

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA” BUCUREȘTI
FACULTATEA DE MEDICINĂ**



***MARKERI GENETICI ÎN CANCERUL DE PROSTATĂ
LOCALIZAT
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT***

**Conducător Științific:
Prof. Univ. Dr. Viorel JINGA**

**Doctorand:
Dr. Dan-Gabriel ROȘOGA**

București, 2022

CUPRINS

1. Introducere.....	3
2. Obiectivele studiului.....	5
2.1 Populația de studiu.....	5
2.2 Genotiparea și analiza datelor SNP.....	8
2.3 Selectarea SNP-urilor pentru replicarea constatărilor anterioare...	9
3. Rezultate.....	10
4. Discuții.....	14
5. Concluzii.....	23
6. Bibliografie.....	25

1.Introducere

Cancerul de prostată este cel mai frecvent cancer necutanat și a 3-a cea mai frecventă neoplazie a populației de sex masculin, cu peste 1 000 000 de cazuri descoperite anual și peste 300 000 decese.

Studiile arată că riscul actual pentru un bărbat dintr-o societate occidentală de a dezvolta în cursul vieții cancer de prostată microscopic este de aproximativ 30%. Riscul de a dezvolta boala clinică este de 10%, iar riscul de a muri prin această afecțiune este de 3%.

Revoluționarea noilor metode de screening a îmbunătățit rata de descoperire a acestei patologii în ultimele decenii, permițând realizarea unui diagnostic timpuriu în stadii localizate ale bolii.

Un screening corect pentru acești pacienți care să permită diagnosticarea și stabilirea unui management terapeutic specific fiecărui individ, axat în principal pe îmbunătățirea calității vieții acestora, reprezintă o provocare pentru generațiile actuale de urologi și cercetători. Încă există tendința de supratratere pentru unii pacienți, mai ales în cazul acelorora cu risc scăzut al bolii, acest fapt crescând morbiditatea și neaducând un beneficiu clinic real.

Riscurile de supradiagnosticare și supratratament ale unui posibil cancer la bărbații care nu au prezentat simptome de boală trebuie să fie luate în considerare și urmărite cu atenție.

Două mari studii clinice randomizate (PLCO și ERSPC) au constatări diferite cu privire la eficacitatea screening-ului cancerului de prostată, în scăderea ratei (frecvenței) mortalității de la boală.

O recentă meta-analiză a studiilor clinice randomizate a demonstrat că screening-ul prin PSA nu are nici un efect semnificativ asupra mortalității prin cancerul de prostată față de mortalitatea generală.

De-a lungul anilor la nivel global există o preocupare în descoperirea și analiza diverșilor factori genetici implicați în patologia tumorală prostatică.

Studii multiple, în special studii epidemiologice și studii de asociere la scară largă la nivelul genomului (GWAS), au demonstrat o componentă genetică a etiologiei cancerului de prostată, care a reprezentat punctul de plecare pentru acest studiu.

Ținta finală al studiilor GWAS este de a utiliza factori de risc genetici pentru a putea prezice cine este expus riscului de a dezvolta o anumită boală și pentru a identifica fundamentele biologice ale susceptibilității pentru îmbolnăvire cu scopul de a dezvolta noi strategii de prevenție și tratament.

La ora actuală sunt descrise un număr important de oncogene în legătură cu această patologie, dar interesul este de a oferi acestor markeri utilitate clinică.

Utilizarea acestora în practica curentă ar permite o mai bună stabilire a riscului de boală precum și îmbunătățirea strategiilor terapeutice.

Obiectivul acestei teze de doctorat este de a descoperi și analiza variațiile genetice apărute la indivizii cu cancer de prostată diagnosticați în România și de a evalua riscul acestora în raport cu evoluția și prognosticul bolii.

2.Obiectivele studiului

În ciuda progreselor medicale recente, cancerul de prostată rămâne o problemă medicală semnificativă pentru bărbați. Acest studiu se concentrează pe evaluarea componentei genetice a acestei patologii și rezumă oportunitățile de a reduce morbiditatea și mortalitatea cancerului de prostată în România.

În România, cancerul de prostată este una dintre cele mai frecvente forme de cancer la bărbați, având o incidență anuală de 32,2 / 100.000 de cazuri[1,2].

Analiza metodelor clasice utilizate actual pentru a determina diagnosticul precum și populația la risc, au reprezentat metode viabile de screening, fiind validate în practica medicală curentă. Un exemplu, este reprezentat de introducerea PSA-ului seric ca test de screening și diagnostic pentru cancerul de prostată, această investigație ducând rata de diagnostic a formelor de boală până la 50%, dar crescând în mod artificial rata de tratament pentru cazuri care, probabil, nu ar fi prezentat manifestări clinice sau ar fi dus la decesul pacientului. Acest aspect a dus la costuri crescute și o serie de diagnostice fals pozitive[2,3].

Plecând de la această problemă raportată de comunitatea științifică, principalul obiectiv al acestui studiu a fost cel de a identifica diferitele mutațiile genetice prezente la pacienții cu cancer de prostată diagnosticate în România, în scopul de a construi un set de biomarkeri de utilitate clinică pentru diagnosticul și prognosticul evoluției acestei afecțiuni.

Ca și obiectiv secundar am încercat să evaluez riscul acestor markeri în raport cu prognosticul bolii validând aceste estimări, folosind bazele de date disponibile la nivel internațional.

2.1 Populația de studiu

Subiecții incluși în acest studiu au fost pacienți de sex masculin internați între 2008 și 2016 în patru clinici din București pentru diferite afecțiuni medicale. Lotul de studiu a constat din 1064 de pacienți confirmați histopatologic cu Pca, dintre care am subselecționat 166 de cazuri cu niveluri anormale ale PSA și vârstă de debut mai mică de 60 de ani și 1104 controale constând din pacienți admiși pentru afecțiuni urologice și chirurgicale nononcologice.

ADN-ul a fost extras din sânge sau tampon bucal la deCODE Genetics (Reykjavik, Islanda) și genotipat folosind matrice SNP Illumina[4,5].

Nivelurile PSA-ului din plasmă au fost măsurate pentru toți subiecții la internarea în spital, dar nu au fost utilizate ca și criterii de excludere. Toți subiecții au semnat un formular de consimțământ informat înainte de înscrierea în studiu și au acceptat utilizarea datelor personale, clinice și a probelor biologice pentru cercetarea genetică. Comitetul Bioetic al Colegiului Medicilor din România a aprobat studiul, iar protocoalele au fost aprobate de Consiliul Național de Etică al Asociației Medicilor din România[6].

Personalul medical instruit a efectuat interviuri față în față, utilizând chestionare standardizate, pentru a colecta date personale (etnie, stare civilă, educație, înălțime și greutate), date despre stilul de viață (ocupație, fumat, cafea și consum de ceai, alcool) și istoricul medical (personal și familial). Toți subiecții au fost de origine europeană autoraportată. Nu s-au observat diferențe semnificative în alte caracteristici epidemiologice: indice de masă corporală, fumat sau consum de alcool.

