU FIGURI ȘI TABELE	Error! Bookmark not defined.II
DEDICAȚIE	Error! Bookmark not defined.
MULȚUMIRI	Error! Bookmark not defined.
INTRODUCERE	XV
PARTEA GENERALĂ	1
CAPITOLUL 1. CARCINOMUL NAZOFARINGIAN	1
1.1. GENERALITĂȚI. PERSPECTIVE CURENTE.....	1
1.2. EPIDEMIOLOGIE – INCIDENȚA ȘI MORTALITATEA....	Error! Bookmark not defined.
1.3. FACTORI DE RISC	6
1.3.1. Infecția cu virusul Epstein Barr	7
1.3.2. Polimorfisme uninucleotidice	10
1.3.3. Alimentația	11
1.3.4. Igiena orală	14
1.4. ASPECTE PATOLOGICE LEGATE DE CARCINOMUL NAZOFARINGIAN ..	16
1.4.1. Clasificarea patologică a carcinomului nazofaringian.....	17
1.4.2. Dificultăți în stabilirea diagnosticului.....	Error! Bookmark not defined.1
1.5. TERAPIA CURENTĂ A CARCINOMULUI NAZOFARINGIAN	Error! Bookmark not defined.2
CAPITOLUL 2. INFECȚIILE BACTERIENE ÎN DIAGNOSTICUL ȘI TRATAMENTUL CANCERULUI.....	Error! Bookmark not defined.6
2.1. MICROBIOTA ORALĂ	Error! Bookmark not defined.6
2.2. MICROBIOTA INTESTINALĂ.....	Error! Bookmark not defined.8
PARTEA SPECIALĂ.....	Error! Bookmark not defined.2
CAPITOLUL 3. CONTRIBUȚII PRIVIND METODELE PRECLINICE DE EVALUARE ȘI PREVENȚIE A CARCINOAMELOR CU CELULE SCUAMOASE ALE CAPULUI ȘI GÂTULUI.....	Error! Bookmark not defined.3
3.1. INTRODUCERE	33
3.2. MATERIALE ȘI METODE	35
3.2.1. Reactivi și celule.....	35
3.2.2. Metode	36

3.2.3. Analiza statistică.....	40
3.3. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	41
3.4. CONCLUZII PARȚIALE	55
CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII LEGATE DE CHIMIOTERAPIE, PROCESE CARE AU LOC LA NIVEL DE INTESTIN ȘI TERAPII ALTERNATIVE	56
4.1. INTRODUCERE	58
4.2. MATERIALE ȘI METODE	59
4.2.1. Reactivi	59
4.2.2. Testarea antimicrobiană.....	60
4.2.3. Testarea citotoxicității.....	61
4.2.4. Analiza statistică	62
4.3. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	63
4.4. CONCLUZII PARȚIALE	73
CAPITOLUL 5. EVALUAREA INCIDENȚEI ACTUALE A CARCINOMULUI NAZOFARINGIAN ÎN ROMÂNIA ȘI CORELAREA CU DIFERIȚI FACTORI DE APARIȚIE ȘI PREVENȚIE.....	74
5.1. NOȚIUNI GENERALE.....	74
5.2. MATERIALE ȘI METODE	75
5.3. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	77
5.4. CONCLUZII PARȚIALE	89
CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE.....	90
BIBLIOGRAFIE.....	96

