

**Universitatea „Ovidius” din Constanța
Școala Doctorală de Medicină
Domeniul: Medicină**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**BIOMARKERI TUMORALI IMPLICAȚI ÎN DETECȚIA
PRECOCE A CANCERULUI DE PROSTATĂ**

Coordonator științific:

Prof. Univ. Dr. BOTNARCIUC Vladimir

Doctorand:

STAN Marius Doru

CONSTANȚA

2023

Lucrarea de fata „Biomarkeri tumorali implicati in detectia precoce a cancerului de prostata” propune determinarea unor noi solutii in vederea cresterii specificitatii de detectie si progresie a uneia dintre cele mai frecvente si in expansiune patologii tumorale in cadrul populatiei de barbati , cancerul de prostata.

Literatura de specialitate internațională contine un numar restrâns de articole publicate in revistele de profil, sau au câteva mențiuni pe acest subiect in cadrul altor cercetări mai ample, în contextul unor teme cu fundament mai complex.

În plus, această temă, respectiv acest tip de cercetare, nu a mai făcut obiectul niciunui studiu de acest fel în țară.

Studiul s-a efectuat în intenția de a evalua cercetările privind noi modalități de detecție genetică ale Cancerului de prostata și, în principal datorită noilor tehnici genetice de secvențiere care evaluează aspecte moleculare ale cancerului de prostată, pentru a evidenția caracteristicile genetice ale bolii.

Proteinele GST au o biologie complexă și joacă roluri multiple în celulele canceroase. Aceste enzime sunt o componentă crucială a sistemului antioxidant celular și joacă roluri critice în menținerea homeostaziei celulare. Interesant este că descoperirile recente sugerează că enzimele GST joacă un rol important în dezvoltarea cancerului și a chimiorezistenței. Cu toate acestea, studiile cinetice și funcționale au arătat că majoritatea agenților antineoplazici sunt substraturi sărace ale GST-urilor .

Mai multe studii au demonstrat că proteinele GST sunt supraexprimate în multe cancere umane. Supraexprimarea lor contribuie la rezultate slabe și este corelată negativ cu supraviețuirea pacientului. Cu toate acestea, GSTP1 nu este considerat un marker de diagnostic în practicile clinice. Sugerăm astfel, că GSTP1, împreună cu o combinație de alți biomarkeri, tehnici imagistice, tehnici chirurgicale minim invazive, poate identifica o populație cu risc ridicat care este susceptibilă de a dezvolta cancer. Cercetarea activă în domeniul antioxidantilor și al biologiei redox s-a restrâns la GSTP1 ca o țintă terapeutică promițătoare pentru tratamentul cancerului. Inhibitorii GSTP1 pot fi utilizați potențial în viitor pentru a spori eficacitatea chimioterapiei și a depăși rezistența la medicamente. Cu toate acestea, pentru a utiliza acești inhibitori în siguranță

pentru tratamentul cancerului, sunt necesare cercetări pentru a caracteriza impactul lor asupra celulelor normale și efectele pe termen lung.

Obiectivele principale ale proiectului:

1. Evaluarea expresiei Glutation-S-Transferazei P1 ca biomarker de diagnostic precoce și monitorizarea progresiei în timp;
2. Evaluarea GSTP1 ca marker de diagnostic primar; înțelegerea mai bună a angiogenezei în patologia prostatei și asupra mecanismelor de angiogeneză tumorală;
3. Creșterea calității vieții și scăderea mortalității prin detecție precoce și intervenții chirurgicale cu viză curativă.

Obiectivele secundare ale proiectului:

1. Analiza valorilor diagnostice și de prognostic a expresiei genei GSTP1 din probele de țesut în diferențierea pacienților cu diagnostic de CaP, respectiv hiperplazie benignă de prostată (HBP) prin metode minim invazive.
2. Eliminarea punctiilor biopsie repetate în cadrul pacienților cu nivele PSA „grey-zone” și/sau tușeu rectal neconcludent.
3. Dezvoltarea cunoașterii științifice în domeniul Cancerului Prostatic prin promovarea și publicarea rezultatelor obținute.

Criteriile de selecție a pacienților:

Studiul a cuprins un lot de 80 de pacienți cu vârste cuprinse între 49 și 85 de ani, în perioada 2019-2022, care au îndeplinit următoarele criterii :

- Vârsta peste 18 ani;
- Fără patologii asociate grave;
- Fără alte patologii neoplazice cunoscute;
- Pacienți cu simptomatologie LUTS și valori PSA în limite normale;

- Pacienți fără simptomatologie LUTS dar valori PSA în limita „grey-zone”;
- Pacienții vor semna consimțământ informat înaintea oricărei activități legate de cercetare medicală;

Determinarea profilului de expresie genică a GSTP1 în cazul întregului lot, s-a realizat prin recoltare de țesut proaspăt atât din leziunile tumorale cât și din țesut adiacent normal prin tehnică minim invazivă reprezentată de Puncție Biopsie Prostatică Sextantă, și a constat în următoarele activități :

- Determinarea imunohistochimică a expresiei GSTP1 la pacienții cu cancer de prostată
- Monitorizarea postoperatorie
- Introducerea rezultatelor obținute în baza de date
- Analiză statistică a rezultatelor obținute
- Interpretarea rezultatelor obținute
- Relevanță clinico-evolutivă a a pierderii expresiei GSTP1.

Parametri suplimentari monitorizați în urma analizei statistice:

Imagistic și paraclinic: Ecografie Transrectală, Rezonanță Magnetică Nucleară cu secvență Multiparametrică Prostatică, Hemoleucogramă, uree serică, creatinină serică (întregul lot);

Clinic: indicele de masă corporală, volumul și consistența glandei prostatice prin examinare tip tușeu-rectal (întregul lot).

Comisia de etică pentru avizare a studiilor clinice și a lucrărilor de cercetare, constituită în cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență „Sf. Apostol Andrei” Constanța, prin decizia nr 446/ 30.03.2018, analizând protocolul de lucru, formularul de consimțământ informat al pacientului și studiul clinic retrospectiv al proiectului de cercetare cu tema „Glutathione-S-transferase gene P1(GST-P1) role in diagnosing prostate cancer in patients with „grey-level” PSA values”, avizează favorabil desfășurarea prezentului studiu în Secția Clinica Urologie, având investigați principali pe Conf.Univ.Dr. Felix Voinea și Dr. Marius Doru Stan.

ASPECTE GENERALE

Lotul de pacienți

Lotul de pacienți cuprinde un număr de 80 de cazuri. Aceștia au fost analizați comparativ utilizând două loturi de studiu. Acestea au fost create pe baza diagnosticului de certitudine obținut în urma examenului anatomopatologic, astfel pacienții fiind împărțiți în două loturi, respectiv pacienți cu tumoră benignă (27, 33,8%) respectiv pacienți cu cancer de prostată (53, 66,3%).

Tabel 1 Distribuția în funcție de diagnosticul pozitiv

	Frecvență		Procent	
	absolută	Procent	Procent Valid	Cumulativ
Tumoră benignă	27	33.8	33.8	33.8
Cancer prostată	53	66.3	66.3	100.0
Total	80	100.0	100.0	

Vârsta

În ceea ce privește vârsta acestora, am constatat faptul că pacienții diagnosticați cu tumoră benignă de prostată au avut vârsta medie de 64.07 ani $\pm$ 8,9 ani, în timp ce pacienții cu cancer de prostată au prezentat o vârstă medie mai înaintată, de 70,02 ani $\pm$ 8,7 ani.

Tabel 2 Analiză statistică descriptivă vârstă în funcție de lotul de studiu

Diagnostic Pozitiv	N	Media	Deviația	Mediana	Minimum	Maximum
		Aritmetică	Standard			
Tumoră benignă	27	64.07	8.901	63.00	49	84
Cancer prostată	53	70.02	8.699	70.00	54	85
Total	80	68.01	9.159	68.00	49	85

Din punct de vedere a distribuției acestora, am constatat faptul că, în cazul pacienților cu tumoră benignă de prostată există un vârf al cazurilor descoperite în intervalul de vârstă 55-59 ani (29,6%), existând cazuri inclusiv la pacienți cu vârsta sub 50 de ani. În cazul pacienților diagnosticați cu tumoră neoplazică, distribuția nu a înregistrat o frecvență semnificativ mai crescută pentru un anumit interval de vârstă, pacienții având vârste între 54 și 85 de ani.