Criteriile de includere ale pacienților în lotul de control au fost: absența oricărui tip de cancer la momentul includerii, semnarea de către participanți a unui consimțământ informat de includere în programul de cercetare și completarea de către participanți a chestionarului privind datele medicale și personale.

Colectarea datelor clinice a fost efectuată cu ajutorul unui chestionar utilizat în studiul doctoral având o valoare importantă în cadrul metodologiei de cercetare. Acesta cuprinde următoarele capitole:

- a) informații despre pacient
- b) date fenotipice
- c) antecedente medicale
- d) comportamente de risc
- e) informații conexe despre stilul de viață

Pe baza protocolului prestabilit, toate aceste informații au fost colectate de către personalul instruit, folosind un formular standardizat în cadrul studiului. Formularul cuprinde 11 întrebări ce interoghează aspecte medicale utile pentru diagnosticul subiecților incluși în studiu ce prezintă patologie neoplazică.

Chestionarul cuprinde informații despre diagnosticare, TNM, PSA și valoarea scorului Gleason.

Scopul principal al studiului este reprezentat de realizarea unui set de markeri genetici puternic asociați cu cancerul de prostată la nivelul întregului genom uman în populația românească. Menționez că acest studiu folosește date din cadrul proiectului Romcan, reprezentând unul dintre multiplele eforturi ale comunității științifice urologice românești în încercarea de a elucidă etiologia proceselor neoplazice prostatice.

Evaluarea acestei patologii se realizează printr-o serie de parametri clinici generali acceptați precum: stadializarea cTNM, valoarea PSA-ului seric și scorul Gleason - în scopul de a clasifica pacienții diagnosticați cu carcinom prostatic în diferite grupe de risc pentru recurența biochimică, clasificare care influențează și alegerea conduitei terapeutice [7].

Două studii similare au fost realizate anterior, primul, pe un număr restrâns de markeri, acest prim efort fiind realizat pe un număr de 34 de markeri asociați cu această patologie în România . Totuși acest rezultat este într-o oarecare măsură nesatisfăcător pentru practica medicală, analizând un număr mult prea mic de SNP-uri în scopul replicării acestora [8,9].

Un al doilea studiu a fost realizat, analizând întreaga cohortă PROMARK, un studiu de tip „genome wide association study” (GWAS) ce a analizat pentru prima oară corelația genetică dintre profilul genetic și cancerul de prostată în populația din România [9] .

Studiul prezentat în această lucrare, reprezintă o continuare directă a celui menționat mai sus, incluzând un număr de 24 milioane de SNP-uri analizați folosind metode statistice moderne, corelând un fenotip binar reprezentat de prezența cancerului de prostată cu setul de date mai sus menționate. Markerii utilizați au fost evaluați calitativ, structura lor finală fiind definitivată în urma imputării setului de date 1000 Genomes[10]. Datele rezultate în urma imputării reprezintă o viziune de ansamblu asupra întregului genom uman pentru fiecare pacient studiat. Această tehnologie oferă o perspectivă unică de analiză a asocierilor dintre cele 24 milioane de markeri și fenotipul studiat.

Metodologia aplicată ne permite să analizăm totalitatea genelor, locuși sau markeri cu precizie, având la dispoziție la finalul acestui studiu un set de rezultate ce evaluează riscul fiecărui marker sau genă pe baza valorii P-ului

obținut în cohorta folosită. Datele utilizate în acest studiu fac parte din proiectul științific ROMCAN, proiectul fiind desfășurat în România în parteneriat cu institutul DeCODE Genetics Iceland în perioada 2014-2017[11].

În cadrul tezei de doctorat am investigat două ipoteze cu scopul de a valida rezultatele obținute în cadrul cohortei românești. Prima etapă a fost reprezentată de analiza populației românești incluse în studiu comparativ cu date de referință publicate anterior în vederea catalogării și comparării celor două seturi de date disponibile. Scopul final al acestui studiu este reprezentat de identificarea unor rezultate semnificative obținute în cadrul testelor statistice cât și interpretarea și replicarea acestora în cadrul studiului.

2.2 Genotiparea și analiza datelor SNP

Un total de 716.503 SNP-uri au fost genotipate pentru fiecare individ inclus în studiu. Datele genotipului au fost filtrate folosind Plink! v1.07 [12,13]. Aproximativ 10% din SNP-urile genotipate au fost îndepărtate folosind un prag de semnificație al echilibrului Hardy-Weinberg de 5×10^{-6} și prin excluderea markerilor cu o frecvență a alelei minoră mai mică de 1%.

Markerii prezenți în cadrul setului de referință “1000 Genomes” – faza III. din 2014 [13] au fost imputați la 2168 indivizi folosind software-ul IMPUTE2 [14] cu o probabilitate posterioară de 0,9 ca și prag de corecție pentru calitatea procesului de imputare a genotipurilor analizate. Setul de genotipuri a fost testat în scopul evaluării heterogenității populației folosind analiza componentelor principale utilizând software-ul ADMIXTURE [15], iar rezultatele au fost în concordanță cu modelul unei populații omogene.

Un total de 24.295.558 markeri au fost generați prin imputare pentru fiecare individ din studiu. Controlul calității pentru rezultatele imputării a fost efectuat prin îndepărtarea markerilor cu o frecvență a alelei minore mai mică de 1%, cu o rată de identificare corectă de 0,95 și o rată de estimare a concordanței imputării cu modelul real de 0,8.

În total, 8.506.022 markeri au îndeplinit criteriile de filtrare. A fost efectuat un test de asociere între cei 8,5 milioane de markeri imputați și un fenotip reprezentat de o biopsie pozitivă pentru cancerul de prostată. Testul de asociere a fost calculat folosind SNPTEST [16], cu o singură variabilă binară ca răspuns; toate valorile P raportate fiind bidirecționale.

2.3 Selectarea SNP-urilor pentru replicarea constatărilor anterioare

O revizuire sistematică a literaturii de specialitate a variantelor asociate cu cancerul de prostată din studiile de tip GWAS anterioare a fost finalizată utilizând catalogul NHGRI al acestor studii de asociere la nivel de genom publicate [17] ca și punct de plecare. A fost efectuată o interogare a acestei baze de date utilizând ca și cuvânt cheie „cancer de prostată”, iar criteriile de includere pentru selecție au fost după cum urmează: valori $P < 5 \times 10^{-8}$ și o frecvență a alelei minore de peste 5%.

Pentru fiecare studiu, au fost colectate următoarele variabile: țara și etnia participanților, metoda de genotipare, sursa controalelor, sursa cohorței de replicare și mai multe cazuri și controale atât în descoperire, cât și în studiul de replicare. Un total de 63 de articole au fost inițial obținute din catalogul GWAS pe baza căutării de cuvinte cheie. Douăsprezece dintre studii au raportat rezultate legate doar tangențial de cancerul de prostată, în timp 29 de studii au raportat asocieri cu risc de cancer de prostată. Am identificat 139 de markeri unici asociați anterior cu PCa.

