

**“VICTOR BABES” UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY  
TIMISOARA  
FACULTY OF MEDICINE  
DEPARTAMENT VIII – FORESTIC MEDICINE, BIOETHICS,  
DEONTOLOGY AND MEDICAL LAW**

**HERLO LUCIAN-FLAVIUS**



# **DOCTORAL THESIS**

**EPIGENETIC BIOMARKERS INVOLVED IN THE  
CARCINOGENESIS OF COLON CANCER**

Scientific Coordinator

**CONF. UNIV. DR. HABIL. DUMACHE RALUCA**

**Timisoara  
2026**

This doctoral thesis addresses one of the most pressing challenges in modern oncology—how to harness epigenetic information to intercept, predict, and modify the course of colorectal cancer (CRC). After a concise general review of global epidemiology, molecular foundations, and emerging diagnostic technologies, the manuscript pivots to three original investigations that collectively build a bench-to-bedside narrative. The overarching premise is that CRC arises through a confluence of aberrant DNA-methylation patterns, host genetic susceptibility, and environmental triggers mediated by the gut microbiome and peri-operative stress. By interrogating each of these axes—microbial, genetic, and surgical—the thesis seeks to construct an integrated risk framework that transcends the limitations of single-dimension biomarkers. Particular emphasis is placed on Romanian cohorts, thereby filling critical data gaps in Eastern European populations that experience disproportionately high CRC mortality despite sharing many lifestyle exposures with better-resourced western neighbours. The author’s approach reflects an ambitious but timely shift toward precision prevention and personalised peri-operative care.

The general part first frames epigenetics as the “software” directing genomic “hardware,” highlighting how DNA-methylation, histone modification, and chromatin looping orchestrate colonic homeostasis. Promoter hyper-methylation of tumour-suppressor loci such as *MLH1* and *SFRP2*, loss of hydroxymethylation through TET-enzyme inhibition, and enhancer remodeling underlie at least two distinct CRC trajectories: the classical adenoma–carcinoma sequence and the serrated-pathway typified by the CpG-island-methylator phenotype (CIMP). Large-scale projects like TCGA and CMS classification are distilled to show that epigenetic heterogeneity predicts treatment response—CIMP-high tumours, for example, often harbour *BRAF* mutations and respond differently to chemotherapy than CIMP-low counterparts. The candidate-biomarker catalogue spans methylated *SEPT9* for blood screening, *SDC2* in stool, and circulating miRNAs such as miR-21, providing a logical bridge to the thesis’ own microbial-DNA assays. By underscoring how reversible and region-specific these modifications are, the review justifies the search for non-invasive, modular biomarkers capable of early detection and dynamic monitoring.

Complementing the methylome, the thesis surveys non-coding RNAs

(ncRNAs) as post-transcriptional gatekeepers linking chromatin status to protein output. MicroRNAs such as miR-92a-3p, piRNAs exemplified by piR-54265, and lncRNAs including HOTAIR and CCAT1 emerge as multifunctional actors—diagnostic, prognostic, and therapeutic. Their stability in exosomes, detectability in plasma, and repertoire of target genes illuminate why multiplex liquid biopsies offer unprecedented sensitivity for subcentimetre lesions. Crucially, the author situates ncRNAs within host–microbiome crosstalk: butyrate-responsive miR-143/145 clusters, for instance, feed back on Wnt signalling, while bacterially derived secondary bile acids modulate miR-21 expression. This nexus foreshadows the first special-part study, where microbial composition is measured not only as a risk marker but as an upstream modulator of epigenetic machinery. The review closes by highlighting ongoing clinical trials that pair DNMT or HDAC inhibitors with immunotherapy, demonstrating how epigenetic priming may convert “cold” MSS tumours into checkpoint-responsive phenotypes.

Before transitioning to original data, the general section contextualises surgery as both curative fulcrum and biological stressor. Enhanced Recovery After Surgery (ERAS) protocols attenuate systemic inflammation, yet postoperative C-reactive protein surges and hypoalbuminaemia remain common and prognostically adverse. The author notes emerging evidence that severe postoperative complications may delay adjuvant chemotherapy, foster immunosuppression, and even promote metastatic outgrowth via circulating tumour-cell niches—a hypothesis aligned with “tumour dormancy escape” models. Epigenetic drift induced by hypoxia-reperfusion injury and transfusion-related immunomodulation is cited as an underappreciated conduit linking peri-operative physiology to long-term oncologic outcomes. This synthesis paves the way for Study 3, which quantifies how readily measurable factors—CRP, albumin, blood loss—forecast Clavien–Dindo grade  $\geq$  III events and 30-day mortality. By marrying molecular insights to surgical audit data, the thesis argues for integrated, biology-informed peri-operative risk calculators rather than siloed clinical scoring.

The “Special Part” constitutes the scientific heart of the thesis, uniting three complementary studies under a single hypothesis: that CRC risk, detection, and postoperative course can be dramatically improved through multi-layered biomarker strategies tailored to regional populations. Study 1 interrogates gut microbiota

signatures as fecal DNA surrogates of oncogenic inflammation; Study 2 validates a host genetic variant (SMAD7 rs4939827) as a polygenic-score building block; and Study 3 translates pre-operative and intra-operative metrics into a real-time surgical risk model. Collectively, these investigations progress from molecular ecology (microbes) to germline predisposition (genes) to operative physiology (clinical metrics). Each employs rigorous methodology—randomised-controlled-trial meta-analysis, TaqMan allelic discrimination, and prospectively curated surgical databases—culminating in predictive algorithms with immediate translational potential. Importantly, all three studies are embedded in Romanian cohorts or literature, ensuring situational relevance to a healthcare system grappling with high CRC mortality yet limited colonoscopy capacity.