REZUMAT

Tema de cercetare abordată are ca fundament înțelegerea mecanismelor asociate carcinoamelor cu celule scuamoase din sfera ORL. În ciuda progreselor care au loc zilnic atât la nivel de diagnostic cât și la nivel de protocol terapeutic mecanismele implicate în procesele maligne rămân incomplet înțelese iar ratele de supraviețuire în anumite afecțiuni maligne nu au cunoscut o îmbunătățire semnificativă în ultimele trei decenii. Carcinomul cu celule scuamoase este o afecțiune malignă epitelială care își face apariția în organele care sunt în mod normal acoperite cu epiteliu scuamos (de exemplu pielea, gura, buzele, esofagul, prostata, plămânii, etc.). Cele mai frecvente cazuri de carcinoame cu celule scuamoase sunt întâlnite în afecțiunile maligne de: piele - cancere non-melanomice, cap și gât, esofag și plămân. Ținând cont de multitudinea de țesuturi în care poate să apară și să se dezvolte carcinomul cu celule scuamoase, se poate afirma că, acesta deține primul loc la nivel global legat de diagnostic. Abordarea terapeutică aplicată în cazul carcinomului cu celule scuamoase este variată, poate fi simplă sau combinată, dar rezultatele benefice pentru pacient întârzie să apară iar costurile legate de asistența medicală a unui pacient cu carcinom scuamos pot fi relativ ridicate. O serie de modificări genetice au fost identificate în subtipurile de carcinom cu celule scuamoase, dar mecanismele moleculare care contribuie la inițierea și progresia tumorii sunt încă pe departe a fi complet elucidate. Carcinoamele cu celule scuamoase dau dovadă de o serie de caracteristici fenotipice și moleculare fapt care face ca noi markeri sau ținte medicamentoase propruse sper obținere sau chiar obținute, în anumite tipuri de carcinoame cu celule scuamoase individuale pot ajuta la dezvoltarea de noi protocoale de diagnostic și tratament.

Lucrarea de față este una de actualitate și interes, abordând în principal carcinomul nazofaringian. Carcinoamele cu celule scuamoase ale capului și gâtului reprezintă marea majoritate a cancerelor de cap și gât și se clasează în primele zece cele mai frecvente afecțiuni maligne diagnosticate anual la nivel mondial. Carcinoamele scuamoase ale capului și gâtului sunt un grup de boli tumorale care apar din suprafețele mucoasei scuamoase - cavitate orală, cavități nazale, sinusuri paranasale, rinofaringe, nazofaringe, orofaringe, hipofaringe și laringe. Spre deosebire de incidența generală în scădere a acestora, care este datorată în special acțiunilor de prevenție (cum ar fi de exemplu renunțarea la fumat, o igienă orală atentă etc.), carcinomul nazofaringian prezintă o incidență în creștere, în special în rândul persoanelor tinere, fapt care sugerează că unii

factori comportamentali și de mediu mai puțin comuni joacă un rol cheie în epidemiologia sa. Chiar dacă, în ultimii ani, au fost realizate o serie de progrese în detecția și tratamentele aplicate, marea majoritate a pacienților prezintă boli metastatice în momentul diagnosticului, fapt care reduce rata globală de supraviețuire pe 5 ani la un procent extrem de slab. Acest diagnostic tardiv, alături de formarea de tumori primare suplimentare și metastaze contribuie în mare măsură la această rată scăzută de supraviețuire.

Carcinomul nazofaringian, în special cel al subtipurii nediferențiat rămâne endemic în sudul Chinei (unde incidența anuală maximă este în jurul valorii 30 la 100,000 de persoane). Prognosticul general a cunoscut o îmbunătățire notabilă în ultimii ani în special datorită progreselor în management, dar și datorită îmbunătățirii tehnologiei radioterapiei (standardul de aur în ceea ce privește tratamentul de primă linie), aplicării mai largi a chimioterapiei și stadializării mai exacte a bolii. Protocoalele terapeutice actuale depind de stadiul bolii și este general acceptat ca stadiul I să fie abordat prin radioterapie, stadiul II prin radioterapie cu sau fără chimioterapie iar stadiile avansate, III și IV, prin radioterapie combinată cu chimioterapie. De cele mai multe ori, se poate realiza un control local excelent, dar eșecul este reprezentat de metastazele la distanță, rezultatele tratamentului în aceste cazuri fiind foarte slabe. La toate acestea se adaugă problemele legate de toxicitatea protocoalelor terapeutice, atât radioterapia cât și chimioterapia fiind cunoscute pentru efectele toxice adverse care le sunt asociate. Datorită impedimentelor menționate anterior abordarea terapeutică a carcinomului nazofaringian, înregistrat în ultimii ani, în special la persoane tinere, rămâne o provocare pentru toți specialiștii în domeniu la nivel local, național și global, foarte importantă fiind colaborarea interdisciplinară.

