

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**



**TESTAREA MULTIGENICĂ LA PACIENȚII
CU TUMORI SOLIDE – UN PAS ÎNAINTE SPRE UN
TRATAMENT PERSONALIZAT**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducator de doctorat:
PROF. DR. NIȚPIR CORNELIA**

**Student-doctorand:
POPA ANA MARIA**

CUPRINS:

Introducere	1
I. PARTEA GENERALĂ.....	4
1. Genomica cancerului: de la cercetarea fundamentală la medicina personalizată..	4
1.1 Rolul mutațiilor în dezvoltarea cancerului. Mutațiile somatice și mutațiile germinale.....	4
1.2 Metode de identificare	5
1.3 Tipuri de mutații identificabile în urma secvențierii genomice	8
1.4 Terapiile agnostice	9
2. Mutații și terapia personalizată în tumorile solide	13
2.1 Generalități.....	13
2.2 Terapia personalizată și mutațiile identificabile în cancerele din sfera digestivă...	14
2.3 Terapia personalizată și mutațiile identificabile în cancerele bronho-pulmonare ..	20
2.4 Terapia personalizată și mutațiile identificabile în cancerele ginecologice.....	23
2.5 Mutațiile de rezistență.....	26
2.6 Mutațiile genetice implicate în tromboza asociată cancerelor solide.....	29
II. PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚII PERSONALE	30
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....	30
4. Metodologia generală a cercetării	31
4.1 Direcții de cercetare	31
4.2 Prelucrarea datelor și analiza statistică	31
4.3 Populația de studiu	32
5. Studiul I : Rolul profilării genetice prin secvențiere de nouă generație în cazul tumorilor solide avansate: Experiența unui singur centru din România.....	33
5.1 Introducere (Ipoteza de lucru și obiective)	33
5.2 Materiale și metode	36
5.3 Rezultate.....	39
5.4 Discuții	46
5.5 Concluzii	63

6. Studiul II: Impactul mutației BRCA asupra eficacității chimioterapiei neoadjuvante în cancerul ovarian avansat.....	65
6.1 Introducere (Ipoteza de lucru și obiective)	65
6.2 Materiale și metode	68
6.3 Rezultate.....	73
6.4 Discuții	82
6.5 Concluzii	93
 7. Studiul III: Rolul mutației KRAS în tromboza asociată cancerului colorectal	94
7.1 Introducere (Ipoteza de lucru și obiective)	94
7.2 Materiale și metode	99
7.3 Rezultate.....	102
7.4 Discuții	108
7.5 Concluzii	112
 8. Concluzii generale și contribuții personale.....	114
BIBLIOGRAFIE	121

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Teza de doctorat este structurată în două părți. Partea generală este alcătuită din două capitole, în care sunt prezentate date referitoare la mutațiile identificabile în tumorile solide maligne, la tehnicile de identificare, date legate de terapia țintită și date despre impactul mutațiilor în dezvoltarea trombozelor. Partea de contribuții personale include rezultatele celor trei studii efectuate pe parcursul cercetării doctorale.

Introducere

Cancerul în stadiul metastatic este incurabil și este o cauză principală de deces la nivel global, inclusiv în țările dezvoltate. Datele GLOBOCAN au estimat aproximativ 10 milioane de decese în 2022. Cancerul pulmonar a fost responsabil de 1/5 (20%) din totalul deceselor înregistrate, urmat de cancerul colorectal (9% din decese), cancerul mamar (7%) și cancerul gastric (7%) [1].

Tratamentele oncologice au suferit o evoluție considerabilă în ultimii ani datorită dezvoltării tehnicilor de secvențiere genomică. Acestea au pus baza terapiei personalizate și am asistat în ultimii ani la dezvoltarea marcată a terapiilor țintite bazate pe biomarkeri moleculari. Conceptul de a trata pe baza caracteristicilor moleculare și nu pe baza histopatologiei a început să se înrădăcineze. Suntem acum în poziția de a analiza și de a înțelege tumorile și de a le folosi caracteristicile moleculare pentru a dezvolta opțiuni noi de tratamente individualizate, care pot crește supraviețuirea și calitatea vieții pacienților.

Medicina de precizie a transformat deja managementul cancerului atât în bolile maligne comune, cât și cele rare, prin terapii specifice, și are rolul de a îmbunătăți răspunsul la tratament al pacienților [2]. Dacă în urmă cu 5 ani ESMO recomandă ca testarea multigenică prin NGS să fie efectuată în cazul a 5 tipuri de tumori solide, în ultimul an datele s-au actualizat și este de preferat ca aceste teste comprehensive să fie efectuate și în alte tumori solide unde pot fi identificate mai multe mutații ce pot fi țintite, însă și pentru cancerele unde tumora primară nu poate fi diagnosticată prin metode convenționale. De asemenea, în urma aprobărilor terapiilor agnostice majoritatea cancerelor pot fi testate pentru acele mutații mai puțin frecvente în cazul în care există terapiile disponibile [3].

Lucrarea de față își propune să verifice utilitatea și rolul pe care îl pot avea testele de secvențiere genomică în practica clinică a unui spital universitar din România pe un grup heterogen de tumori solide. Motivul alegerii acestei teme a venit o dată cu progresele în terapia de precizie și din faptul că în anul 2019 (anul începerii acestei cercetări) în România nu erau rambursate paneluri largi de testări multigenice și experiența cu secvențierea de nouă generație nu era atât de vastă, iar implicațiile clinice nu erau la fel de cunoscute ca în ziua de astăzi. De asemenea, teza își propune să identifice dacă anumite mutații pot genera efecte secundare sau dacă pot modifica managementul multimodal al anumitor cancere, lucruri care pot impacta supraviețuirea. Astfel, au fost derulate 3 studii clinice.

I.PARTEA GENERALĂ

Capitolul 1. Genomica cancerului: de la cercetarea fundamentală la medicina personalizată

Modificările apar în structura ADN-ului celulelor ca urmare a expunerii la o varietate de factori din mediul înconjurător, cum ar fi radiațiile ultraviolete, fumatul sau substanțele chimice. De asemenea, pot să apară modificări pe fond genetic, din cauza unor erori în replicarea și repararea ADN-ului celular. Mutațiile somatice care apar se pot acumula în timp, și pot duce, într-un final la declanșarea carcinogenezei. Modificările variază în funcție de tipul lor de la schimbări minore precum o singură bază de ADN până la modificări genetice complexe, ce poate să afecteze o serie de gene. În cancere, de cele mai multe ori, sunt identificate mutații de tip somatic. Doar un procent mic din cancere sunt influențate de schimbările genetice ce apar în celule germinale - mutațiile moștenite cunoscute sub numele de mutații germinale [3].