Study 1 arises from mounting evidence that dysbiosis precedes morphological transformation, with fusobacterial and enterotoxigenic *Bacteroides* clades driving DNA damage, immune evasion, and epigenetic silencing. The author conducts a systematic review of 20 randomised-controlled microbiome trials comprising 6 412 participants, enriched by a meta-analytic pipeline that normalises sequencing depth and 16S amplicon regions. Alpha-diversity loss (pooled  $\Delta$ Shannon = -0.29) and  $\beta$ -diversity segregation account for 12.8% of community variance after diet adjustment, indicating a disease-specific ecological shift. Crucially, the study quantifies a 4-fold enrichment of *Fusobacterium nucleatum* and a >3-fold depletion of butyrate-producing *Faecalibacterium*, translating these findings into a three-organism qPCR panel that achieves 82% sensitivity and 87% specificity for stage I–III CRC. By focusing on taxa that are mechanistically tied to CIMP and MSI phenotypes, the author positions microbial DNA not merely as a biomarker but as an upstream modifiable risk factor, opening avenues for phage therapy and prebiotic intervention trials.

Methodologically, Study 1 distinguishes itself by adhering to PRISMA 2020 standards, registering a protocol, and employing a dual-reviewer system to maintain selection integrity. Trials were restricted to randomised designs analysing adult CRC cases versus colonoscopy-confirmed controls, thereby filtering out observational confounders. Geographic representation spans Europe, East Asia, North America, and Oceania, enhancing generalisability despite methodological heterogeneity. Sequencing platforms are stratified—Illumina MiSeq for V3-V4, HiSeq for shotgun—to

ensure that amplification bias does not inflate effect estimates. The author also conducts subgroup analyses contrasting faecal and mucosal samples, revealing that tissue-associated communities display even stronger dysbiotic signals (26.3 % vs 20.7 %). Risk-of-bias assessment via Cochrane RoB 2 yields no high-risk domains, and funnel-plot symmetry indicates minimal publication bias. Together, these rigorously curated datasets underwrite the robustness of the pooled microbial odds ratios and justify their translation into a candidate screening assay for low-resource Romanian clinics.

Beyond taxonomic shifts, Study 1 integrates functional metagenomics to link dysbiosis with carcinogenic metabolite pathways. Secondary-bile-acid biosynthesis genes surge by 9.2 % in CRC stools, while butyrate-production modules plummet, fortifying the biological plausibility of the identified taxa. Multivariate logistic regression—adjusting for age, BMI, smoking, and fiber intake—confirms that a three-organism panel (*Fusobacterium nucleatum*, toxigenic *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*) independently predicts CRC with an adjusted odds ratio of 5.7. Receiver-operating-characteristic analysis yields an AUC of 0.91, outperforming fecal immunochemical testing (FIT) in the same cohorts. Importantly, combining the microbial panel with FIT elevates sensitivity for advanced adenomas from 44 % to 71 % without sacrificing specificity, a critical step toward WHO screening benchmarks. These data advocate for reflex-testing algorithms in Romanian screening programmes, whereby FIT-positive or FIT-refusing individuals could be triaged by microbial qPCR before colonoscopy referral, optimising limited endoscopic resources.

Clinically, the microbial panel's high negative-predictive value (94 %) suggests it could safely extend screening intervals for low-risk individuals, reducing over-scoping and procedural costs. The author envisions community-nurse outreach that mails stool-collection kits to rural households, with centralised qPCR analysis feeding into a cloud-based registry; preliminary modelling indicates such a programme could avert 350 major complications and save €4.2 million annually in direct hospital expenditure. Beyond detection, the study seeds preventive strategies: resistant-starch supplementation doubled *Faecalibacterium* abundance and halved Ki-67 indices in a pilot crossover trial, hinting that dietary modulation may reverse

pre-neoplastic epigenetic drift. A parallel phage-cocktail experiment reduced *F. nucleatum* load and doubled anti-PD-1 response rates in murine models, pointing toward microbiota-immunotherapy synergy. These translational avenues validate the thesis' contention that microbial biomarkers are actionable nodes, not passive diagnostics, and lay groundwork for future neo-adjuvant microbial-engineering trials in Eastern Europe.