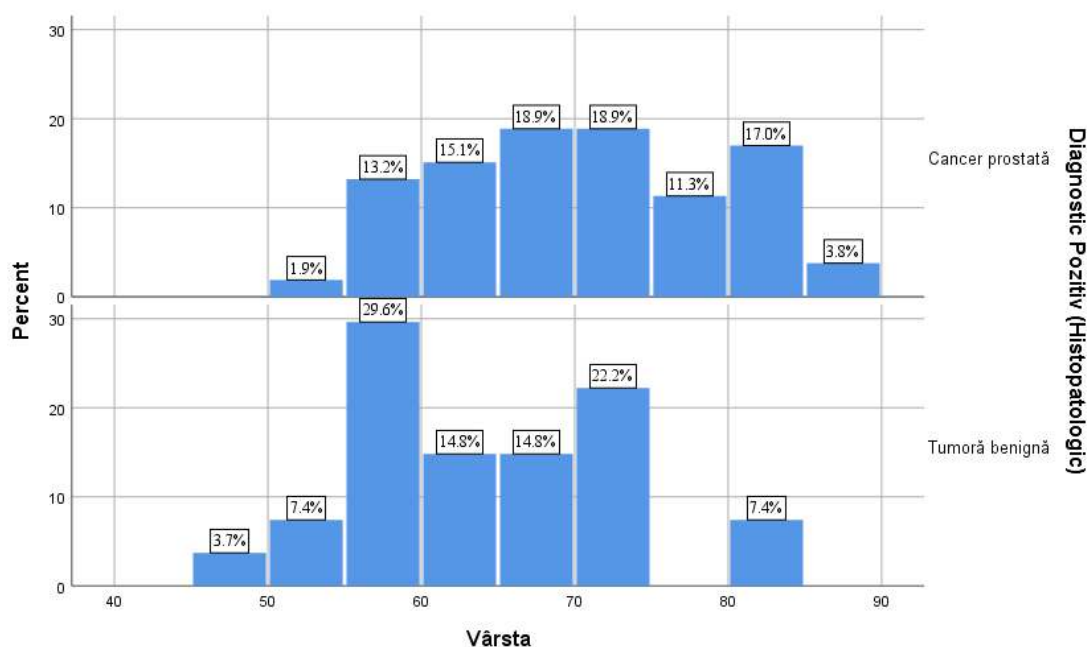


Figura 1 Distribuția în funcție de vârstă, pe loturi

În vederea determinării gradului în care distribuția cazurilor diferă de o distribuție teoretică normală, am utilizat metoda vizuală de evaluare a histogramei, cât și testul Shapiro-Wilk. Atât distribuția datelor pentru cele două loturi, cât și testul Shapiro-Wilk indică faptul că distribuțiile nu diferă semnificativ statistic de o distribuție normală teoretică ($p=0,33$, $p=0,095$).

Tabel 3 Tetare normalitate distribuție valori vârstă

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Grade de libertate	p	Statistic	Grade de libertate	p
Vârsta	Tumoră benignă	.123	27	.200*	.958	27	.330
	Cancer prostatică	.113	53	.087	.962	53	.095

*. This is a Limita Inferioară bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

În urma aplicării testului T pentru compararea valorilor vârstei, rezultatul obținut este semnificativ statistic ($p=0,005$). Astfel, se constată faptul că diferența medie de vârstă observată,

de 5,945 ani (Îl 95% 1,81-10,07 ani) este semnificativă statistic, pacienții diagnosticați cu tumoră benignă fiind mai tineri.

Tabel 4 testul T comparare valori vârstă în funcție de diagnostic

		Vârsta	
		Varianțe Omogene	Varianțe Neomogene
Testul Levene pentru	F	.017	
Egalitatea Varianțelor	p	.896	
Testul t pentru Egalitatea t		-2.868	-2.846
Mediilor	Grade de libertate	78	51.377
	P (2 cozi)	.005	.006
	Diferența Mediilor	-5.945	-5.945
	Eroarea standard a diferenței	2.073	2.089
	Interval Încredere 95% al	Limita	
	diferenței	Inferioară	
		Limita	
		Superioară	

Mediul de proveniență

Din punct de vedere a distribuției în funcție de mediul de proveniență, am constatat faptul că peste 50% dintre pacienții incluși în studiu provin din mediul rural. Luând în considerare faptul că, la nivelul județului Constanța, conform celor mai recente date furnizate de recensământ, proporția persoanelor în mediul urban este de aproximativ 70%, se poate observa faptul că există o pondere semnificativ mai mare a pacienților ce provin din mediul rural, în principal datorată lipsei de accesibilitate la informație medicală și programe de screening în această zonă.

Din punct de vedere a diferențelor observate, în funcție de diagnostic, s-a constatat faptul că în cazul pacienților cu tumoră benignă de prostată, aproximativ 71% provin din mediul rural, în timp ce în cazul pacienților diagnosticați cu cancer de prostată, proporția celor din mediul rural este semnificativ mai mică, de 41,5% (Tabel 5).

Tabel 5 Distribuția pacienților în funcție de diagnostic și mediul de proveniență

			Diagnostic Pozitiv		
			Tumoră benignă	Cancer prostatică	Total
Mediul de proveniență	Urban	Număr	8	31	39
		% din Diagnostic Pozitiv	29.6%	58.5%	48.8%
	Rural	Număr	19	22	41
		% din Diagnostic Pozitiv	70.4%	41.5%	51.2%
Total	Număr		27	53	80
	% din Diagnostic Pozitiv		100.0%	100.0%	100.0%

Astfel, există o asociere semnificativă statistic între diagnostic și mediul de proveniență ($p=0,015$).

Tabel 6 Testul Chi-pătrat testare asociere între diagnostic și mediul de proveniență

	Valoare	Grade de libertate	P (2 cozi)	P exact (2 cozi)	P exact (1 coadă)
Chi-pătrat	5.964 ^a	1	.015		
Corecția Yates ^b	4.864	1	.027		
Raport de verosimilitate	6.100	1	.014		
Testul Exact Fisher				.019	.013
Testul Mantel-Haenszel	5.889	1	.015		
Număr cazuri valide	80				

a. 0 celule (0.0%) au valori așteptate mai mici de 5. Valoarea minimă așteptată este 13.16.

b. Calculat numai pentru tabel 2x2

În urma calculării Raportului Cotelor (OR), rezultatul indică o probabilitate semnificativ mai mică 0,299 (Î95% 0,111-0,804) ca un pacient din mediul urban să fie diagnosticat cu tumoră benignă de prostată, comparativ cu pacienții din mediul rural (Tabel 7).

Tabel 7 Raportul cotelor – estimarea riscului diagnostic tumoră benignă de prostată la pacienții din mediul urban

	Valoare	Intervall Încredere 95%	
		Limita Inferioară	Limita Superioară
Raportul cotelor Mediul de proveniență (Urban / Rural)	.299	.111	.804

Relație mediul de proveniență – Vârstă

Analiza descriptivă a vârstei în funcție de mediul de proveniență și tipul de diagnostic, a evidențiat faptul că, în cazul pacienților din mediul rural, diagnosticați cu TBP, vârsta medie a fost semnificativ mai scăzută comparativ cu a celorlalte categorii, fiind de 61,89 ani. În celelalte situații, vârsta medie a fost în jur de 70 de ani, după cum se poate observa în *Tabel 8*.

Tabel 8 Analiza descriptivă vârstă în funcție de mediul de proveniență și tipul de diagnostic

Mediul de proveniență	Diagnostic Pozitiv	N	Media Aritmetică	Deviația Standard	Mediana	Minimum	Maximum
Urban	Tumoră benignă	8	69.25	8.664	72.00	56	83
	Cancer prostată	31	69.58	8.713	68.00	55	85
	Total	39	69.51	8.590	70.00	55	85
Rural	Tumoră benignă	19	61.89	8.266	59.00	49	84
	Cancer prostată	22	70.64	8.845	71.00	54	85
	Total	41	66.59	9.555	65.00	49	85
Total	Tumoră benignă	27	64.07	8.901	63.00	49	84
	Cancer prostată	53	70.02	8.699	70.00	54	85
	Total	80	68.01	9.159	68.00	49	85

Din punct de vedere a modului în care sunt distribuiți pacienții în funcție de vârstă, se observă faptul că pentru persoanele cu cancer de prostată aceștia prezintă o distribuție relativ uniformă, cu valori cuprinse între 49 și 85 de ani.

