

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



DOCTORAL THESIS

SUMMARY

**MULTIPARAMETRIC APPROACH IN THYROID PATHOLOGY –
SUPPORT FOR PROGNOSIS AND TREATMENT**

Scientific Coordinator
PROF. UNIV. DR. HABIL. VLAD MIHAELA-MARIA

PhD Student:
HASSAN MERVAT

**Timisoara
2026**

INTRODUCTION

Thyroid nodules represent one of the most prevalent endocrine pathologies encountered in clinical practice. With the widespread adoption of high-resolution ultrasonography, detection rates have increased dramatically, revealing thyroid nodules in up to 68% of the general population when examined with modern imaging techniques. Although the vast majority of these nodules are benign, approximately 5–15% harbor malignant potential, necessitating a systematic approach to evaluation, risk stratification, and clinical decision-making. Thyroid cancer itself has become the most common endocrine malignancy globally, with its incidence increasing approximately 3-fold over the past three decades, making it one of the fastest-rising cancer diagnoses worldwide.

The clinical significance of thyroid nodules extends beyond a simple benign-malignant distinction. The heterogeneous nature of thyroid pathology, encompassing a spectrum from simple colloid nodules and follicular adenomas to papillary, follicular, medullary, and anaplastic carcinomas, demands a nuanced and comprehensive diagnostic framework. Traditional approaches relying on single diagnostic modalities have demonstrated inherent limitations. Fine-needle aspiration biopsy (FNAB), the current gold standard for cytological evaluation, yields indeterminate results in approximately 15–30% of cases, creating significant diagnostic uncertainty. This diagnostic gap has prompted extensive research into complementary and integrative strategies.

At the molecular level, advances in genomic and epigenomic research have identified specific alterations associated with thyroid malignancy, including point mutations in BRAF and RAS genes, gene rearrangements such as RET/PTC, and dysregulation of microRNA expression profiles. The concept of a multiparametric approach to thyroid disease integrates clinical, biochemical, hormonal, imaging, cytological, and molecular data into a cohesive diagnostic and prognostic framework. The present thesis addresses the current state of knowledge regarding thyroid nodule pathogenesis, diagnostic evaluation, and molecular characterization, with a focus on the multiparametric approach as a framework for improving clinical outcomes.

The overarching aim of this thesis is to provide evidence supporting the integration of routine laboratory tests, metabolic parameters, and molecular biomarkers into a comprehensive assessment of thyroid nodular disease. By bridging the gap between conventional clinical evaluation and emerging molecular diagnostics, this work seeks to advance our understanding of thyroid pathology and inform future strategies for personalized patient management. The general part provides a comprehensive review of pathogenetic mechanisms, multiparametric assessment principles, clinical and paraclinical evaluation, and molecular biomarkers. The special part presents three original studies conducted at the Endocrinology Clinic and 1st Surgical Department of the Pius Branzeu Emergency County Hospital Timisoara.

STUDY 1: CAN ROUTINE LABORATORY TESTS BE SUGGESTIVE IN DETERMINING SUSPICIONS OF MALIGNANCY IN THE CASE OF THYROID NODULES?

The first study was designed as an observational, retrospective cohort study focused on monitoring variations in laboratory parameters among patients diagnosed with

thyroid nodules. This investigation evaluated 1032 patients who presented to the Endocrinology Clinic of the "Pius Brînzeu" Emergency Clinical Hospital in Timișoara, Romania, between January 2017 and February 2023. After applying rigorous inclusion and exclusion criteria, including the selection of nodules ranging from 1 to 2.5 centimeters and the exclusion of patients with inflammatory diseases, prior cancer history, or elevated tumor markers, a final cohort of 845 patients was established. Based on histopathological results, patients were assigned to either the study group (251 cases with malignant thyroid tumors) or the control group (594 cases with benign thyroid tumors).

The parameters analyzed included complete blood count components (RBC, WBC, neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils, basophils, platelets), inflammatory markers (ESR, fibrinogen), glycaemia, thyroid hormones (FT3, FT4, TSH), tumor markers (CEA, CA 19-9, CA 15-3, CA-125), and the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR). The study aimed to determine whether routine, cost-effective laboratory investigations could provide clinically useful signals to complement established diagnostic tools such as ultrasonography and FNAB.

The comparative analysis revealed several statistically significant findings. Both FT4 ($p = 0.0131$) and FT3 ($p = 0.0018$) values were significantly elevated in the malignant group. The inflammatory markers ESR ($p = 0.002$) and fibrinogen ($p = 0.0238$) demonstrated significantly higher values in the study group. Total white blood cell count was also significantly elevated ($p = 0.0486$), and lymphocyte percentage was significantly higher in the malignant group ($p = 0.027$), although absolute lymphocyte count did not reach significance. The malignant group comprised multiple histological subtypes: papillary thyroid cancer (133 cases), follicular thyroid cancer (33 cases), follicular variant of papillary carcinoma (57 cases), Hürthle cell carcinoma (11 cases), and other rare subtypes.

When specifically comparing papillary thyroid cancer (PTC, $n=133$) to nodular goiter ($n=394$), significant differences were found for WBC ($p = 0.039$), ESR ($p = 0.038$), fibrinogen ($p = 0.049$), lymphocyte percentage ($p = 0.050$), FT3 ($p = 0.050$), FT4 ($p = 0.001$), and NLR percentage ($p = 0.041$). These findings suggest that routine laboratory tests, while insufficient for definitive diagnosis, can serve as accessible and cost-effective adjunctive tools to raise clinical suspicion of malignancy and guide further investigation, which is particularly relevant in resource-limited clinical settings.