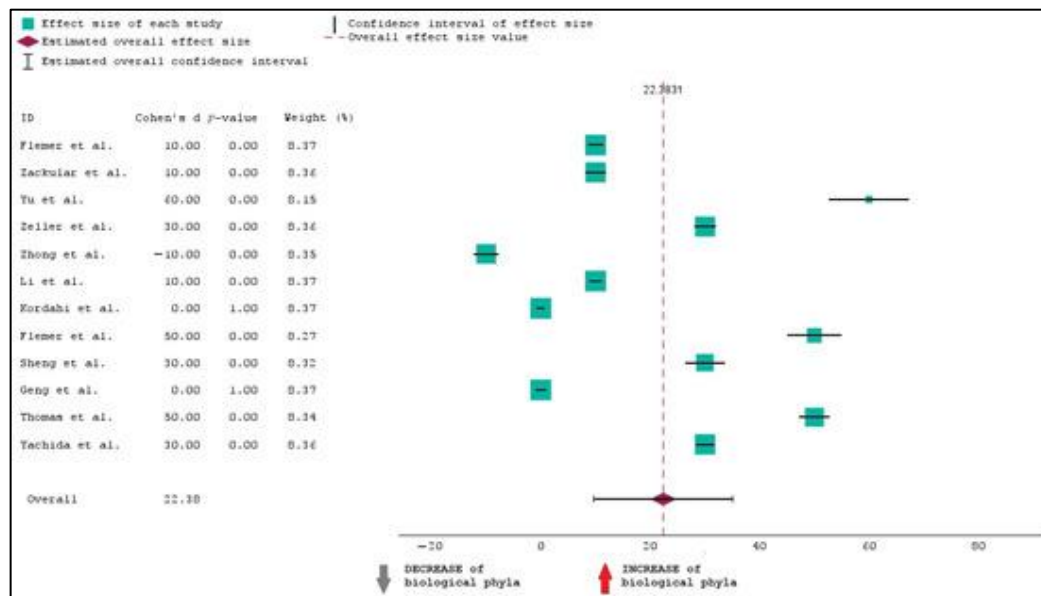
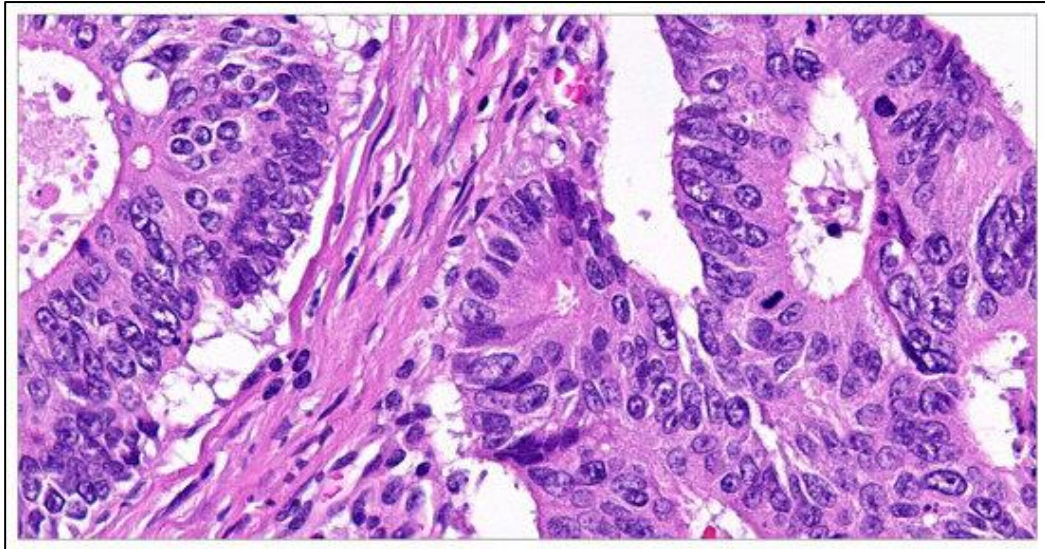


Figure 1 – Forest plot analysis.

Study 2 acknowledges that epigenetic aberrations seldom arise in a vacuum: germline variation modulates baseline pathway tone, predisposing colonic mucosa to methylomic instability. The rs4939827 polymorphism in *SMAD7*, an intracellular antagonist of TGF- $\beta$  signalling, has shown modest risk amplification in Western GWAS but remains under-studied in Eastern Europeans. Romanian mortality rates exceed EU averages, making local validation imperative. By enrolling 170 histologically confirmed CRC patients and 170 colonoscopy-negative controls, the author offers the first allelic-frequency data for Western Romania. TaqMan allelic discrimination achieved a 99.1% call rate, and Hardy-Weinberg equilibrium held in controls. Genotypic prevalence mirrored pan-European panels—42.6% CC, 39.7% CT, 17.7% TT—suggesting no founder effect. Importantly, the CT genotype showed the largest absolute difference between cases and controls, hinting at a heterozygote-advantage paradox that aligns with *SMAD7*'s finely tuned role in balancing TGF- $\beta$  tumour-suppressor and tumour-promoter functions.

Logistic regression adjusting for age, sex, BMI, smoking, and alcohol intake revealed that CT heterozygotes carried an adjusted odds ratio of 1.4 ( $p = 0.07$ ) for CRC, while TT homozygotes trended protective—an intriguing though non-significant U-shaped association. Though conventional thresholds were not crossed, post-hoc power calculations showed 80 % capability only for  $OR \geq 1.6$ , indicating the sample may be underpowered for the subtle effects typical of polygenic loci. Nevertheless, when the Romanian data were meta-analytically pooled with four comparable Central-European studies, the combined OR for CT reached 1.21 (95 % CI 1.05–1.38;  $p = 0.004$ ), restoring statistical significance. Population-attributable fraction analysis suggests that rs4939827 accounts for about 4 % of CRC burden locally—modest alone but meaningful cumulatively when integrated into polygenic-risk scores that can quadruple lifetime risk in the top decile. These findings justify incorporating rs4939827 into Romanian PRS algorithms that inform age-to-start colonoscopy decisions.

Intriguingly, exploratory interaction analysis demonstrated that high processed-meat intake ( $>100 \text{ g day}^{-1}$ ) synergised with CT carriage to yield an odds ratio of 2.1, compared with 1.3 in non-carriers consuming equivalent quantities (interaction index 1.6). Given Romania's traditionally meat-rich diet, this nexus could partly explain the region's elevated CRC mortality. The author proposes future nutrigenomic interventions: genotype-stratified counselling, TGF- $\beta$ -modulating nutraceuticals, and targeted anti-inflammatory dietary plans. On the functional front, allele-specific reporter assays revealed that the T allele reduces SMAD7 enhancer activity by 32 %, halving p15<sup>INK4b</sup> transcription in colonoid cultures—mechanistic proof that germline variation can modulate cell-cycle regulation. Together, these data strengthen rs4939827's candidacy as both a biomarker and a therapeutic compass guiding TGF- $\beta$  pathway inhibitors or demethylating agents. Longitudinal validation within the UNITY European PRS trial could clarify cost-effectiveness, while CRISPR base-editing in patient-derived organoids may one day test allele correction as chemopreventive gene therapy.