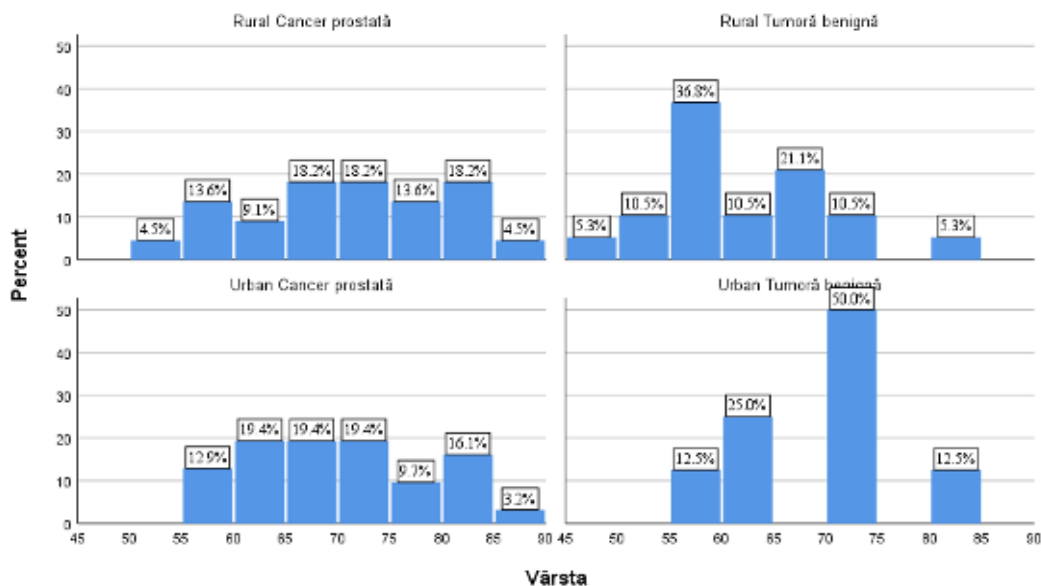


Figura 2 Distribuția în funcție de vârstă, pe medii de proveniență și diagnostic

În cazul pacienților cu tumori benigne de prostată, am observat, în cadrul distribuției în funcție de vârstă, faptul că pentru mediul rural există o preponderență a pacienților cu vârstă cuprinsă în intervalul 55-60 ani, aceștia reprezentând peste 36% din cazurile de tumori benigne diagnosticate la pacienți din mediul rural, în timp ce pentru mediul urban, 50% dintre pacienții diagnosticați cu tumoră benignă de prostată au avut vârsta cuprinsă în intervalul 70-75 ani.

Cu toate acestea, rezultatul testului ANOVA, diferențele observate între grupuri sunt ne semnificative statistic, $p=0,154$.

Tabel 9 Testul ANOVA pentru testarea diferențelor de vârstă între grupuri

		Suma pătratelor	Grade de libertate	Media pătratelor	F	p
Intergrupuri	(Combinat)	171.293	1	171.293	2.070	.154
Intragrup		6455.695	78	82.765		
Total		6626.987	79			

Rolul Glutathione-S-transferazei în diagnosticul cancerului de prostată

Reactivitate GST-P1

Am evaluat reactivitatea GST-P1 la pacienții incluși în studiu. În urma clasificării acestora, am constatat faptul că, peste 80% dintre pacienții diagnosticați histopatologic cu tumoră benignă de prostată au prezentat valori negative pentru reactivitatea GST-P1. Comparativ, în cazul

pacienților diagnosticați cu cancer de prostată, procentul celor cu lipsa exprimării GST-P1 a fost de aproximativ 30%. (*Tabel 10*).

Testul index (starea de metilare GST-P1)

Testul index (starea de metilare a GST-P1) poate fi metilică sau nemetilică. reacția PCR specifică metilării pentru GST-P1 a fost realizată cu ajutorul kitului de amplificare CpG WIZ GSTpi (Merck KGaA), în conformitate cu instrucțiunile producătorului. În ceea ce privește protocolul, setul de primer U a fost definit ca fiind cel care a aneantizat la ADN nemetilat care a suferit o modificare chimică, setul de primer M a fost cel care a aneantizat la ADN metilat, iar setul de primer W a fost cel care a servit drept control pentru eficiența modificării chimice. Secvența de primeri nu a fost furnizată de către producător, care a precizat doar că regiunea amplificată este definită ca fiind secvența dintre nucleotidul 3' al primerului sens și complementul nucleotidului 3' al primerului antisens pentru fiecare promotor genetic. Sistemul de numerotare a nucleotidelor a fost cel utilizat în prezentarea GenBank, identificat ca AY324387 pentru GSTpi. Pentru fiecare experiment, au fost utilizate controalele furnizate de test, și anume ADN de control U și ADN de control M, care au fost amplificate cu setul de primer corespunzător și au servit drept controale pentru ADN nemetilat și, respectiv, metilat, și ADN de control genomic W netratat, care a fost amplificat cu setul de primer W și a servit drept control pentru eficiența modificării chimice. Produsele PCR au fost electroforezate pe un gel de agaroză 2% și vizualizate cu bromură de etidiu. În cele din urmă, s-a efectuat un control PCR negativ (adică fără ADN) pentru fiecare set de primeri.

Au fost determinate specificitatea și sensibilitatea testului, pentru a obține valorile predictive pozitive și negative ale testului. S-au calculat intervale de încredere (IC) de 95 % pentru a cuantifica precizia statistică a măsurătorilor. Pentru compararea variabilelor continue, sunt prezentate media și deviația standard (medie $\pm$ SD), iar comparațiile au fost efectuate cu ajutorul testului t al lui Student pentru variabilele independente. Pentru compararea proporțiilor, în cazul variabilelor dihotomice, s-a utilizat testul χ^2 .

Datele de sinteză pentru aceste variabile sunt prezentate sub formă de proporții. Pentru a determina relația dintre valorile PSA și starea de metilare GST-P1, s-a utilizat o corelație punct-biserial. Această metodă reprezintă un caz special al corelației momentului produsului lui Pearson aplicat la o variabilă dihotomică și la o variabilă continuă, așa cum este descris în documentația IBM pentru SPSS (v.19.0). S-a considerat că $P < 0,05$ indică o diferență semnificativă din punct de

vedere statistic. Studiul a primit aprobarea comitetului de etică (nr. 446/30.03.2018) al Comitetului de etică pentru cercetări clinice (nr. 446/30.03.2018). Studii Clinice al Spitalului Clinic Județean de Urgență Constanța. Procedurile din toate etapele studiului s-au desfășurat în conformitate cu principiile Declarației de la Helsinki. S-au primit formulare de consimțământ în cunoștință de cauză de la toți participanții înainte de înscrierea acestora în grupul de studiu. (221)

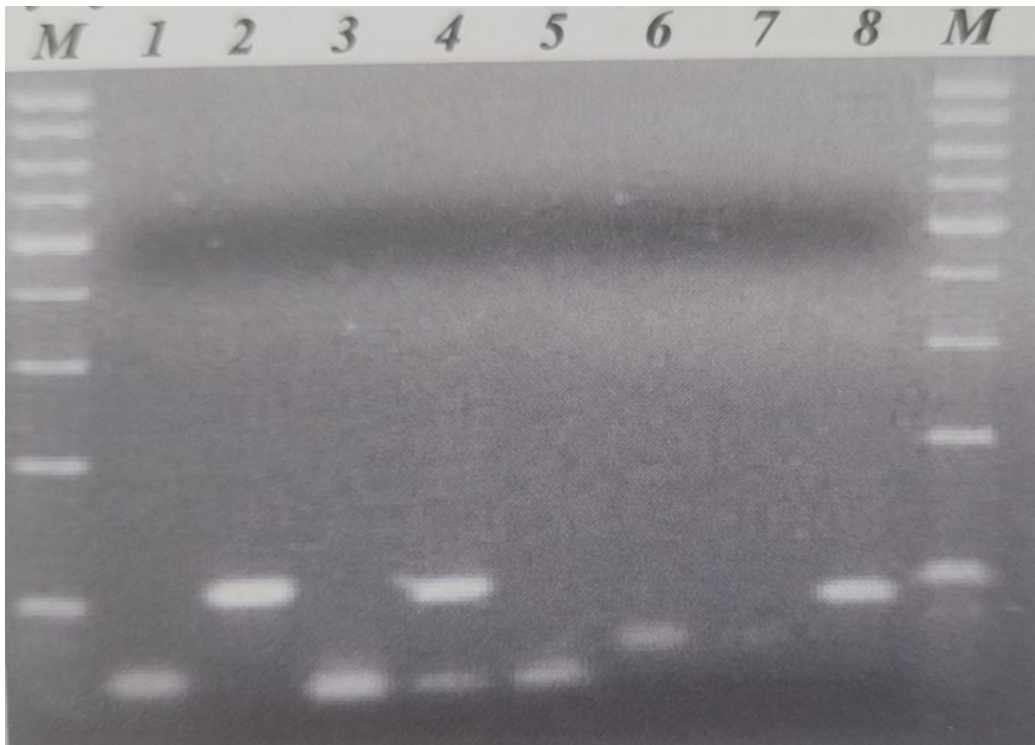


Figura 12 - Specificitatea amplificării cu GSTpi

Analiza cu 2% gel de agaroză folosind primeri și probe ADN control sunt următoarele:

Rândul 1: primeri W, NTC

Rândul 2: primeri W, ADN W

Rândul 3: primeri U, NTC

Rândul 4: primeri U, ADN U

Rândul 5: primeri U, ADN M

Rândul 6: primeri M, NTC

Rândul 7: primeri M, ADN U

Rândul 8: primeri M, ADN M

Rândul M: marker distanțat la 100bp

Mai sus se pot observa câteva rezultate obținute la microscopul electronic din timpul prelucrării datelor, astfel:

Kitul de amplificare CpG WIZ GSTpi conține primeri care pot fi folosiți pentru analiza ADN prin PCR specific de metilare, după ce au urmat anterior tratamentul cu kitul EpiTect Bisulfite (Qiagen), care determină modificări între ADN metilat și nemetilat. Seturile de primeri din kit sunt special sintetizate pentru a analiza ADN, în funcție de diferențele din secvență.

Setul de primeri U va amplifica ADN nemetilat care a urmat modificarea chimică.

Setul de primeri M va amplifica ADN metilat care a urmat modificarea chimică.

Setul de primeri W servesc ca și control al eficienței modificării chimice. Va amplifica orice ADN (nemetilat sau metilat) care nu a fost supus modificării chimice, adică "wild type" sau W. Interpretarea datelor poate fi realizată chiar și în cazul unei modificări chimice incomplete (până la 50%).

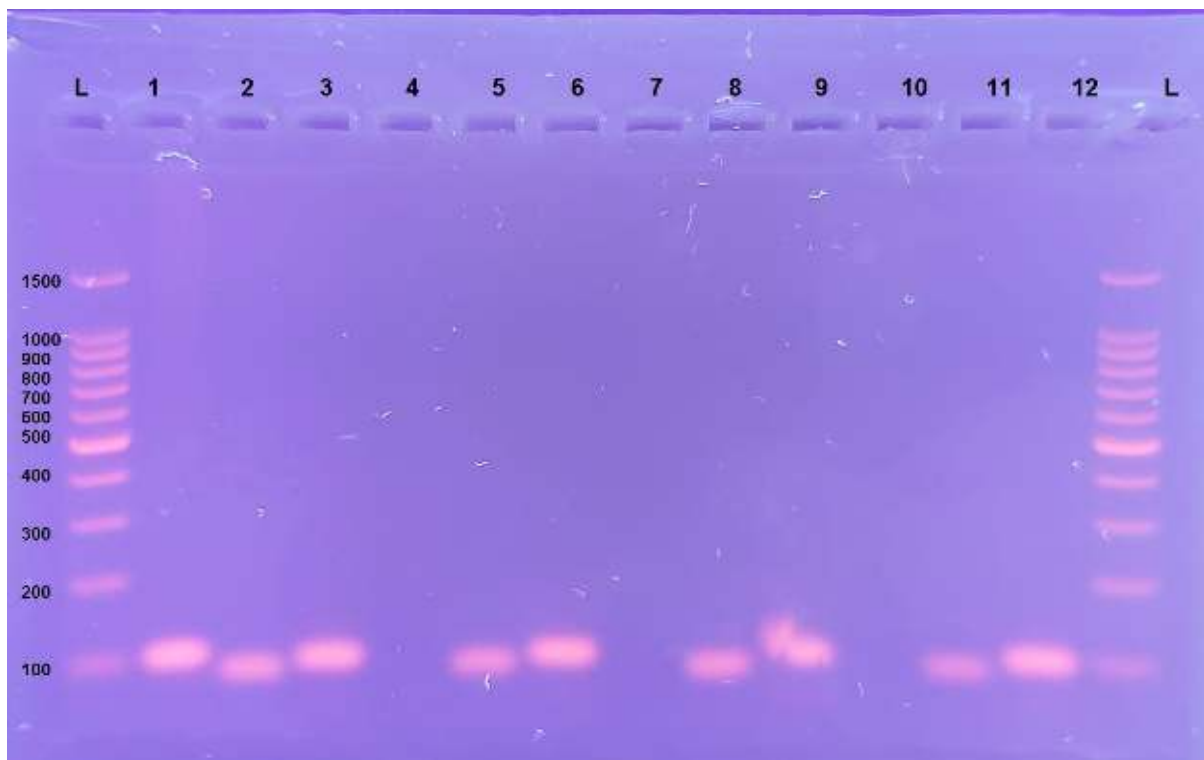


Figura 13 - Analiza pe gel de agaroză 2% a PCR specifică pentru metilarea GSTP1.

Banda L: 100bp ADN Ladder. Lane 1: Amorse de tip Wylde cu control ADN de tip Wylde, Lane 2: Amorse nemetilate cu un control ADN nemetilate, Lane 3: Amorse metilate cu control ADN metilicat. Liniile 4-6: Proba experimentală 1 cu tip Wylde,

amperi nemetilați și metilați, Liniile 7-9: Proba experimentală 2 cu tip Wylde, amperi nemetilați și metilați, Liniile 10-12: Proba experimentală 3 cu tip Wylde, amperi nemetilați și metilați.

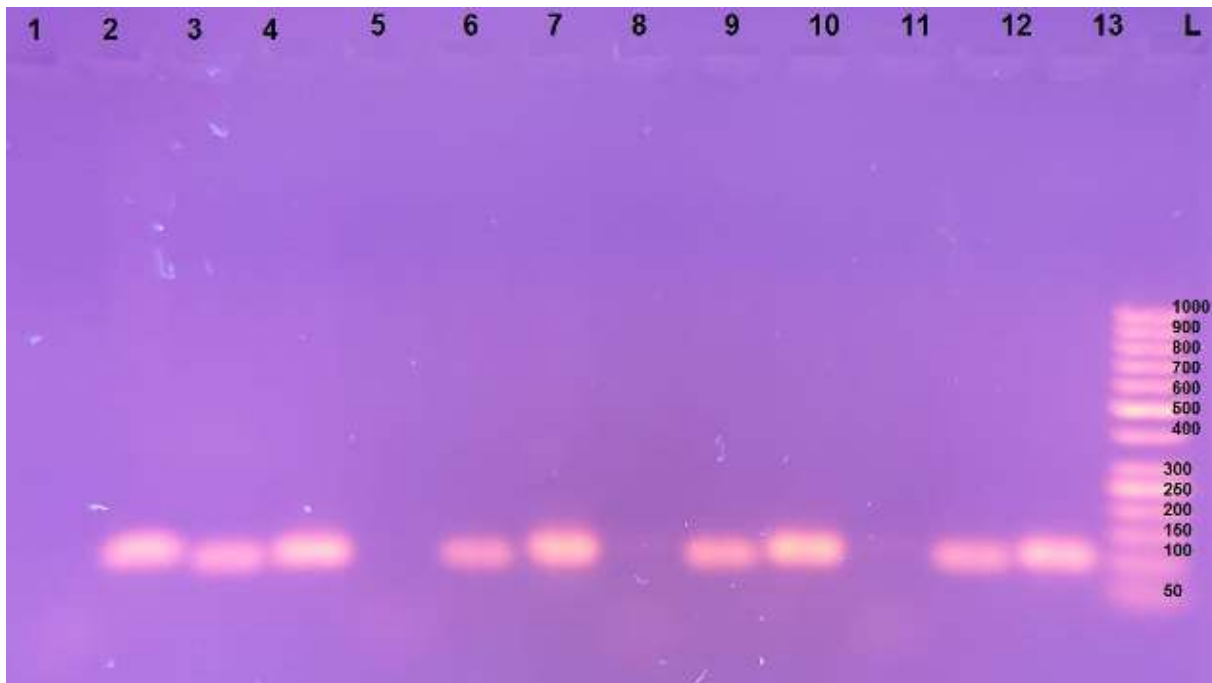


Figura 14 - Analiza pe gel de agaroză 2% a PCR specifică pentru metilarea GSTP1.