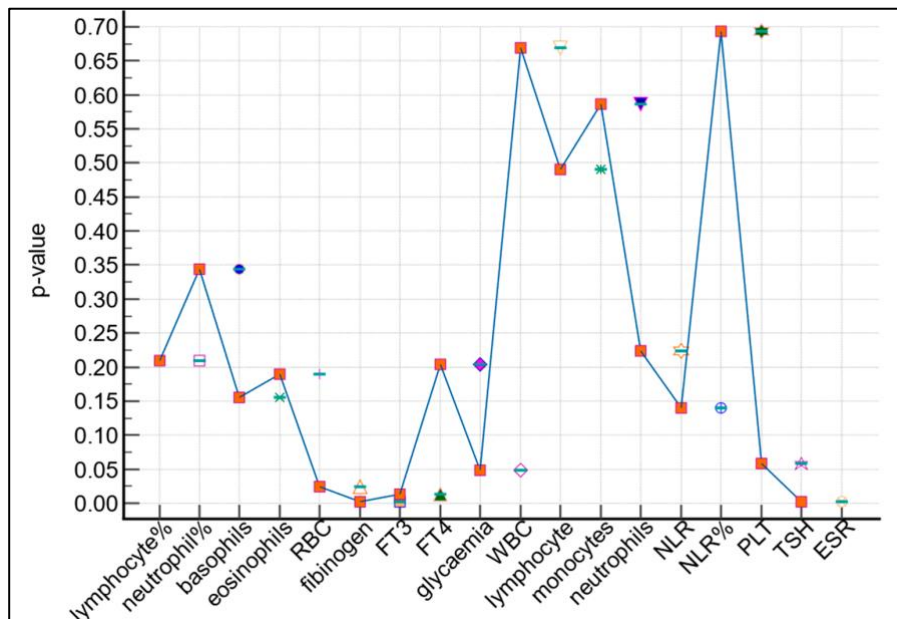


Figure 1. Comparison of the patients in the study group and the control group in terms of significant laboratory parameters.

STUDY 2: TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN PATIENTS WITH DIFFERENT TYPES OF THYROID NODULAR LESIONS

The second study was a retrospective descriptive and analytical investigation examining the relationship between type 2 diabetes mellitus (T2D) and thyroid nodular pathology among Western Romanian patients. This study evaluated the medical records of 1097 patients followed at the Endocrinology Department who underwent surgery at the 1st Surgical Department between January 2017 and January 2024. After applying exclusion criteria (non-total thyroidectomy patients, those on thyroid medications, and incomplete records), 926 patients were included, comprising 99 patients with T2D (10.7%) and 827 non-diabetic patients (89.3%).

The analysis revealed significant demographic and clinical differences between T2D and non-T2D patients. T2D patients were significantly older (62.01 ± 9.04 vs. 54.31 ± 12.31 years, $p < 0.01$), had higher BMI (31 ± 5 vs. 25 ± 4 kg/m², $p < 0.01$), elevated glycemia (140 ± 30 vs. 95 ± 10 mg/dL, $p < 0.01$), and higher HbA1c levels ($8.5 \pm 1.2\%$ vs. $5.5 \pm 0.5\%$, $p < 0.01$). Hematological analysis showed elevated WBC counts, neutrophil levels, ESR (28.94 ± 10.89 vs. 20.96 ± 6.71 mm/h), and fibrinogen (377.61 ± 87.99 vs. 354.78 ± 88.15 mg/dL, $p = 0.016$) in T2D patients. Hormonal analysis revealed significantly lower TSH (1.62 ± 1.24 vs. 1.96 ± 2.69 mIU/L, $p = 0.032$) and elevated FT4 (16.06 ± 2.72 vs. 14.79 ± 3.87 pmol/L, $p < 0.001$) in the T2D group.

The most striking finding was the significantly higher prevalence of malignant thyroid nodules in T2D patients (55%) compared to non-T2D patients (25%), with an odds ratio of 3.59 (95% CI: 2.35–5.50; $p = 0.001$). Among malignant subtypes, papillary thyroid cancer was the most frequent, representing 37.3% of T2D patients versus 18.1% of non-T2D patients. After applying the Holm–Bonferroni correction for multiple comparisons, several variables maintained statistical significance: FT4 (adjusted $p = 0.01$), malignant nodules (adjusted $p = 0.01$), age (adjusted $p = 0.05$), BMI (adjusted $p = 0.05$), HbA1c (adjusted $p = 0.05$), and glycemia (adjusted $p = 0.05$). These findings underscore the role of insulin resistance, chronic systemic inflammation, and oxidative

stress in modulating thyroid disease outcomes in diabetic patients, and support implementing thyroid screening as part of routine diabetes care.

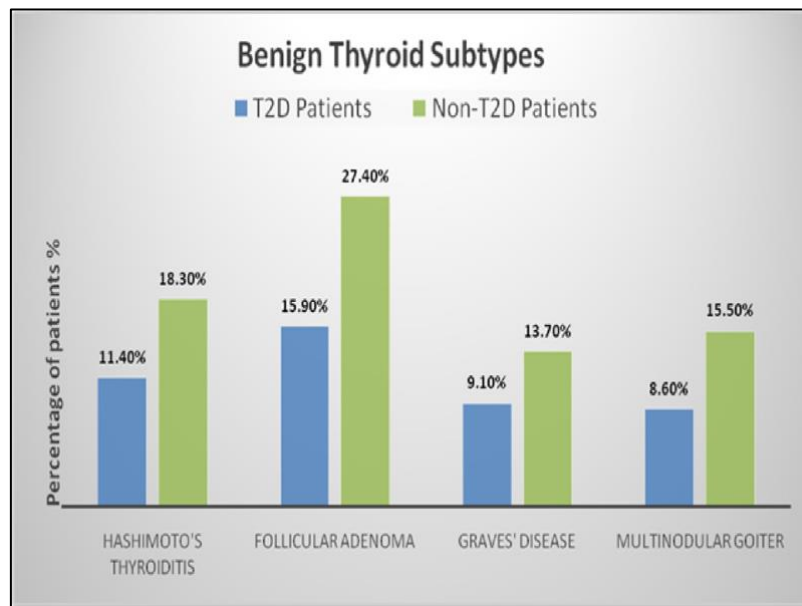


Figure 2. Distribution of benign thyroid subtypes among T2D and non-T2D patients.

