



MEMORIU ȘTIINȚIFIC

privind teza de doctorat intitulată

ASPECTE PARTICULARE MORFOPATOLOGICE ȘI IMUNOHISTOCHIMICE ALE CANCERELOR FARINGO-LARINGIENE

Doctorand: Ciortan Mihaela-Iuliana

Coordonator științific: Prof. Univ. Dr. Nicolae Constantin Balica

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” din Timișoara

1. Motivația cercetării

Teza de doctorat intitulată „*Aspecte particulare morfopatologice și imunohistochimice ale cancerelor faringo-laringiene*” abordează o problemă relevantă pentru oncologia capului și gâtului, la intersecția otorinolaringologiei, anatomiei patologice, imunohistochimiei și cercetării experimentale. Cancerul faringian și laringian prezintă o heterogenitate anatomică și biologică importantă și pot afecta funcții esențiale, precum respirația, fonația și deglutiția. Diagnosticul în stadii avansate, riscul de recidivă și toxicitatea unor tratamente justifică identificarea unor instrumente suplimentare de caracterizare prognostică și explorarea unor direcții terapeutice preclinice.

Motivația centrală a cercetării derivă din faptul că parametrii clinicopatologici convenționali, localizarea și stadiul tumoral, gradul de diferențiere, invazia perineurală și limfovasculară, statusul ganglionar sau marginile de rezecție, nu explică integral variațiile evoluției între pacienți. Caracterizarea micromediului imun tumoral poate completa evaluarea morfopatologică, prin descrierea populațiilor celulare implicate în supravegherea și evaziunea imună. În particular, teza investighează dacă distribuția integrată a limfocitelor, celulelor dendritice, macrofagelor și mastocitelor se asociază cu supraviețuirea globală în carcinomul scuamos laringian.



O a doua componentă a motivației privește relevanța expresiei p16 și a markerilor imunohistochimici în tumorile laringiene. Deși infecția cu virusul papiloma uman are un rol bine conturat în anumite cancere orofaringiene, semnificația biologică și prognostică a p16 în afara orofaringelui rămâne mai puțin clară. Evaluarea p16 alături de markerii micromediului imun permite explorarea unor asocieri în cohorta studiată, fără a confunda pozitivitatea p16 cu demonstrarea moleculară a infecției HPV.

În completare, cercetarea examinează quercetina și miricetina, doi flavonoli cu proprietăți biologice investigate în oncologie, individual și în asociere. Studiul experimental urmărește efectele asupra celulelor A253 și profilul de iritație vasculară în modelul in ovo. Această direcție are caracter explorator: celulele A253 provin dintr-un carcinom al glandei salivare submandibulare, nu dintr-o tumoră faringiană ori laringiană, iar rezultatele nu stabilesc eficacitate sau siguranță clinică. Prin reunirea unei sinteze a literaturii, a unui studiu clinicopatologic retrospectiv și a unei investigații preclinice, teza construiește un parcurs coerent de la problema oncologică la ipoteze prognostice și terapeutice ce necesită validare.

2. Structura tezei de doctorat

Teza este organizată în trei părți principale: I. Stadiul actual al cunoașterii, II. Contribuții personale și III. Concluzii finale și contribuții personale. Acestea sunt completate de introducere, lista publicațiilor științifice incluse în teză, abrevieri, listele figurilor și tabelelor, referințe bibliografice și articole publicate in extenso. Succesiunea capitolelor urmărește trecerea de la fundamentarea clinică și morfopatologică la analiza imună și evaluarea experimentală.