Banda 2: Amorse de tip Wylde cu control ADN de tip Wylde, banda 3: Amorse nemetilate cu control ADN nemetilate, Lane 4: Amorse metilate cu control ADN metilicat. Lane 5-7: Eșantionul experimental 4 cu primeri de tip Wylde, nemetilați și metilați, benzile 8-10: Proba experimentală 5 cu tip Wylde, cu primeri nemetilați și metilați, Lane 11-13: Proba experimentală 6 cu tip Wylde, cu primeri nemetilați și metilați, linia L: 50-100bp ADN Ladder.

Diferența observată este semnificativă statistic ($p < 0,001$, Tabel 11), indicând o asocieră semnificativă statistic între reactivitatea GST-P1 și diagnosticul de cancer de prostată, pentru pacienții a căror valori PSA s-au încadrat în „zona gri”.

Tabel 10 Distribuția pacienților în funcție de diagnosticul histopatologic și reactivitatea GST-P1

			Diagnostic Pozitiv		
			Cancer		
			Tumoră benignă	prostată	Total
Reactivitate GST-P1	Negativ	Număr	22	16	38
		% din Diagnostic Pozitiv	81.5%	30.2%	47.5%
	Pozitiv	Număr	5	37	42
		% din Diagnostic Pozitiv	18.5%	69.8%	52.5%
Total		Număr	27	53	80
		% din Diagnostic Pozitiv	100.0%	100.0%	100.0%

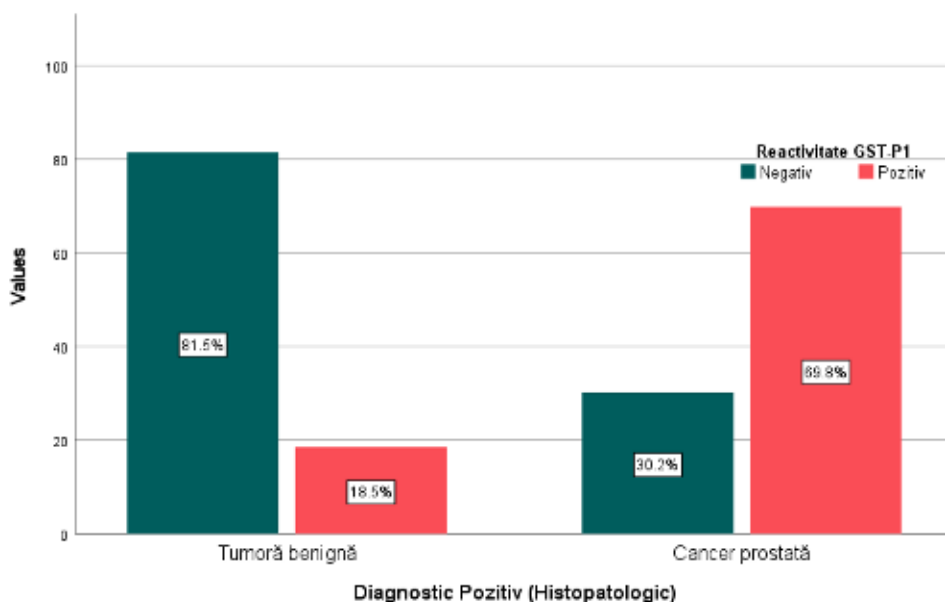


Figura 3 Distribuția pacienților în funcție de diagnostic și reactivitatea GST-P1

Tabel 11 Testul Chi-pătrat pentru testarea asocierii dintre diagnostic și reactivitatea GST-P1

	Valoare	Grade de libertate	P (2 cozi)	P exact (2 cozi)	P exact (1 coadă)
Chi-pătrat	18.872 ^a	1	<.001		
Corecția Yates ^b	16.871	1	<.001		
Raport de verosimilitate	19.908	1	<.001		
Testul Exact Fisher				<.001	<.001
Testul Mantel-Haenszel	18.636	1	<.001		
Număr cazuri valide	80				

a. 0 celule (0.0%) au valori așteptate mai mici de 5. Valoarea minimă așteptată este 12.83.

b. Calculat numai pentru tabel 2x2

Astfel, șansa unui pacient cu reactivitate GST-P1 de a fi diagnosticat cu cancer de prostată este de 10,175 ori mai mare (ÎI95% 3,27-31,64) (*Tabel 12*)

Tabel 12 Estimarea riscului de prezență a diagnosticului de cancer de prostată

	Valoare	Interval Încredere 95%	
		Limita Inferioară	Limita Superioară
Raportul cotelor Reactivitate GST-P1 (Negativ / Pozitiv)	10.175	3.272	31.637
Număr cazuri valide	80		

Rolul GST-P1 în diagnosticul cancerului de prostată

Specificitatea pentru diagnosticul cancerului de prostată la pacienții cu valori ale PSA aflate în intervalul 4-10 ng/ml a fost de 69,81% (ÎI 95% 55,66%-81,66%), iar specificitatea a fost de 81,48% (ÎI95% 61,92% - 93,7%) (*Tabel 13*)

Tabel 13 Analiza valorilor pentru testul diagnostic – GST-P1

Sensibilitate	69.81%	55.66% to 81.66%
Specificitate	81.48%	61.92% to 93.70%
Suprafața De Sub Curba ROC	0.76	0.65 to 0.85
Rată probabilitate pozitivă	3.77	1.68 to 8.48
Rată probabilitate negativă	0.37	0.24 to 0.58
Prevalența bolii	66.25%	54.81% to 76.45%
Rată probabilitate pozitivă	88.10%	74.37% to 96.02%
Valoare predictivă negativă	57.89%	40.82% to 73.69%

În același timp, pe baza prevalenței calculate în cadrul studiului, valoarea predictivă pozitivă a fost de 88,1% (ÎI95% 74,37% - 96,02%), iar valoarea predictivă negativă a avut valori mai mici, de 57,89% (ÎI95% 40,82% - 73,69%).

Curba ROC a fost realizată pentru GST-P1 pentru diagnosticul cancerului de prostată. Astfel, suprafața calculată a fost de 0,756 (*Tabel 14*), cu Interval de încredere 95% 0,648 – 0,846, semnificativ statistic $p < 0,001$.

Tabel 14 Suprafața de sub curba ROC

Suprafața De Sub Curba ROC	0.756
Eroarea Standard ^a	0.0496
Interval Încredere 95% ^b	0.648 to 0.846
z statistic	5.167
Nivel semnificație statistică (p)(Suprafața=0.5)	<0.0001

^a DeLong et al., 1988

^b Binomial exact

Figura 4 redă curba ROC. Zona albastră reprezintă intervalul de încredere pentru aceasta.

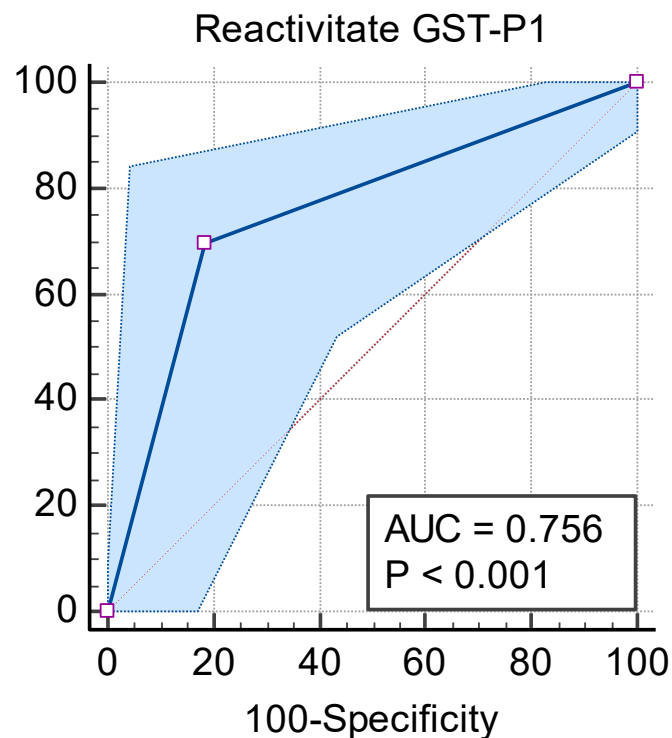


Figura 4 Curba ROC pentru reactivitatea GST-P1 și diagnosticul cancerului de prostată la pacienții cu valori neconcludente ale PSA

Analiza a urmărit să evalueze potențialului de a utiliza gena GST-P1 ca biomarker pentru diagnosticul cancerului de prostată la pacienții pentru care valorile PSA sunt neconcludente – aflate în intervalul „gri”, definit ca valori cuprinse în intervalul 4-10 ng/ml.