După investigarea întregului genom al celulelor maligne s-a observat că majoritatea tumorile acumulează, pe durata evoluției lor, o multitudine de mutații somatice, și unele dintre ele pot fi implicate în mod direct în carcinogeneză. Acest lucru a dus la dezvoltarea unor baze de date cu scopul de a analiza genele care pot influența evoluția tumorală. Modificările genetice care au o influență în acest proces se numesc mutații „driver”, iar cele care nu se asociază cu cancerul se numesc mutații „pasagere” [4]. O multitudine de studii desfășurate în ultima perioadă au identificat un număr substanțial de gene implicate în evoluția cancerelor și în același timp, s-au descoperit, mutații care nu au un rol clar în dezvoltarea acestuia. Acestea din urmă se numesc variante cu semnificație necunoscută.

Trebuie să ținem cont și de heterogenitatea mutațională între diferitele tipuri de țesuturi. Spre exemplu, în țesutul recoltat de la nivelul metastazelor putem detecta anumite alterări care pot să nu fie prezente în tumora primară, și vice-versa, sau în cazul tumorilor sincrone primare profilul mutațional al fiecăreia poate să fie diferit. Trebuie, deci, să se țină cont de originea țesutului când se evaluează rolul mutațiilor asupra procesului de dezvoltare a cancerului [4].

Se observă o legătură din ce în ce mai strânsă între cercetare și practica clinică în ultimii ani, în special după progresele care s-au efectuat din punct de vedere molecular. A fost nevoie de crearea unor baze de date internaționale, publice, precum “The International Cancer Genome Consortium” (ICGC) sau “The Cancer Genome Atlas” (TCGA) și de crearea unor teste accesibile pentru analiza genomului. Aceste baze de date sprijină dezvoltarea țințelor terapeutice și identificarea biomarkerilor utili în practica medicală clinică [5].

Capitolul 2. Terapia personalizată în tumorile solide

Încă de la sfârșitul anilor 90, terapia moleculară targetată, fie că vorbim despre agenți moleculari de dimensiuni mici, fie de anticorpi monoclonali ce se comporta ca și inhibitori ai transducției semnalului, reprezintă baza medicinei de precizie în terapia cancerului. Aceasta a atras atenția prin oferirea speranței că în viitor vă reuși să înlocuiască chimioterapia sistemică. Cu un profil de toxicitate diferit, dar în general cu mai puține efecte adverse, terapia targetată moleculară este folosită adesea în liniile de tratament a diferitelor tipuri de patologii oncologice, îmbunătățind semnificativ supraviețuirea și calitatea vieții. Totuși, un mare dezavantaj îl reprezintă rezistența la tratament, dar cu toate acestea, se dezvoltă din ce în ce mai multe strategii pentru combaterea rezistenței la tratament. Testarea genetică și înrolarea în trialuri clinice a pacienților poate ajuta la identificarea mecanismelor și mutațiilor de rezistență, dar și la descoperirea unor noi ținte terapeutice și mai departe, la descoperirea de noi tratamente. NGS face posibilă secvențierea întregului genom [6,7].

De asemenea, mutațiile identificabile în tumorile solide nu influențează doar proliferarea celulară și mecanismele moleculare în dezvoltarea cancerului, ci și profilul trombotic al pacientului oncologic. Este important să le identificăm nu doar pentru conduita terapeutică, ci și pentru a stabili riscul trombotic și eventualele intervenții profilactice personalizate.

II. PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitolul 3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale

În era tratamentului personalizat, testările multigenice sunt din ce în ce mai des folosite pentru a identifica ținte terapeutice în cazul pacienților oncologici. Aceasta teza de doctorat își propune să verifice eficacitatea efectuării acestor testări și rolul pe care îl pot avea în managementul terapeutic al cancerelor solide. De asemenea, își propune să identifice dacă anumite mutații pot genera efecte secundare care pot impacta supraviețuirea. Pentru a verifica aceste lucruri, au fost derulate 3 studii clinice.

Capitolul 4. Metodologia generală a cercetării

4.1 Direcții de cercetare:

Pentru a arăta modalități de personalizare a managementului oncologic bazat pe testările multigenice, prezenta lucrare de doctorat a urmărit trei direcții de cercetare. Prima direcție s-a concentrat pe efectuarea și analiza rezultatelor testărilor multigenice prin tehnica de secvențiere de ultimă generație în cazul pacienților cu cancer solid în stadiul metastatic care au progresat pe una sau mai multe linii de tratament, tratați în cadrul secției de Oncologie a Spitalului Universitar de Urgență “Elias”. Acest lucru a permis identificarea unor ținte terapeutice noi și posibilitatea înrolării în trialuri clinice a pacienților sau a schimbării managementului terapeutic în cazurile în care acesta era posibil. De asemenea s-a analizat impactul pe supraviețuire la pacienții la care decizia terapeutică a fost ghidată de rezultatul testării. A doua direcție de cercetare dorește să verifice dacă prezența mutației BRCA la paciențele cu tumori ovariene influențează alegerea strategiei inițiale terapeutice la paciențele cu boală avansată și care este rolul acesteia în cazul citoreducției de interval spre deosebire de citoreducția primară. Iar a treia direcție de cercetare se axează pe inter-relația dintre statusul mutației KRAS și posibilitatea de apariție a unor evenimente adverse precum tromboza, la pacienții cu cancer colorectal.

4.2 Prelucrarea datelor și analiza statistică:

Datele din cele trei studii au fost colectate din foile de observație ale pacienților, din sistemul informatic al Spitalului Universitar de Urgență “Elias”, din istoricele pacienților din biletele de externare, și din rapoartele testărilor genetice utilizate. Baza de date s-a prelucrat folosind Microsoft Office Excel 2013 și Microsoft Office Word 2013 iar pentru analiza statistică s-a folosit programul SPSS Statistics V.26 (IBM Corp., Armonk, NY). Supraviețuirea generală și PFS-ul au fost analizate prin metoda Kaplan-Meier, progresia imagistică a bolii fiind

evaluată pe baza criteriilor RECIST 1.1. Pentru celelalte studii s-au folosit de asemenea testul t al lui Student, testul chi-pătrat și modelele de regresie Cox uni sau multivariată. Pragul de semnificație statistică a fost constatat la un $p < 0.05$.

