

**"VICTOR BABES" UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY
TIMISOARA**

**FACULTY OF MEDICINE
DEPARTMENT OF ENT**



DOCTORAL THESIS SUMMARY

**Correlations Between Circulating MicroRNA Profiles, Clinical
Course,
and the Determinants of Coping Phenotypes in Laryngeal Cancer**

PhD Candidate

HUȚ ALEXANDRU ROMULUS

Scientific Coordinator

PROF. UNIV. DR. HABIL. NICOLAE CONSTANTIN BALICA

Timisoara

2026

INTRODUCTION

Head and neck cancers represent a heterogeneous group of malignancies arising from the mucosal surfaces of the upper aerodigestive tract, constituting approximately the seventh most common cancer type worldwide and accounting for substantial morbidity and mortality across diverse geographic regions. Among these, laryngeal cancer holds particular clinical significance because of its direct impact on voice production, swallowing, airway protection, and social communication, all of which profoundly influence a patient's daily life and psychological well-being. The global burden of laryngeal cancer remains substantial, with recent epidemiological estimates indicating nearly 190,000 new cases and over 100,000 deaths annually.

Laryngeal squamous cell carcinoma accounts for between 85% and 95% of all histological diagnoses at this anatomical site and demonstrates a marked male predominance, with incidence rates in men approximately seven to eight times higher than in women, largely attributable to differential exposure to tobacco smoking and alcohol consumption. Geographic variability in incidence is considerable, with the highest rates observed in parts of Southern and Eastern Europe, the Caribbean, and South America. In Romania specifically, oral and laryngeal malignancies represent a notable component of the national cancer burden.

The present doctoral thesis is structured around three complementary research studies that together address multiple facets of laryngeal cancer. The general part provides a comprehensive overview of current knowledge regarding epidemiology, risk factors, diagnostic methods, molecular biomarkers, treatment modalities, survival outcomes, and the psychosocial dimensions of care. The special part presents original research contributions examining evolving trends in diagnosis and survival, the diagnostic and prognostic value of circulating microRNAs, and the characterization of psychosocial phenotypes in patients with head-and-neck cancer.

STUDY 1: Laryngeal Cancer in the Modern Era: Evolving Trends in Diagnosis, Treatment, and Survival Outcomes

Introduction and Objectives. Laryngeal cancer stands as one of the more frequently encountered head and neck malignancies, accounting for approximately 188,960 newly diagnosed cases and 103,216 fatalities worldwide according to 2022 global cancer statistics. The overwhelming majority (85–95%) are histologically classified as squamous cell carcinomas. Despite notable advancements in diagnostic instrumentation, surgical techniques, and chemoradiation protocols, the mortality rate remains elevated, with the 5-year survival rate standing at approximately 64%, attributable largely to the fact that roughly two-thirds of patients receive their diagnosis at advanced stages. The primary objectives of this study included assessing emerging biomarkers for personalized risk evaluation, delineating the clinical and molecular diversity of laryngeal cancer subtypes, and proposing an integrated management framework that optimizes both survival outcomes and functional preservation.

Materials and Methods. A comprehensive and systematic search was conducted across PubMed/MEDLINE, Scopus, and Web of Science using a combination of MeSH terms and free-text terms related to laryngeal cancer, epidemiology, risk factors, diagnosis, biomarkers, treatment, and survival. The searches captured

publications from database inception through March 2025. Articles were included if they addressed key aspects of laryngeal squamous cell carcinoma in peer-reviewed journals written in English. The review adopted a narrative approach with qualitative synthesis of the extracted data.

Results. The review identified that the development of laryngeal cancer is influenced by a constellation of lifestyle and environmental factors. Tobacco use remains the most prominent risk factor, with cigarette smoking associated with approximately a sevenfold increase in risk. Alcohol consumption is a significant independent risk factor exhibiting a clear dose-response relationship, with approximately 30% of European LC deaths linked to alcohol use disorders. The synergistic interaction between tobacco and alcohol multiplicatively increases risk beyond the sum of individual contributions. High-risk HPV strains have been implicated, though their etiological role varies by geographic region. Occupational exposures to asbestos and nickel, gastroesophageal reflux disease, metabolic syndrome, and alterations in the oral microbiome were also identified as contributing factors.

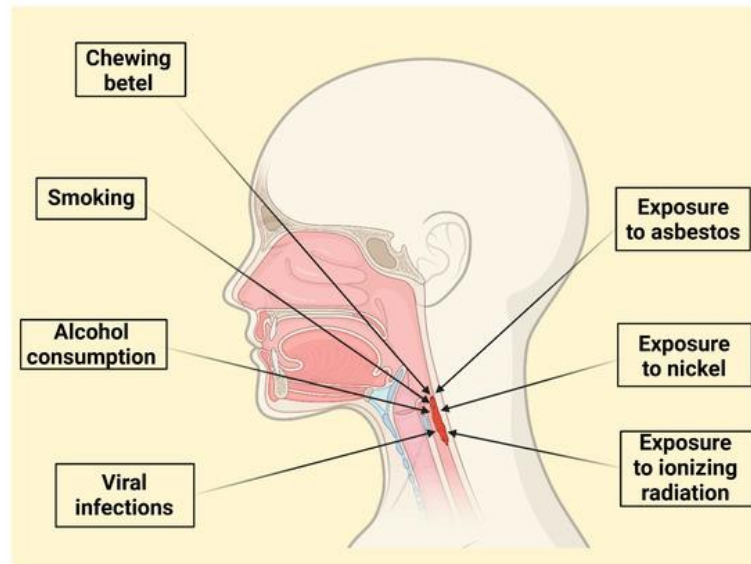


Figure I.1. Overview of Key Lifestyle, Viral, and Environmental Risk Factors in Laryngeal Cancer Development.

The review further revealed that molecular biomarkers are increasingly important for prognostic stratification. Key biomarkers include p53 mutations (present in 40–60% of cases), EGFR overexpression associated with poor prognosis, and circulating tumor DNA for monitoring treatment response. The tumor microenvironment and immune landscape are recognized as central to understanding treatment response, with PD-L1 expression demonstrating clinical utility for identifying patients likely to benefit from immune checkpoint inhibitor therapy. Treatment strategies have evolved considerably, with emphasis on organ preservation through concurrent chemoradiation as established by the RTOG 91-11 trial, while immunotherapy and targeted therapy have shown promising results for recurrent or metastatic disease.