Rezultatul indică faptul că GST-P1 are un potențial ridicat de a identifica pacienții cu cancer de prostată. Sensibilitatea calculată a fost de 69,81%, în timp ce specificitatea a fost de 81,48%, cu o Rată probabilitate pozitivă de 88,1% și valoare predictivă negativă de 57,89%. Aceste rezultate sugerează faptul că evaluarea GST-P1, la pacienții pentru care PSA este neconcludent, poate aduce noi informații în procesul de diagnosticare a prezenței cancerului de prostată, ajutând astfel la o detecție și o inițiere a tratamentului mai rapidă, cu îmbunătățirea ulterioară a supraviețuirii.

Relatia PSA – GST-P1

În continuare am analizat existența unor diferențe între pacienții cu reactivitate GST-P1 pozitivă, respectiv negativă și valorile medii ale PSA. Analiza statistică descriptivă este redată în *Tabel 15*. Se observă faptul că valorile medii, deviația standard cât și mediana sunt apropiate ca valoare.

Tabel 15 Analiza statistică descriptivă PSA în funcție de reactivitatea GST-P1

Valoare PSA (ng/ml)						
Reactivitate GST-P1		Media	Deviația			
	N	Aritmetică	Standard	Mediana	Minimum	Maximum
Negativ	38	6.943	1.817	6.53	4.30	10.00
Pozitiv	42	7.238	1.839	6.975	4.10	10.00
Total	80	7.098	1.823	6.80	4.10	10.00

Din punct de vedere a modului în care sunt distribuite acestea, de asemenea se poate observa în

Figura 5 faptul că nu se decelează diferențe semnificative între cele două grupuri de pacienți.

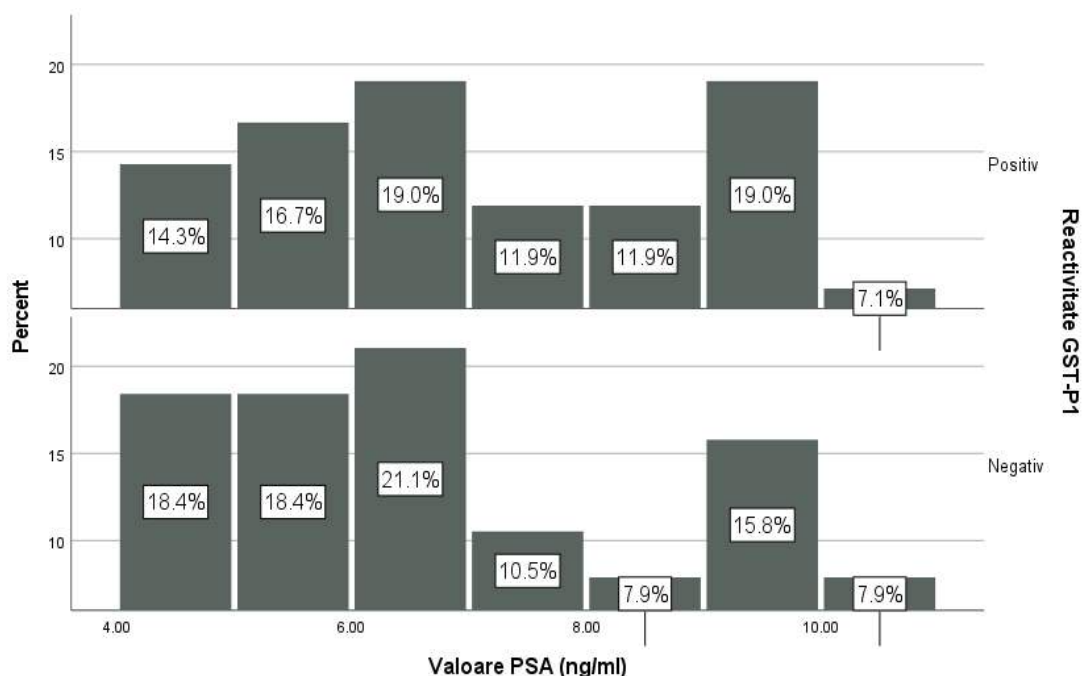


Figura 5 Distribuția pacienților în funcție de valorile PSA și reactivitatea GST-P1

Pe baza analizei histogramei (

Figura 5), și a valorilor testului Shapiro-Wilk (Tabel 16), a cărui rezultat este semnificativ statistic, pentru comparare am utilizat testul Mann-Whitney U. Rezultatul acestuia, în care, rangul mediu este mai ridicat pentru pacienții cu reactivitate pozitivă (42,89) față de cei cu reactivitate negativă (38,53) (

Tabel 17). Diferențele sunt nesemnificative statistic, $z=-0,723$, $p=0,47$ (Tabel 18)

Tabel 16 Testare normalitate distribuție valori PSA în funcție de reactivitatea GST-P1

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Valoare PSA (ng/ml)	Reactivitate GST-P1	Statistic	Grade de libertate	p	Statistic	Grade de libertate	p
	Negativ	.130	38	.104	.915	38	.007
	Pozitiv	.117	42	.166	.934	42	.018

Tabel 17 Analiza ranguri PSA în funcție de reactivitatea GST-P1

	Reactivitate GST-P1	N	Rangul Mediu	Suma rangurilor
Valoare PSA (ng/ml)	Negativ	38	38.53	1464.00
	Pozitiv	42	42.29	1776.00
	Total	80		

Tabel 18 Testul Mann-Whintey U pentru testarea semnificație statistice a diferențelor observate între valorile PSA în funcție de reactivitatea GST-P1

	Valoare PSA (ng/ml)
Mann-Whitney U	723.000
Wilcoxon W	1464.000
Z	-.723
P (2 cozi)	.470
a. Variabila independentă: Reactivitate GST-P1	

DISCUȚII

Metilarea GST-P1 reprezintă cea mai comună modificare genetică identificată în cancerul de prostată (223). Rezultatele analizei au indicat faptul că GST-P1 are un potențial de a diferenția pacienții cu tumoră benignă de prostată de cei cu cancer de prostată, în cazul în care valorile PSA sunt neconcludente. Sensibilitatea calculată a fost de 69,81%, iar specificitatea testului de 81,48%. Valoarea predictivă pozitivă a fost de 88,1% , iar valoarea predictivă negativă de 57,89%. Aceste rezultate sugerează faptul că evaluarea GST-P1 poate aduce noi informații în procesul de diagnosticare a prezenței sau absenței cancerului de prostată, permițând o detectare mai rapidă și o inițiere mai rapidă a tratamentului.

Metilarea genei GST-P1 reprezintă cea mai comună modificare genetică ce a fost raportată în cancerul de prostată (201, 202), fiind observat în mai mult de 90% dintre cancerele de prostată, fiind arareori observat în țesutul tumoral benign (203). Un review sistematic recent și meta-analiză (204) a estimat incidența metilării GST-P1 mai ridicată la pacienții cu cancer de prostată, având un raport al cotelor (odds ratio) $OR=18,58$, $Î95\ 9,6 - 35,35$, $p<0,001$. Detectarea GST-P1 a fost analizată în câteva studii ca potențială unealtă de diagnostic non-invaziv pentru detectarea precoce a cancerului de prostată (205, 206) fiind evaluată și în cadrul unei metaanalize (207). Rezultatele prezintă o variabilitate mare așa cum a concluzionat Wu (207), specificitatea GST-P1 fiind excelentă (89%, $Î95\% 80\%-90\%$) și cu o sensibilitate mai scăzută, de 63% ($Î95\% 50\%-75\%$).

O altă meta-analiză ce a cuprins un număr de 35 de studii a urmărit evaluarea utilității GST-P1 în diagnosticul cancerului de prostată (208) și a ajuns la concluzia că, sensibilitatea pentru GST-P1 (din biopsii) a fost de $81.7\% \pm 8.3$, iar specificitatea de $95.8\% \pm 0.6$.

Alte studii recente au sugerat faptul că GST-P1 ar putea fi implicat în dezvoltarea și progresia diferitelor tipuri de cancere, rolul acesteia în cancerul pulmonar, colorectal, gastric și chiar în bolile metabolice fiind evaluat în cercetări recente (209)

În timp ce, în general, cercetările realizate anterior au avut participanți care au fost evaluați pentru prezența cancerului de prostată (deci caracteristicile testului au fost aplicate la nivelul întregii populații), particularitatea acestui studiu este faptul că participanții sunt pacienți pentru care valorile PSA au fost neconcludente (cuprinse în intervalul 4 – 10 ng/ml). Acest criteriu de includere poate reprezenta o explicație pentru valorile mai scăzute ale specificității atunci când acestea sunt comparate cu cele obținute în cadrul altor studii și poate, de asemenea, să explice valoarea mai crescută a sensibilității.