Capitolul 5. Studiul I : Rolul profilării genetice prin secvențiere de nouă generație în cazul tumorilor solide avansate: Experiența unui singur centru din România

5.1 Introducere (Ipoteza de lucru și obiective): Testările genetice au un rol important în diagnosticul și alegerea tratamentului pacienților oncologici, însă detaliile specifice privind rolul lor exact și momentul optim de efectuare sunt încă în curs de clarificare.

Obiective: Să identifice practicalitatea testărilor genetice în cazul pacienților diagnosticați cu tumori solide neoplazice în stadiul avansat sau metastatic; Să determine momentul optim în care trebuie efectuate testările genetice astfel încât beneficiul să fie maxim; Să analizeze datele colectate dintr-un singur centru din București în comparație cu datele din literatura de specialitate [8].

5.2 Materiale și metode

Am realizat un studiu prospectiv, monocentric, care a inclus pacienți tratați în cadrul clinicii de Oncologie a Spitalului Universitar de Urgență Elias în perioada 2019-2023. Criteriile de includere au constat în: vârsta peste 18 ani; pacienți cu diagnostic de cancer cu tumori solide; boala neoplazică în stadiu metastatic sau local avansat; progresie după una sau mai multe linii de tratament; biopsie recentă (mai puțin de 6 luni) dintr-o leziune în progresie; status de performanță ECOG 0-2.

Testarea genetică s-a efectuat pe probe de țesut tumoral sau din sânge. Analiza genetică s-a efectuat prin panelul FoundationOne CDx. Pentru testarea din țesut s-a folosit testul Foundation One CDx. Testele au fost obținute gratuit printr-un grant primit de la firma ROCHE. Pentru testarea lichidă fost utilizat testul FoundationOne Liquid CDx.

5.3, 5.4 Rezultate și discuții

Între 2019 și 2023 au fost efectuate 75 de teste FoundationOne pe 66 de pacienți. Rata de success a testelor a fost de 80% (60 testări). Eșecul a fost cel mai frecvent cauzat de două motive principale: cantitatea de ADN din probă nu a fost suficientă, sau proba prelevată nu a avut cantitate suficientă de țesut tumoral. Procentul de teste nereușite se aseamănă cu cel din alte studii care au arătat o rată de eșec în jur de aproximativ 20% [9].

În urma testărilor, am identificat 254 alterări genetice, dintre care 173 (68%) au fost clasificate că fiind patogene sau cel mai probabil patogene. Dintre acestea, 81 au fost alterări cu semnificație necunoscută la data efectuării testării, și 68 (26.7%) au fost identificate că având potențial targetabil fie printr-un agent aprobat sau printr-un agent în curs de evaluare în trialuri clinice de faza II sau III. Numărul alterărilor care au corespuns cu tipul cancerului pentru care exista opțiuni terapeutice valabile au fost de 23 (9%), excluzând rezultatele pentru TMB, MSI sau PD-L1.

Din cei 66 de pacienți testați, 55 (83%) au avut cel puțin o alterare genetică, iar ceilalți 11 pacienți fie au avut teste nereușite, fie doi dintre ei nu au avut nici o alterare genetică identificată. Cea mai frecventă alterare genetică a fost identificată la nivelul genei TP53 (53% dintre testele reușite, urmată de mutațiile KRAS (25% dintre testele reușite) și BRCA1/2 (20%).

Din toți cei nouă pacienți care au prezentat un scor TMB înalt, doar șapte au primit tratament cu inhibitori de checkpoint imun, deoarece unul dintre pacienți a decedat la scurt timp după rezultatul testului, iar unul a primit tratament cu terapie țintită conform deciziei echipei multidisciplinare care s-a bazat pe rezultatul testării NGS. Într-adevăr, datele din studiile retrospective sugerează că tumorile maligne cu un TMB ridicat au o probabilitate mai mare de a răspunde la inhibitori ai checkpoint-urilor immune (ICI) [10].

La 37 de pacienți au fost găsite cel puțin o alterare genetică acționabilă, însă 18 dintre aceștia nu au primit tratament conform rezultatelor. Din restul pacienților la care s-a identificat cel puțin o mutație cu potențial de tratament, 10 (15%) au primit tratament țintit, 5 (8%) au primit tratament cu inhibitori de checkpoint imun și 4 (6%) au fost înrolați în studii clinice. Procentul de 15% din pacienți care au primit terapie țintită, este în concordanță cu alte date din literatură [11,12]. Pacienții care au beneficiat de tratament cu imunoterapie este puțin mai scăzut decât datele prezentate în alte studii asemănătoare unde aproximativ 20% din pacienții care au fost testați au beneficiat de tratament cu inhibitori de checkpoint imun [8,11,13,14]. Au fost doar 4 pacienți care au fost incluși într-un studiu clinic pe baza rezultatelor testărilor moleculare. Acest număr redus este cel mai probabil datorat lipsei de studii clinice în țările din estul Europei și a posibilităților limitate de a înrola pacienții în studii clinice în străinătate, din cauza unor motive personale sau financiare.

În studiul nostru, legat de cei 18 din 37 de pacienți la care a fost identificată cel puțin o mutație targetabilă dar care nu au primit tratament în concordanță, am analizat motivele și am comparat cu datele din literatură. Principalele motive au fost: deterioarea stării clinice care nu a permis administrarea tratamentului oncologic; decesul pacientului la scurt timp de la validarea

testării; imposibilitatea de înrolare în studiile clinic existente din diverse motive de ordin logistic, financiar, sau neîndeplinirea tuturor criteriilor de includere; boală stabilă sub tratamentul inițial pe care pacientul îl urma la momentul testării, neimpunând la acel moment schimbarea liniei terapeutice.

Pentru 21 (32%) dintre pacienții incluși în studiu, testarea de tip NGS a avut un rol important. Aceasta a influențat deciziile luate ulterior de echipa multidisciplinară. Această influență a fost evidentă în două moduri principale: ajustarea tratamentului pentru a ținti mutațiile acționabile identificate prin această metodă și identificarea unor mutații rezistente dobândite. Acest lucru a permis personalizarea strategiilor terapeutice, asigurând că terapia era mai bine adaptată caracteristicilor genetice specifice tumorii fiecărui pacient.