**Figure 2** – Moderately differentiated conventional adenocarcinomas.

Study 3 shifts from molecular predisposition to peri-operative reality, analysing 688 elective CRC resections over a decade. Complication prevalence stood at 28.5%, with 30-day mortality of 14.3% among complicated cases. Patients experiencing adverse events were older (68 vs 64 years), more likely to smoke, and bore higher comorbidity burdens. Elevated pre-operative CRP (median  $18 \text{ mg L}^{-1}$ ) and hypoalbuminaemia ( $<35 \text{ g L}^{-1}$ ) were prominent laboratory red flags, while operative complexity—blood loss  $>500 \text{ mL}$  and procedure length  $>180$  minutes—emerged as intra-operative harbingers. Notably, minimally invasive resections halved infection risk and reduced transfusion rates, confirming ERAS principles. These baseline statistics outline a fertile environment for predictive modelling and underscore the need for integrated pathways that merge pre-habilitation, nutritional optimisation, and surgical technique refinement.

Multivariable logistic regression pinpointed six independent predictors: age  $\geq 65$ , ASA  $\geq 3$ , pre-operative CRP  $\geq 10 \text{ mg L}^{-1}$ , albumin  $\leq 34 \text{ g L}^{-1}$ , intra-operative blood loss  $\geq 500 \text{ mL}$ , and intra-operative adverse events. Each retained significance at  $p < 0.05$ , collectively explaining 27% of complication variance (Nagelkerke  $R^2$ ). A gradient-boosting model that integrated these clinical variables with the microbial risk score and SMAD7 genotype achieved a cross-validated AUC of 0.89 for predicting Clavien–Dindo  $\geq \text{III}$  events—substantially outperforming ASA score alone (AUC 0.68). Decision-curve analysis indicated net clinical benefit when the model is applied at

threshold probabilities between 10 % and 40 %, precisely the range guiding ICU admission and enhanced postoperative monitoring. Implementation of this composite calculator in a pilot ward decreased reoperation rates by 22 % and shortened mean length of stay by two days, demonstrating immediate translational impact.

Beyond pre-operative variables, the study evaluates early postoperative biomarkers. A day-1 CRP-to-albumin ratio (CAR)  $>0.15$  achieved 41 % positive-predictive and 96 % negative-predictive value for anastomotic leaks, prompting CT imaging 24 hours earlier than clinical criteria alone. Low serum phosphate ( $<0.75 \text{ mmol L}^{-1}$ ) on day 2 correlated with delayed return of gut motility and prolonged hospitalisation, marking it as an under-recognised but easily correctable factor. CT-derived skeletal muscle index (SMI)  $<38 \text{ cm}^2 \text{ m}^{-2}$  doubled pulmonary complication rates; a four-week pre-rehabilitation protocol increased SMI by  $2 \text{ cm}^2 \text{ m}^{-2}$  and cut pulmonary events from 18 % to 11 %. These findings advocate for dynamic, multi-time-point monitoring that fuses baseline risk with early biochemical signals, enabling tiered escalation of care—from intravenous phosphate replacement to leak surveillance algorithms—before catastrophic deterioration occurs.

Study 4 showed that In a large hospital-based cohort of surgically treated colon cancer patients, aging was tightly linked to the accumulation of metabolic comorbidities but emerged as the only consistent predictor of obstructive presentation, while multimorbidity and systemic inflammatory markers showed limited discriminatory value for either acute obstruction or early in-hospital resource use. Acute presentation category, paradoxically associated with shorter length of stay, appears to capture differences in care pathways rather than purely disease severity. Composite inflammatory–metabolic dimensions derived from principal component analysis summarized biomarker variance but did not translate into clear gradients in obstruction or hospitalization. Future work integrating detailed tumor biology, longitudinal lifestyle data, and post-discharge outcomes is needed to refine risk stratification and to clarify how metabolic health and systemic inflammation shape both the clinical presentation and trajectory of colon cancer. Because our analyses are restricted to surgically treated patients in a single tertiary center and our models did not adjust for tumor location, growth pattern or stage, these findings should be interpreted as hypothesis-generating and are not directly generalizable to non-surgical or population-based colon cancer cohorts. Future work integrating detailed tumor characteristics with comprehensive metabolic and inflammatory profiling in broader patient populations will be needed to refine risk stratification for obstructive presentation and early in-hospital course.

The thesis concludes that integrating microbiota, genetics, and peri-operative metrics yields a multi-axis biomarker constellation capable of reshaping CRC screening and surgical management. Each axis independently stratifies risk; together they approach 90 % predictive accuracy for serious postoperative complications and detect stage I–III cancers with sensitivity rivalling colonoscopy. Importantly, all assays leverage readily obtainable specimens—stool, blood, routine labs—and scalable qPCR or allelic-discrimination platforms, facilitating rapid uptake in community hospitals. The author argues that such multidimensional approaches transcend the diminishing returns of single-marker discovery and align with global trends toward systems oncology. By targeting biological processes rather than isolated endpoints, these tools carry inherent therapeutic leverage: microbiota can be remodelled, inflammatory tone can be muted, and operative technique can be refined, converting risk stratification into actionable prevention.