O altă diferență majoră, care, ținând cont de scopul unui test screening ar putea fi o limitare, se referă la metoda de măsurare a statusului metilării GST-P1, care a fost realizată prin izolare genomică a AND din țesutul recoltat în urma biopsiei. Studii anterioare (206, 210-212) au indicat faptul că există o corelație între detectarea GST-P1 din mostrele de țesut și statusul metilării examinat la nivelul mostrelor de urină, în anumite limite. Alte studii au arătat diferențe semnificative ale sensibilității și specificității GST-P1 pentru identificarea cancerului de prostată, în funcție de metoda utilizată pentru testare (213).

Utilizarea markerilor genetici pentru diagnosticul afecțiunilor oncologice este tot mai des întâlnită, potențialul acestora fiind unul foarte mare. Rezultatele din acest studiu au potențialul de a susține utilizarea acestor metode de diagnostic la pacienții pentru care există suspiciunea de cancer de prostată, dar valorile PSA sunt neconcludente. Atunci când se utilizează în paralel și scorul PI-RADS, am observat că, acuratețea diagnosticului a crescut.

Un rol major în supraviețuirea pacienților cu afecțiuni oncologice îl are capacitatea sistemului medical de a diagnostica cât mai rapid cu putință. Pentru cancerul de prostată, antigenul specific prostatic și tușeul rectal sunt utilizate pe scară largă și sunt recunoscute ca metode utilizate în diagnosticul cancerului de prostată (214), fiind relativ ușor de realizat și cu costuri scăzute pentru pacient. Utilizarea tușeului rectal ca predictor al cancerului de prostată este util în cazul pacienților simptomatici (215), poate fi utilizat ca primă metodă de investigare. Un rezultat anormal este un indicator a riscului de cancer de prostată, conducând astfel la investigații mai specializate, în scop diagnostic. În același timp, PSA poate avea un număr mare de rezultate ne semnificative, cu o sensibilitate scăzută (216) atunci când limita de 4ng/ml este utilizată, și cu un număr semnificativ de rezultate neconcludente. Aceste cazuri necesită investigații suplimentare pentru clarificarea diagnosticului (217), astfel, cercetările recente sugerează faptul că testarea PSA ar trebui evaluată și discutată cu pacienții (218) pentru a maximiza beneficiile și a limita efectele nedorite pe care această procedură le poate avea.

În urma analizelor efectuate, am observat faptul că valorile PI-RADS de cel puțin 4 asigură o specificitate înaltă pentru diagnosticul cancerului de prostată, de 39,6%. Asemenea rezultat oferă perspective foarte bune pentru a fi utilizat în vederea identificării pacienților fără cancer de prostată și cu valori limită ale PSA. Aceste rezultate sunt similare celor raportate în literatura de specialitate (219, 220, 221) atunci când PI-RADS a fost utilizat pentru diagnosticul cancerului de prostată.

Atunci când scorul a fost combinat cu testarea GST-P1, precizia metodei imagistice de diagnostic a crescut semnificativ statistic ($p=0,014$). Rezultatele obținute sugerează faptul că, prin combinarea diferitelor metode de evaluare ale pacienților, rata de succes pentru un diagnostic corect și rapid crește semnificativ. Evaluarea prin PI-RADS și prin metilarea GST-P1 la pacienții cu valori neconcludente ale PSA oferă specificitate și sensibilitate mai bune comparativ cu analizele efectuate separat. Utilizarea acestor proceduri pot îmbunătăți procesul de diagnosticare,

prin identificarea cu o acuratețe mai mare a cancerelor de prostată. Aceste rezultate susțin potențialul de îmbunătățire a procesului de diagnosticare a cancerului de prostată.

CONCLUZII

Numărul total de pacienți a fost de 80. Deoarece studiul a fost unul retrospectiv, testele au fost efectuate pe toți pacienții, fără abandon. Caracteristica principală a eșantionului a fost că toți participanții au avut valori PSA între 4 și 10 ng/ml.

Pacienții diagnosticați cu adenocarcinom de prostată tind să fie mai înaintați în vârstă (70,02 ani; SD= 8,7) comparativ cu pacienții diagnosticați cu adenom de prostată (64,07 ani; SD= 8,9), iar acești pacienți provin preponderent din zona urbană.

Toți parametrii analizați în rest, respectiv volumul prostatic, simptomatologia urinară joasă de tip iritativ, valorile PSA, nu au prezentat diferențe statistice semnificative (toate valorile-P $\geq$ 0,5).

Examinarea digitală rectală a ridicat suspiciunea de cancer de prostată în 69,8% dintre cazurile pacienților diagnosticați cu adenocarcinom, dar în același timp, suspiciunea de malignitate a fost propusă și în 29,6% din cazurile diagnosticate cu adenom de prostată.

A fost efectuată o analiză de corelație punct-biserială pentru a determina relația dintre valorile PSA și starea de metilare a GST-P1. A fost identificată o corelație pozitivă, deși aceasta nu s-a dovedit a fi semnificativă statistic ($r_{pb}=0,081$; $n=80$; $p=0,473$)

În plus, s-a acordat o atenție mai detaliată rezultatelor reactivității GST-P1 la pacienții în zona gri a valorilor PSA. Dintre cei 53 de pacienți diagnosticați cu PCa, 69,8% ($n=37$) au fost GST-P1-pozitivi, în timp ce, dintre cei 27 de pacienți diagnosticați cu BPH, 18,5% ($n=5$) au fost GST-P1-pozitivi. Precizia calculată a testului a fost de 73,75%, deoarece a identificat corect 37 de pacienți cu PCa și 22 de pacienți cu HBP.

Sensibilitatea calculată pentru diagnosticarea PC la pacienții cu valori PSA între 4 și 10 ng/ml a fost de 69,81% (95% CI, 55,66-81,66%), iar specificitatea a fost de 81,48% (95% CI, 61,92-93,70%) (Tabel II). În același timp, pe baza prevalenței date de populația studiată, valoarea predictivă pozitivă a fost determinată a fi de 88,1% (95% CI, 74,37-96,02%), iar valoarea

predictivă negativă a avut o valoare mai mică de 57,89% (95). % CI, 40,82-73,69%). Curba caracteristicii de operare a receptorului (ROC) a fost trasată ulterior pentru GST-P1 și PSA pentru diagnosticarea PCa.

Leziunile PI-RADS și testarea metilării GST-P1 atunci când nivelurile de PSA se află într-o "zonă gri", oferă o mai bună specificitate și sensibilitate în comparație cu testarea unică. Testarea pacienților cu niveluri de PSA neconcludente, permite o diagnosticare mai precisă și mai puțin supradiagnosticare prin proceduri noninvazive, cum ar fi biopsiile repetate. Aceste rezultate susțin în continuare potențialul de îmbunătățire a diagnosticării prin studii imagistice intercalate și biomarkeri de prostată.

Atunci când este combinată cu testarea GST-P1, precizia prin metoda imagistică de diagnosticare a cancerului de prostată a crescut într-un mod semnificativ din punct de vedere statistic ($p=0,014$). Rezultatele din cadrul acestui studiu sugerează că prin combinarea a diferite metode de evaluare a pacienților, succesul sau rata de succes a unui diagnostic corect și la timp se îmbunătățește semnificativ, contribuind astfel inclusiv la stadializarea și terapia oncologică ulterior diagnosticării.

Cu toate acestea, există o nevoie de noi biomarkeri de prognostic și/sau diagnostic, care să permită o mai precisă stratificare, nu numai a riscului de PCa, ci și a riscului de recidivă clinică sau de monitorizare a progresiei tumorale. Unii dintre biomarkerii studiați au deja teste disponibile în comerț, alții sunt în curs de validare, iar alții necesită validare în seturi de date sau la pacienți cu eșantioane de dimensiuni mari și independente înainte de a fi utilizați clinic.

Asocierea dintre GSTP și cancer a fost încurajată de faptul că supraexpresia GSTP a fost observată în multe tipuri de cancer rezistente la chimioterapie. Cu toate acestea, din punct de vedere funcțional, s-a realizat că majoritatea medicamentelor anticancerigene sunt substraturi slabe pentru GSTP1, cu o constantă catalitică mai slabă pentru reacțiile de conjugare a GSTP1, prin urmare, atenția s-a îndreptat către implicarea GSTP în mai multe funcții celulare, în special în reglarea diferitelor kinaze și a procesului posttraducțional de S-glutationare a mai multor proteine.