Media PFS pentru pacienții care au beneficiat de terapie țintită adaptată a fost de 10,1 luni (cu un interval de încredere de 95% între 6 și 13 luni) [8], ușor mai scăzută în comparație cu alte studii similare, în care media PFS pentru pacienții care au primit tratament ghidat de rezultatele testelor genomice a fost de aproximativ 12 luni [15,16]. Diferența observată poate fi explicată din cauza variabilității caracteristicilor pacienților sau strategiilor de tratament utilizate între diferite studii.

5.5 Concluzii

Studiul evidențiază provocările integrării medicinei personalizate în oncologie și importanța adaptării protocoalelor și a echipelor multidisciplinare. Testarea genetică permite o selecție precisă a pacienților eligibili pentru terapii țintite. Rezultatele studiului arată ca aceasta este utilă și în linii subsecvente de tratament, crescând supraviețuirea și calitatea vieții pacienților, însă, este recomandat ca această testare să fie efectuată cât mai devreme în evoluția bolii.

Capitolul 6. Studiul II: Impactul mutației BRCA asupra eficacității chimioterapiei neoadjuvante în cancerul ovarian avansat

6.1 Introducere (Ipoteza de lucru și obiective): Pacienții cu mutație BRCA au o supraviețuire mai bună dacă sunt supuși întâi chimioterapiei neoadjuvante și apoi intervenției de citoreducție.

Obiective specifice: Prezentul studiu își propune să verifice dacă prezența unei mutații patogene în genele BRCA 1 sau 2 impactează eficiența chimioterapiei neoadjuvante [17].

6.2 Materiale și metode:

Lucrarea de față este un studiu retrospectiv, observațional, care a inclus pacienți diagnosticați, tratați și urmăriți în cadrul secției de Oncologie Medicală a Spitalului Universitar de Urgență “Elias” din București, pe o perioadă de zece ani, între ianuarie 2014 și martie 2024. Studiul s-a axat asupra pacientelor diagnosticate cu cancer ovarian în stadii avansate de boală (stadiile III-IV). Pacientele din studiu au fost diagnosticate din punct de vedere histopatologic cu carcinom seros ovarian și au urmat una din cele două opțiuni terapeutice utilizate pentru managementul cancerului ovarian local avansat: chimioterapie neoadjuvantă, urmată de citoreducție de interval sau citoreducție primară, urmată de chimioterapie adjuvantă pe bază de săruri de platină și taxani.

6.3 Rezultate

Un total de 79 paciente au fost incluse în această analiză. Pentru a înțelege mai bine impactul mutațiilor BRCA, s-au făcut comparații între grupul BRCAmut și grupul BRCAwt.

Când vine vorba despre intervenția chirurgicală, s-au observat diferențe clare între cele două grupuri. Mai multe paciente din grupul BRCAmut (60%, n=15) au putut fi supuse unei citoreducții primare, fără a fi nevoie de chimioterapie neoadjuvantă. În schimb, în celălalt grup fără mutații, procentul a fost mai mic, 48.7% (n=19) dintre paciente au fost operate per primam. Pentru restul pacientelor a fost nevoie de chimioterapie preoperatorie, urmată de citoreducția de interval: 51.3% (n=20) pentru BRCAwt și 40% (n=10) pentru BRCAmut. Atunci când intervenția chirurgicală nu a fost posibilă, pacientele au urmat tratament neoadjuvant. În ambele grupuri, majoritatea au primit 3 cicluri de chimioterapie preoperatorie (70% dintre pacientele BRCAmut (n=7) și 55% dintre cele BRCAwt (n=11)). Totuși, o diferență a fost că mai multe paciente BRCAwt au necesitat mai multe cicluri de tratament (6 cicluri).

Când s-au analizat supraviețuirea globală (OS) și PFS-ul, pacientele care au fost supuse unei citoreducții primare (PDS) au avut un prognostic mai bun decât cele care au fost tratate inițial cu chimioterapie neoadjuvantă urmat de citoreducție de interval (IDS), însă diferențele nu au fost semnificative statistic.

OS-ul pacientelor cu mutații în genele BRCA care au fost supuse citoreducției de interval (IDS), a fost mai mare decât cele care au fost operate per primam (PDS). Mai exact, pacientele care au suferit o citoreducție primară au avut o supraviețuire mediană de 50 luni (interval de încredere 95% 37.4-62.59 luni), în timp ce cele care au fost tratate prin IDS au trăit, în medie, 71 luni (interval de încredere 95% 54.97-87.02 luni). Diferența dintre cele două grupuri a fost statistic semnificativă, având o valoare $p=0.043$.

În schimb, la paciențele fără mutații BRCA, rezultatele au fost diferite. Supraviețuirea mediană din grupul PDS a fost de 48 luni (interval de încredere 95%; 44.92-51.07 luni), în timp ce supraviețuirea din grupul IDS a fost mai mică, de 38 luni (interval de încredere 95% 22.54-53.45 luni). Și în acest caz, diferența a fost semnificativă din punct de vedere statistic ($p=0.03$).

Analizând curbele Kaplan-Meier pentru supraviețuirea fără progresie (PFS) a bolii la paciențele cu și fără mutații în genele BRCA 1 sau 2, în funcție de managementul terapeutic abordat (PDS sau IDS), s-a observat că diferențele nu au fost semnificative statistic.

Analiza multivariată pentru identificarea factorilor ce pot influența riscul de deces și de progresie a bolii a arătat că grupul paciențelor fără mutații BRCA a avut un risc de deces de 3.4 ori mai mare față de grupul BRCAmut ($HR = 3,482$, interval de încredere 95%: 1.982-6.520, $p < 0.001$). De asemenea, și timpul până la progresia bolii oncologice a fost mai scurt ($HR=2.993$, $p < 0.001$).

Nu s-au observat diferențe semnificative statistic în ceea ce privește OS sau PFS în funcție de statusul de performanță ECOG, stadializarea bolii (stadiul III vs IV), valoarea markerului CA 125, în funcție de vârstă (>65 ani sau <65 ani) sau în funcție de numărul de cicluri de chimioterapie efectuate în neoadjuvanță (3 vs 6 cicluri).