Partea teoretică cuprinde trei capitole. Primul capitol, „*Clasificarea cancerelor faringo-laringiene în oncologia capului și gâtului*”, prezintă epidemiologia, factorii de risc, elementele clinice și diagnostice și principiile actuale de tratament și prognostic. Al doilea capitol, „*Caracteristici morfopatologice ale cancerelor faringo-laringiene*”, analizează tipurile histologice, gradul de diferențiere, parametrii cu semnificație prognostică, particularitățile în funcție de localizare și corelațiile cu evoluția clinică. Al treilea capitol, „*Caracteristici imunohistochimice, micromediul tumoral și perspective terapeutice în cancerele faringo-laringiene*”, sintetizează rolul imunohistochimiei, markerii relevanți, micromediul imun al carcinomului scuamos laringian și direcțiile moderne de tratament, inclusiv imunoterapia.



Partea specială debutează cu motivația, scopul și obiectivele cercetării doctorale și cuprinde trei studii complementare, materializate prin trei publicații. Primul studiu, **„O perspectivă actuală asupra a două dintre cele mai agresive forme de cancer la nivelul capului și gâtului: cancerul faringian și cancerul laringian”**, este o sinteză narativă orientată clinic a literaturii. Sunt discutate diferențele dintre cancerele laringiene și cele nazofaringiene, orofaringiene și hipofaringiene, factorii de risc, particularitățile diagnostice, strategiile terapeutice și prevenția. Studiul delimitează probleme insuficient rezolvate, inclusiv depistarea precoce și necesitatea unor biomarkeri prognostici validați.

Al doilea studiu, **„Studiu imunohistochimic al micromediului imun tumoral în carcinomul cu celule squamoase al laringelui și implicațiile sale prognostice”**, reprezintă nucleul clinicopatologic original al tezei. Au fost evaluate retrospectiv 82 de cazuri de carcinom scuamos laringian, pe baza datelor clinice, a preparatelor histologice și a materialului tisular disponibil. Analiza morfopatologică a inclus gradul histologic, cheratinizarea, ramificațiile tumorale, invazia perineurală și angiolimfatică și alte caracteristici relevante. Panelul imunohistochimic a cuprins p16, CD20, CD3, CD4, CD8, CD68, CD1a și CD117, cu evaluarea semicantitativă a infiltratului în compartimentele tumorale și stromale.

Pe baza profilului celular au fost descrise trei imunotipuri: A, imun activ, caracterizat printr-un infiltrat mai bogat în limfocite și celule dendritice; B, mixt, cu distribuție imună eterogenă; și C, imunosupresiv, cu celule efectoare mai rare și densitate crescută a macrofagelor și mastocitelor. Conform tabelului de sinteză al studiului, distribuția în cohorta de 82 de cazuri a fost de 25, 20 și, respectiv, 37 de tumori. Pentru analiza supraviețuirii au fost disponibile date complete pentru 77 de pacienți, cinci cazuri fiind excluse din cauza lipsei datei decesului. Supraviețuirea globală a fost estimată prin metoda Kaplan–Meier, iar asocierea cu imunotipurile a fost examinată prin teste log-rank și regresie Cox, inclusiv modele ajustate și analize de sensibilitate.

Rezultatele arată diferențe între imunotipuri în cohorta examinată: supraviețuirea globală estimată la cinci ani a fost de 91,7% pentru A, 55% pentru B și 12,1% pentru C (log-rank $p < 0,001$). În modelul Cox ajustat pentru pT, pN, invazia vasculară/limfatică și gradul histologic, raporturile de risc în raport cu imunotipul A au fost HR = 7,39 pentru B (IC 95%: 1,50–36,33; $p = 0,0138$) și HR = 24,79 pentru C (IC 95%: 5,55–110,81; $p < 0,001$). Aceste valori indică



asocieri prognostice în lotul studiat, nu performanța clinică deja validată a unei clasificări. Intervalele de încredere largi și raportul modest între evenimente și parametri impun prudență în interpretare.

În cohortă, cinci tumori au fost p16-pozitive; în analiza prezentată, acestea s-au încadrat în imunotipul A. Această observație este de interes explorator, însă numărul mic de cazuri și absența confirmării moleculare a HPV limitează concluziile etiologice. Studiul ilustrează astfel atât posibilul aport al evaluării integrate a micromediului imun, cât și necesitatea validării externe și a standardizării scorării imunohistochimice.