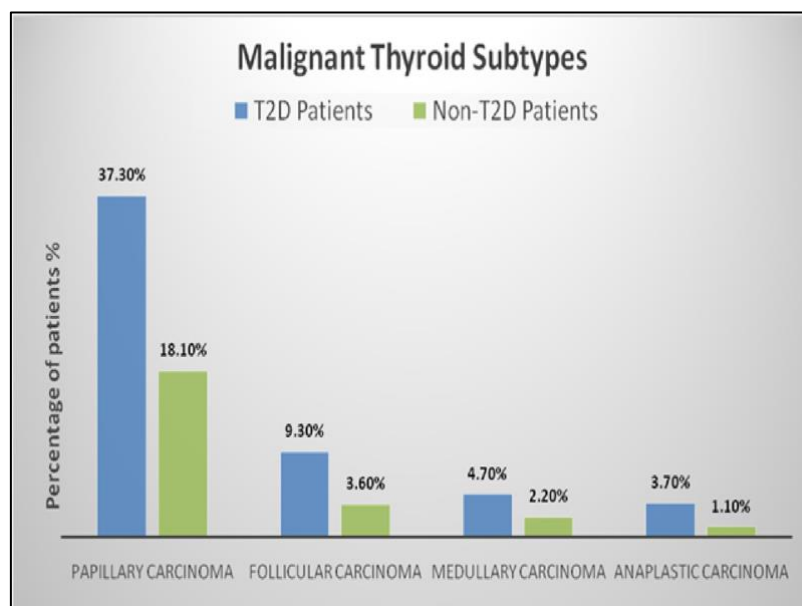


Figure 3. Distribution of malignant thyroid subtypes among T2D and non-T2D patients.

STUDY 3: PREOPERATIVE EXPRESSION PROFILES OF MIR-146A AND MIR-221 AS POTENTIAL BIOMARKERS FOR DIFFERENTIATING BENIGN FROM MALIGNANT THYROID NODULES

The third study was a prospective observational investigation conducted between July 1 and December 12, 2024, at the 1st Surgical Department. This study enrolled 56 adult patients diagnosed with nodular thyroid disease who were scheduled for total

thyroidectomy, with 24 assigned to the study group (histologically confirmed thyroid carcinoma) and 32 to the control group (benign thyroid pathology). The study evaluated preoperative circulating expression of miR-146a and miR-221 using RT-qPCR with TaqMan MicroRNA Assays, with U6 small nuclear RNA serving as the endogenous control. Relative quantification was performed using the comparative Ct ($\Delta\Delta\text{Ct}$) method.

The results demonstrated a striking contrast between the two microRNAs. MiR-146a showed a slightly lower median expression in the malignant group compared to the benign group, but the difference did not achieve statistical significance ($p = 0.301$), consistent with the known context-dependent behavior of miR-146a as both an oncogene and tumor suppressor depending on cellular context. In contrast, miR-221 demonstrated highly significant differences between the two groups for both $\Delta\Delta\text{Ct}$ values and fold-change ($p < 0.001$). Patients with malignant lesions had a markedly lower $\Delta\Delta\text{Ct}$ value (reflecting higher expression) and a significantly elevated fold-change (median 1.33; IQR: 0.96–1.78) compared to those with benign pathology (median 0.42; IQR: -0.23 – 0.86).

Spearman correlation analysis revealed no statistically significant correlations between circulating microRNA expression levels and clinical parameters including age, thyroid volume, TIRADS classification, and echogenicity. A weak positive correlation was observed between miR-146a and the TIRADS score ($\rho = 0.19$), while miR-221 showed slight inverse correlations with age ($\rho = -0.17$) and thyroid volume ($\rho = -0.12$). The ROC analysis provided the most compelling results: miR-221 achieved an outstanding area under the curve (AUC) of 1.00, with 100% sensitivity and 100% specificity at an optimal cut-off value of $\Delta\Delta\text{Ct} = 0.91$, indicating perfect discrimination between malignant and benign cases within this cohort. In contrast, miR-146a exhibited limited discriminative ability, with an AUC of only 0.42.

While the perfect AUC achieved by miR-221 is noteworthy, it must be interpreted with caution given the relatively small sample size, which may reflect overfitting. Nevertheless, the magnitude of the observed difference was substantial and is consistent with earlier studies identifying miR-221 as one of the most consistently upregulated microRNAs in papillary thyroid carcinoma, associated with aggressive tumor behavior and lymph node metastasis. From a functional perspective, miR-221 enhances the proliferation, migration, and invasion of PTC cell lines by modulating epithelial-mesenchymal transition pathways and targeting the RECK gene, and directly downregulates critical cell-cycle inhibitors such as CDKN1B (p27) and CDKN1C (p57). Future multicenter studies with larger and more diverse cohorts are essential for confirming these findings.

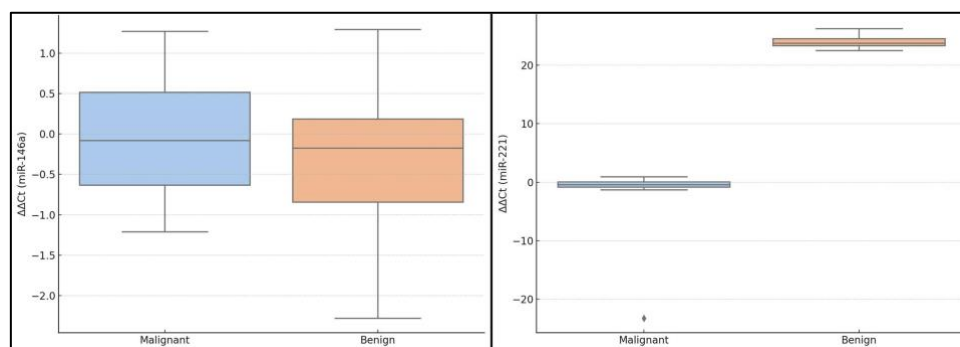


Figure 4. Boxplots showing $\Delta\Delta C_t$ values for miR-146a (left) and miR-221 (right) in patients with benign and malignant thyroid lesions.