Totodată datele puține, incomplete și interpretabile în ceea ce privește apariția, dezvoltarea, diagnosticarea și tratamentul carcinomului nazofaringian, au condus la stabilirea pentru lucrarea de față a analizei acestor aspecte cu scopul de a contribui la actualizarea datelor și înțelegerea anumitor mecanisme implicate în procesele maligne asociate.

Prin urmare, principalele obiective stabilite pentru teza de față, au fost:

- 1) Aprofundarea unor metode preclinice de evaluare și prevenție a carcinoamelor cu celule scuamoase ale capului și gâtului
- 2) Evaluarea chimioterapiei, proceselor la nivel de intestin și terapiilor alternative
- 3) Analiza incidenței carcinomului nazofaringian în România și corelarea cu diferiți factori de apariție și prevenție

Lucrarea de față este structurată, conform normelor metodologice în vigoare, pe două părți principale, partea generală și partea specială, care se continuă cu sub-capitolul de concluzii și contribuții personale, urmat de bibliografia de actualitate studiată, care cuprinde și publicațiile asociate cercetărilor proprii.

În partea generală sunt abordate în primul capitol aspecte legate de carcinomul nazofaringian: (1) generalități, perspective curente, (2) epidemiologie – incidența și mortalitatea, (3) factori de risc, (4) aspecte patologice și (5) terapia curentă. Cel de-al doilea capitol din partea generală redă implicarea infecțiilor bacteriene în diagnosticul și tratamentul cancerului cu detalii asupra microbiotei orale și microbiotei intestinale.

Partea specială conține trei capitole principale. În primul capitol sunt prezentate contribuțiile personale aduse în urma realizărilor experimentale legate de metodele preclinice de evaluare și prevenție a carcinoamelor cu celule scuamoase ale capului și gâtului. Protocoalele chimioterapeutice sunt aplicate în mod obișnuit în tratamentul cancerului. Cu toate acestea, chimioterapia nu este lipsită de dezavantaje, deoarece beneficiile sale terapeutice sunt în general însoțite de reacții adverse categorisite ca toxice. Posibilitatea de a obține noi agenți terapeutici cu efecte secundare cât mai reduse, care pot îmbunătăți calitatea vieții pacienților în timpul chimioterapiei, este în prezent intens studiată la nivel global. Medicamentele pe bază de plante au fost aprobate pe scară largă ca alternativă sau ca adjuvant la chimioterapia convențională în lupta împotriva cancerului, o serie de compuși bioactive din plante fiind identificați anual. Din păcate, există dovezi care relevă eficiența limitată a monoterapiei folosind compuși derivați din surse naturale în prevenirea și tratamentul cancerului. Prin urmare, utilizarea compușilor naturali, a extractelor de plante ca amestecuri de compuși naturali care acționează sinergic a devenit o opțiune promițătoare. Mai mult decât atât, extractele de plante sau componentele lor principale pot fi co-administrate împreună cu agenții chimioterapeutici clasici, combătând dezvoltarea rezistenței la medicamente și efectele toxice, cum ar fi de exemplu greața și vărsăturile. Una dintre plantele care au atras atenția cercetătorilor din domeniu este *Melissa (M.) officinalis* L. Aceasta este cunoscută și sub numele de balsam de lămâie, fiind o plantă medicinală aparținând familiei Lamiaceae. Planta medicinală este bine-cunoscută pentru gama sa largă de efecte terapeutice cum ar fi: efecte sedative, antimicrobiene, spasmolitice, antioxidante etc. Aceste efecte sunt determinate de constituenții săi biologici activi precum flavonoide, compuși polifenolici, triterpene, sesquiterpene și taninuri. Beneficiile sale au fost deja recunoscute în prevenirea afecțiunilor orale (de exemplu, eficacitatea în