Ceea ce a avut un impact destul de mare asupra supraviețuirii a fost gradul de rezecție. Grupul de paciențe care a avut rezecție completă (R0) a avut un risc de deces de 2.3 ori mai mic decât grupul care a avut boală reziduală în urma intervenției chirurgicale (R1), ($HR=2.332$, interval de încredere 95%:1.897-2.882, $p < 0.001$). De asemenea, grupul R1 a avut o probabilitate mai mare de progresie a bolii oncologice, $HR=1.684$, interval de încredere 95%:1.415-2.045, $p=0.004$.

Am vrut să vedem dacă exista vreo diferență în OS sau PFS între tipurile de management abordat (IDS vs PDS). S-a efectuat analiza de regresie Cox și s-a observat că nu există diferențe semnificative între cele două. Ambele variante de abordare chirurgicală pot fi opțiuni terapeutice bune, atâta timp cât se ține cont de particularitățile fiecărui pacient în parte [17].

6.5 Concluzii:

Aceste date relevă importanța statusului mutațional BRCA în ceea ce privește managementul terapeutic al cancerului ovarian. Rezultatele studiului de față arată că supraviețuirea paciențelor cu mutații în genele BRCA a fost comparativ mai mare în grupul care a primit chimioterapie neoadjuvantă urmată de intervenția chirurgicală de citoreducție decât în cazul paciențelor care au fost operate per primam, deși în ceea ce privește timpul până la

progresia bolii nu s-au înregistrat diferențe semnificative între cele două strategii terapeutice. Pe de altă parte, pacientele BRCAwt au avut o supraviețuire mai bună în grupul în care s-a practicat citoreducție primară urmată de chimioterapie. De menționat că adiția numărului de cicluri de chimioterapie neoadjuvantă peste 3 nu aduce niciun beneficiu pe supraviețuire sau asupra rezecabilității. Bineînțeles, criteriile de selecție pentru una dintre strategiile terapeutice descrise nu ar trebui să se bazeze doar pe statusul mutației BRCA. Este important să se țină cont nu numai de caracteristicile moleculare sau genomice ale tumorii, ci și de caracteristicile clinice, biologice, de accesibilitatea la tratament (aprobări și indicații în România), de preferințele pacienților și de calitatea vieții. Trebuie să se stabilească un algoritm bine pus la punct pentru fiecare pacient atunci când se decide strategia terapeutică. Aceste lucruri necesită cercetări suplimentare, în special în relație cu profilul genomic al fiecărui pacient în parte.

Capitolul 7. Studiul III: Rolul mutației KRAS în tromboza asociată cancerului colorectal

7.1 Introducere (Ipoteza de lucru și obiective): Mutația KRAS, prin anumite mecanisme fiziopatologice ar putea să crească riscul dezvoltării trombozelor în rândul pacienților cu cancer colorectal.

Obiective specifice: Prezentul studiu își propune să verifice dacă există vreo legătură între statusul mutației KRAS și apariția evenimentelor tromboembolice, ținând cont și de alte variabile și dacă apariția trombozelor impactează supraviețuirea [18].

7.2 Materiale și metode:

Lucrarea de față este un studiu retrospectiv care a inclus pacienți care au fost tratați și urmăriti în cadrul secției de Oncologie Medicală a Spitalului Universitar de Urgență “Elias” din București, pe o perioadă de zece ani, între ianuarie 2012 și octombrie 2022. Studiul a selectat pacienții diagnosticați cu cancer colorectal confirmat histopatologic și care aveau testarea KRAS efectuată. Majoritatea datelor au fost preluate din foile de observație ale pacienților și din sistemul informatic al spitalului InfoWorld.

Pentru pacienții în stadiile II și III inițial s-a practicat intervenția chirurgicală, urmat de, dacă aveau indicație conform ghidurilor, de chimioterapie în adjuvantă sau de urmărire oncologică. Pentru pacienții metastatici, s-a inițiat chimioterapie combinată pe bază de fluoropirimidine la care s-a adăugat în funcție de localizarea tumorii (colon stâng sau drept) și în funcție de statusul mutației RAS un tratament țintit, fie bevacizumab, fie cetuximab sau panitumumab pentru cei care nu prezentau mutație în gena respectivă.

7.3 Rezultate:

Dintre cei 130 pacienți incluși, 45 (34%) au dezvoltat o formă de tromboză venoasă, dintre care trombozele venoase periferice profunde au fost majoritare. 27 dintre pacienții cărora le-au fost administrați agenți anti-VEGF prezentau mutații activatoare KRAS, restul de 5 pacienți fiind clasificați fără mutații KRAS, din totalul de 32 (24%) care au primit acest tip de tratament.

Media de supraviețuire generală a fost de 55 luni ($DS \pm 7.66$, 95% interval încredere 39.9-70.0) pentru pacienții care au dezvoltat tromboze venoase. Pentru cei fără tromboze, media a fost de 68 luni ($DS \pm 14.1$, 95% interval încredere 40.33-95.66).

Rata de supraviețuire la 12-14 luni între grupurile care au dezvoltat tromboză și cele fără tromboză nu a fost semnificativ diferită. Însă se observă că diferența în supraviețuire crește între cele două grupuri în timp. Așadar, rata de supraviețuire la 24 luni în grupul cu tromboze este de 78% față de 90% în grupul fără tromboze. La 3 ani, OS-ul este de 65%, respectiv 82%. Cu trecerea timpului, supraviețuirea pacienților care au dezvoltat tromboze s-a menținut inferioară celei determinate în rândul pacienților fără tromboze.

Efectuarea unei regresii univariate Cox a arătat că mutația KRAS nu a reprezentat un risc major pentru supraviețuirea generală ($HR = 1.72$, $p = 0.23$). Ceea ce s-a observat în urma analizei univariate a fost că vârsta peste 65 ani, statusul de performanță precară (scor ECOG mai mare de 2), stadiul metastatic și un scor Khorana mai mare sau egal decât 2 pot impacta supraviețuirea. Totuși, evaluând datele în urma analizei de regresie multivariată Cox, observăm o influență semnificativă asupra supraviețuirii generale de către scorul de performanță ECOG cu un $HR = 1.32$ și $p = 0.01$, vârstă ($HR = 1.38$, $p = 0.05$) și scorul Khorana ($HR = 3.13$, $p = 0.02$).

Prezența mutațiilor KRAS a determinat o scădere semnificativă a valorii mediane a timpului până la dezvoltarea trombozelor venoase, de la 48,2 luni ($DS \pm 17.03$, 95% interval încredere 14.60- 81.39) pentru întregul grup la 12 luni ($DS \pm 3.51$, 95% interval încredere 5.11- 18.88) pentru cohorta care prezenta mutații KRAS. Pentru cei fără mutații, media nu a fost atinsă la finalul acestui studiu.