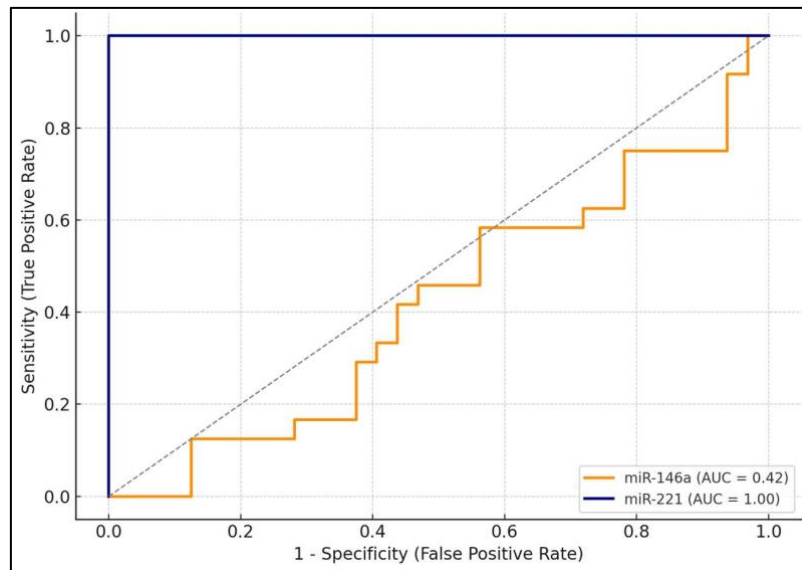


Figure 5. Receiver operating characteristic (ROC) curves comparing the diagnostic performance of miR-146a (AUC = 0.42) and miR-221 (AUC = 1.00).

FINAL CONCLUSIONS AND PERSONAL CONTRIBUTIONS

The present doctoral thesis, through its three interconnected studies, provides a comprehensive and multiparametric approach to the evaluation of thyroid nodular disease, with important implications for clinical diagnosis, risk stratification, and patient management. By systematically investigating routine laboratory parameters, the impact of type 2 diabetes mellitus on thyroid pathology, and the diagnostic potential of circulating microRNAs, this research contributes meaningfully to the current understanding of thyroid diseases and their complex interactions with metabolic and molecular factors.

The first study demonstrated that several routine laboratory parameters, including FT3, FT4, ESR, fibrinogen, WBC, and lymphocyte percentage, exhibit statistically significant differences between patients with malignant and benign thyroid nodules. While these tests alone cannot establish a definitive diagnosis, they serve as important adjunctive tools that can raise clinical suspicion and guide physicians toward further investigation. Their accessibility and cost-effectiveness make these findings particularly relevant for clinical settings where advanced molecular diagnostics may not be readily available.

The second study revealed that T2D patients exhibit a significantly higher proportion of malignant thyroid lesions compared to non-diabetic counterparts (55% versus 25%, OR = 3.59). The biochemical profile of thyroid nodules in T2D patients presented distinctive features, including elevated FT4 levels and heightened inflammatory markers. These findings highlight the importance of implementing thyroid screening strategies as part of routine diabetes care and suggest that metabolic derangements may contribute to an environment that favors thyroid malignancy through mechanisms involving insulin resistance, chronic low-grade inflammation, and oxidative stress.

The third study introduced a molecular dimension by evaluating the preoperative diagnostic value of circulating miR-146a and miR-221. The results demonstrated that miR-221 possesses exceptional diagnostic accuracy, achieving an AUC of 1.00 with perfect sensitivity and specificity. This finding positions circulating miR-221 as a highly promising non-invasive biomarker that could complement and enhance existing diagnostic algorithms, particularly for cytologically indeterminate thyroid nodules. Taken together, these findings support a multiparametric approach to thyroid nodule evaluation that integrates routine laboratory assessments, metabolic profiling, and molecular biomarker analysis. This integrated strategy has the potential to improve diagnostic accuracy, enhance risk stratification, reduce unnecessary surgical procedures, and ultimately optimize patient outcomes.

The personal contributions of this thesis include the first comprehensive investigation examining variations in standard laboratory parameters correlated with the malignant morphology of thyroid nodules, the first study in the Eastern European context examining the combined impact of T2D and systemic inflammation on thyroid nodule characterization, and the prospective evaluation of preoperative circulating miR-221 and miR-146a as real-time diagnostic biomarkers in patients undergoing thyroidectomy. The research presented herein lays the groundwork for future prospective, multicenter studies that will be essential for validating these findings and translating them into routine clinical practice.

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



TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

**ABORDARE MULTIPARAMETRICĂ ÎN PATOLOGIA
TIROIDIANĂ – SUPTOR PENTRU PROGNOSTIC ȘI
TRATAMENT**

Conducător științific
PROF. UNIV. DR. HABIL. VLAD MIHAELA-MARIA

Doctorand:
HASSAN MERVAT

**Timișoara
2026**

INTRODUCERE

Nodulii tiroidieni reprezintă una dintre cele mai frecvente patologii endocrine întâlnite în practica clinică. Odată cu adoptarea pe scară largă a ecografiei de înaltă rezoluție, ratele de detecție au crescut dramatic, evidențiind noduli tiroidieni la până la 68% din populația generală atunci când se utilizează tehnici imagistice moderne. Deși marea majoritate a acestor noduli sunt benigni, aproximativ 5–15% prezintă potențial malign, necesitând o abordare sistematică a evaluării, stratificării riscului și luării deciziilor clinice. Cancerul tiroidian a devenit cea mai frecventă malignitate endocrină la nivel global, cu o incidență care a crescut de aproximativ 3 ori în ultimele trei decenii, fiind unul dintre cele mai rapid crescătoare diagnostice de cancer la nivel mondial.

Semnificația clinică a nodulilor tiroidieni depășește simpla distincție benign-malign. Natura heterogenă a patologiei tiroidiene, cuprinzând un spectru de la nodulii coloizi simpli și adenoamele foliculare până la carcinoamele papilare, foliculare, medulare și anaplastice, impune un cadru diagnostic nuanțat și comprehensiv. Abordările tradiționale bazate pe modalități diagnostice unice au demonstrat limitări inerente. Biopsia prin aspirație cu ac fin (FNAB), standardul de aur actual pentru evaluarea citologică, produce rezultate nedeterminate în aproximativ 15–30% din cazuri, creând o incertitudine diagnostică semnificativă. Acest decalaj diagnostic a determinat cercetări extensive asupra strategiilor complementare și integrative.