Cercetarea în acest domeniu este deosebit de activă și promite să definească GST-uri specifice și rolul lor în cancer, sau forme polimorfe specifice de GST ca posibile ținte farmacologice.

Astfel, noi abordări metodologice vor permite direcționarea eforturilor medicilor într-un mod mai eficient, mai precis pentru a identifica adevăratul risc de prognostic, să ghideze managementul personalizat pentru a contribui la controlul bolii, și cu îmbunătățirea supraviețuirii și a calității vieții. Cancerul de prostată este una dintre cele mai importante patologii în oncologie. Nu există o terapie ideală pentru oricare dintre etapele sale și, chiar și astăzi, mulți pacienți suferă de boala în sine sau de efectele secundare ale tratamentului.

Biologia moleculară cuprinde diferite tipuri de cercetare, cum ar fi genomica, proteomica, epigenetica și fagii, care pot arăta în viitorul apropiat detaliile specifice ale inițierii și progresiei bolii.

Oamenii de știință caută permanent modalități mai bune de a diagnostica PCa, de a prezice care pacienți vor avea recurență după tratamentul inițial și de a stabili markeri mai buni ai debutului, progresiei și prognosticului bolii.

Bibliografie selectiva :

1. Dalpiaz O, Mitterberger M, Kerschbaumer A, Pinggera GM, Bartsch G, Strasser H. Anatomical approach for surgery of the male posterior urethra. BJU Int. 2008;
2. García-Cruz E., Ramón-Barceló C., Carrión-Puig R., y Alcaraz, A.; Multiparametric magnetic resonance imaging in prostate cancer detection. Archivos Españoles de Urología, 72(4), 2019;
3. Rasouli MA, Moradi G, Zareie B, Sofimajidpour H, Tozandehjani S, Zafari H, Gholami F, Shahsavari S, Hassani P, Mohammadian M. Overall survival and prognostic factors prostate cancer in Kurdistan Province-Iran: a population-based study (2011-2018). BMC Cancer. 2021 Dec 8;21(1):1314. doi: 10.1186/s12885-021-09078;
4. Stolzenbach LF, Deuker M, Collà-Ruvolo C, Nocera L, Tian Z, Maurer T, Tilki D, Briganti A, Saad F, Mirone V, Chun FKH, Graefen M, Karakiewicz PI. Differences between rural and urban prostate cancer patients. World J Urol. 2021 Jul;39(7):2507-2514. doi: 10.1007/s00345-020-03483-7;

5. Bhatia S, Landier W, Paskett ED, Peters KB, Merrill JK, Phillips J, Osarogiagbon RU. Rural-Urban Disparities in Cancer Outcomes: Opportunities for Future Research. *J Natl Cancer Inst.* 2022 Jul 11; 114(7):940-952. doi: 10.1093/jnci/djac030;
6. Stefanopol IA, Baroiu L, Chirila S, Miulescu M, Anghel L, Nechita L, Dinu CA, Stefanescu V, Bobeica C, Nechifor A, Tatu AL. The Influence of Living in Rural Areas on the Evolution and Management of Pediatric Ovarian Cystic Lesions: A Retrospective Study on a Cohort from South Eastern Romania. *Int J Gen Med.* 2022 May 27;15:5273-5284. doi: 10.2147/IJGM.S368202;
7. Suceveanu AI, Micu IS, Baltatescu GI, Petcu LC, Dobrin N, Brinzan C, Nitipir C, Mazilu L, Botea F, Herlea V, Voinea F, Suceveanu AP. Overexpression of Survivin-1, TAG-72 and HERC5 in patients diagnosed with hepatocellular carcinoma in the Black Sea coast geographical area. *Exp Ther Med.* 2021 Mar;21(3):284. doi: 10.3892/etm.2021.9715;
8. Santric V, Djokic M, Suvakov S, Pljesa-Ercegovac M, Nikitovic M, Radic T, Acimovic M, Stankovic V, Bumbasirevic U, Milojevic B, Babic U, Dzamic Z, Simic T, Dragicevic D, Savic-Radojevic A. GSTP1 rs1138272 Polymorphism Affects Prostate Cancer Risk. *Medicina (Kaunas).* 2020 Mar 13;56(3):128. doi: 10.3390/medicina56030128;
9. García-Cruz E, Otero JR, Ineva PA, Pérez LMM, Elías LP, Asensio AA. Robot-assisted aquablation for resection of benign prostatic hyperplasia: A series of cases. *J Clin Invest Surg.* 2020;5(1):18-23. doi: 10.25083/2559.5555/5.1/18.23;
10. Zhou X, Jiao D, Dou M, Chen J, Li Z, Li Y, Liu J, Han X. Association of glutathione-S-transferase p1 gene promoter methylation and the incidence of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2019 Aug;145(8):1939-1948. doi: 10.1007/s00432-019-02962-8;
11. Polanec SH, Bickel H, Wengert GJ, Arnoldner M, Clauser P, Susani M, Shariat SF, Pinker K, Helbich TH, Baltzer PAT. Can the addition of clinical information improve the accuracy of PI-RADS version 2 for the diagnosis of clinically significant prostate cancer in positive MRI? *Clin Radiol.* 2020 Feb;75(2):157.e1-157.e7. doi: 10.1016/j.crad.2019.09.139;
12. Tafuri A, Iwata A, Shakir A, Iwata T, Gupta C, et al. Systematic Biopsy of the Prostate can Be Omitted in Men with PI-RADS™ 5 and Prostate Specific Antigen Density Greater than 15. *J Urol.* 2021 Aug;206(2):289-297. doi: 10.1097/JU.0000000000001766;

13. Kornberg Z, Cowan JE, Westphalen AC, Cooperberg MR, Chan JM, Zhao S, Shinohara K, Carroll PR. Genomic Prostate Score, PI-RADS™ version 2 and Progression in Men with Prostate Cancer on Active Surveillance. J Urol. 2019 Feb;201(2):300-307. doi: 10.1016/j.juro.2018.08.047
14. Seraphin TP, Joko-Fru WY, Manraj SS, Chokunonga E, Somdyala NIM, et al. Prostate cancer survival in sub-Saharan Africa by age, stage at diagnosis, and human development index: a population-based registry study. Cancer Causes Control. 2021 Sep;32(9):1001-1019. doi: 10.1007/s10552-021-01453-x;
15. Marius Stan, Vladimir Botnarcu, Andra Iulia Suceveanu, Andreea Cristina Costea, Adrian Paul Suceveanu, Laura Mazilu, Ciprian Iorga, Tony Hangan, Corneliu Tudor, Dragos Epistatu, Sergiu Chirila, Viorel Gherghina, and Felix Voinea; Prostate Imaging Reporting and Data System score (PI-RADS) and Glutathione S-transferase P1 methylation status (GST-P1) in the diagnosis of prostate cancer patients with borderline PSA values; Journal of Mind and Medical Sciences: Vol. 9: Iss. 2, Article 13. DOI: <https://doi.org/10.22543/2392-7674.1354>;
16. Marius Stan, Vladimir Botnarcu, Andra-Iulia Suceveanu, Laura Mazilu, Daniel Ovidiu Costea, Adrian-Paul Suceveanu, Dragos Serban, Corneliu Tudor, Anca Mitroi, Costel Brinzan, Felix Voinea; Role of glutathione-S-transferase gene P1 in the diagnosis of prostate cancer in patients with ‘grey level’ prostate-specific antigen values; <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2022.11528/abstract>; 2022.

Lista lucrari publicate autor :

1. Marius Stan, Vladimir Botnarcu, Andra Iulia Suceveanu, Andreea Cristina Costea, Adrian Paul Suceveanu, Laura Mazilu, Ciprian Iorga, Tony Hangan, Corneliu Tudor, Dragos Epistatu, Sergiu Chirila, Viorel Gherghina, and Felix Voinea; Prostate Imaging Reporting and Data System score (PI-RADS) and Glutathione S-transferase P1 methylation status (GST-P1) in the diagnosis of prostate cancer patients with borderline PSA values; Journal of Mind and Medical Sciences: Vol. 9: Iss. 2, Article 13. DOI: <https://doi.org/10.22543/2392-7674.1354>;

2. Marius Stan, Vladimir Botnariuc, Andra-Iulia Suceveanu, Laura Mazilu, Daniel Ovidiu Costea, Adrian-Paul Suceveanu, Dragos Serban, Corneliu Tudor, Anca Mitroi, Costel Brinzan, Felix Voinea; Role of glutathione-S-transferase gene P1 in the diagnosis of prostate cancer in patients with 'grey level' prostate-specific antigen values; <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2022.11528/abstract>; 2022.