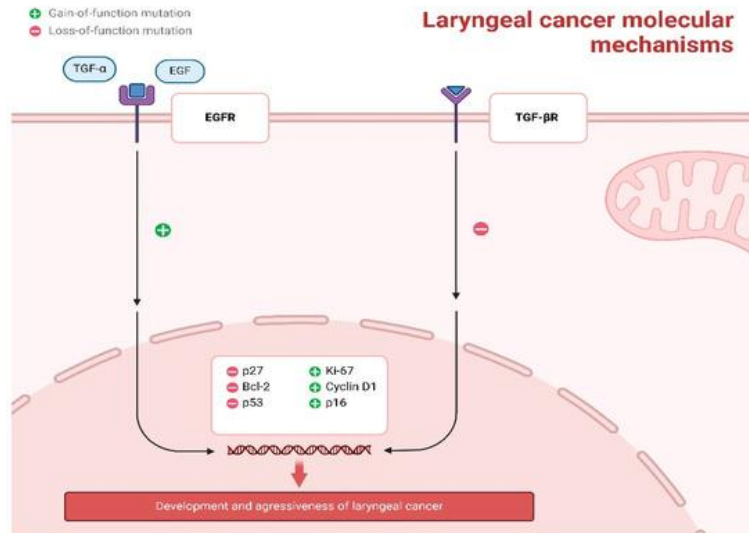


Figure 1.2. Laryngeal Cancer Molecular Mechanisms: Gain-of-Function and Loss-of-Function Mutations in Key Signaling Pathways.

Conclusions. This review underscored the critical importance of a multidisciplinary approach to laryngeal cancer management, integrating clinical, pathological, and molecular information. Future research must address rigorous validation of promising biomarkers, development of novel targeted therapies, emphasis on personalized medicine strategies, and optimization of treatment strategies including immunotherapy combinations. The integration of comprehensive genomic and proteomic profiling with detailed clinical data holds promise for tailoring treatment and improving both survival and quality of life.

STUDY 2: Circulating miR-99a-5p and miR-1246 as Diagnostic and Stage-Associated Biomarkers in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma

Introduction and Objectives. Laryngeal cancer remains a clinically consequential head-and-neck malignancy due to its direct impact on airway protection, voice production, and swallowing function. Despite refinements in organ-preservation strategies and multimodality care, prognoses continue to diverge markedly by stage. MicroRNAs represent attractive biomarker candidates because they regulate post-transcriptional gene expression programmes implicated in proliferation, apoptosis, invasion, and immune modulation. The primary objective of this study was to compare circulating miR-99a-5p and miR-1246 expression between patients with LSCC and non-cancer controls, with secondary objectives evaluating differences according to disease stage, nodal status, and treatment exposure.

Materials and Methods. This observational single-centre case-control study was conducted at Victor Babeş University of Medicine and Pharmacy, in collaboration with Pius Brînzeu Clinical Emergency Hospital, Timișoara, Romania, between March 2022 and October 2024. Eligible cases were adults with histopathologically confirmed LSCC. Controls were adults without current or previous malignancy. Peripheral venous blood was collected and processed through standardized centrifugation protocols. Total RNA enriched for small RNAs was extracted, and RT-qPCR was performed using TaqMan Advanced miRNA Assays on a QuantStudio 5 system. The analyzed targets were miR-99a-5p, miR-1246, and miR-16-5p as endogenous

reference. Statistical analysis included Mann-Whitney U tests, Spearman correlations, ROC analysis, and multivariable logistic regression.

Results. The study included 61 LSCC patients and 14 controls. In the case-control analysis, circulating miR-99a-5p was significantly lower in cancer patients than in controls (ΔCt 5.308 vs 3.184, $p < 0.001$), corresponding to a fold-change of 0.200. miR-1246 did not differ significantly between groups ($p = 0.09$). Within the cancer cohort, advanced-stage disease (III–IV) showed significantly lower relative miR-1246 expression than early-stage disease (I–II) (ΔCt 5.820 vs 4.233, $p = 0.01$), while miR-99a-5p showed a non-significant trend in the same direction ($p = 0.052$). Patients who had received chemotherapy showed lower miR-99a-5p fold-change values than those without chemotherapy exposure (median 0.135 vs 0.438, $p = 0.017$).

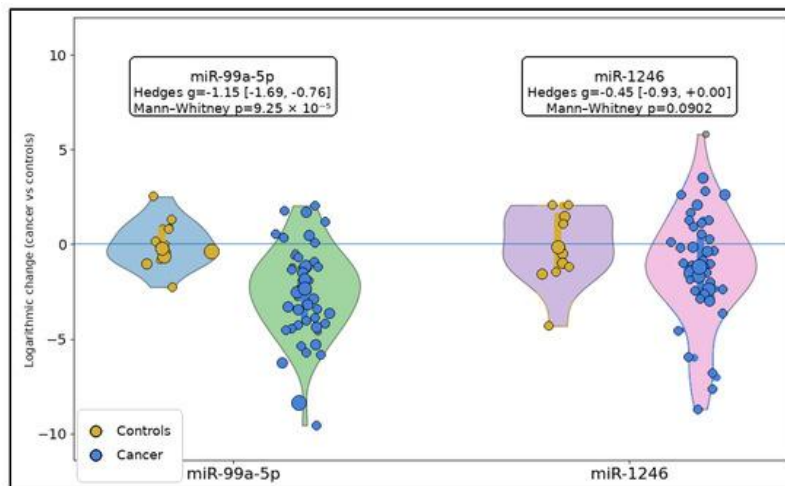


Figure II.1. Raincloud plots of log2 fold-change distributions for miR-99a-5p and miR-1246 in controls and LSCC.

ROC analysis demonstrated strong discriminative ability for miR-99a-5p, yielding an AUC of 0.842 (95% CI 0.744–0.931). Using the Youden-optimal cutoff $\Delta\text{Ct} = 4.018$, sensitivity was 77.4% and specificity was 92.9%. miR-1246 showed weaker performance (AUC 0.650). In multivariable logistic regression, miR-99a-5p was a statistically significant independent predictor of cancer status (OR 1.89, 95% CI 1.19–3.00, $p = 0.007$), while miR-1246 was not independently associated ($p = 0.57$). The two miRNAs were moderately correlated in cancer patients (Spearman $\rho = 0.494$, $p = 0.001$) but uncorrelated in controls, indicating cancer-associated coordination (Fisher's $z = 1.99$, $p = 0.046$). The composite suppression score differed significantly between stage groups, with a moderate-to-large standardized effect size (Hedges $g = 0.752$).