3.Rezultate

Primele două rezultate au fost pentru variante mai puțin frecvente (frecvența alelelor minore estimate la 2% în cazul probei și 9% în proba martor) din cromozomii 22 și 12 SNP, RS9621053 și RS11059458. Credem că rezultatul acestui SNP ar trebui luat în considerare cu prudență.

O altă variantă nouă (RS42929) a atins, de asemenea, o semnificație la nivel de genom. Rezultatele de-a lungul genomului sunt ilustrate grafic în **Figura1**, iar principalele constatări sunt prezentate în **Tabelul 1**.

Tabelul 1. Rezumatul principalelor rezultate GWAS pentru debut precoce

RS	Cromo zom	Poziție	Alela	P-value	OR
rs9621053	22	30635146	T	3.65E-10	3.419
rs11059458	12	128052616	T	7.12E-09	7.14
rs42929	22	30560432	T	2.12E-09	4.521
rs1859169	23	107319661	G	6.41E-08	6.628
rs7576486	2	183710710	A	5.14E-08	12.25
rs16886053	6	75053443	A	1.12E-07	13.62
rs12664835	6	75055012	T	2.12E-07	15.73
rs986633	8	86623223	A	5.12E-07	2.215
rs10490219	2	8260765	T	5.21E-07	1.621
rs2215220	6	28521097	T	1.051E-07	3.612
rs846277	7	42021903	T	4.14E-07	2.731
rs1366031	12	115611338	G	1.66E-06	16.66
rs7036724	9	86221371	C	2.65E-06	18.21
rs16888388	6	77015323	A	2.61E-06	13.67
rs2258265	8	3941805	T	2.55E-06	2.891
rs953920	10	116187631	C	4.12E-06	2.920

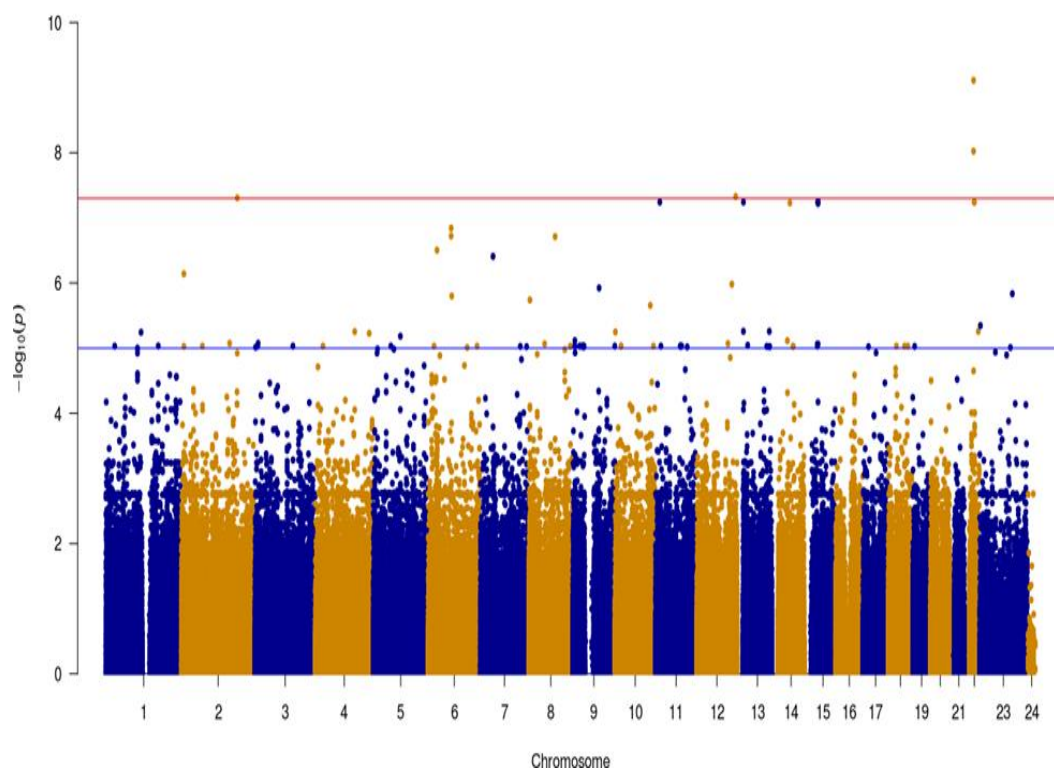


Figura1: Rezultatele testului GWAS pentru debut precoce

Un test similar a fost finalizat pentru 898 de cazuri diagnosticate după vârsta de 60 de ani cu status mixt de informații fenotipice suplimentare și pacienți din lotul martor din aceeași cohortă. Rezultatele de-a lungul genomului sunt ilustrate grafic în **Figura 2**, în timp ce principalele constatări sunt prezentate în **Tabelul 2**.

În cel de-al doilea test, observăm valori mai mici ale p-ului comparativ cu rezultatele observate în cazul studiului de tip GWAS ce analiza cazurile cu debut precoce, acest aspect fiind datorat dimensiunii mai mari a subcohortei de studiu. 14 SNP din cei 13 loci au atins valori p mai mici decât 5×10^{-8} în cohorta românească.

Tabelul 2. Rezumatul principalelor rezultate al studiului de tip GWAS pentru
cohorta de pacienți cu debut tardiv al cancerului de prostată

RS	Cromozom	Pozitie	Alela	P-value	OR
rs8110536	19	756985	3	4.14E-10	0.531
rs2827540	21	22474931	3	4.64E-10	0.4512
rs12090877	1	160406270	4	1.91E-09	0.12316
rs4828787	23	150996411	4	1.99E-09	2.008
rs2598392	7	33581287	2	3.21E-09	0.5784
rs9866700	3	180563658	2	4.46E-09	0.6147
rs4810663	20	47711762	4	4.60E-09	0.2314
rs2135720	10	53995731	4	5.57E-09	0.6064
rs12067141	1	18033086	1	6.71E-09	0.6092
rs7211084	17	29049811	4	6.88E-09	0.6023
rs6602234	10	7275164	2	7.63E-09	0.5289
rs7563088	2	56737504	2	1.03E-08	0.6159
rs2974554	5	152677932	4	1.30E-08	0.5622
rs4711143	6	27205620	4	2.23E-08	0.4328