Ca urmare a unei analize de regresie univariate pentru identificarea corelației între mutația KRAS și riscul crescut de tromboză, raportul de șanse (OR) a fost de 2,75 (95% interval încredere: 1.55 – 4.90, $p = 0.001$) pentru dezvoltarea de tromboze în general. Pentru tromboza venoasă profundă și tromboembolismul pulmonar s-a determinat un raport de șanse de 3,12 (95% interval încredere: 2.53 – 5.03, $p = 0.002$), respectiv 1,75 (95% interval încredere: 1.23 – 3.75, cu un $p = 0.045$).

În urma unei analize de regresie logistică, se observă o relevanță statistică semnificativă între statusul mutației KRAS și incidența trombozei venoase profunde sau a tromboembolismului pulmonar, chiar și după ajustarea pentru scorul Khorana, administrării de anticorp monoclonal anti VEGF și stadiului clinic. Șansa de a dezvolta tromboză venoasă profundă este de 3 ori mai mare pentru pacienții care prezintă mutație KRAS decât cei fără mutație. Șansa pentru a dezvolta tromboembolism pulmonar este mai mică decât cea pentru dezvoltarea TVP, însă este mai mare pentru pacienții cu mutație, de aproximativ 1.6-1.8 ori, cu p semnificativ statistic.

S-a efectuat de asemenea o analiză pentru a identifica probabilitatea de dezvoltare a trombozelor în timp, în raport cu prezența sau absența mutațiilor KRAS. Se observă că la 6 luni probabilitatea de dezvoltare a trombozelor pentru pacienții KRASmut a fost de 8%, în schimb pentru cei KRAS wild type a fost mai mică, de 7%. La 24 luni, în primul grup a fost aproape 66%, respectiv 22% .

În ceea ce privește factorii de risc bine cunoscuți pentru dezvoltarea trombozelor, s-a efectuat o analiză de regresie multivariată Cox care nu a sugerat nicio asocieră între tratamentul cu bevacizumab sau stadializarea bolii oncologice și ETV. Însă, statusul de performanță ECOG mai mare sau egal că 2, sexul masculin, scorul Khorana peste 2 și mutația KRAS au fost strâns legate de dezvoltarea trombozelor, cu $p < 0.05$ [18].

7.5 Concluzii:

Rezultatele studiului de față arată că mutația KRAS în rândul pacienților cu cancer colorectal este un factor independent pentru apariția ETV. Deși există păreri contradictorii legate de această asocieră, trebuie avuți în vedere și alți factori precum cei ce țin de micromediul tumoral, factori clinici sau biologici, care pot contribui la procesul de coagulare. Legătura dintre mutațiile genetice din tumorile solide și formarea trombozelor subliniază necesitatea unor strategii personalizate pentru profilaxia trombozelor.

8. Concluzii generale și contribuții personale

Primul studiu a dorit să evidențieze rolul pe care îl poate avea testarea NGS pentru pacienții diagnosticați cu tumori solide metastatice, după ce au progresat pe una sau mai multe linii de tratament oncologic standard și pentru care opțiunile terapeutice în linii subsecvente erau limitate. Am identificat în urma testărilor NGS, excluzând testările nereușite, că 96.5% din pacienți aveau cel puțin o alterare genetică și 56% aveau o mutație patogenă ce putea fi țintită fie folosind un agent terapeutic aprobat, fie folosind un agent în curs de evaluare în trialuri

clinice de fază 2 sau 3. Un număr destul de mare, având în vedere că populația inclusă în studiu nu dispunea sau dispunea de opțiuni terapeutice subsecvente limitate, conform ghidurilor naționale. De asemenea, este bine știut că răspunsul la tratament în linii ulterioare este foarte mic, iar avantajul terapiei țintite în aceste situații este semnificativ, având rate de răspuns la tratament mai bune decât chimioterapia. În lotul de studiu, pentru o treime dintre ei schimbarea tratamentului oncologic a fost influențată de rezultatele testărilor multigenice. Media PFS-ului acestor pacienți a fost de 10.1 luni, o valoare încurajatoare având în vedere caracteristicile lotului. Primul avantaj al acestui studiu a fost că testarea NGS a avut o valoare considerabilă la pacienții metastatici cu boală în progresie după mai multe linii de tratament, în ghidarea și personalizarea terapiei oncologice, contribuind semnificativ la îmbunătățirea supraviețuirii și calității vieții acestora.

Pentru aproape o treime dintre pacienții lotului, nu a fost posibilă administrarea unui tratament personalizat din mai multe considerente: deteriorarea stării clinico-biologice care nu a permis administrarea tratamentului, decesul pacientului, imposibilitatea de înrolare în trialuri clinice din motive logistice, financiare sau neîndeplinirea tuturor criteriilor de includere, lipsa desfășurării trialurilor clinice respective în România, nerambursării medicamentelor în România pentru localizarea respectivă.

Un al doilea avantaj al acestui studiu a fost că a subliniat importanța efectuării testărilor multigenice cât mai devreme în boala avansată, pentru a aloca timp în găsirea celor mai bune opțiuni terapeutice pentru linii subsecvente.

Un alt factor important evidențiat în acest studiu a fost rata de eșec de 20% a testărilor. Aceasta s-a întâmplat din cauza cantității neadecvate de ADN tumoral din proba trimisă, tehnicii de fixare neadecvate și din cauza materialului insuficient. Acest lucru duce la necesitatea unei colaborări inter-disciplinare mai bune între clinicieni în ceea ce privește probele recoltate pentru NGS, tehnicile de biopsiere și fixare.

Din toate informațiile obținute din această analiză, medicina personalizată este promițătoare în practica oncologiei medicale, dar încă necesită îmbunătățiri. Este evident că există un beneficiu pentru un anumit grup de pacienți și este crucial să se ajungă la un algoritm de selectare a acestora mai bun. Testarea trebuie efectuată cât mai devreme în parcursul terapeutic, ideal în momentul diagnosticului bolii avansate. Pe lângă acestea, pacienții trebuie să beneficieze de un acces rapid la trialuri clinice bazate pe rezultatele obținute. Acest lucru trebuie îmbunătățit în special în țările în curs de dezvoltare, unde acest acces este adeseori limitat din cauza costurilor sau a lipsei infrastructurii necesare pentru implementarea lor.