La nivel molecular, progresele în cercetarea genomică și epigenomică au identificat alterări specifice asociate cu malignitatea tiroidiană, incluzând mutații punctiforme în genele BRAF și RAS, rearanjări genice precum RET/PTC și dereglarea profilurilor de expresie a microARN-urilor. Conceptul de abordare multiparametrică a bolii tiroidiene integrează date clinice, biochimice, hormonale, imagistice, citologice și moleculare într-un cadru diagnostic și prognostic coerent. Prezenta teză abordează stadiul actual al cunoștințelor privind patogeneza nodulilor tiroidieni, evaluarea diagnostică și caracterizarea moleculară, cu accent pe abordarea multiparametrică ca un cadru pentru îmbunătățirea rezultatelor clinice.

Scopul general al acestei teze este de a furniza dovezi care să susțină integrarea testelor de laborator de rutină, a parametrilor metabolici și a biomarkerilor moleculari într-o evaluare comprehensivă a bolii nodulare tiroidiene. Prin reducerea decalajului dintre evaluarea clinică convențională și diagnosticul molecular emergent, această lucrare urmărește să avanseze înțelegerea patologiei tiroidiene și să informeze strategiile viitoare pentru managementul personalizat al pacienților. Partea generală oferă o trecere în revistă comprehensivă a mecanismelor patogenetice, principiilor evaluării multiparametrice, evaluării clinice și paraclinice și a biomarkerilor moleculari. Partea specială prezintă trei studii originale realizate la Clinica de Endocrinologie și Clinica I Chirurgie din Spitalul Clinic Județean de Urgență "Pius Brînzeu" Timișoara.

STUDIUL 1: TESTELE DE LABORATOR DE RUTINĂ POT FI SUGESTIVE ÎN DETERMINAREA SUSPICIUNILOR DE MALIGNITATE ÎN CAZUL NODULILOR TIROIDIENI?

Primul studiu a fost conceput ca un studiu de cohortă observațional, retrospectiv, axat pe monitorizarea variațiilor parametrilor de laborator la pacienții diagnosticați cu noduli tiroidieni. Această investigație a evaluat 1032 de pacienți care s-au prezentat la Clinica

de Endocrinologie a Spitalului Clinic de Urgență "Pius Brînzeu" din Timișoara, România, între ianuarie 2017 și februarie 2023. După aplicarea unor criterii riguroase de includere și excludere, incluzând selectarea nodulilor cu dimensiuni cuprinse între 1 și 2,5 centimetri și excluderea pacienților cu boli inflamatorii, antecedente de cancer sau markeri tumorali elevați, a fost stabilită o cohortă finală de 845 de pacienți. Pe baza rezultatelor histopatologice, pacienții au fost repartizați fie în grupul de studiu (251 de cazuri cu tumori tiroidiene maligne), fie în grupul de control (594 de cazuri cu tumori tiroidiene benigne).

Parametrii analizați au inclus componentele hemoleucogramei complete (eritrocite, leucocite, neutrofile, limfocite, monocite, eozinofile, bazofile, trombocite), markerii inflamatori (VSH, fibrinogen), glicemia, hormonii tiroidieni (FT3, FT4, TSH), markerii tumorali (CEA, CA 19-9, CA 15-3, CA-125) și raportul neutrofile-limfocite (NLR). Studiul a urmărit să determine dacă investigațiile de laborator de rutină, accesibile din punct de vedere al costurilor, pot furniza semnale utile din punct de vedere clinic pentru a completa instrumentele diagnostice consacrate, cum ar fi ecografia și FNAB.

Analiza comparativă a relevat mai multe constatări semnificative statistic. Atât valorile FT4 ($p = 0,0131$), cât și FT3 ($p = 0,0018$) au fost semnificativ crescute în grupul malign. Markerii inflamatori VSH ($p = 0,002$) și fibrinogenul ($p = 0,0238$) au demonstrat valori semnificativ mai ridicate în grupul de studiu. Numărul total de leucocite a fost, de asemenea, semnificativ crescut ($p = 0,0486$), iar procentul de limfocite a fost semnificativ mai mare în grupul malign ($p = 0,027$), deși numărul absolut de limfocite nu a atins semnificația statistică. Grupul malign a cuprins multiple subtipuri histologice: carcinom tiroidian papilar (133 cazuri), carcinom tiroidian folicular (33 cazuri), varianta foliculară a carcinomului papilar (57 cazuri), carcinom cu celule Hürthle (11 cazuri) și alte subtipuri rare.

La compararea specifică a carcinomului tiroidian papilar (PTC, $n=133$) cu gușa nodulară ($n=394$), au fost găsite diferențe semnificative pentru leucocite ($p = 0,039$), VSH ($p = 0,038$), fibrinogen ($p = 0,049$), procentul de limfocite ($p = 0,050$), FT3 ($p = 0,050$), FT4 ($p = 0,001$) și procentul NLR ($p = 0,041$). Aceste constatări sugerează că testele de laborator de rutină, deși insuficiente pentru un diagnostic definitiv, pot servi ca instrumente adjuvante accesibile și eficiente din punct de vedere al costurilor pentru a ridica suspiciunea clinică de malignitate și a ghida investigații suplimentare, ceea ce este deosebit de relevant în mediile clinice cu resurse limitate.