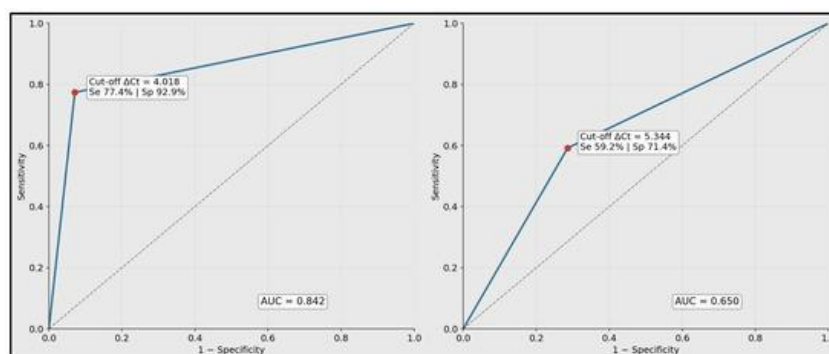


Figure II.2. ROC curves for discrimination of LSCC versus controls for miR-99a-5p (AUC = 0.842) and miR-1246 (AUC = 0.650).

Conclusions. Circulating miR-99a-5p demonstrated consistent and clinically meaningful suppression in laryngeal cancer and provided strong diagnostic discrimination, remaining independently associated with cancer status in a multimarker model. miR-1246 did not significantly separate cases from controls but displayed significant stage-related suppression, supporting a complementary role in within-cancer stratification. These findings suggest that miR-99a-5p could potentially be integrated as a minimally invasive adjunct to clinical evaluation, while miR-1246 may offer utility for biological stratification within confirmed cancer. Larger, multi-centre, longitudinal studies are warranted to validate thresholds and determine clinical decision-making impact.

STUDY 3: Alcohol-Related Risk, Depressive Symptoms, HRQoL, and Coping Phenotypes in Head-and-Neck Cancer

Introduction and Objectives. Laryngeal cancer is a major subtype of head-and-neck malignancy and remains a global survivorship challenge, not only because of oncologic risk but also because treatment can permanently affect voice, swallowing, appearance, and social participation. Beyond anatomic staging and tumour control, outcomes are shaped by modifiable exposures and psychosocial determinants that influence treatment tolerance, rehabilitation engagement, and longitudinal functioning. Alcohol use is particularly relevant as both a risk factor for developing upper aerodigestive tract cancers and as a clinically actionable survivorship issue. The study aimed to characterize alcohol-related risk, depressive symptom burden, health-related quality of life (HRQoL), and coping patterns stratified by clinical stage.

Materials and Methods. A multicenter, observational, cross-sectional study was conducted in collaboration with affiliated clinical centres in Timișoara and Oradea. The analytic cohort comprised 64 participants with confirmed head-and-neck cancer. Alcohol use was assessed using the AUDIT questionnaire, depressive symptoms using the PHQ-9, HRQoL using the EQ-5D, and coping using the COPE inventory. Statistical analyses included between-group comparisons, Spearman correlations, multivariable logistic regression predicting poor HRQoL, unsupervised clustering for psychosocial phenotype identification, and bootstrap-based mediation analysis testing whether depressive symptoms mediate the relationship between alcohol risk and HRQoL.

Results. The cohort was predominantly male (90.6%), with a mean age of 65.30 years. Most participants had stage IV disease (75.0%), with T4 tumours in 78.1% and nodal involvement in 62.5%. Despite clear differences in tumour burden between stage groups, psychosocial outcomes (AUDIT, PHQ-9, EQ-5D, coping-factor scores) did not differ meaningfully by stage. Overall, 45.3% were classified as low alcohol risk, 28.1% as hazardous, 7.8% as harmful, and 18.8% met criteria for possible dependence (AUDIT ≥ 20). This distribution was nearly identical across stage groups. By sex, possible dependence was present in 20.7% of males but 0.0% of females ($p = 0.006$).

PHQ-9 correlated significantly with worse HRQoL ($\rho = -0.275$, $p = 0.028$), and AUDIT scores showed a modest positive association with COPE Factor 2 ($\rho = 0.263$, $p = 0.036$), implying that alcohol-risk burden may track with a specific coping domain.

Mediation analysis provided no evidence that depressive symptoms mediate the relationship between alcohol risk and HRQoL problem severity (indirect effect = 0.002, 95% CI -0.018 to 0.022). Unsupervised clustering identified three distinct psychosocial profiles with marked heterogeneity in alcohol burden, depression, and coping-factor signatures. Profile 3 exhibited the highest alcohol-risk burden (mean AUDIT 27.77), while Profile 2 had the lowest depression (mean PHQ-9 4.69) and highest adaptive coping scores.

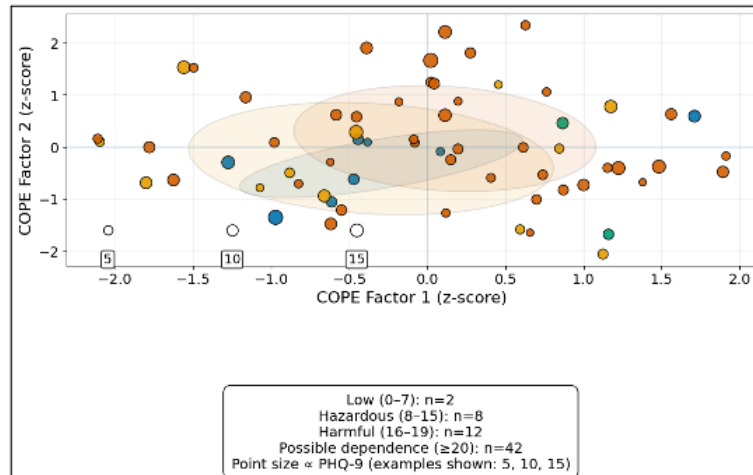


Figure III.1. COPE factor space by AUDIT category, with point size proportional to PHQ-9 score.