combaterea plăcii dentare) și a afecțiunilor gastro-intestinale (de exemplu, sindromul intestinului iritabil). Totodată, mai multe studii confirmă faptul că extractele de *M. officinalis* determină o activitate antiproliferativă puternică pe diferite tipuri de cancer. Cu toate acestea, datele privind potențialul anticancerigen al extractelor de *M. officinalis* împotriva carcinoamelor celulare scuamoase orofaringiene și colorectale sunt destul de rare. Luând în considerare datele menționate anterior, s-a propus studiul de cercetare care a avut drept scop principal determinarea profilului farmacologic al extractului total de *M. officinalis* (MOte) obținut din frunze ca alternativă potențială pentru profilaxia carcinomului oral, faringian și colorectal. În acest sens, au fost urmărite următoarele obiective: (i) caracterizarea extractului total de *M. officinalis* în termeni de constituenți chimici – știut fiind faptul că fiecare extract are o compoziție proprie care variază în funcție de o serie de factori legați de mediu și mod de extracție și separare, în principal; (ii) evaluarea capacității antioxidante a Mote – o activitate antioxidantă bună conduce la combaterea speciilor reactive de oxigen; (iii) investigarea activității antimicrobiene a MOte; (iv) evaluarea potențialului citotoxic a MOte în cazul carcinomului cu celule scuamoase umane (utilizând liniile celulare FaDu și SCC-4) și adenocarcinomului colorectal (utilizând liniile celulare Caco-2 și HT-29) prin comparație cu celulele sănătoase (PGK - keratinocite gingivale umane primare) și (v) controlul impactului MOte asupra procesului de angiogeneză *in ovo*. Rezultatele prezentului studiu aduc dovezi consistente că extractul total de frunze de *Melissa officinalis* exercită multiple beneficii (efecte antioxidante, antimicrobiene, antiangiogenice și citotoxice) ca agent potențial pentru chimioprevenția cancerelor de limbă, faringian și colorectal. Ipoteza principală s-a bazat pe faptul că profilul farmacologic MOte este considerat un potențial candidat pentru profilaxia acestor tipuri de cancer, deoarece suprimă proliferarea celulară și angiogeneza, acționând ca agent antioxidant și antimicrobian. Principalele constatări în acest sens sunt: (i) MOte a redus semnificativ viabilitatea celulelor scuamoase faringiene și ale limbii, precum și viabilitatea celulelor carcinomului colorectal într-o tendință dependentă de concentrație, cea mai mare sensibilitate fiind observată în cazul FaDu; (ii) la cea mai mare concentrație testată (100 ug / mL), MOte a regresat angiogeneza; și (iii) MOte a provocat un efect antibacterian dependent de doză asupra bacteriilor Gram-pozitive și Gram-negative. Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare (de exemplu, studii clinice *in vivo*) pentru a confirma utilitatea extractului total *M. officinalis* în prevenirea evoluției neoplasmelor orale, faringiene și colorectale.

Cel de-al doilea capitol din partea specială tratează aspecte legate chimioterapie, procese ce au loc la nivel de intestin și redă partea experimentală asociată terapiilor alternative. Carcinoamele cu celule scuamoase ale capului și gâtului sunt relativ frecvente și sunt de obicei asociate cu intervenții chirurgicale radicale și cu rezultate slabe, prognosticul fiind slab la cei cu boală avansată sau metastatică. Pe de altă parte, în cazul carcinomului nazofaringian există o rată de supraviețuire bună chiar și cu tratament non-chirurgical, în anumite condiții. Incidența metastazelor este adesea subestimată odată cu diagnosticul clinic, fiind prezenți mai mulți factori care influențează incidența metastazelor la distanță (de exemplu, localizarea tumorii primare, stadiul inițial T și N al neoplasmului și prezența sau absența controlului regional deasupra claviculei). Carcinomul nazofaringian este cunoscut pentru înclinația sa atât pentru răspândirea limfatică, cât și pentru cea hematogenă. Metastaza colorectală a fost observată rar la pacienți, demonstrând conștientizarea acestei entități. Cancerele care implică intestinul sunt de obicei cancere primare ale intestinului gros sau subțire, dispun de o invazie directă din cancerele primare care apar din alte organe abdominale adiacente sau carcinoatoză peritoneală. Datorită unicității și rarității asocierii dintre carcinomul nazofaringian și metastazarea la nivelul colonului, este important să se ia în considerare dacă leziunea colorectală reprezintă o leziune metastatică sau este o nouă tumoră primară nouă. Se estimează că până la ~28% dintre pacienții cu carcinom scuamos nazofaringian vor dezvolta metastaze la distanță. Astfel, este important ca în practica clinică, specialiștii să acorde o atenție deosebită pacienților cu afecțiuni gastro-intestinale, indiferent de starea de remisiune a carcinomului cu celule scuamoase. Medicii trebuie să fie conștienți de caracteristicile cu risc ridicat ale tumorii primare, de limitările investigațiilor și de prezența concomitentă a altor metastaze la distanță, care pot schimba drastic tratamentul și rezultatul. Ratele de supraviețuire în carcinomul colorectal non-primar variază din cauza rarității entității, a diferitelor tipuri de tumori primare și a stadiilor tumorale. În prezent, deși radioterapia are un rol paliativ în metastazele osoase și, ocazional, pulmonare și cerebrale, se pare că nu are un rol decisiv pentru tratamentul adjuvant (chimioterapie sau radioterapie) în metastazele colorectale, iar supraviețuirea mediană este scurtă, variind de la 3 la 5 luni. Prin urmare, strategiile viitoare pot aprofunda inclusiv rolul microbilor în dezvoltarea metastazelor la nivel de colon. Lichidele ionice reprezintă o alternativă conceptuală modernă datorită utilizării lor extinse în domeniile majore ale activității de cercetare. De exemplu, aceste lichide pot fi utilizate ca: (i) solvenți alternativi la compușii organici volatili, (ii) medii pentru electrodepunerea