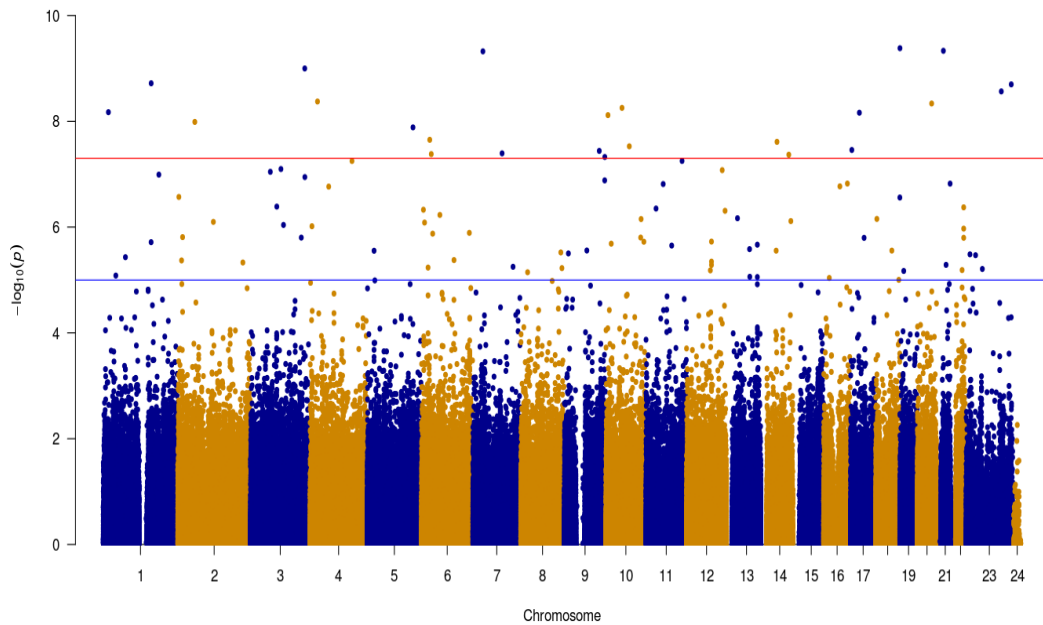


Figura 2 : Rezultatele testului GWAS pentru debut tardiv

Studiile de tip GWAS în populațiile europene au oferit o perspectivă asupra variației specifice cancerului și au indicat regiuni de susceptibilitate care sunt de o importanță deosebită în anumite populații. Descoperirea și caracterizarea locusurilor de risc de cancer la diverse populații sunt esențiale pentru înțelegerea mecanismelor biologice subiacente și pentru dezvoltarea viitoare a modelelor genetice de predicție a riscurilor în populațiile strămoșilor europeni.

Studiul nostru pentru cancerul de prostată nu a identificat noi variante semnificative la nivel de genom. Cu toate acestea, constatările demonstrează că variantele de risc stabilite pentru cancerul de prostată contribuie semnificativ la riscul de apariție a cancerului de prostată (PCa) în rândul populației românești.

Cancerul de prostată cu debut precoce s-a dovedit a fi semnificativ asociat cu istoricul familial crescut al bolii, oferind dovezi ale unei etiologii genetice subiacente mai puternice în cazul cu debut precoce decât pentru boala cu debut tardiv [18].

Până în prezent, au fost realizate mai multe studii GWAS în mai multe etape pentru cancerul de prostată folosind o varietate de reguli pentru includerea cazurilor. În cazul GWAS bazat pe cazuri de CaP ≤ 60 de ani și cazuri cu antecedente familiale pozitive de PCa, Eeles și colaboratorii. [19] au demonstrat puterea crescută de detectare a SNP-urilor asociate cu cancerul de prostată care poate fi realizată prin includerea cazurilor cu susceptibilitate genetică îmbogățită la boală.

4. Discuții

În urma analizei genetice am identificat un subset de gene la nivelul cărora apar consecințe asociate cu markerii analizați în legătură cu cancerul de prostată.

Genele identificate au fost TERT, PEX14, KCNN3, SIDT1, SLC22A3, PCAT2, PRNCR1, TET2, CAS1, VAV2 și MROH1.

Un volum mare de informații despre SNP-urile asociate riscului de cancer de prostată sunt disponibile pentru populațiile Europene. Cu toate acestea, este mai puțin cunoscut dacă aceste asociații pot fi replicate în mod constant în populațiile din Europa de Est.

Pe scară largă, studii pe bază de populație privind epidemiologia genetică sunt în curs de desfășurare sau planificate în mai multe țări, iar rezultatele acestor studii vor defini peisajul epidemiologiei genetice în viitorul apropiat. De asemenea, tehnologiile de secvențiere de generație următoare sunt stabilite ca platforme de alegere pentru screeningul de rutină al probelor tumorale într-un cadru clinic.

Având în vedere că secvențializarea întregului exom sau a întregului genom al pacienților devine accesibilă pentru multe spitale și instituții academice, considerăm că screening-ul genetic poate fi o soluție viabilă din punct de vedere financiar pentru practica medicală. Ambele abordări prezintă un mare potențial în integrarea elementelor epidemiologice genetice în practica medicală [20].

Studiile de tip GWAS au multe limitări, cum ar fi incapacitatea lor de a explica pe deplin riscul genetic al bolilor comune. În ciuda acestor limitări, variantele obținute din aceste studii ar putea fi utilizate pentru a stratifica populația după nivelul de risc pentru anumite boli. Un alt rol important al studiilor GWAS poate fi identificarea subtipurilor de boală care au diferite cauze sau răspunsuri la tratament[21].

Analiza principalelor gene implicate în PCa la nivelul populației din România

Gena TERT

Această genă este importantă în patogeneză cancerului de prostată întrucât markerii RS2242652 și RS7725218 asociați cu fenotipul studiat reprezintă un factor de risc pentru această patologie. În literatura de specialitate există dovezi pentru implicarea TERT în mecanismele biologice care influențează oncogeneza cancerului de prostată. În cele ce urmează sunt prezentate aspectele esențiale care conturează cunoașterea actuală referitoare la rolul genei TERT în patologia cancerului de prostată.

Informații despre gena TERT în relație cu cancerul de prostată

Analiza mutațiilor prezente în gene individuale în genomurile tumorale este fundamentată de speranța de a descoperi modificări importante ale căilor care conduc la o mai bună înțelegere a procesului carcinogenezei. Disponibilitatea unor tehnologii noi și sensibile de secvențiere a accelerat această căutare și a condus la identificarea de noi zone importante pentru mutațiile implicate într-o varietate de procese canceroase [22].

Recent, mutații în promotorul genei telomerazei revers transcriptazei (TERT) care codifică subunitatea catalitică a telomerazei au fost identificate în melanomul familial cu o frecvență înaltă [23]. Longevitatea celulelor este încă un semn distinctiv clasic al tumorilor, iar reactivarea telomerazei care duce la menținerea telomerilor rămâne un proces fundamental în carcinogeneză. Modificările din regiunea de codificare a genei TERT sunt evenimente rare în diferitele tipuri de cancer. Prin urmare, identificarea mutațiilor în promotorul central al genei TERT care pot conduce la particularități diferite ale celulelor tumorale a atras un mare interes în domeniul cercetării cancerului [24]

În cancerul de prostată, expresia TERT a fost asociată cu un prognostic rezervat și cu un risc mai mare de recidivă a bolii. Mecanismele care stau la baza expresiei TERT ridicate în cancerul de prostată nu au fost încă clarificate. Până în prezent, datele privind analiza mutației promotorului TERT în PCa sunt rare.