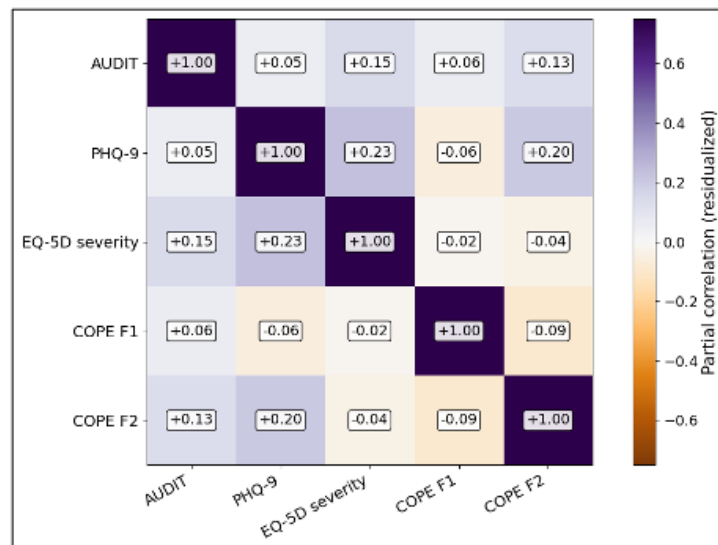


Figure III.2. Partial-correlation heatmap adjusted for age, sex, and stage IV, showing interrelationships among psychosocial measures.

Conclusions. In this multicenter head-and-neck cancer cohort, alcohol-related risk and depressive symptoms were prevalent and clinically meaningful, yet did not differ by clinical stage despite clear stage-related differences in tumour burden. Probable alcohol dependence affected a fifth of all patients and showed a strong sex disparity. Depressive symptom severity correlated with worse HRQoL, while mediation through depression was not supported at baseline. Data-driven psychosocial phenotypes revealed heterogeneity beyond staging and may provide a practical framework for personalized supportive care triage at first admission. These findings support embedding routine, stage-independent psychosocial screening at head-and-neck cancer intake.

FINAL CONCLUSIONS AND PERSONAL CONTRIBUTIONS

The three studies comprising the special part of this doctoral thesis collectively advance our understanding of laryngeal cancer through complementary approaches spanning molecular biology, diagnostic biomarker development, and psychosocial survivorship assessment.

Study 1 provided a comprehensive narrative review of the current landscape of laryngeal cancer, synthesizing evidence on epidemiology, risk factors, histological diversity, diagnostic modalities, molecular biomarkers, treatment strategies, and survival outcomes. This work highlighted the expanding role of immunotherapy and targeted therapy, the promise of liquid biopsy technologies, and the potential of AI-driven diagnostics, while underscoring persistent challenges in advanced-stage disease and the critical need for multidisciplinary team approaches.

Study 2 translated biomarker concepts into original clinical research, demonstrating that circulating miR-99a-5p is significantly downregulated in LSCC patients compared with controls and provides strong diagnostic discrimination (AUC 0.842). This study further revealed that miR-1246, while not diagnostically discriminative, shows significant stage-associated suppression, suggesting complementary roles for diagnosis and within-cancer biological stratification, respectively. The identification of cancer-associated changes in miRNA-miRNA correlation structure represents a novel finding with implications for future multimarker panel development.

Study 3 addressed a critical gap in laryngeal cancer care by examining the psychosocial dimensions of survivorship. By demonstrating that clinically actionable alcohol risk (18.8% with probable dependence) and depression-associated HRQoL impairment are prevalent and independent of clinical stage, this study provided compelling evidence for embedding routine psychosocial screening at diagnosis. The identification of three distinct psychosocial phenotypes offers a practical framework for tiered supportive care interventions, ranging from standard supportive care for the low-depression adaptive-coping group, to structured addiction-focused intervention for the high alcohol-risk group, and integrated behavioural oncology pathways for the high alcohol plus higher depressive burden group.

Together, these studies reflect a comprehensive approach to laryngeal cancer, from molecular mechanisms through clinical biomarkers to patient-centred outcomes, and provide a foundation for future research aimed at personalized, multidisciplinary management of this challenging disease. The integration of liquid biopsy biomarkers with psychosocial phenotyping represents an innovative paradigm that bridges molecular science and patient-centered care to optimize outcomes across the entire continuum of laryngeal cancer management.

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "VICTOR BABEȘ"
TIMIȘOARA**

**FACULTATEA DE MEDICINĂ
DEPARTAMENTUL ORL**



REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Corelații între profilurile de microARN circulant, evoluția clinică
și determinanții fenotipurilor de coping în cancerul laringian**

Doctorand

HUȚ ALEXANDRU-ROMULUS

Conducător științific

PROF. UNIV. DR. HABIL. NICOLAE CONSTANTIN BALICA

Timișoara

2026

INTRODUCERE

Cancerul capului și gâtului reprezintă un grup heterogen de neoplazii care își au originea în suprafețele mucoase ale tractului aerodigestiv superior, constituind aproximativ al șaptelea cel mai frecvent tip de cancer la nivel mondial și fiind responsabile de o morbiditate și mortalitate semnificative în diverse regiuni geografice. Dintre acestea, cancerul laringian deține o importanță clinică deosebită datorită impactului său direct asupra producției vocale, deglutiției, protecției căilor aeriene și comunicării sociale, funcții care influențează profund viața de zi cu zi și starea psihologică a pacientului. Povara globală a cancerului laringian rămâne substanțială, cu estimări epidemiologice recente care indică aproape 190.000 de cazuri noi și peste 100.000 de decese anual.

Carcinomul scuamos laringian reprezintă între 85% și 95% din toate diagnosticile histologice la acest sit anatomic și demonstrează o predominanță masculină marcantă, cu rate de incidență la bărbați de aproximativ șapte până la opt ori mai mari decât la femei, atribuibilă în mare măsură expunerii diferențiale la fumatul de tutun și consumul de alcool. Variabilitatea geografică a incidenței este considerabilă, cu cele mai ridicate rate observate în părți din Europa de Sud și de Est, Caraibe și America de Sud. În România în mod specific, neoplasmele maligne orale și laringiene reprezintă o componentă notabilă a poverii naționale a cancerului.

Prezenta teză de doctorat este structurată în jurul a trei studii de cercetare complementare care abordează împreună multiple fațete ale cancerului laringian. Partea generală oferă o prezentare cuprinzătoare a cunoștințelor actuale privind epidemiologia, factorii de risc, metodele de diagnostic, biomarkerii moleculari, modalitățile de tratament, rezultatele de supraviețuire și dimensiunile psihosociale ale îngrijirii. Partea specială prezintă contribuții originale de cercetare care examinează tendințele în evoluție ale diagnosticului și supraviețuirii, valoarea diagnostică și prognostică a microARN-urilor circulante și caracterizarea fenotipurilor psihosociale la pacienții cu cancer de cap și gât.