Al treilea studiu, *„Evaluarea quercetinei, a miricetinei și a combinației lor ca flavonoide cu potențial antitumoral în modele de cancer la nivelul capului și gâtului: un studiu in vitro și in ovo”*, investighează efectele celor doi compuși pe linia celulară A253. Protocolul a inclus testul MTT de viabilitate, evaluarea confluenței și morfologiei celulare, colorația nucleară Hoechst 33342, testul scratch și testul HET-CAM pentru iritația vasculară. Au fost comparate tratamentele individuale și asocierea quercetină–miricetină, la concentrațiile prevăzute în studiu, după expunere de 24 de ore.

Tratamentele au redus viabilitatea și confluența celulară în mod dependent de concentrație, cu efecte ușor mai pronunțate pentru asocierea celor doi flavonoli, mai ales la concentrații mari. Colorarea Hoechst a evidențiat modificări nucleare compatibile cu apoptoza, dar fără confirmare moleculară a mecanismului de moarte celulară. În testul scratch, asocierea a determinat o închidere a zonei libere de aproximativ 45,46% la 200 μ M, față de 65,23% pentru quercetină și 62,3% pentru miricetină, în condițiile experimentale raportate. La concentrația de 200 μ M, toate probele au fost clasificate drept neiritante în testul HET-CAM (scor de iritație 0,07), spre deosebire de martorul pozitiv SLS 1% (19,29). Un scor neiritant în acest test nu echivalează cu demonstrarea siguranței sistemice ori a tolerabilității clinice.

Partea finală reunește concluziile, contribuțiile personale și direcțiile viitoare. Teza identifică drept contribuție centrală clasificarea integrativă a micromediului imun din carcinomul scuamos laringian și asocierea acesteia cu prognosticul, în timp ce studiul cu flavonoli oferă date preclinice preliminare. Sunt recunoscute explicit limitările designului retrospectiv și ale eșantionului, neconfirmarea moleculară a HPV, variabilitatea potențială a scorării semicantitative și caracterul nespecific anatomic al liniei A253. Direcțiile propuse includ cohorte prospective



multicentrice, biomarkeri și analize moleculare suplimentare, patologie digitală, modele 3D și studii mecanistice și de siguranță mai aprofundate.

3. Lista publicațiilor științifice

Cercetarea doctorală este susținută de trei articole publicate în anii 2025–2026. Factorii de impact menționați în teză, cu o sumă aritmetică de 8,0; această sumă redă exclusiv valorile raportate în documentul-sursă. Referințele bibliografice de mai jos urmează datele prezentate în teză.

1. **Ciortan Sirbu MI**, Marin MA, Chioran D, Predescu IA, Balica NC, Liga S, Rivis M, Dinu Ș, Talpoș Ș. A Current Perspective of Two of the Most Aggressive Head and Neck Cancers: Pharyngeal and Laryngeal. *Current Oncology*. 2025;32(10):572. <https://doi.org/10.3390/curroncol32100572>. PMID: 41149492; PMCID: PMC12562369. (I.F. = 3,4).
2. **Sirbu (Ciortan) MI**, Predescu IA, Horhat DI, Mot IC, Banța AM, Orășan A, Morgovan AI, Balica NC, Talpoș Ș. Evaluation of quercetin, myricetin, and their combination as flavonoids with antitumour potential in head and neck cancer models: an in vitro and in ovo study. *Farmacia*. 2025;73(5):1143–1154. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2025.5.8>. (I.F. = 1,3).
3. **Sirbu MI**, Zara F, Closca RM, Rakitovan M, Armega-Anghelescu A, Cindrea AC, Mederle OA, Labadi MM, Balica NC. Immunohistochemical Study of the Tumor Immune Microenvironment in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma and Its Prognostic Implications. *Diagnostics*. 2026;16:1431. <https://doi.org/10.3390/diagnostics16101431>. (I.F. = 3,3).