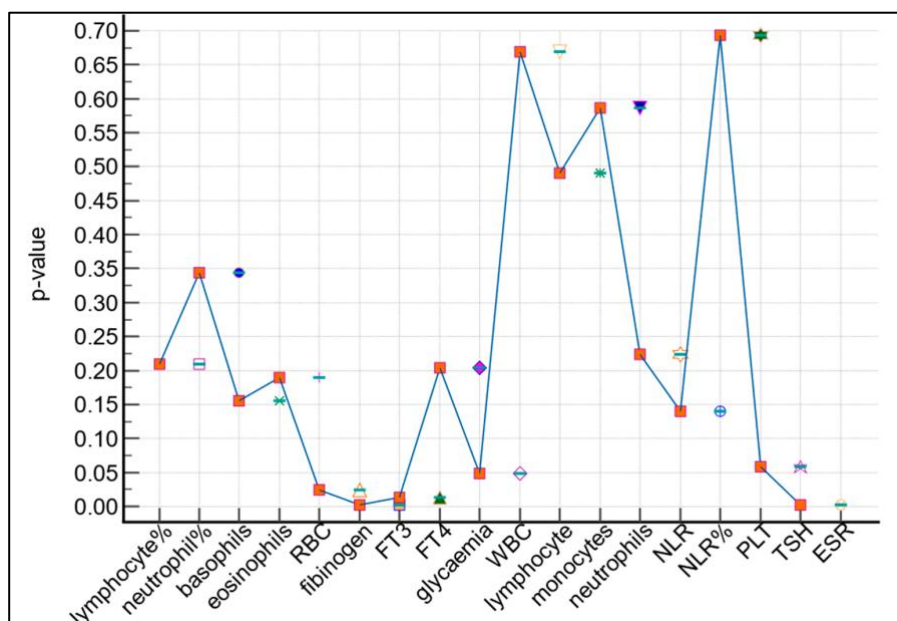


Figura 1. Comparația pacienților din grupul de studiu și grupul de control în ceea ce privește parametrii de laborator semnificativi.

STUDIUL 2: DIABETUL ZAHARAT DE TIP 2 LA PACIENȚII CU DIFERITE TIPURI DE LEZIUNI NODULARE TIROIDIENE

Al doilea studiu a fost o investigație retrospectivă descriptivă și analitică care a examinat relația dintre diabetul zaharat de tip 2 (DZ2) și patologia nodulară tiroidiană la pacienții din vestul României. Acest studiu a evaluat fișele medicale ale a 1097 de pacienți urmăriți în Departamentul de Endocrinologie și operați în Clinica I Chirurgie între ianuarie 2017 și ianuarie 2024. După aplicarea criteriilor de excludere (pacienții care nu au suferit tiroidectomie totală, cei aflați sub medicație tiroidiană și fișele incomplete), au fost incluși 926 de pacienți, cuprinzând 99 de pacienți cu DZ2 (10,7%) și 827 de pacienți non-diabetici (89,3%).

Analiza a relevat diferențe demografice și clinice semnificative între pacienții cu DZ2 și cei fără DZ2. Pacienții cu DZ2 au fost semnificativ mai în vârstă ($62,01 \pm 9,04$ vs. $54,31 \pm 12,31$ ani, $p < 0,01$), au avut IMC mai mare (31 ± 5 vs. 25 ± 4 kg/m², $p < 0,01$), glicemie crescută (140 ± 30 vs. 95 ± 10 mg/dL, $p < 0,01$) și niveluri mai ridicate de HbA1c ($8,5 \pm 1,2\%$ vs. $5,5 \pm 0,5\%$, $p < 0,01$). Analiza hematologică a arătat leucocite crescute, niveluri de neutrofile ridicate, VSH crescut ($28,94 \pm 10,89$ vs. $20,96 \pm 6,71$ mm/h) și fibrinogen crescut ($377,61 \pm 87,99$ vs. $354,78 \pm 88,15$ mg/dL, $p = 0,016$) la pacienții cu DZ2. Analiza hormonală a relevat TSH semnificativ mai scăzut ($1,62 \pm 1,24$ vs. $1,96 \pm 2,69$ mIU/L, $p = 0,032$) și FT4 crescut ($16,06 \pm 2,72$ vs. $14,79 \pm 3,87$ pmol/L, $p < 0,001$) în grupul cu DZ2.

Cea mai remarcabilă constatare a fost prevalența semnificativ mai mare a nodulilor tiroidieni maligni la pacienții cu DZ2 (55%) comparativ cu pacienții non-diabetici (25%), cu un raport de cote de 3,59 (IC 95%: 2,35–5,50; $p = 0,001$). Dintre subtipurile maligne, carcinomul tiroidian papilar a fost cel mai frecvent, reprezentând 37,3% la pacienții cu DZ2 față de 18,1% la pacienții fără DZ2. După aplicarea corecției Holm–Bonferroni pentru comparații multiple, mai multe variabile au menținut semnificația statistică: FT4 (p ajustat = 0,01), nodulii maligni (p ajustat = 0,01), vârsta (p ajustat = 0,05), IMC (p ajustat = 0,05), HbA1c (p ajustat = 0,05) și glicemia (p ajustat = 0,05). Aceste rezultate

subliniază rolul rezistenței la insulină, al inflamației sistemice cronice și al stresului oxidativ în modularea rezultatelor bolii tiroidiene la pacienții diabetici și susțin implementarea screeningului tiroidian ca parte a îngrijirii de rutină a diabetului.

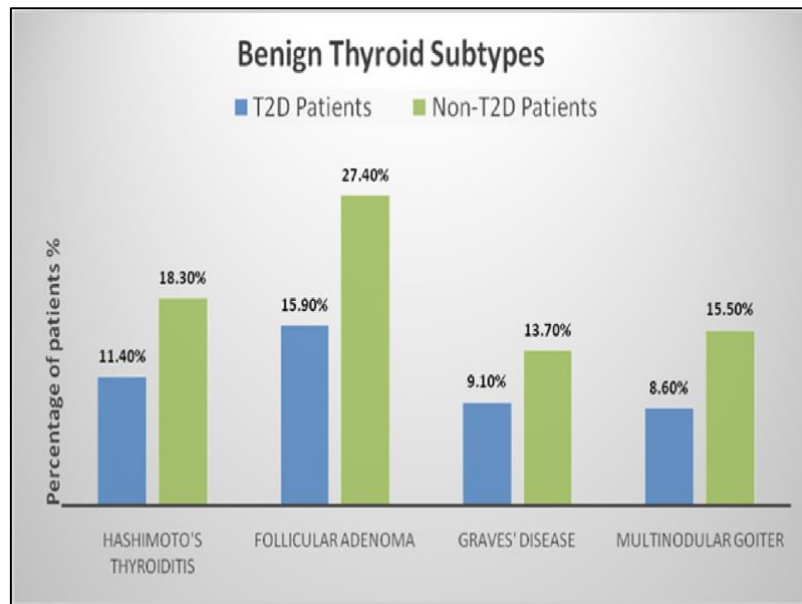


Figura 2. Distribuția subtipurilor tiroidiene benigne la pacienții cu DZ2 și fără DZ2.