STUDIUL 1: Cancerul laringian în era modernă: tendințe în evoluție ale diagnosticului, tratamentului și rezultatelor de supraviețuire

Introducere și obiective. Cancerul laringian este una dintre cele mai frecvent întâlnite malignități ale capului și gâtului, cu aproximativ 188.960 de cazuri nou diagnosticate și 103.216 de decese la nivel mondial conform statisticilor globale ale cancerului din 2022. Majoritatea covârșitoare (85–95%) sunt clasificate histologic ca carcinoame scuamoase. În ciuda progreselor notabile în instrumentația diagnostică, tehnicile chirurgicale și protocoalele de chimioradioterapie, rata mortalității rămâne ridicată, cu o rată de supraviețuire la 5 ani de aproximativ 64%, atribuibilă în mare parte faptului că aproximativ două treimi dintre pacienți primesc diagnosticul în stadii avansate. Obiectivele principale ale acestui studiu au inclus evaluarea biomarkerilor emergenți pentru evaluarea personalizată a riscului, delineaarea diversității clinice și moleculare a subtipurilor de cancer laringian și propunerea unui cadru integrat de management care optimizează atât rezultatele de supraviețuire, cât și conservarea funcțională.

Materiale și metode. A fost efectuată o căutare cuprinzătoare și sistematică în bazele de date PubMed/MEDLINE, Scopus și Web of Science, utilizând o combinație de

termeni MeSH și termeni de text liber legați de cancerul laringian, epidemiologie, factori de risc, diagnostic, biomarkeri, tratament și supraviețuire. Căutările au acoperit publicații de la începutul fiecărei baze de date până în martie 2025. Articolele au fost incluse dacă abordau aspecte cheie ale carcinomului scuamos laringian în reviste cu recenzie de la egal la egal, scrise în limba engleză. Revizuirea a adoptat o abordare narativă cu sinteză calitativă a datelor extrase.

Rezultate. Revizuirea a identificat că dezvoltarea cancerului laringian este influențată de o constelație de factori de stil de viață și de mediu. Consumul de tutun rămâne cel mai important factor de risc, fumatul de țigări fiind asociat cu o creștere de aproximativ șapte ori a riscului. Consumul de alcool este un factor de risc independent semnificativ, cu o relație doză-răspuns clară, aproximativ 30% din decesele europene cauzate de cancer laringian fiind legate de tulburări de consum de alcool. Interacțiunea sinergică dintre tutun și alcool crește multiplicativ riscul dincolo de suma contribuțiilor individuale. Tulpinile HPV cu risc ridicat au fost implicate, deși rolul lor etiologic variază în funcție de regiunea geografică. Expunerile ocupaționale la azbest și nichel, boala de reflux gastroesofagian, sindromul metabolic și modificările microbiomului oral au fost, de asemenea, identificate ca factori contributivi.

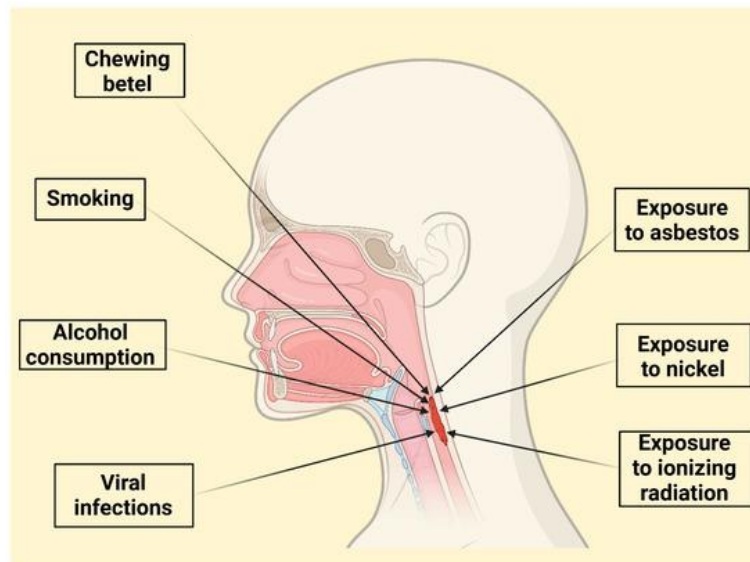


Figura 1.1. Prezentarea generală a principalilor factori de risc de stil de viață, virali și de mediu în dezvoltarea cancerului laringian.

Revizuirea a relevat, de asemenea, că biomarkerii moleculari sunt din ce în ce mai importanți pentru stratificarea prognostică. Biomarkerii cheie includ mutațiile p53 (prezente în 40–60% din cazuri), supraexpresia EGFR asociată cu prognostic nefavorabil și ADN-ul tumoral circulant pentru monitorizarea răspunsului la tratament. Micromediul tumoral și peisajul imun sunt recunoscute ca fiind centrale pentru înțelegerea răspunsului la tratament, expresia PD-L1 demonstrând utilitate clinică pentru identificarea pacienților susceptibili de a beneficia de terapia cu inhibitori ai punctelor de control imun. Strategiile de tratament au evoluat considerabil, cu accent pe conservarea organului prin chimioradioterapie concomitentă, în timp ce imunoterapia și terapia țintită au arătat rezultate promițătoare pentru boala recurentă sau metastatică.

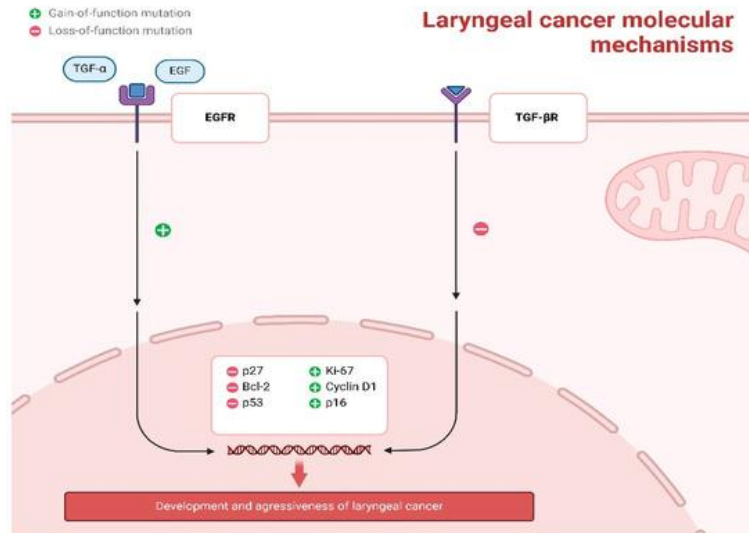


Figura 1.2. Mecanismele moleculare ale cancerului laringian: mutații cu câștig de funcție și cu pierdere de funcție în căile de semnalizare cheie.