Conform Cbio Portal, au fost identificate 3436 de variante genetice mutante la nivelul acestei gene. Aceasta rată crescută de variabilitate reprezintă un factor adițional ce susține ipoteza implicării acestei gene în procese oncologice.

Expresia transcriptazei inverse a telomerazei (TERT) este crucială pentru supraviețuirea tumorii și pentru celulele canceroase care scapă de apoptoză. Mai multe variante de locus TERT au fost descoperite în asocieră cu riscul de cancer, dar mecanismele de bază și impactul clinic rămân neclare.

Telomerii umani sunt o protecție a capetelor cromozomilor, a căror funcție principală este menținerea lungimii ADN-ului telomeric și a stabilității cromozomiale. Majoritatea celulelor maligne, inclusiv cancerul prostatic, ating o capacitate de replicare nelimitată, un semn distinctiv al cancerului, prin activarea telomerazei pentru menținerea telomerilor. S-a constatat că elementul cheie de limitare a vitezei pentru activitatea telomerazei este gena TERT, care codifică o subunitate catalitică esențială a telomerazei care este exprimată în mod aberant în multe tipuri de cancer. Înțelegerea mecanismelor exprimării aberante a genei TERT reprezintă o întrebare fundamentală pentru cancerul uman, iar TERT este, de asemenea, o țintă clinică potențială pentru îmbunătățirea diagnosticului și a prognosticului cancerului.

Gena PEX14

Această genă este cunoscută ca fiind importantă în etiologia cancerului de prostată întrucât markerul RS636291 asociat cu acest fenotip studiat în analiza anterioară reprezintă un factor de risc pentru această patologie. Acest aspect este susținut și de faptul că în literatura de specialitate există dovezi pentru implicarea PEX14 în diferite procese biologice care influențează în mod favorabil cancerul de prostată.

Informații despre PEX14 în relația cu cancerul de prostată

Gena PEX14 produce o proteină integrală de membrană esențială pentru andocarea proteinelor pe peroxizomi și este o proteină bifuncțională capabilă să acționeze ca un co-represor transcripțional și un modulator de transport al polipeptidei.

Studiile ulterioare au arătat că PEX14 este singura peroxină care are o funcție dublă unică în formarea peroxizomilor și degradarea selectivă. Această genă codifică o componentă esențială a mecanismului de import peroxizomal.

Proteina este integrată în membranele peroxizomale cu capătul C-terminal expus la citosol și interacționează cu receptorul citosolic pentru

proteinele care conțin un semnal de țintire peroxizomal PTS1. Proteina funcționează, de asemenea, ca un corepresor transcripțional și interacționează cu o histon deacetilază.

Variante genetice ale acestei gene au fost asociate anterior cu cancerul de sân. SNP ca rs616488 (PEX14) s-a dovedit a fi asociat cu cancerul de sân în special.

Acest SNP este mult mai puternic asociat cu expresia PEX14 în țesuturile tumorale comparativ cu țesuturile normale. Replicarea acestor rezultate în studiile viitoare trebuie să examineze în continuare dacă asocierea PEX14 cu riscul de cancer de sân se poate datora în parte unei implicații a acestei gene în procese etiologice neoplazice.

Conform Cbio Portal au fost identificate 146 de variante genetice mutante la nivelul acestei gene.

Această rată crescută de variabilitate reprezintă un factor adițional ce susține ipoteza implicării acestei gene în procese oncologice.

Gena SIDT1

Această genă are și ea un rol în etiologia cancerului de prostată, acest fapt fiind indicat de asocierea markerului RS7611694 cu fenotipul studiat, acest aspect fiind substanțial și din punct de vedere molecular. Literatura de specialitate prezintă o serie de informații privind implicarea SIDT1 în oncogeneza cancerului de prostată.

Date generale despre gena SIDT1

Proteina codificată de această genă aparține familiei SID-1 de canale transmembranare dsRNA. Aceste canale transportă dsARN în celule și sunt necesare pentru interferența sistemică a ARN (ARNi). [25]

S-a demonstrat că SIDT1 facilitează și influxul de siARN în organismul uman. Creșterea influxului de siARN extracelular în celule umane pe care SIDT1 îl mediază poate determina silențiere genetică posttranscripțională foarte specifică [26].

La nivelul prostatei expresia genică este de 10.15 transcripțe per milion (tpm).

SIDT1 facilitează transferul de ARN rapid, dependent de contact, bidirecțional, între celulele umane, având ca rezultat ARNi. Deplasarea intercelulară mediată de SIDT1 a microRNA-21(miR-21) antrenează rezistența la analogul nucleozidic gemcitabină în celulele adenocarcinomului uman [27].

Informații despre SIDT1 în relație cu cancerul de prostată

Întrucât SIDT1 facilitează transportul miR-21, implicarea sa în oncogeneză și implicit în cancerul de prostată este strâns legată de această funcție. Printre rolurile miR-21 se numără controlul exprimării mai multor mARN implicate în proliferarea microvasculară și invazia tumorală.

În cancerul de prostată există o dereglare a mai multor miRNA care pot funcționa ca supresoare tumorale sau oncogene.

MiR-21 este un membru relativ nou al grupului de microARN oncogenice. Inițial, s-a constatat că este supraexprimat în glioblastom, iar ulterior a fost descris ca un factor antiapoptotic prezis pentru a down-regla genele asociate cu apoptoza avansată [28]. Ulterior, s-a observat o supraexprimare miR-21 într-o varietate de tumori umane, precum cele cu punct de plecare din sân, colon, ficat, creier, pancreas și prostată [29].

La pacienții cu cancer de prostată, o supraexpresie a miR-21 se corelează cu o slabă supraviețuire fără recidivă biochimică și are valoare predictivă pentru riscul de recidivă biochimică la pacienții tratați prin prostatectomie radicală [30]. De asemenea, expresia sa se corelează cu boala metastatică și crește în concordanță cu parametrii clinici (scor Gleason, metastaze ale ganglionilor limfatici). Prin urmare, miR-21 este util ca biomarker pentru a prezice progresia tumorală[31].

Deși o evaluare a expresiei miR-21 în populații mai mari este necesară, rezultatele existente în literatura actuală indică faptul că miR-21 poate fi un candidat promițător ca biomarker de prognostic molecular și o posibilă țintă terapeutică pentru cancerul de prostată.

Strategiile de terapie genică care implică inhibarea miR-21 se pot dovedi utile în tratamentul cancerului de prostată[32].

Gena SLC22A3

Această genă este importantă în patogeneza cancerului de prostată întrucât markerul RS9364554 asociat cu fenotipul studiat prezintă consecințe la nivelul ei.

În literatura de specialitate există dovezi pentru implicarea SLC22A3 în mecanismele biologice care influențează oncogeneza cancerului de prostată. În cele ce urmează sunt prezentate aspectele esențiale care conturează cunoașterea actuală referitoare la rolul genei SLC22A3 în patologia cancerului de prostată.