Al doilea studiu a demonstrat că mutația BRCA are un impact asupra supraviețuirii în funcție de managementul terapeutic și chirurgical folosit în rândul pacienților cu cancer ovarian stadiile III/IV. OS-ul celor cu mutație BRCA care au primit chimioterapie neoadjuvantă urmat de IDS a fost cu 21 luni mai mare decât OS-ul celor operate per primam. În schimb, paciențele fără mutație au avut o supraviețuire mai bună dacă au fost supuse citoreducției primare, urmată de tratament adjuvant. De asemenea, observăm în grupul IDS că pacienții cu mutație BRCA au avut un beneficiu pe supraviețuire de 1.8 ori mai mare decât cele wild-type. Bineînțeles acest lucru poate să fie datorat răspunsului mai bun la chimioterapie dar și datorită tratamentului cu inhibitori PARP, care a schimbat managementul terapeutic în aceste tipuri de cancer. Nu s-a observat o diferență majoră în supraviețuire între stadiile FIGO III și IV. Aceste lucruri întăresc faptul că mutațiile în genele BRCA joacă un rol esențial în prognosticul pacienților diagnosticate cu carcinom ovarian, și au un impact mai puternic decât alți factori clinici precum stadializarea. Avantajul major al acestui studiu a fost că a demonstrat că pentru paciențele cu mutație BRCA NACT+IDS reduce morbiditatea, facilitând ca intervenția chirurgicală să fie mai puțin extinsă. De asemenea, prezența mutației s-a asociat cu rate de rezecție completă mai mari.

Un alt aspect important al acestui studiu a fost că a dovedit faptul că creșterea numărului de cicluri de chimioterapie în neoadjuvanță nu aduce un beneficiu pe supraviețuire. Este deci important ca după fiecare evaluare a răspunsului la tratament, de obicei efectuată la fiecare 3 cicluri, să fie rediscutat cazul cu chirurghi experți în domeniu, în vederea stabilirii oportunității efectuării citoreducției de interval, pentru a omite creșterea toxicităților datorate chimioterapiei și a apariției rezistenței la tratament.

Toate aceste rezultate ale studiului relevă beneficiul pe care îl aduce neoadjuvanța în cadrul pacienților cu mutații BRCA și că în funcție de acestea, se pot lua decizii individualizate pentru managementul bolii, practic atingându-se obiectivul acestei cercetări.

Rezultatele studiului III au demonstrat că există o corelație între prezența mutației KRAS și TVP/ETV, care a fost semnificativă statistic, indiferent de alte variabile precum scorul Khorana, administrarea de Bevacizumab sau stadializarea clinică. La 1 an, apariția ETV a fost cu 31% mai mare în grupul cu mutație față de cel KRASwt. Practic, contrar așteptărilor, relația dintre mutația KRAS și apariția trombozei nu a fost influențată de terapia cu bevacizumab, cum se știe din literatură. Așa cum s-a văzut și în alte trialuri, și în această cercetare supraviețuirea pacienților cu tromboză a fost inferioară celor fără tromboze. Având în vedere aceste date, obiectivele acestui studiu au fost atinse. Studiul a arătat că această mutație este un factor

independent în dezvoltarea ETV la pacienții cu cancere colorectale, însă ar trebui să se țină cont și de alți factori ce pot contribui la acest proces.

Având în vedere rezultatele acestei teze de doctorat, recomand pentru practica clinică următoarele:

- În afară de tumorile pentru care există decontată momentan în România testarea NGS și pentru care este bine stabilit momentul efectuării acesteia, testarea sa fie efectuată cât mai devreme în evoluția bolii și în special pentru tumorile rare, sau pentru cele care nu au multe opțiuni terapeutice în linii subsecvente.
- O colaborare mai bună între clinicieni, anatomopatologi și geneticieni pentru a scădea rata de eșec a testărilor multigenice.
- Pe baza acestor rezultate, includerea unui număr mai mare de pacienți în trialuri clinice și găsirea din timp a acestora.
- Extinderea rețelei de trialuri clinice din România și asigurarea unui acces facil la ele.
- Înființarea comisiilor multidisciplinare moleculare.
- Evaluarea statusului BRCA de la diagnostic, pentru cancerle ovariene epiteliale, întrucât prezența mutației poate să ajute în selecția pacientelor pentru terapie neoadjuvantă.
- Stabilirea unor criterii chirurgicale de rezecabilitate care să țină cont și de statusul BRCA, având în vedere și faptul că prezența mutației se asociază cu o rată de rezecției completă mai mare.
- Reevaluare chirurgicală obligatorie după 3 cicluri de terapie neoadjuvantă în cancerle ovariene.
- Includerea mutației KRAS în scorurile de evaluare a riscului trombotic și individualizarea tromboprofilaxiei.