Concluzii. Această revizuire a subliniat importanța critică a abordării multidisciplinare în managementul cancerului laringian, integrând informații clinice, patologice și moleculare. Cercetările viitoare trebuie să abordeze validarea riguroasă a biomarkerilor promitători, dezvoltarea de noi terapii țintite, accentul pe strategii de medicină personalizată și optimizarea strategiilor de tratament, inclusiv combinații de imunoterapie. Integrarea profilelor genomice și proteomice cuprinzătoare cu datele clinice detaliate oferă perspective promițătoare pentru personalizarea tratamentului și îmbunătățirea atât a supraviețuirii, cât și a calității vieții.

STUDIUL 2: miR-99a-5p și miR-1246 circulante ca biomarkeri diagnostici și asociați stadiului în carcinomul scuamos laringian

Introducere și obiective. Cancerul laringian rămâne o malignitate cu consecințe clinice semnificative datorită impactului său direct asupra protecției căilor aeriene, producției vocale și funcției de deglutiție. În ciuda rafinării strategiilor de conservare a organului și a îngrijirii multimodale, prognosticul continuă să difere semnificativ în funcție de stadiu. MicroARN-urile reprezintă candidați atractivi ca biomarkeri deoarece reglează programe de expresie genică post-transcripțională implicate în proliferare, apoptoză, invazie și modulare imună. Obiectivul principal al acestui studiu a fost compararea expresiei miR-99a-5p și miR-1246 circulante între pacienții cu CSLS și martorii fără cancer, cu obiective secundare de evaluare a diferențelor în funcție de stadiul bolii, statusul ganglionar și expunerea la tratament.

Materiale și metode. Acest studiu observațional de tip caz-martor unicentric a fost realizat la Universitatea de Medicină și Farmacie Victor Babeș, în colaborare cu Spitalul Clinic Județean de Urgență Pius Brînzeu, Timișoara, România, între martie 2022 și octombrie 2024. Cazurile eligibile au fost adulți cu CSLS confirmat histopatologic. Martorii au fost adulți fără neoplazii curente sau anterioare. Sângele venos periferic a fost colectat și procesat prin protocoale standardizate de centrifugare. ARN-ul total îmbogățit în ARN-uri mici a fost extras, iar RT-qPCR a fost realizat utilizând testele TaqMan Advanced miRNA pe un sistem QuantStudio 5. Țintele analizate au fost miR-99a-5p, miR-1246 și miR-16-5p ca referință endogenă.

Analiza statistică a inclus teste Mann-Whitney U, corelații Spearman, analiza ROC și regresia logistică multivariabilă.

Rezultate. Studiul a inclus 61 de pacienți cu CSLS și 14 martori. În analiza caz-martor, miR-99a-5p circulant a fost semnificativ mai scăzut la pacienții cu cancer comparativ cu martorii (ΔCt 5,308 vs 3,184; $p < 0,001$), corespunzând unei variații relative de 0,200. miR-1246 nu a diferit în mod semnificativ între grupuri ($p = 0,09$). În cadrul cohortei de cancer, boala în stadiu avansat (III–IV) a prezentat o expresie relativă semnificativ mai scăzută a miR-1246 comparativ cu boala în stadiu precoce (I–II) (ΔCt 5,820 vs 4,233; $p = 0,01$), în timp ce miR-99a-5p a arătat o tendință nesemnificativă în aceeași direcție ($p = 0,052$). Pacienții care au primit chimioterapie au prezentat valori ale variației relative ale miR-99a-5p semnificativ mai scăzute decât cei fără expunere la chimioterapie (mediană 0,135 vs 0,438; $p = 0,017$).

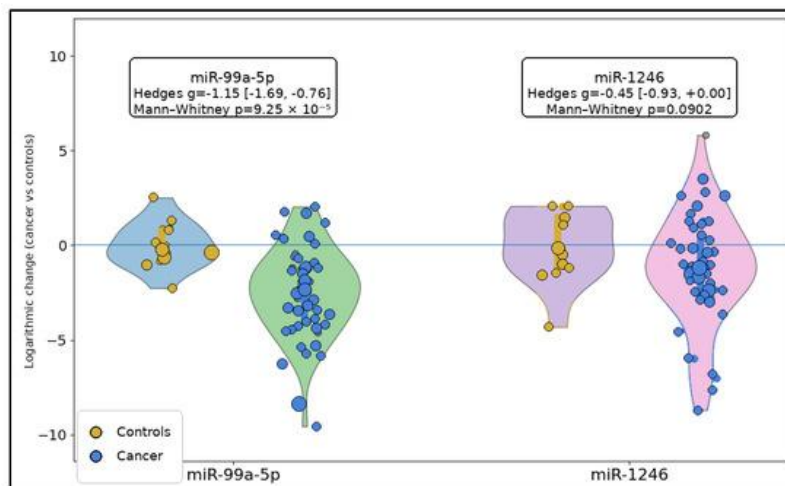


Figura II.1. Grafice raincloud ale distribuțiilor $\log_2$ fold-change pentru miR-99a-5p și miR-1246 la martori și CSLS.

Analiza ROC a demonstrat o capacitate discriminativă puternică pentru miR-99a-5p, cu un AUC de 0,842 (95% CI 0,744–0,931). Utilizând pragul optim Youden $\Delta Ct = 4,018$, sensibilitatea a fost de 77,4% și specificitatea de 92,9%. miR-1246 a arătat performanțe mai slabe (AUC 0,650). În regresia logistică multivariabilă, miR-99a-5p a fost un predictor independent semnificativ statistic al statusului de cancer (OR 1,89; 95% CI 1,19–3,00; $p = 0,007$), în timp ce miR-1246 nu a fost asociat independent ($p = 0,57$). Cele două miARN-uri au fost moderat corelate la pacienții cu cancer (ρ Spearman = 0,494; $p = 0,001$), dar necorelate la martori, indicând o coordonare asociată cancerului (z Fisher = 1,99; $p = 0,046$). Scorul compozit de supresie a diferit semnificativ între grupurile de stadiu, cu un efect standardizat moderat-spre-mare (Hedges $g = 0,752$).