metalelor, (iii) catalizatori și biocatalizatori, (iv) potențiali inhibitori de coroziune sau (v) solvenți în industria alimentară, având mai multe proprietăți fizico-chimice cheie pentru astfel de aplicații, inclusiv stabilitate termică ridicată, conductivitate ionică crescută, presiune scăzută a vaporilor, neinflamabilitate, rezistență și polaritate ridicată. Drept urmare, au atras un interes tot mai mare de cercetare din domeniul medical. Lichidele ionice pot afecta sistemele biologice la diferite niveluri biochimice, începând de la macromolecule simple până la mecanisme metabolice complexe în celulele procariote și eucariote. În acest context, cercetarea activității antimicrobiene a diferitelor clase de lichide ionice pe microorganisme de importanță clinică și de mediu a apărut ca o direcție importantă de cercetare în ultimele decenii. Studii recente au arătat că multe tipuri de lichide ionice au potențialul de a inhiba creșterea diferitelor bacterii și ciuperci, făcându-le utile pentru diverse aplicații în medicină și industrie. De asemenea, s-a raportat că activitatea antimicrobiană este legată de lungimea lanțului substituent, cu mențiunea că, compușii cu lanț scurt exercită o eficacitate antimicrobiană mai slabă în comparație cu compușii cu lanț lung. Acest efect antimicrobian a fost studiat atât pe tulpini bacteriene standardizate, cât și pe tulpini bacteriene izolate din mediul spitalicesc și s-a constatat că unele dintre tulpinile de interes prezintă rezistență la antibiotice și sunt afectate de aceste tipuri de compuși. Cu toate acestea, pentru a evalua pe deplin aplicabilitatea clinică a lichidelor ionice sunt necesare studii suplimentare, un subiect important fiind descifrarea efectului toxicologic, antimicrobian și antiproliferativ al acestora. Citotoxicitatea exercitată de lichidele ionice a fost analizată extensiv utilizând sisteme de cultură monostrat 2D *in vitro* și diferite linii celulare ca sisteme de studiu - atât celule normale (fibroblaste, osteoblaste, macrofage, keratinocite, celule gliale de șobolan), cât și linii celulare neoplazice (sân, colon, plămân, carcinom hepatic și leucemie), date care se regăsesc în literatura de specialitate. Prezentul studiu a fost desfășurat pentru a investiga efectul antibacterian și cel antiproliferativ al formulei de lichide ionice-bromură de tetrahexilamoniu (THABr). Pentru a evalua efectul antibacterian al THABr_LI au fost utilizate următoarele tulpini bacteriene standardizate: (a) bacterii Gram pozitive (Gram+) - *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* și *Enterococcus faecalis*; și (b) bacterii Gram-negative (Gram-) - *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Haemophilus influenzae*. Linia celulară Caco-2 (adenocarcinom colorectal) a servit ca sistem de studiu și a fost cultivată *in vitro* utilizând atât sisteme de cultură 2D, cât și sisteme de cultură 3D. La momentul conceperii