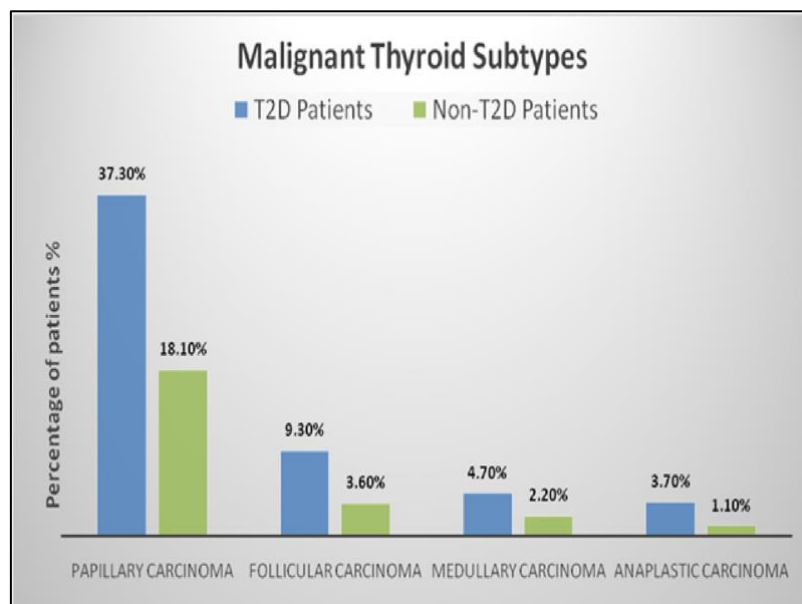


Figura 3. Distribuția subtipurilor tiroidiene maligne la pacienții cu DZ2 și fără DZ2.

STUDIUL 3: PROFILELE DE EXPRESIE PREOPERATORIE ALE MIR-146A ȘI MIR-221 CA POTENȚIALI BIOMARKERI PENTRU DIFERENȚIEREA NODULILOR TIROIDIENI BENIGNI DE CEI MALIGNI

Al treilea studiu a fost o investigație observațională prospectivă realizată între 1 iulie și 12 decembrie 2024, la Clinica I Chirurgie. Acest studiu a înrolat 56 de pacienți adulți

diagnosticați cu boală tiroidiană nodulară programați pentru tiroidectomie totală, cu 24 repartizați în grupul de studiu (carcinom tiroidian confirmat histologic) și 32 în grupul de control (patologie tiroidiană benignă). Studiul a evaluat expresia circulantă preoperatorie a miR-146a și miR-221 utilizând RT-qPCR cu teste TaqMan MicroRNA, cu ARN nuclear mic U6 servind ca referință endogenă. Cuantificarea relativă a fost realizată utilizând metoda comparativă Ct ($\Delta\Delta\text{Ct}$).

Rezultatele au demonstrat un contrast izbitor între cele două microARN-uri. MiR-146a a arătat o expresie mediană ușor mai scăzută în grupul malign comparativ cu grupul benign, dar diferența nu a atins semnificația statistică ($p = 0,301$), ceea ce este consistent cu comportamentul dependent de context al miR-146a, care acționează atât ca oncogenă, cât și ca supresor tumoral, în funcție de contextul celular. În contrast, miR-221 a demonstrat diferențe foarte semnificative între cele două grupuri atât pentru valorile $\Delta\Delta\text{Ct}$, cât și pentru fold-change ($p < 0,001$). Pacienții cu leziuni maligne au avut o valoare $\Delta\Delta\text{Ct}$ semnificativ mai scăzută (reflectând o expresie mai ridicată) și un fold-change semnificativ crescut (mediană 1,33; IQR: 0,96–1,78) comparativ cu cei cu patologie benignă (mediană 0,42; IQR: –0,23–0,86).

Analiza de corelație Spearman nu a relevat corelații semnificative statistic între nivelurile de expresie ale microARN-urilor circulante și parametrii clinici, incluzând vârsta, volumul tiroidian, clasificarea TIRADS și ecogenitatea. O corelație pozitivă slabă a fost observată între miR-146a și scorul TIRADS ($p = 0,19$), în timp ce miR-221 a arătat corelații inverse ușoare cu vârsta ($p = -0,17$) și volumul tiroidian ($p = -0,12$). Analiza ROC a furnizat cele mai convingătoare rezultate: miR-221 a obținut o arie sub curbă (AUC) remarcabilă de 1,00, cu sensibilitate de 100% și specificitate de 100% la un prag optim de $\Delta\Delta\text{Ct} = 0,91$, indicând discriminarea perfectă între cazurile maligne și benigne în această cohortă. În contrast, miR-146a a prezentat o capacitate discriminativă limitată, cu un AUC de doar 0,42.

Deși AUC-ul perfect obținut de miR-221 este notabil, acesta trebuie interpretat cu prudență dată fiind dimensiunea relativ mică a eșantionului, care poate reflecta supraajustarea. Cu toate acestea, magnitudinea diferenței observate a fost substanțială și este consistentă cu studiile anterioare care identifică miR-221 ca unul dintre cele mai constant suprareglate microARN-uri în carcinomul tiroidian papilar, asociat cu comportament tumoral agresiv și metastaze ganglionare. Din punct de vedere funcțional, miR-221 intensifică proliferarea, migrația și invazia liniilor celulare PTC prin modularea căilor tranziției epitelio-mezenchimale și țintirea genei RECK și reglează negativ inhibitorii critici ai ciclului celular precum CDKN1B (p27) și CDKN1C (p57). Studii multicentric viitoare cu cohorte mai mari și mai diverse sunt esențiale pentru confirmarea acestor constatări.