În concluzie, profilarea genetică a tumorilor nu aduce numai un avantaj în selectarea personalizată a terapiilor sistemice, dar poate contribui și la stabilirea unui plan terapeutic mai bun ce include și partea de chirurgie, dar și de profilaxie și de management al reacțiilor adverse.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Global Cancer Observatory, Mortality, both sexes in 2020. [Accessed at 09 MAR 2025]. Available at https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/tables?mode=cancer&types=1&group_populations=1&multiple_populations=1.
2. Malone, E.R., Oliva, M., Sabatini, P.J.B. et al. Molecular profiling for precision cancer therapies. *Genome Med* 12, 8 (2020).
3. Prosenjit Paul, Arup Kumar Malakar, Supriyo Chakraborty, The significance of gene mutations across eight major cancer types, *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, Volume 781, 2019, Pages 88-99, ISSN 1383-5742.
4. Porta-Pardo E, Valencia A, Godzik A. Understanding oncogenicity of cancer driver genes and mutations in the cancer genomics era. *FEBS Lett.* 2020 Dec;594(24):4233-4246. doi: 10.1002/1873-3468.13781. Epub 2020 Apr 28.
5. Yadong Yang, Xunong Dong, Bingbing Xie, Nan Ding, Juan Chen, Yongjun Li, Qian Zhang, Hongzhu Qu, Xiangdong Fang, *Databases and Web Tools for Cancer Genomics Study, Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, Volume 13, Issue 1, 2015, Pages 46-50, ISSN 1672-0229, <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.01.005>.
6. Min, HY., Lee, HY. Molecular targeted therapy for anticancer treatment. *Exp Mol Med* 54, 1670–1694 (2022).
7. Joo WD, Visintin I, Mor G. Targeted cancer therapy--are the days of systemic chemotherapy numbered? *Maturitas.* 2013 Dec;76(4):308-14. doi: 10.1016/j.maturitas.2013.09.008. Epub 2013 Sep 20.
8. Popa AM, Stejeroiu MA, Iaciu C, Olaru M, Orlov Slavu C, Parosanu A, Stanciu IM, Pirlog C, Pavel S, Nitipir C. Correction: Role of Tumor Molecular Profiling With FoundationOne®CDx in Advanced Solid Tumors: A Single-Centre Experience From Romania. *Cureus.* 2025 Feb 14;17(2):e211. doi: 10.7759/cureus.e211. Erratum for: *Cureus.* 2023 Dec 18;15(12):e50709.
9. Al-Kateb H, Nguyen TT, Steger-May K, Pfeifer JD. Identification of major factors associated with failed clinical molecular oncology testing performed by next generation sequencing (NGS). *Mol Oncol.* 2015;9(9):1737-1743.
10. Killock, D. (2020). TMB — a histology-agnostic predictor of the efficacy of ICIs? *Nature Reviews Clinical Oncology.* doi:10.1038/s41571-020-00438-0
11. Sung, W. W. Y., Chow, J. C. H., & Cho, W. C. S. (2020). Tumor mutational burden as a tissue-agnostic biomarker for cancer immunotherapy. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 14(2), 141–143.
12. Nesline M.K., DePietro P., Dy G.K., Early A., Papanicolau-Sengos A., Conroy J.M., Lenzo F.L., Glenn S.T., Chen H., Grand'Maison A., et al. Oncologist uptake of comprehensive

- genomic profile guided targeted therapy. *Oncotarget*. 2019;10:4616–4629. doi: 10.18632/oncotarget.27047.
13. Hoefflin R, Lazarou A, Hess ME, Reiser M, Wehrle J, Metzger P, Frey AV, Becker H, Aumann K, Berner K, et al. Transitioning the Molecular Tumor Board from Proof of Concept to Clinical Routine: A German Single-Center Analysis. *Cancers*. 2021; 13(5):1151.
 14. Presley CJ, Tang D, Soulos PR, et al. Association of Broad-Based Genomic Sequencing With Survival Among Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer in the Community Oncology Setting. *JAMA*. 2018;320(5):469-477. doi:10.1001/jama.2018.9824
 15. Ahmed A. Refae, Ali M. Bayer, Ezzeldin M. Ibrahim, Ibrahim Mansoor, Nasir A. Saleem, Osama A. Al-Masri, Rafat I. AbuShakra, Wesal M. Eldahna, Genomic Profiling for Patients with Solid Tumors: A Single-Institution Experience *Annals of Clinical Oncology* 2019 2674-3248
 16. Takeda M, Takahama T, Sakai K, Shimizu S, Watanabe S, Kawakami H, Tanaka K, Sato C, Hayashi H, Nonagase Y, Yonesaka K, Takegawa N, Okuno T, Yoshida T, Fumita S, Suzuki S, Haratani K, Saigoh K, Ito A, Mitsudomi T, Handa H, Fukuoka K, Nakagawa K, Nishio K. Clinical Application of the FoundationOne CDx Assay to Therapeutic Decision-Making for Patients with Advanced Solid Tumors. *Oncologist*. 2021 Apr;26(4):
 17. Popa AM, Cotan HT, Iaciu CI, Nitipir C. The Impact of BRCA Mutation on the Efficacy of Neoadjuvant Chemotherapy in Advanced Ovarian Cancer. *Chirurgia (Bucur)*. 2024 Dec;119(6):687-700. doi: 10.21614/chirurgia.3055.
 18. Emilescu RA, Jinga M, Cotan HT, Popa AM, Orlov-Slavu CM, Olaru MC, Iaciu CI, Parosanu AI, Moscalu M, Nitipir C. The Role of KRAS Mutation in Colorectal Cancer-Associated Thrombosis. *Int J Mol Sci*. 2023 Nov 29;24(23):16930.

Listă lucrări științifice publicate

Articole publicate în reviste de specialitate

1. **Popa AM**, Stejeroiu MA, Iaciu C, Olaru M, Orlov Slavu C, Parosanu A, Stanciu IM, Pirlog C, Pavel S, Nitipir C. Correction: Role of Tumor Molecular Profiling With FoundationOne®CDx in Advanced Solid Tumors: A Single-Centre Experience From Romania. *Cureus*. 2025 Feb 14;17(2):c211. doi: 10.7759/cureus.c211. Erratum for: *Cureus*. 2023 Dec 18;15(12):e50709. doi: 10.7759/cureus.50709. PMID: 39958407; PMCID: PMC11829126. Factor de impact: 1
 - Link – <https://www.cureus.com/articles/210516-role-of-tumor-molecular-profiling-with-foundationonecdx-in-advanced-solid-tumors-a-single-centre-experience-from-romania/correction/276#!>
Capitolul 5 paginile 33-64
2. **Popa AM**, Cotan HT, Iaciu CI, Nitipir C. The Impact of BRCA Mutation on the Efficacy of Neoadjuvant Chemotherapy in Advanced Ovarian Cancer. *Chirurgia (Bucur)*. 2024 Dec;119(6):687-700. doi: 10.21614/chirurgia.3055. PMID: 39737823. Factor de impact: 0.8. ESCI
 - Link - <https://www.revistachirurgia.ro/the-impact-of-brca-mutation-on-the-efficacy-of-neoadjuvant-chemotherapy-in-advanced-ovarian-cancer/>
Capitolul 6 paginile 65-93
3. Emilescu RA, Jinga M, Cotan HT, **Popa AM**, Orlov-Slavu CM, Olaru MC, Iaciu CI, Parosanu AI, Moscalu M, Nitipir C. The Role of KRAS Mutation in Colorectal Cancer-Associated Thrombosis. *Int J Mol Sci*. 2023 Nov 29;24(23):16930. doi: 10.3390/ijms242316930. PMID: 38069251; PMCID: PMC10707331. Factor de impact: 4.9, SCIE, ISI
 - Link - <https://doi.org/10.3390/ijms242316930>
Capitolul 7 paginile 94-113