Informații despre SLC22A3 în relația cu cancerul de prostată

În decursul progresiei cancerului de prostată și în cancerul de prostată de grad înalt (conform scorului Gleason), SLC22A3 are o expresie scăzută față de țesuturile normale. Prin imunohistochimie s-a confirmat scăderea expresiei SLC22A3 în timpul progresiei tumorale (de la epiteliu benign la cancerul de prostată, $P = 0,003$; de la cancerul de prostată localizat la cancer metastatic, $P = 0,009$), precum și în cancerul de grad înalt comparativ cu cancerul de grad scăzut, $P = 1,1 \times 10^{-5}$. [33].

În studiul „Genetic and functional analyses implicate the NUDT11, HNF1B, and SLC22A3 genes in prostate cancer pathogenesis”, RS9364554 este asociat cu niveluri scăzute de expresie ale SLC22A3. Totuși, testările funcționale arată că suprimarea acestui transcript conduce la o viabilitate și o proliferare redusă a liniilor celulare analizate.

Caracterizarea ulterioară va fi necesară pentru a elucida consecințele funcționale ale modificării nivelurilor SLC22A3, însă gena pare a fi implicată în inițierea procesului de carcinogeneză din cancerul de prostată [34].

Genele PCAT2 și PRNCR1

Aceste gene sunt importante în patogeneza cancerului de prostată întrucât markerul RS1016343 asociat cu fenotipul studiat prezintă consecințe la nivelul ei.

În literatura de specialitate există dovezi pentru implicarea PCAT2 și PRNCR1 în mecanismele biologice care influențează oncogeneza cancerului de prostată. În cele ce urmează sunt prezentate aspectele esențiale care conturează cunoașterea actuală referitoare la rolul celor două gene în patologia cancerului de prostată.

Date generale despre genele PCAT2 și PRNCR1 în relația cu cancerul de prostată

PCAT2 (Prostate Cancer Associated Transcript 2) este o genă ARN și este afiliată clasei de ARN-uri non-codificatoare lncARN (long noncoding RNAs).

Bolile asociate cu PCAT2 includ cancerul de prostată și agnosia vizuală. (GeneCards).

Expresia PCAT2 este up-regulată în cancerul de prostată, acest tip de expresie fiind specifică testiculelor, dar nu și țesutului prostatic normal.

PRNCR1 (Prostate Cancer Associated Non-Coding RNA 1) este o genă ARN și este afiliată clasei de ARN-uri non-codificatoare. Bolile asociate cu PCAT2 includ cancerul de prostată și gliomul malign. (GeneCards) De asemenea, PRNCR1 este o potențială oncogenă implicată în cancerul colorectal, gastric și de sân [35].

Studiile timpurii au arătat că expresia PRNCR1 a fost up-regulată în unele celule tumorale din cancerul de prostată și PIN. Scăderea expresiei PRNCR1 pe liniile celulare LNCaP și PC3 a redus viabilitatea celulelor și activitatea de transactivare a receptorului pentru androgen (AR) [36].

Gena TET2

Această genă este importantă în patogeneza cancerului de prostată întrucât markerul RS7679673 asociat cu fenotipul studiat prezintă consecințe la nivelul ei.

În literatura de specialitate există dovezi pentru implicarea TET2 în mecanismele biologice care influențează oncogeneza cancerului de prostată. În cele ce urmează sunt prezentate aspectele esențiale care conturează cunoașterea actuală referitoare la rolul genei TET2 în patologia cancerului de prostată.

Informații despre TET2 în relație cu cancerul de prostată

Metilarea ADN-ului reprezintă un model epigenetic care descrie starea de reglementare genică globală [37]. Acest proces ce reglementează expresia genelor este considerat a reglementa diverse mecanisme biologice, inclusiv oncogeneza țesuturilor neoplazice[37].

5-hidroximetilarea citozinei (5-hmC) este un marker genetic identificat recent, fiind un potențial indicator al unor afecțiuni precum cancerul. Mecanismele care îi favorizează prezența ca și factor declanșator în tumori și

rolul acestuia asupra expresiei genice și a evoluției celulelor tumorale este neclară [38].

Studiul „TET2 binds the androgen receptor and loss is associated with prostate cancer” (2016), prin mapare genetică, a dezvăluit șase SNP-uri situate în regiunile intronice care sunt semnificativ asociate cu cancerul de prostată, susținând TET2 ca și genă de cauzalitate asociată cu SNP de risc RS7679673 [39].

Modificările somatice apărute la 6% din tumorile primare și la 20% din tumorile metastatice, expresia mRNA redusă într-un subset de tumori și dovezile experimentale că TET2 KD crește proliferarea LNCaP și invazia celulară indică faptul că TET2 este un supresor tumoral în cancerul de prostată.

Relația între TET2 și hormonii androgeni este un element esențial în înțelegerea implicării acestei gene în procesul de oncogeneza a cancerului de prostată.

Studiul „TET2 repression by androgen hormone regulates global hydroxymethylation status and prostate cancer progression” [40] a permis formularea unor concluzii referitoare la interacțiunea TET2 – AR:

Expresia TET2 este reprimată de hormonii androgeni în celulele tumorale:
-TET2 este o genă țintă importantă a miRNA-urilor reglementate de androgeni
-AR reprimă activitatea TET2-enhancerilor în HRPC.

Inducerea mediată de AR a familiei miR-29, care vizează TET2, este proporțional crescută în cancerul de prostată refractar hormonal (HRPC), iar valoarea ei prezice un prognostic nefavorabil al pacienților cu cancer de prostată.

O reducere a activității 5-hmC activează căi cheie legate de cancerul de prostată, cum ar fi mTOR și AR. Astfel, modificarea ADN conectează cauzal calea epigenetică mediată de TET2 și reglată de AR în raport cu progresia cancerului dependentă de 5-hmC.

În același studiu, s-au evaluat valorile TET2 și 5-hmC în probe tumorale clinice prin imunohistochimie. Scăderea expresiei TET2 împreună cu cea a 5-hmC ar putea fi un factor prognostic care prezice supraviețuirea pacienților după intervenția chirurgicală. Nivelul scăzut al expresiei TET2 nu este asociat cu scorul Gleason, ci cu stadiile avansate de cancer și cu metastazele.

S-a confirmat faptul că expresia TET2 este semnificativ reprimată în cancerul de prostată metastatic, comparativ cu tumorile localizate. Scăderea expresiei TET2 este asociată cu progresia bolii și, în particular, cu metastaze.

Mecanismele TET2-dependente sunt, așadar, responsabile de creșterea tumorală.

Creșterea sau scăderea expresiei TET2 are un efect semnificativ asupra proliferării celulelor, demonstrând efectul de inhibare a creșterii TET2 în cancerul de prostată.

Creșterea reprimării TET2 mediată de familia miR-29 este implicată în progresia cancerului de prostată la HRPC.