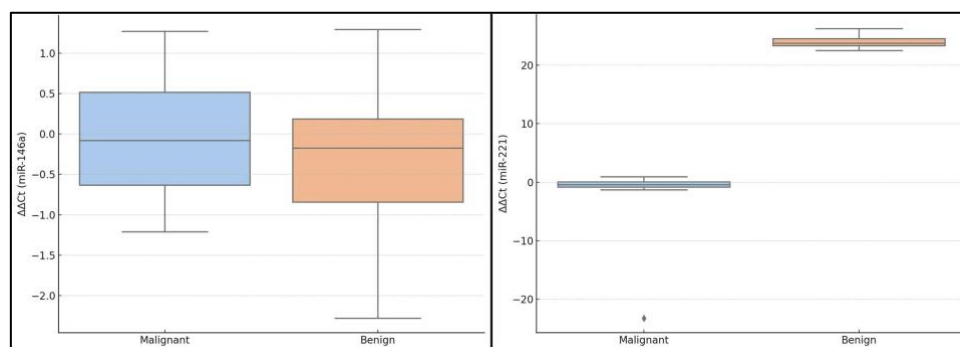


Figura 4. Diagrame boxplot care arată valorile $\Delta\Delta Ct$ pentru miR-146a (stânga) și miR-221 (dreapta) la pacienții cu leziuni tiroidiene benigne și maligne.

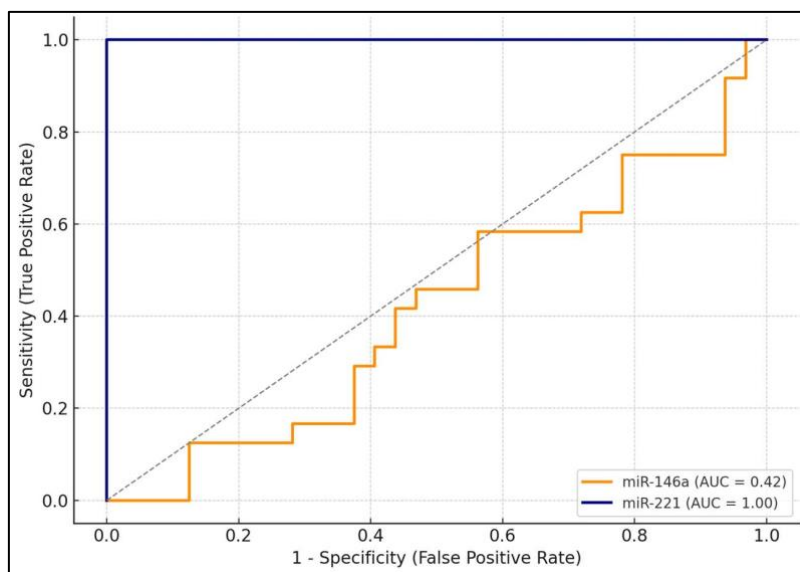


Figura 5. Curbele ROC (Receiver Operating Characteristic) comparând performanța diagnostică a miR-146a (AUC = 0,42) și miR-221 (AUC = 1,00).

CONCLUZII FINALE ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

Prezenta teză de doctorat, prin cele trei studii interconectate, oferă o abordare comprehensivă și multiparametrică a evaluării bolii nodulare tiroidiene, cu implicații importante pentru diagnosticul clinic, stratificarea riscului și managementul pacienților. Prin investigarea sistematică a parametrilor de laborator de rutină, a impactului diabetului zaharat de tip 2 asupra patologiei tiroidiene și a potențialului diagnostic al microARN-urilor circulante, această cercetare contribuie semnificativ la înțelegerea actuală a bolilor tiroidiene și a interacțiunilor complexe cu factorii metabolici și moleculari.

Primul studiu a demonstrat că mai mulți parametri de laborator de rutină, incluzând FT3, FT4, VSH, fibrinogenul, leucocitele și procentul de limfocite, prezintă diferențe semnificative statistic între pacienții cu noduli tiroidieni maligni și benigni. Deși aceste teste singure nu pot stabili un diagnostic definitiv, ele servesc ca instrumente adjuvante importante care pot ridica suspiciunea clinică și ghida medicii către investigații suplimentare. Accesibilitatea și eficiența lor din punct de vedere al costurilor fac aceste constatări deosebit de relevante pentru mediile clinice unde diagnosticul molecular avansat nu este disponibil cu ușurință.

Al doilea studiu a relevat că pacienții cu DZ2 prezintă o proporție semnificativ mai mare de leziuni tiroidiene maligne comparativ cu pacienții non-diabetici (55% față de 25%, OR = 3,59). Profilul biochimic al nodulilor tiroidieni la pacienții cu DZ2 a prezentat caracteristici distincte, incluzând niveluri crescute de FT4 și markeri inflamatori elevați. Aceste constatări subliniază importanța implementării strategiilor de screening tiroidian ca parte a îngrijirii de rutină a diabetului și sugerează că dereglările metabolice pot contribui la un mediu care favorizează malignitatea tiroidiană prin mecanisme implicând rezistența la insulină, inflamația cronică de grad scăzut și stresul oxidativ.

Al treilea studiu a introdus o dimensiune moleculară prin evaluarea valorii diagnostice preoperatorii a miR-146a și miR-221 circulante. Rezultatele au demonstrat că miR-221 posedă o acuratețe diagnostică excepțională, obținând un AUC de 1,00 cu sensibilitate și specificitate perfectă. Această constatare poziționează miR-221 circulant ca un biomarker neinvaziv foarte promitător care ar putea complementa și îmbunătăți algoritmi diagnostici existenți, în special pentru nodulii tiroidieni cu citologie nedeterminată. Împreună, aceste constatări susțin o abordare multiparametrică a evaluării nodulilor tiroidieni care integrează evaluările de laborator de rutină, profilarea metabolică și analiza biomarkerilor moleculari. Această strategie integrată are potențialul de a îmbunătăți acuratețea diagnostică, de a optimiza stratificarea riscului, de a reduce intervențiile chirurgicale inutile și, în cele din urmă, de a optimiza rezultatele pacienților.

Contribuțiile personale ale acestei teze includ prima investigație comprehensivă care examinează variațiile parametrilor standard de laborator corelate cu morfologia malignă a nodulilor tiroidieni, primul studiu în contextul est-european care examinează impactul combinat al DZ2 și al inflamației sistemice asupra caracterizării nodulilor tiroidieni și evaluarea prospectivă a miR-221 și miR-146a circulante preoperatorii ca biomarkeri diagnostici în timp real la pacienții supuși tiroidectomiei. Cercetarea prezentată în această lucrare pune bazele pentru studii prospective, multicentrice, viitoare, care vor fi esențiale pentru validarea acestor constatări și transpunerea lor în practica clinică de rutină.