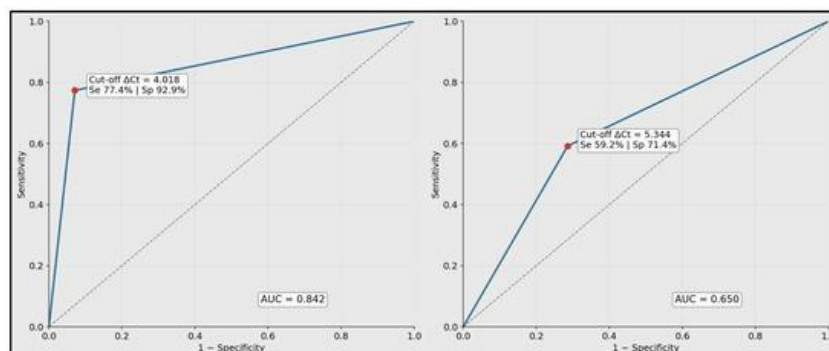


Figura II.2. Curbele ROC pentru discriminarea CSLS versus martori pentru miR-99a-5p (AUC = 0,842) și miR-1246 (AUC = 0,650).

Concluzii. miR-99a-5p circulant a demonstrat o supresie consistentă și clinic semnificativă în cancerul laringian și a oferit o discriminare diagnostică puternică, rămânând asociat independent cu statusul de cancer într-un model cu markeri multipli. miR-1246 nu a separat semnificativ cazurile de martori, dar a prezentat o supresie semnificativă asociată stadiului, susținând un rol complementar în stratificarea în cadrul cancerului. Aceste rezultate sugerează că miR-99a-5p ar putea fi integrat ca adjuvant minim invaziv al evaluării clinice, în timp ce miR-1246 poate oferi utilitate pentru stratificarea biologică. Studii mai ample, multicentrice, longitudinale sunt necesare pentru validarea pragurilor și determinarea impactului asupra deciziilor clinice.

STUDIUL 3: Riscul legat de alcool, simptomele depresive, HRQoL și fenotipurile de coping în cancerul capului și gâtului

Introducere și obiective. Cancerul laringian este un subtip major al neoplasmelor maligne de cap și gât și rămâne o provocare globală de supraviețuire, nu doar din cauza riscului oncologic, ci și deoarece tratamentul poate afecta permanent vocea, deglutiția, aspectul și participarea socială. Dincolo de stadializarea anatomică și controlul tumoral, rezultatele sunt influențate de expuneri modificabile și determinanți psihosociale care afectează toleranța la tratament, angajarea în reabilitare și funcționarea pe termen lung. Consumul de alcool este deosebit de relevant, funcționând atât ca factor de risc pentru dezvoltarea cancerelor tractului aerodigestiv superior, cât și ca problemă de supraviețuire clinic acționabilă. Studiul a urmărit să caracterizeze riscul legat de alcool, povara simptomelor depresive, calitatea vieții legate de sănătate (HRQoL) și patternurile de coping stratificate pe stadiul clinic.

Materiale și metode. A fost realizat un studiu multicentric, observațional, transversal în colaborare cu centre clinice afiliate din Timișoara și Oradea. Cohorta analitică a cuprins 64 de participanți cu cancer confirmat de cap și gât. Consumul de alcool a fost evaluat utilizând chestionarul AUDIT, simptomele depresive utilizând PHQ-9, calitatea vieții legate de sănătate utilizând EQ-5D, iar copingul utilizând inventarul COPE. Analizele statistice au inclus comparații între grupuri, corelații Spearman, regresie logistică multivariabilă pentru predicerea HRQoL deficitare, clusterizare nesupervizată pentru identificarea fenotipurilor psihosociale și analiză de mediere bazată pe bootstrap testând dacă simptomele depresive mediază relația dintre riscul de alcool și HRQoL.

Rezultate. Cohorta a fost predominant masculină (90,6%), cu o vârstă medie de 65,30 ani. Majoritatea participanților au avut boală în stadiul IV (75,0%), cu tumori T4 în 78,1% și implicare ganglionară în 62,5%. În ciuda diferențelor clare ale poverii tumorale între grupurile de stadiu, rezultatele psihosociale (AUDIT, PHQ-9, EQ-5D, scoruri ale factorilor de coping) nu au diferit semnificativ în funcție de stadiu. Per ansamblu, 45,3% au fost clasificați ca risc scăzut de alcool, 28,1% ca risc periculos, 7,8% ca risc dăunător și 18,8% au îndeplinit criteriile de posibilă dependență (AUDIT ≥ 20). Distribuția a fost aproape identică în ambele grupuri de stadiu. În funcție de sex, posibila dependență a fost prezentă la 20,7% dintre bărbați, dar la 0,0% dintre femei ($p = 0,006$).

PHQ-9 a corelat semnificativ cu HRQoL mai proastă ($p = -0,275$; $p = 0,028$), iar scorurile AUDIT au arătat o asocierie pozitivă modestă cu Factorul 2 COPE ($p = 0,263$; $p = 0,036$), implicând că povara riscului de alcool poate fi asociată cu un domeniu specific de coping. Analiza de mediere nu a furnizat dovezi că simptomele depresive mediază relația dintre riscul de alcool și severitatea problemelor de HRQoL (efect indirect = 0,002; 95% CI $-0,018$ la $0,022$). Clusterizarea nesupervizată a identificat trei profiluri psihosociale distincte cu heterogenitate marcată în povara alcoolului, depresie și semnăturile factorilor de coping. Profilul 3 a prezentat cea mai mare povară de risc de alcool (AUDIT mediu 27,77), în timp ce Profilul 2 a avut cea mai scăzută depresie (PHQ-9 mediu 4,69) și cele mai ridicate scoruri de coping adaptativ.