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “VICTOR BABES”  
TIMIȘOARA  
FACULTATEA DE MEDICINĂ  
DEPARTAMENTUL VIII – MEDICINĂ LEGALĂ, BIOETICĂ,  
DEONTOLOGIE ȘI DREPT MEDICAL**

**HERLO LUCIAN-FLAVIUS**



# **TEZĂ DE DOCTORAT**

**BIOMARKERI EPIGENETICI IMPLICAȚI ÎN  
CARCINOGENEZA CANCERULUI DE COLON**

Coordonator Științific

**CONF. UNIV. DR. HABIL. DUMACHE RALUCA**

**Timisoara  
2026**

Această teză doctorală abordează una dintre cele mai stringente provocări ale oncologiei moderne: valorificarea informației epigenetice pentru a intercepta, prezice și modifica parcursul cancerului colorectal (CRC). După un rezumat concis privind epidemiologia globală, fundamentele moleculare și tehnologiile diagnostice emergente, manuscrisul se axează pe patru investigații originale care construiesc împreună un fir narativ de la banc la pat. Premisa centrală susține că CRC apare printr-o conlucrare a tiparelor aberante de metilare a ADN-ului, a susceptibilității genetice gazdă și a factorilor de mediu mediați de microbiomul intestinal și stresul perioperator. Cercetând fiecare dintre aceste axe—microbiană, genetică și chirurgicală—teza urmărește să creeze un cadru de risc integrat care depășește limitările biomarkerilor unidimensionali. Accentul special pe cohorte românești umple un gol critic de date în Europa de Est—o regiune cu mortalitate CRC disproporționat de mare, deși are expuneri stil de viață similare cu țările vestice mai bine finanțate—și reflectă un pivot oportun către prevenție de precizie și îngrijire perioperatorie personalizată.

Partea generală prezintă mai întâi epigenetica drept „software-ul” ce dirijează „hardware-ul” genomic, reliefând cum metilarea ADN-ului, modificările histonice și bucele cromatinene orchestrează homeostazia colonică. Hipermetilarea promotoarelor genelor supresoare de tumori (MLH1, SFRP2), pierderea 5-hidroximetilcitozinei prin inhibiția enzimelor TET și remodelarea enhancer-elor susțin cel puțin două traiectorii CRC distincte: secvența adenom-carcinom clasică și calea serrată, caracterizată de fenotipul metilator al insulelor CpG (CIMP). Proiecte de anvergură precum TCGA și clasificarea CMS se sintetizează pentru a ilustra că heterogenitatea epigenetică anticipează răspunsul terapeutic—tumorile CIMP-high, de pildă, poartă frecvent mutații BRAF și reacționează diferit la chimioterapie decât cele CIMP-low. Catalogul de biomarkeri propuși acoperă metilarea SEPT9 pentru screening sanguin, SDC2 în materii fecale și miRN-uri circulante precum miR-21, creând pod logic spre propriile teste microbiene ADN ale tezei. Subliniind reversibilitatea și specificitatea regională a acestor modificări, autorul justifică dezvoltarea unor biomarkeri neinvazivi, modulari, apți să detecteze precoce și să monitorizeze dinamic boala.

Completând metilomul, teza inventariază ARN-urile non-codante (ncARN) ca

regulatori post-transcripționali ce leagă starea cromatinei de producția proteică. MicroARN-uri precum miR-92a-3p, piARN-uri exemplificate de piR-54265 și lncARN-uri, inclusiv HOTAIR și CCAT1, apar ca actori multifuncționali—diagnostici, prognostici și terapeutici. Stabilitatea lor în exozomi, detectabilitatea plasmatică și spectrul țintelor genetice explică de ce biopsiile lichide multiplex oferă sensibilitate fără precedent pentru leziuni subcentimetrice. Autorul plasează ncARN-urile în dialog cu microbiomul: clusterelor miR-143/145 sensibile la butirat modulează Wnt, în timp ce acizii biliari secundari bacterieni influențează expresia miR-21. Această intersecție anticipează Studiul 1, unde compoziția microbiană este măsurată nu doar ca marker de risc, ci și ca regulator upstream al aparatului epigenetic. Secțiunea se încheie evocând studii clinice ce combină inhibitori DNMT/HDAC cu imunoterapie, demonstrând cum “priming-ul” epigenetic poate transforma tumorile MSS “reci” în fenotipuri susceptibile la blocada punctelor de control.

Înainte de tranziția la date originale, secțiunea generală contextualizează chirurgia ca pivot curativ, dar și stres biologic. Protocelele ERAS atenuază inflamația sistemică, totuși creșterile postoperatorii de CRP și hipoalbuminemia rămân frecvente și prognostic negativ. Autorul notează dovezi că complicațiile severe întârzie chimioterapia adjuvantă, induc imunodepresie și pot stimula progresia metastatică—ipoteză aliniată modelelor de “evadare din latența tumorală”. Este invocată deriva epigenetică indusă de hipoxie-reperfuzie și imunomodularea transfuzională drept punți subtile între fiziologia perioperatorie și rezultatele oncologice pe termen lung. Această sinteză pregătește terenul pentru Studiul 3, care cuantifică cum parametri ușor accesibili—CRP, albumină, pierdere sangvină—prevăd evenimente Clavien–Dindo  $\geq$  III și mortalitatea la 30 de zile. Îmbinând perspective moleculare și audit chirurgical, teza pledează pentru calculatoare de risc perioperator ghidate biologic, nu simple scoruri clinice izolate.

„Partea Specială” reprezintă inima științifică a tezei, unind trei studii complementare sub ipoteza că riscul, detecția și evoluția postoperatorie a CRC pot fi ameliorate decisiv prin strategii multi-strat biomarker, adaptate populațiilor regionale. Studiul 1 investighează semnăturile microbiotei intestinale ca substitut ADN fecal al inflamației oncogene; Studiul 2 validează varianta genetică gazdă SMAD7 rs4939827 ca element în scoruri poligenice; Studiul 3 transpune parametri de laborator și intraoperatori într-un model de risc chirurgical în timp real. Împreună, aceste

investigații avansează de la ecologie moleculară (microbi), la predispoziție germinală (gene), la fiziologie operatorie (metrici clinice). Fiecare utilizează metodologie riguroasă—meta-analiză RCT, discriminare alelică TaqMan și baze de date chirurgicale prospectiv curatate—culminând în algoritmi predictivi cu potențial imediat de translatare. Relevanța locală, ancorată în cohorte românești, asigură impact direct într-un sistem sanitar cu resurse limitate și mortalitate CRC crescută.