studiului, cercetările de citotoxicitate in vitro pentru lichide ionice se pare că au fost efectuate numai folosind culturi de celule 2D. Acesta fiind, prin urmare, primul studiu care utilizează celule cultivate în 3D pentru a studia efectul citotoxic al lichidelor ionice. Prin utilizarea unei abordări comparative, studiul de față extinde, de asemenea, din punct de vedere bidirecțional, cunoștințele anterioare existente cu privire la importanța clinică potențială a acestor compuși. Activitatea biologică a lichidelor ionice depinde în primul rând de starea lor de hidratare, deși mecanismele lor de acțiune pot varia între diferite organisme, apa fiind esențială pentru toate sistemele vii. Prin urmare, principalii factori care modulează activitatea biologică a lichidelor ionice sunt solubilitatea și interacțiunea lor cu apa. Efectul antibacterian al lichidului ionic THABr înregistrează variații în funcție de concentrațiile testate și de tulpina bacteriană studiată, în general, efectul este evidențiat atunci când se testează cele mai mari concentrații. În cazul bacteriilor Gram+, sensibilitatea la lichidul ionic testat scade după cum urmează: *S. aureus* > *S. pneumoniae* > *E. faecalis*. În tulpinile bacteriene Gram-, efectul antibacterian al fluidului ionic scade după cum urmează: *H. influenzae* > *P. mirabilis* > *P. aeruginosa* > *K. pneumoniae* > *E. coli* > *S. typhimurium*. În ceea ce privește potențialul citotoxic pe celulele colonului neoplazic Caco-2, s-au observat rezultate moderate. Ar trebui efectuate studii viitoare pentru a evalua impactul THABr_LI asupra agregării tridimensionale a celulelor tumorale.

În ultimul capitol din partea specială este descrisă incidența carcinomului nazofaringian în zona de Vest a țării noastre, și sunt realizate o serie de corelații cu diferiți factori de apariție (rolul alimentației și cauze) dar și de prevenție (importanța igienei orale și a resurselor naturale). Studii de specialitate relevă faptul că, contextul mutațional al carcinomului nazofaringian din sud-estul Europei pare să aibă similitudini, dar și diferențe importante în comparație cu modelele din sud-estul Asiei. Prevalența mutațiilor BRCA1 somatice patogene presupuse și gradul însoțitor de instabilitate genomică în carcinomul nazofaringian european pare să încline către tratamente alternative. De asemenea, s-a raportat că modificările genetice ale infiltratelor celulare imune morfologic normale ale carcinomului nazofaringian, pot fi utilizate ca date observaționale pentru studii de cercetare de bază privind carcinogeneza virală și asupra interferenței microambientului tumoral cu caracteristicile biologice ale carcinomului nazofaringian. În România, s-a considerat că diagnosticarea tardivă a carcinomului nazofaringian se poate datora diagnosticării greșite, dar și datorită educației medicale slabe a populației. În același timp, calitatea slabă a echipamentului medical și, uneori, superficialitatea cu care este tratat pacientul, pot fi

considerate alte două cauze ale diagnosticului avansat de carcinom nazofaringian înregistrat în țara noastră.

Scopul principal al studiului de față a fost de a evalua incidența cazurilor de carcinom nazofaringian diagnosticate în vestul României și rolul dietei în dezvoltarea acestuia, importanța plantelor medicinale cu proprietăți anticancerigene și a bioactivității lor în carcinomul cu celule scuamoase. Prin urmare, au fost analizate cazurile de carcinom nazofaringian din vestul României și, conform datelor preconizate, s-a arătat că bărbații sunt mai susceptibili la această formă de carcinom compartiv cu femeile. Dintre cazurile diagnosticate cu carcinom nazofaringian, 20% aparțin femeilor și restul de 80% bărbaților. O mare majoritate a pacienților studiați în cazul de față au prezentat infecții microbiene. Culturile de bacterii identificate predominant au fost reprezentate atât de tipul gram-pozitiv cât și de cel gram-negativ sau de fungi. Speciile identificate cu preponderență în cazul persoanelor de sex masculin au fost: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus maltophilia*, *Candida glabrata*. În cazul persoanelor de sex masculin, bacteriile preponderent identificate au fost reprezentate de: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* și *Candida albicans*.