4. Aprecierea tezei din punctul de vedere al conducătorului de doctorat

În calitate de conducător științific, apreciez că teza de doctorat elaborată de doctoranda **Ciortan Mihaela-Iuliana** abordează o temă de interes pentru oncologia capului și gâtului și propune o integrare coerentă între informația clinică, examinarea morfopatologică, caracterizarea imunohistochimică și cercetarea experimentală preliminară. Structura lucrării permite urmărirea explicită a obiectivelor și a modului în care cele trei studii contribuie la realizarea acestora.

Partea teoretică oferă un cadru bine articulat pentru înțelegerea particularităților cancerelor faringiene și laringiene. Sunt prezentate diferențele dintre localizări, factorii de risc,



elementele clinice și diagnostice, markerii morfopatologici și imunohistochimici, precum și perspectivele terapeutice. Primul articol inclus în teză valorifică aceste informații într-o sinteză clinică a literaturii, cu accent pe prevenție, diagnostic precoce și probleme de prognostic care justifică investigații suplimentare.

Contribuția originală principală este reprezentată de studiul retrospectiv asupra celor 82 de cazuri de carcinom scuamos laringian. Integrarea markerilor p16, CD20, CD3, CD4, CD8, CD68, CD1a și CD117 și analiza separată a compartimentelor tumorale și stromale au permis descrierea a trei imunotipuri cu asocieri distincte cu supraviețuirea. Diferențele observate prin analiza Kaplan–Meier, susținute de modelele Cox ajustate și de analizele de sensibilitate, conferă studiului relevanță pentru cercetarea prognostică. Rezultatele trebuie interpretate în limitele unei cohorte retrospective, iar propunerea de clasificare necesită validare în populații independente înainte de utilizarea clinică de rutină.

Este relevantă și abordarea critică a expresiei p16: rezultatele celor cinci cazuri pozitive sunt raportate fără a echivala imunoreactivitatea cu confirmarea moleculară a infecției HPV. De asemenea, sunt recunoscute limitele asociate dimensiunii eșantionului, preciziei estimărilor de risc și caracterului semicantitativ al evaluării imunohistochimice. Aceste precizări contribuie la o interpretare proporțională cu dovezile obținute.

Studiul experimental completează lucrarea prin compararea quercetinei, a miricetinei și a asocierii acestora într-un model celular de cancer al capului și gâtului și prin evaluarea iritației vasculare în sistemul HET-CAM. Reducerea dependentă de concentrație a viabilității, modificările morfologice și nucleare, influențarea închiderii zonei libere în testul scratch și absența iritației în modelul utilizat constituie rezultate de interes pentru cercetări ulterioare. Totodată, linia A253 nu provine din faringe sau laringe, iar mecanismele apoptotice nu au fost confirmate prin teste moleculare; aceste limite exclud extrapolarea directă către tratamentul pacienților.

Cele trei publicații incluse în teză documentează parcursul de cercetare, de la analiza literaturii și investigarea micromediului imun tumoral la explorarea preclinică a unor compuși bioactivi. Pentru continuarea cercetării, consider importante validarea prospectivă și multicentrică a imunotipurilor, confirmarea moleculară a statusului HPV, extinderea evaluării



prin tehnici de patologie digitală și profilare spațială, precum și investigarea flavonolilor în modele tumorale anatomice și biologice mai adecvate, cu teste mecanistice și de siguranță.

În ansamblu, apreciez că lucrarea are o structură științifică coerentă, formulează și urmărește obiective relevante și cuprinde contribuții originale în caracterizarea micromediului imun al carcinomului scuamos laringian, alături de rezultate experimentale preliminare. În forma prezentată, consider că teza poate fi înaintată spre susținere publică în vederea acordării titlului de doctor, sub rezerva verificării și aprobării prezentului memoriu de către conducătorul științific.

Conducător științific,

Prof. Univ. Dr. Nicolae Constantin Balica

Doctorand,

Ciortan Mihaela-Iuliana