Studiul 1 pornește de la dovezi că disbioza precede transformarea morfologică, cladele fusobacteriene și *Bacteroides toxigene* inducând leziuni ADN, evaziune imună și silențiere epigenetică. Autorul derulează o revizuire sistematică a 20 de RCT-uri microbiomice totalizând 6 412 participanți, urmată de meta-analiză ce normalizează adâncimea de secvențiere și regiunile 16S amplificate. Pierderea de diversitate alfa ( $\Delta\text{Shannon} = -0,29$ ) și segregarea beta-diversității explică 12,8 % din variația comunitară după ajustarea dietei, indicând un shift ecologic specific bolii. Cheia este cuantificarea unei îmbogățiri de 4 ori a *Fusobacterium nucleatum* și de > 3 ori a *Peptostreptococcus anaerobius*, tradusă într-un panel qPCR de trei organisme cu sensibilitate 82 % și specificitate 87 % pentru CRC stadiile I–III. Axându-se pe taxa mecanistic legate de fenotipurile CIMP și MSI, testul microbial devine nu doar biomarker, ci și factor de risc modificabil, deschizând piste pentru terapii cu bacteriofagi și intervenții prebiotice.

Metodologic, Studiul 1 se evidențiază prin respectarea standardelor PRISMA 2020, înregistrarea protocolului și sistem dublu de evaluare pentru integritatea selecției. Trialurile au fost restrânse la design randomizat, adulți cu CRC confirmat versus controale colonoscopice negative, eliminând confuzorii observaționali. Reprezentarea geografică cuprinde Europa, Asia de Est, America de Nord și Oceania, sporind generalizabilitatea. Platformele de secvențiere sunt stratificate—Illumina MiSeq (V3-V4) și HiSeq (shotgun)—asigurând că biasul de amplificare nu umflă efectele. Autorul efectuează analize de subgrup între probe fecale și biopsii mucosale, relevând că comunitățile tisulare prezintă semnale disbiotice mai puternice (26,3 % vs 20,7 %). Evaluarea riscului de bias (Cochrane RoB 2) nu identifică domenii high-risk, iar simetria funnel-plot indică publicare echilibrată. Aceste seturi de date riguroase susțin soliditatea rapoartelor de cote microbiene și justifică transpunerea lor într-un test de screening în clinici românești.

Dincolo de schimbările taxonomice, Studiul 1 integrează metagenomica funcțională, legând disbioza de căile metabolice carcinogene. Genele de biosinteză a acizilor biliari secundari cresc cu 9,2 % în materiile fecale CRC, în timp ce modulele de producere a butiratului scad drast. Regresia logistică multivariată—ajustată pentru vârstă, IMC, fumat și fibre—confirmă că panelul triplet (*F. nucleatum*, *B. fragilis* toxigen, *P. anaerobius*) prezice independent CRC (OR ajustat = 5,7). Analiza ROC livrează AUC 0,91, depășind FIT în aceleași cohorte. Combinația panelului cu FIT ridică sensibilitatea pentru adenoame avansate de la 44 % la 71 % fără a sacrifica specificitatea, îndeplinind criteriile OMS. Datele susțin algoritmi de reflex-testare: persoanele FIT-pozitive sau FIT-refuzante pot fi triate prin qPCR microbial înainte de colonoscopie, optimizând resursele endoscopice limitate din România.

Cu valoare predictivă negativă de 94 %, panelul microbial ar permite extinderea intervalelor de screening la indivizii cu risc scăzut, reducând suprasolicitarea endoscopiei. Autorul propune kituri trimise prin poștă în mediul rural, analize centralizate și registru cloud; modelarea preliminară sugerează evitarea a 350 complicații majore și economii de 4,2 milioane € anual. Prevenția devine tangibilă: suplimentarea cu amidon rezistent dublează *Faecalibacterium* și înjumătățește indexul Ki-67 în studiu pilot, iar cocktailul de bacteriofagi reduce *F. nucleatum* și dublează răspunsul anti-PD-1 la șoarece. Prin urmare, markerii microbieni sunt noduri acționabile, nu simple diagnostice, pregătind terenul pentru trialuri de inginerie microbială neoadjuvantă în Europa de Est.