În concluzie, miR-29 este un regulator epigenetic cheie care reprimă TET2 în progresia cancerului. Astfel, dezvoltarea de noi abordări epigenetice pentru inhibarea miR29 sau pentru modificarea căii mediate de TET2 poate avea implicații importante pentru tratamentul cancerului de prostată în stadiile avansate.

5. Concluzii

În cadrul acestei teze de doctorat am realizat o evaluare a impactului diagnosticării precoce prin metode de screening genetic în prognosticul Pca la pacienții din România. Cercetarea noastră nu a descoperit noi mutații la nivel de genom, dar rezultatele obținute arată că variantele de risc cunoscute pentru cancerul de prostată influențează probabilitatea de apariție a acestei patologii în rândul populației românești.

Am definit profilul genetic particular populației “early on set” corelat cu procese genetice, metabolice și fiziologice, aspect ce poate avea un rol în managementul postterapeutic al acestor pacienți. În cadrul testului de asociere (GWAS) dintre cazurile de Pca cu debut precoce și cazurile de Pca cu istoric familial, am găsit dovezi semnificative statistice ce susțin asocierea a 13 SNP studiate cu cazurile de Pca < 60 ani.

Tendința de creștere ale alelelor de risc în cazul populației tinere comparativ cu subiecții de peste 60 ani a fost raportată doar în cazurile cu debut precoce, fapt ce denotă și accentuează importanța impactului factorilor genetici de risc comun la bărbații cu Pca descoperit la vârste de sub 60 ani.

Implementarea testării genetice în practica clinică, în special la pacienții tineri cu tumori agresive sau la cei cu antecedente familiale pozitive, reprezintă o nouă provocare pentru următorii ani și va identifica bărbații cu variante patogene care pot beneficia de screening și intervenție precoce și de opțiuni terapeutice specifice.

Un alt punct esențial a fost reprezentat de optimizarea managementului tratamentului pacienților cu cancer de prostată în funcție de profilul genetic identificat. Unele dintre tipurile de variante genetice identificate în cadrul acestei teze de doctorat predispun în special la cancerul de prostată agresiv și conferă un prognostic mai rezervat în comparație cu prognosticul pacienților care nu poartă aceste mutații.

Aplicații clinice ale tratamentelor țintite molecular, au rezultate mult mai bune la aceste tipuri de pacienți deoarece permit stabilirea unor grupe de risc și astfel optimizează managementul terapeutic. Pe baza analizei genetice se pot

depista timpuriu pacienți cu risc crescut în vederea beneficierii de un tratament radical.

Definirea unui set de markeri ca o posibilă alternativă viitoare în depistarea și monitorizarea pacienților cu CaP, care să înlocuiască PSA, cu o mai bună sensibilitate și specificitate, dar costuri similare este de asemenea un deziderat al acestei lucrări. După cum demonstrează varietatea de studii care se concentrează pe diferite mutații genetice asociate cu CaP, acesta este un domeniu de interes în creștere rapidă.

Deși aspectele genetice ale CaP au fost anterior subestimate, acum avem dovezi ce susțin impactul identificării unui set de markeri genetici utili în evaluarea CaP în România. Acest lucru este, de asemenea, subliniat de recomandările actuale pentru testarea genetică în diverse ghiduri de specialitate.

Costurile asociate acestei patologii în prezent sunt ridicate deoarece multe cazuri se descoperă tardiv și astfel rezolvarea complicațiilor necesită timp, resurse materiale și umane importante. Depistarea precoce a Pca localizat cu ajutorul markerilor genetici, coroborând cu metodele actuale, va duce la optimizarea diagnosticului, a schemelor de tratament precum și la reducerea numărului de complicații, a costurilor și la diminuarea supratratamentului pentru acești pacienți.

În același timp, în urma acestui studiu am identificat un profil genetic ce poate fi aplicat atât în populațiile est europene cât și la nivel internațional, utilizabil în managementul optim al pacienților cu Pca.

Un alt beneficiu este reprezentat de capacitatea acestui test de a stabili un risc genetic detectabil timpuriu pentru rudele de gradul 1 al pacienților diagnosticați. Neoplasmul cu debut precoce este puternic asociat cu istoricul familial al bolii, sugerând importanța etiologiei genetice în cazul Pca cu debut precoce mai mult decât pentru boala cu debut tardiv.

Datorită caracterului non invaziv, specificității și sensibilității crescute demonstrate în cadrul acestui studiu consider oportună integrarea acestui test în practica curentă deoarece are la baza markeri genetici specifici populației românești studiată.

6. Bibliografie

1. Iordache, Paul D et al. "Profile of common prostate cancer risk variants in an unscreened Romanian population." *Journal of cellular and molecular medicine* vol. 22,3 (2018): 1574-1582. doi:10.1111/jcmm.13433
2. Kamal, Baher A. "The value of screening tests for detection of prostate cancer in 1000 saudi men." *Journal of family & community medicine* vol. 11,3 (2004): 97-102
3. Thompson, Ian M, and Donna P Ankerst. "Prostate-specific antigen in the early detection of prostate cancer." *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* vol. 176,13 (2007): 1853-8. doi:10.1503/cmaj.060955
4. Auton A, Abecasis GR, Altshuler DM, et al A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015; 526: 68–74.
5. Howie BN, Donnelly P, Marchini J, et al A flexible and accurate genotype Imputation Method for the Next Generation of Genome-Wide Association Studies. Schork NJ, ed. *PLoS Genet*. 2009; 5: e1000529
6. Jinga, Viorel et al. "Replication study of 34 common SNPs associated with prostate cancer in the Romanian population." *Journal of cellular and molecular medicine* vol. 20,4 (2016): 594-600. doi:10.1111/jcmm.12729
7. Hoogland, A Marije et al. "Prognostic histopathological and molecular markers on prostate cancer needle-biopsies: a review." *BioMed research international* vol. 2014 (2014): 341324. doi:10.1155/2014/341324
8. Iordache, Paul D et al. "Identification of Lynch syndrome risk variants in the Romanian population." *Journal of cellular and molecular medicine* vol. 22,12 (2018): 6068-6076. doi:10.1111/jcmm.13881
9. Huang, Jie et al. "1000 Genomes-based imputation identifies novel and refined associations for the Wellcome Trust Case Control Consortium phase 1 Data." *European journal of human genetics : EJHG* vol. 20,7 (2012): 801-5. doi:10.1038/ejhg.2012.3

