

MEMORIU ȘTIINȚIFIC PENTRU SUSȚINEREA DOCTORATULUI

Titlul tezei: HETEROGENICITY MARKERS IN MALIGNANT MELANOMA

Doctorand: Mihaela Prodan

Coordonator științific: Prof. Univ. Dr. Edward-Paul Șeclăman

Universitatea de Medicină și Farmacie “Victor Babeș” din Timișoara

I. INTRODUCERE

Progresele în supravegherea epidemiologică au relevat o creștere constantă a incidenței melanomului în ultimele decenii, în special în rândul populațiilor cu fototipuri de piele deschisă la culoare și expunere ridicată la radiații ultraviolete. Arsurile solare intermitente, dispozitivele de bronzare artificială și diminuarea stratului de ozon au fost toate implicate în această tendință ascendentă.

II. OBIECTIVELE CERCETĂRII

În cadrul acestui studiu s-au urmărit efectele pandemiei COVID-19 asupra epidemiologiei melanomului și s-a evaluat heterogenicitatea intratumorală prin prisma modificărilor de expresie a miRNA-urilor, specii care integrează semnalele genetice, epigenetice și de mediu.

III. MOTIVATIA ALEGERII TEMEI

Melanomul malign reprezintă un model tipic de neoplazie cu heterogenitate ridicată, iar analiza markerilor genetici, epigenetici și moleculari ai acesteia este esențială pentru dezvoltarea terapiilor personalizate.

IV. EVOLUTIA CERCETĂRII

Cercetarea a debutat în anul 2021 cu elaborarea protocolului de studiu și aprobarea acestuia de către Comisia de Etică a UMF „Victor Babeș” Timișoara. Ulterior, au fost selectate probele parafinate perechi melanom-nevi pigmentari. Analiza expresiei miRNA a fost realizată în laborator prin tehnici de qPCR, iar interpretarea a fost completată cu metode bioinformatică moderne. Activitatea științifică a fost derulată etapizat și susținută prin comunicări și publicații internaționale.

V. MATERIAL ȘI METODĂ

PRISMA 2020 și instrumentul NHLBI au fost folosite pentru a derula o metaanaliză riguroasă, la care doctoranda a adăugat un audit propriu pe 2019–2022. În regiunea de vest a României, datele arată o scădere cu 75 % a diagnosticului histopatologic de melanom în timpul primului lockdown și o dublare a grosimii Breslow mediane.

Probele FFPE au fost supuse extracție de RNA total cu kitul miRNeasy FFPE Qiagen. Expresia miRNA matur a fost realizată prin tehnica qPCR, folosind un sistem ABI 7900HT și utilizând un panel miRNA miRCURY LNA miRNA. Datele qPCR au fost analizate prin utilizarea QIAGEN GeneGlobe Data Analysis Center.

VI. REZULTATE

Profilarea miRNA în probe pereche de melanom și nevi benigni a relevat o supraexprimare sistematică a miRNA oncogene - hsa-miR-133b, hsa-miR-335-5p, hsa-miR-200a-3p și hsa-miR-885-5p - cu modificări de 1,09–1,12 ori, sugerând implicarea acestora în progresia melanomului.

miARN supresoare tumorale hsa-miR-451a și hsa-miR-29b-3p au fost semnificativ subexprimate (modificări de 0,90 și 0,92), indicând pierderea mecanismelor de reglare protectoare în leziunile maligne.

Regresia logistică a identificat hsa-miR-29b-3p (OR 2,51) și hsa-miR-200a-3p (OR 2,10) ca predictori independenți ai indicelui Breslow ridicat, susținând utilitatea lor ca biomarkeri pentru comportamentul agresiv al tumorii.

Analiza de supraviețuire a demonstrat că expresia ridicată a hsa-miR-200a-3p și hsa-miR-335-5p se corelează cu o supraviețuire globală mai redusă, în timp ce nivelurile ridicate de hsa-miR-451a și hsa-miR-29b-3p sunt asociate cu rezultate îmbunătățite, validând semnificația lor prognostică în toate stadiile.

Modelele multivariate au confirmat nivelurile de miRNA și stadiul bolii, ca factori predictivi independenți ai mortalității și răspunsului la tratament, evidențiind valoarea adăugată a indicatorilor moleculari la factorii clinico-patologici standard.

VII. DISCUȚII

Analiza a demonstrat o creștere constantă a adâncimii mediane Breslow pentru melanomele diagnosticate în perioada 2020-2021, în comparație cu intervalul imediat precedent, paralel cu o creștere măsurabilă a corelațiilor prognostice adverse, cum ar fi latența prelungită a tratamentului, suspendarea programelor de screening, programele de urmărire

trunchiate și, cel mai evident, o creștere a proporției tumorilor care se prezintă în stadiul TNM II sau superior.