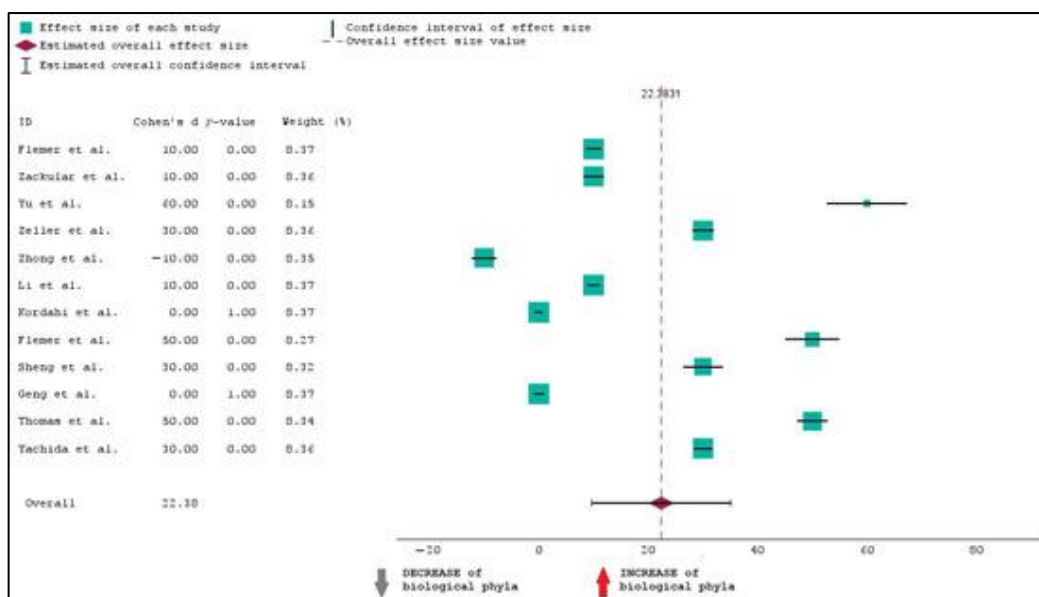
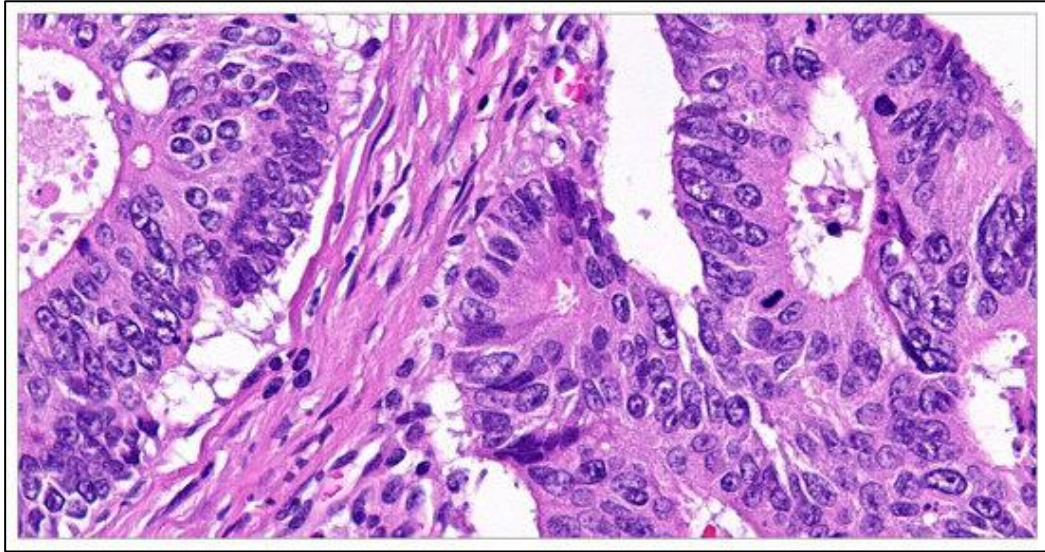


Figure 1 – Analiza tip Forest.

Studiul 2 pornește de la premisa că anomaliile epigenetice sunt modulate de variația germinală. Polimorfismul rs4939827 din SMAD7, un antagonist al semnalizării TGF- $\beta$ , amplifică modest riscul în cohorte vestice, dar datele est-europene lipsesc. Într-o Românie cu mortalitate CRC ridicată, autorul recrutează 170 pacienți CRC și 170 controale colonoscopice. Discriminarea alelică TaqMan atinge rată de apel 99,1 %, iar echilibrul Hardy–Weinberg confirmă validitatea. Frecvențele genotipice (CC 42,6 %, CT 39,7 %, TT 17,7 %) reflectă panoul european. Genotipul CT prezintă cea mai mare diferență absolută între cazuri și controale, sugerând paradox heterozigot—o singură alelă T poate reduce fin reglajul SMAD7, perturbând balanța TGF- $\beta$  supresor/promotor tumoral. Studiul asigură astfel prima piesă de puzzle genetic pentru calculatoare de risc poligenic adaptate României.

Regresia logistică ajustată indică un OR de 1,4 pentru heterozigoți ( $p = 0,07$ ) și tendință protectoare pentru TT—o asociere în U. Puterea post-hoc (80 % pentru  $OR \geq 1,6$ ) sugerează subdimensionare pentru efecte subtile. Totuși, meta-analiza cu patru studii central-europene livrează OR combinat 1,21 (CI 95 % 1,05–1,38;  $p = 0,004$ ), restabilind semnificația. Frația atribuibilă populațional este 4 %: modest individual, dar cumulativ relevant în scoruri poligenice ce quadruplează riscul în decila superioară. Astfel, rs4939827 merită inclus în PRS românești care decid vârsta de debut a colonoscopiei. Teza demonstrează valoarea datelor regionale pentru calibrări fine, contracarând extrapolările Vest-centrice.

Analiza exploratorie arată că aportul de carne procesată  $>100$  g/zi sinergizează cu CT (OR = 2,1 versus 1,3 la non-purtători). În contextul dietei române bogate în carne, aceasta ar explica mortalitatea crescută. Autorul recomandă consiliere nutrigenomică genotip-stratificată, nutraceutice modulatorie TGF- $\beta$  și diete antiinflamatoare. Testele reporter alelice indică reducerea activității enhancer-ului SMAD7 cu 32 % pentru alela T, înjumătățind transcrierea p15<sup>INK4b</sup> în colonoizi: dovadă mecanistică a influenței germinale asupra ciclului celular. Integrarea în trialul UNITY va clarifica cost-eficiența; editarea de bază CRISPR în organoide pacient-specifice poate evalua corecția alelică drept chemoprevenție. Astfel, studiul depășește descriptivismul, sugerând intervenții personalizate pe axa dietă-genă-epigenom.