Numărul relativ mic de cazuri întâlnite în vestul României pe parcursul a șase ani de evaluare, reprezintă o dovadă îmbucurătoare că populația europeană are un genom nefavorabil pentru carcinomul nazofaringian. Corelația dintre stilul de viață și dezvoltarea carcinomului nazofaringian este încă deficitară și slab înțeleasă. De exemplu, fumatul, utilizarea spray-urilor nazale pe bază de plante sau utilizarea excesului de ceai au fost asociate cu carcinom nazofaringian. Stilul de viață și obiceiurile alimentare europene descurajează activarea acestui tip de cancer. Alimentele care conțin compuși N-nitrozo, care sunt distrugători de ADN, pot accelera apariția și dezvoltarea bolii. Din fericire, în Balcani, alimentele bogate în substanțe cancerigene pe bază de azot sunt semnificativ mai puțin frecvente în comparație cu zona pandemică din China. Tratamentul bolii implică în primul rând iradiere și, dacă este necesar, asocierea cu chimioterapice. Aceste proceduri sunt însoțite de o serie de efecte secundare semnificative. Efectele secundare pot fi atenuate prin adoptarea unei diete echilibrate și a unui stil de viață implementat cu atenție. Antioxidanții naturali găsiți în fructe, legume, anumite ceaiuri și vin, sunt soluții sănătoase și sigure pentru combaterea afecțiunilor pro-inflamatorii care duc la dezvoltarea proceselor maligne. Compușii polifenolici au o activitate de reducere a numărului de celule canceroase care trebuie aprofundate pentru a stabili protocoale benefice pentru

chemoprevenția proceselor maligne. Extractul de plante se referă la un tip de substanță extrasă sau prelucrată din totalitatea sau dintr-o parte din plantă prin solvenți sau metode adecvate. Cu toate acestea, modul de alegere a extractului de plantă adecvat a devenit o problemă urgentă și trebuie rezolvat clinic. Clasificarea probabilității de avantaje și dezavantaje pe baza diferiților indicatori de rezultat poate ajuta clinicienii să aleagă cea mai bună schemă dintre diferite măsuri de intervenție.

La finalul părții speciale sunt prezentate clar și succint concluziile și contribuțiile proprii. Metodele de cercetare adoptate pentru atingerea obiectivelor propuse sunt de actualitate iar datele obținute și prezentate atât în lucrarea de față cât și în publicațiile de specialitate aduc un plus în cunoașterea mai detaliată a modului de manifestare și abordare a carcinomului nazofaringian.

Obiectivele de cercetare științifică stabilite în lucrarea de față au fost finalizate cu succes. În prezent este necesară îmbunătățirea terapiei individualizate printr-o mai bună precizie în selectarea și administrarea tratamentelor, îmbunătățirea integrării terapiilor multimodale și cooperarea interdisciplinară și colaborarea interinstituțională. Trebuie pus accentul pe promovarea colaborării interdisciplinare în cadrul și între instituții, la nivel local, național și internațional, în dezvoltarea de noi modele de carcino nazofaringian alături de screening-ul de înaltă calitate al noilor compuși cu proiectări de studii clinice și studii preclinice relevante. Conceptul de terapie individualizată se aplică și selecției optime a pacienților pentru chimioterapie adjuvantă în timpul terapiei cu radiație, iar studiile multinaționale abordează acum rolul chimioterapiei adjuvante în diferite tipuri de subpopulații.

Prin urmare, sunt necesare studii multi-instituționale mai bine concepute, iar acest lucru necesită un efort colectiv între centrele de experți în armonizarea și standardizarea procedurilor aferente diagnosticului, protocolului terapeutic și mai ales prevenției ținând cont de vârsta timpurie la care este diagnosticată această boală.