10. Beyter, Doruk et al. "Long-read sequencing of 3,622 Icelanders provides insight into the role of structural variants in human diseases and other traits." *Nature genetics* vol. 53,6 (2021): 779-786. doi:10.1038/s41588-021-00865-4
11. Bruinsma, Fiona J et al. "The utility of DNA extracted from saliva for genome-wide molecular research platforms." *BMC research notes* vol. 11,1 8. 8 Jan. 2018, doi:10.1186/s13104-017-3110-y
12. Howie, Bryan N et al. "A flexible and accurate genotype imputation method for the next generation of genome-wide association studies." *PLoS genetics* vol. 5,6 (2009): e1000529. doi:10.1371/journal.pgen.1000529
13. Alexander, David H et al. "Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals." *Genome research* vol. 19,9 (2009): 1655-64. doi:10.1101/gr.094052.109
14. Marchini, Jonathan, and Bryan Howie. "Genotype imputation for genome-wide association studies." *Nature reviews. Genetics* vol. 11,7 (2010): 499-511. doi:10.1038/nrg2796
15. Welter, Danielle et al. "The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations." *Nucleic acids research* vol. 42,Database issue (2014): D1001-6. doi:10.1093/nar/gkt1229
16. Pei, Yu-Fang et al. "Analyses and comparison of imputation-based association methods." *PloS one* vol. 5,5 e10827. 26 May. 2010, doi:10.1371/journal.pone.0010827
17. Benafif, Sarah et al. "A Review of Prostate Cancer Genome-Wide Association Studies (GWAS)." *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* vol. 27,8 (2018): 845-857. doi:10.1158/1055-9965.EPI-16-1046
18. Lange, Ethan M et al. "Early onset prostate cancer has a significant genetic component." *The Prostate* vol. 72,2 (2012): 147-56. doi:10.1002/pros.21414
19. Schumacher, Fredrick R et al. "Association analyses of more than 140,000 men identify 63 new prostate cancer susceptibility loci." *Nature genetics* vol. 50,7 (2018): 928-936. doi:10.1038/s41588-018-0142-8
20. Katsanis, Sara Huston, and Nicholas Katsanis. "Molecular genetic testing and the future of clinical genomics." *Nature reviews. Genetics* vol. 14,6 (2013): 415-26. doi:10.1038/nrg3493

21. Witte, John S. "Genome-wide association studies and beyond." *Annual review of public health* vol. 31 (2010): 9-20 4 p following 20. doi:10.1146/annurev.publhealth.012809.103723
22. Mardis, Elaine R, and Richard K Wilson. "Cancer genome sequencing: a review." *Human molecular genetics* vol. 18,R2 (2009): R163-8. doi:10.1093/hmg/ddp396
23. Griewank, Klaus G et al. "TERT promoter mutation status as an independent prognostic factor in cutaneous melanoma." *Journal of the National Cancer Institute* vol. 106,9 dju246. 13 Sep. 2014, doi:10.1093/jnci/dju246
24. Dratwa, Marta et al. "TERT-Regulation and Roles in Cancer Formation." *Frontiers in immunology* vol. 11 589929. 19 Nov. 2020, doi:10.3389/fimmu.2020.589929
25. Feinberg, Evan H, and Craig P Hunter. "Transport of dsRNA into cells by the transmembrane protein SID-1." *Science (New York, N.Y.)* vol. 301,5639 (2003): 1545-7. doi:10.1126/science.1087117
26. Kim, Daniel H et al. "Argonaute-1 directs siRNA-mediated transcriptional gene silencing in human cells." *Nature structural & molecular biology* vol. 13,9 (2006): 793-7. doi:10.1038/nsmb1142
27. Elhassan, Mohamed O et al. "Homo sapiens systemic RNA interference-defective-1 transmembrane family member 1 (SIDT1) protein mediates contact-dependent small RNA transfer and microRNA-21-driven chemoresistance." *The Journal of biological chemistry* vol. 287,8 (2012): 5267-77. doi:10.1074/jbc.M111.318865
28. Gabriely, Galina et al. "MicroRNA 21 promotes glioma invasion by targeting matrix metalloproteinase regulators." *Molecular and cellular biology* vol. 28,17 (2008): 5369-80. doi:10.1128/MCB.00479-08
29. Bautista-Sánchez, Diana et al. "The Promising Role of miR-21 as a Cancer Biomarker and Its Importance in RNA-Based Therapeutics." *Molecular therapy. Nucleic acids* vol. 20 (2020): 409-420. doi:10.1016/j.omtn.2020.03.003
30. Li, Tao et al. "miR-21 as an independent biochemical recurrence predictor and potential therapeutic target for prostate cancer." *The Journal of urology* vol. 187,4 (2012): 1466-72. doi:10.1016/j.juro.2011.11.082

31. Fan, Bo et al. "Expression of miR-451a in Prostate Cancer and Its Effect on Prognosis." *Iranian journal of public health* vol. 50,4 (2021): 772-779. doi:10.18502/ijph.v50i4.6002
32. Ibrahim, Noha H et al. "Diagnostic significance of miR-21, miR-141, miR-18a and miR-221 as novel biomarkers in prostate cancer among Egyptian patients." *Andrologia* vol. 51,10 (2019): e13384. doi:10.1111/and.13384
33. Hoogland, A Marije et al. "Gene-expression analysis of gleason grade 3 tumor glands embedded in low- and high-risk prostate cancer." *Oncotarget* vol. 7,25 (2016): 37846-37856. doi:10.18632/oncotarget.9344
34. Witte, John S. "Prostate cancer genomics: towards a new understanding." *Nature reviews. Genetics* vol. 10,2 (2009): 77-82. doi:10.1038/nrg2507
35. Bardhan, Abhishek et al. "PRNCR1: a long non-coding RNA with a pivotal oncogenic role in cancer." *Human genetics* vol. 141,1 (2022): 15-29. doi:10.1007/s00439-021-02396-8
36. Aird, John et al. "Carcinogenesis in prostate cancer: The role of long non-coding RNAs." *Non-coding RNA research* vol. 3,1 29-38. 1 Feb. 2018, doi:10.1016/j.ncrna.2018.01.001
37. Moore, Lisa D et al. "DNA methylation and its basic function." *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* vol. 38,1 (2013): 23-38. doi:10.1038/npp.2012.112
38. Laird, Alexander et al. "5-hydroxymethylcytosine profiling as an indicator of cellular state." *Epigenomics* vol. 5,6 (2013): 655-69. doi:10.2217/epi.13.69
39. Nickerson, M L et al. "TET2 binds the androgen receptor and loss is associated with prostate cancer." *Oncogene* vol. 36,15 (2017): 2172-2183. doi:10.1038/onc.2016.376
40. Takayama, Ken-ichi et al. "TET2 repression by androgen hormone regulates global hydroxymethylation status and prostate cancer progression." *Nature communications* vol. 6 8219. 25 Sep. 2015, doi:10.1038/ncomms9219

Lucrări publicate

1. G.Roșoga, R. Petca, D. Diaconescu, R. Dănău, S. Rașcu, C. Sima, C. Toma, V. Jinga. Impact of Body Mass Index on PSA values in a Population-Based Study. *Romanian Journal of Urology*, vol 17, pag 39-44, 2018.
2. G.Roșoga , D. Diaconescu, R. Dănău, S. Rașcu, C. Sima, C. Toma, P. Iordache, V. Jinga. Follow-Up GWAS study for Novel Variants Associated with Early-Onset Prostate Cancer in Romania. *Romanian journal of Urology*, vol 18, pag 34-40, 2019.