Totodată, teza doctorală demonstrează că modificările în expresia miRNA sunt strâns legate de dezvoltarea melanomului. Variațiile în nivelele de expresie ale anumitor miRNA din leziunile maligne în comparație cu nevii benigni, evidențiază capacitatea miRNA de a funcționa atât ca factori oncogeni, cât și ca supresori tumorali.

VIII. CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII ORIGINALE

- Standardizarea protocoalelor de extracție și cuantificare a miRNA - în special din țesuturi FFPE și biopsii lichide - este esențială pentru implementarea clinică și comparabilitatea între studii.
- Monitorizarea longitudinală a miRNA circulante prin teste minim invazive ar putea permite urmărirea în timp real a dinamicii tumorii, detectarea precoce a recurenței și ajustarea strategiilor terapeutice.
- Cercetările mecaniciste privind modul în care miRNA candidate reglează căile melanomogene (de exemplu, MAPK, PI3K/Akt, EMT) vor contribui la dezvoltarea de terapii țintite către miRNA sau regimuri combinate cu inhibitorii existenți.
- Integrarea panelurilor de miRNA cu modalități de imagistică (dermoscopie, microscopie confocală de reflexie) și alți biomarkeri (ADN tumoral circulant, semnături proteice) poate duce la algoritmi de diagnostic compoziți cu sensibilitate și specificitate îmbunătățite.

IX. APRECIEREA COORDONATORULUI DE DOCTORAT

Cercetarea doctorală s-a concretizat prin publicarea a 3 lucrări de specialitate în reviste cu factor de impact cuprins între 3.4 și 4.6.

Primul studiu evaluează efectul pandemiei COVID-19 asupra detecției și managementului melanomului punctând o scădere cu 20% a numărului de cazuri diagnosticate și o creștere a numărului de cazuri în stadiul II de la 25.9% pre-pandemic la 36.3% în perioada 2020–2021.

Al doilea studiu urmărește biomarkerii melanomului dintr-o perspectivă de medicină moleculară. Acest studiu relevă variații semnificative în profilurile de expresie ale miRNA-

urilor între melanom și nevi benigni ai aceleiași persoane. În mod specific, s-au identificat 9 miRNA-uri cu variații notabile, unele din aceste specii putând fi corelate cu fenotipul invaziv.

Al treilea studiu original a corelat expresia miRNA cu supraviețuirea generală și răspunsul la imunoterapia anti-PD-1 într-o cohortă de 45 de pacienți stadiul III–IV. S-a propus conceptul de „staging molecular augmentat”, în care scorurile miRNA se integrează cu TNM pentru o stratificare mai fină. De exemplu, două tumori stadiu III la imagistică pot avea scoruri miRNA diametral opuse, sugerând prognostic și răspuns la tratament diferite.

În concluzie, în raport cu obiectivele propuse, teza sintetizează experiența proprie a doctorandei în demersul științific de investigare a potențialului de biomarker prognostic al speciilor miRNA în melanom.

Prezenta lucrare de doctorat a fost redactată în limba engleză și respectă normele metodologice în vigoare cu privire la stadiul actual al cunoașterii și contribuțiile personale.

X. LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

1. Toma, Ana-Olivia, **Mihaela Prodan***, Akash Reddy Reddyreddy, Edward Seclaman, Zorin Crainiceanu, Vlad Bloanca, Felix Bratosin, Catalin Dumitru, Ciprian Nicolae Pilut, Satish Alambaram, and et al. 2023. "The Epidemiology of Malignant Melanoma during the First Two Years of the COVID-19 Pandemic: A Systematic Review" *International Journal of Environmental Research and Public Health* 20, no. 1: 305. <https://doi.org/10.3390/ijerph20010305>.
2. **Mihaela Prodan**, Sergiu Costescu, Ahmed Elagez, Sorina Maria Denisa Laitin, Vlad Bloanca, Zorin Crainiceanu, Edward Seclaman, Ana-Olivia Toma, Roxana Manuela Fericean, George Puenea, and et al. 2024. "Molecular Markers in Melanoma Progression: A Study on the Expression of miRNA Gene Subtypes in Tumoral vs. Benign Nevi" *Current Oncology* 31, no. 5: 2881-2894. <https://doi.org/10.3390/curroncol31050220>.
3. **Mihaela Prodan**, Alis Dema, Bianca Roxana Nataras, Edward Seclaman, Vlad Bloanca, Zorin Crainiceanu, Ilona Eموke Deak, Claudia Raluca Balasa Virzob, Ana-Olivia Toma, and Roxana Manuela Fericean. 2024. "Prognostic Significance of miRNA Subtypes in Melanoma: A Survival Analysis and Correlation with Treatment Response Across Patient Stages" *Biomedicines* 12, no. 12: 2809. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12122809>.