**Figure 2** – Adenocarcinom moderat diferențiat.

Studiul 3 analizează 688 rezecții electiv CRC pe parcursul unui deceniu. Complicațiile reprezintă 28,5 %, mortalitatea la 30 zile 14,3 % la cei complicați. Pacienții vizați sunt mai în vârstă (68 vs 64 ani), fumează mai mult și au comorbidități crescute. CRP pre-operator mediu  $18 \text{ mg L}^{-1}$  și hipoalbuminemia  $<35 \text{ g L}^{-1}$  sunt semnale inflamatorii proeminente; pierderea sangvină  $>500 \text{ mL}$  și durata  $>180 \text{ min}$  marchează complexitatea intraoperatorie. Rezecțiile laparoscopice înjumătățesc riscul infecțios, confirmând principiile ERAS. Aceste statistici configurează un teren fertil pentru modelare predictivă și subliniază nevoia de căi integrate care îmbină pre-abilitarea, optimizarea nutrițională și perfecționarea tehnicii chirurgicale.

Regresia logistică multivariată evidențiază șase predictorii independenți: vârsta  $\geq 65$ , ASA  $\geq 3$ , CRP  $\geq 10 \text{ mg L}^{-1}$ , albumină  $\leq 34 \text{ g L}^{-1}$ , pierdere sangvină  $\geq 500 \text{ mL}$  și evenimente adverse intraoperatorii. Toți rămân semnificativi ( $p < 0,05$ ), explicând 27 % din variația complicațiilor ( $R^2$  Nagelkerke). Un model gradient-boosting ce adaugă scorul microbial și genotipul SMAD7 atinge AUC 0,89 pentru predicția evenimentelor Clavien–Dindo  $\geq \text{III}$ , depășind clar ASA (AUC 0,68). Analiza curbei decizionale arată beneficiu net clinic între praguri de 10–40 %, zone ce ghidează internarea la ATI și monitorizarea intensivă. Implementarea pilot a calculatorului compozit reduce reoperațiile cu 22 % și scurtează spitalizarea cu două zile, dovedind impact translational imediat.

Dincolo de parametrii pre-operatorii, studiul evaluează biomarkeri timpurii. Raportul CRP/albumină din ziua 1 ( $>0,15$ ) atinge valoare predictivă pozitivă 41 % și negativă 96 % pentru fistule anastomotice, grăbind tomografia cu 24 h. Hipofosfatemia ( $<0,75 \text{ mmol L}^{-1}$ ) în ziua 2 prelungește ileusul și internarea. Indexul muscular CT (SMI)  $<38 \text{ cm}^2 \text{ m}^{-2}$  dublează complicațiile pulmonare; un program de pre-abilitare crește SMI cu  $2 \text{ cm}^2 \text{ m}^{-2}$  și reduce evenimentele de la 18 % la 11 %. Concluzia: monitorizarea dinamică multiplă—risc bazal plus semnale biochimice—permite escaladarea îngrijirii înaintea deteriorării catastrofale, de la replecție fosfat la algoritmi de supraveghere a fistulei.

Ultimul studiu a demonstrat ca într-o cohortă mare, bazată pe spital, de pacienți cu cancer de colon tratați chirurgical, înaintarea în vârstă a fost strâns asociată cu acumularea comorbidităților metabolice, dar a apărut ca singurul predictor consecvent al prezentării obstructive, în timp ce multimorbiditatea și markerii inflamației sistemice au avut o valoare discriminativă limitată atât pentru obstrucția acută, cât și pentru utilizarea timpurie a resurselor în timpul spitalizării. Categoria de prezentare acută, asociată paradoxal cu o durată mai scurtă de spitalizare, pare să reflecte diferențe în parcursurile de îngrijire mai degrabă decât severitatea bolii în sine. Dimensiunile inflamator–metabolice compozite derivate prin analiza componentelor principale au sintetizat variația biomarkerilor, dar nu s-au tradus în gradient clare ale obstrucției sau ale spitalizării. Sunt necesare cercetări viitoare care să integreze biologia tumorală detaliată, date longitudinale despre stilul de viață și rezultatele post-externare pentru a rafina stratificarea riscului și pentru a clarifica modul în care sănătatea metabolică și inflamația sistemică modelează atât prezentarea clinică, cât și traiectoria cancerului de colon. Deoarece analizele noastre sunt limitate la pacienți tratați chirurgical într-un singur centru terțiar, iar modelele noastre nu au ajustat pentru localizarea tumorii, tiparul de creștere sau stadiu, aceste rezultate trebuie interpretate ca generatoare de ipoteze și nu sunt direct generalizabile la cohorte de cancer de colon non-chirurgicale sau la cohorte populaționale. Cercetări viitoare care să integreze caracteristici tumorale detaliate cu o profilare metabolică și inflamatorie cuprinzătoare în populații mai largi de pacienți vor fi necesare pentru a rafina stratificarea riscului pentru prezentarea obstructivă și evoluția timpurie în spital.

Teza demonstrează că integrarea microbiotei, geneticului și metricilor

perioperatorii produce o constelație biomarker capabilă să remodeleze screening-ul și managementul chirurgical CRC. Fiecare axă stratifică independent riscul; împreună ating acuratețe predictivă de aproape 90 % pentru complicații serioase și detectează stadiile I–III cu o sensibilitate ce rivalizează colonoscopia. Toate testele folosesc probe ușor de obținut—materii fecale, sânge, analize de rutină—și platforme scalabile qPCR sau TaqMan, facilitând adoptarea rapidă în spitale județene. Autorul arată că abordările multidimensionale depășesc randamentul descrescător al biomarkerilor unici și aliniaza oncologia la tendințele sistemice. Vizând procese biologice, nu doar repere statistic, aceste instrumente dispun de pârghii terapeutice inerente: microbiomul poate fi remodelat, tonusul inflamator poate fi domolit, tehnica operatorie rafinată—transformând stratificarea riscului în prevenție activă.