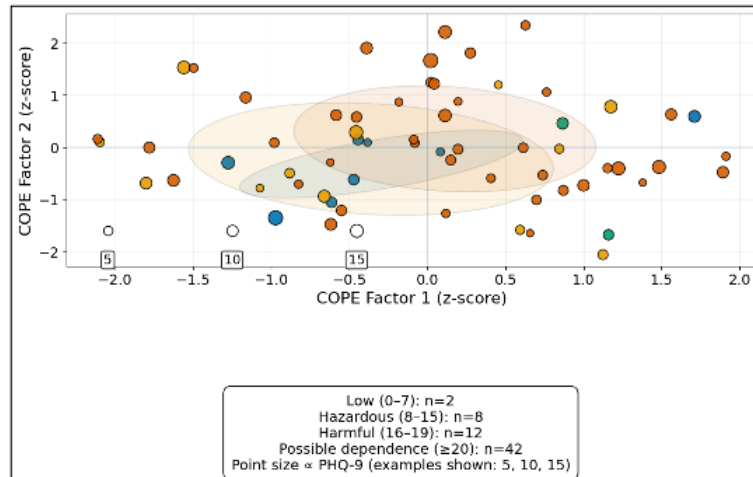


Figura III.1. Spațiul factorilor COPE pe categorii AUDIT, cu dimensiunea punctului proporțională cu scorul PHQ-9.

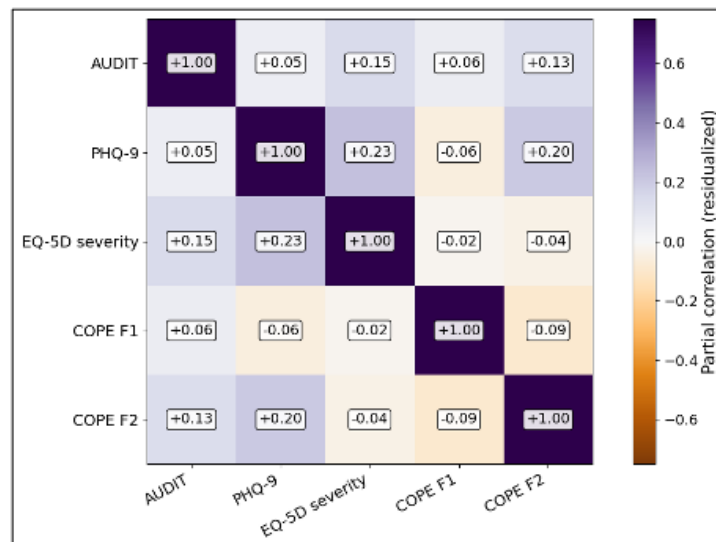


Figura III.2. Heatmap-ul corelațiilor parțiale ajustate pentru vârstă, sex și stadiul IV, ilustrând interrelațiile dintre măsurile psihosociale.

Concluzii. În această cohortă multicentrică de cancer de cap și gât, riscul legat de alcool și simptomele depresive au fost prevalente și clinic semnificative, dar nu au diferit în funcție de stadiul clinic, în ciuda diferențelor clare legate de stadiu în povara tumorală. Probabila dependență de alcool a afectat o cincime din toți pacienții și a arătat o disparitate puternică de sex. Severitatea simptomelor depresive a corelat cu HRQoL mai proastă, în timp ce medierea prin depresie nu a fost susținută la momentul inițial. Fenotipurile psihosociale bazate pe date au relevat o heterogenitate dincolo de

stadializare și pot oferi un cadru practic pentru triajul personalizat al îngrijirii suportive la prima internare. Aceste rezultate susțin integrarea screening-ului psihosocial de rutină, independent de stadiu, la admiterea pacienților cu cancer de cap și gât.

CONCLUZII FINALE ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

Cele trei studii care compun partea specială a acestei teze de doctorat avansează colectiv înțelegerea cancerului laringian prin abordări complementare care acoperă biologia moleculară, dezvoltarea de biomarkeri diagnostici și evaluarea supraviețuirii psihosociale.

Studiul 1 a oferit o revizuire narativă cuprinzătoare a peisajului actual al cancerului laringian, sintetizând dovezi privind epidemiologia, factorii de risc, diversitatea histologică, modalitățile de diagnostic, biomarkerii moleculari, strategiile de tratament și rezultatele de supraviețuire. Această lucrare a evidențiat rolul în expansiune al imunoterapiei și terapiei țintite, promisiunea tehnologiilor de biopsie lichidă și potențialul diagnosticelor bazate pe inteligență artificială, subliniind în același timp provocările persistente în boala în stadiu avansat și nevoia critică de abordări ale echipelor multidisciplinare.

Studiul 2 a transpus conceptele de biomarkeri în cercetare clinică originală, demonstrând că miR-99a-5p circulant este semnificativ reglat descendent la pacienții cu CSLS comparativ cu martorii și oferă o discriminare diagnostică puternică (AUC 0,842). Acest studiu a relevat în plus că miR-1246, deși nu discriminativ diagnostic, prezintă o supresie semnificativă asociată stadiului, sugerând roluri complementare pentru diagnostic și stratificarea biologică în cadrul cancerului. Identificarea modificărilor asociate cancerului în structura corelației miARN-miARN reprezintă o descoperire nouă cu implicații pentru dezvoltarea viitoare a panelurilor cu markeri multipli.

Studiul 3 a abordat o lacună critică în îngrijirea cancerului laringian prin examinarea dimensiunilor psihosociale ale supraviețuirii. Demonstrând că riscul clinic acționabil legat de alcool (18,8% cu dependență probabilă) și afectarea HRQoL asociată depresiei sunt prevalente și independente de stadiul clinic, acest studiu a furnizat dovezi convingătoare pentru integrarea screening-ului psihosocial de rutină la diagnostic. Identificarea a trei fenotipuri psihosociale distincte oferă un cadru practic pentru intervenții de îngrijire suportivă pe niveluri.

Împreună, aceste studii reflectă o abordare cuprinzătoare a cancerului laringian, de la mecanismele moleculare, prin biomarkeri clinici, până la rezultatele centrate pe pacient, și oferă o bază pentru cercetările viitoare care vizează managementul personalizat și multidisciplinar al acestei boli provocatoare. Integrarea biomarkerilor de biopsie lichidă cu fenotiparea psihosocială reprezintă o paradigmă inovatoare care face punte între știința moleculară și îngrijirea centrată pe pacient pentru optimizarea rezultatelor de-a lungul întregului continuum al managementului cancerului laringian.