

**UNIVERSITATEA „OVIDIUS” DIN CONSTANȚA
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ
DOMENIUL MEDICINĂ
ANUL UNIVERSITAR 2024 - 2025**

TEZĂ DE DOCTORAT

**STUDII LA NIVEL CELULAR
ȘI MOLECULAR
ÎN CANCERUL DE PROSTATĂ
AVANSAT**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat: Prof.univ.dr. Mariana Așchie

Comisia de îndrumare și integritate academică:

Conf.univ.dr. Mariana Deacu

CS I dr. Anca-Florentina Mitroi

CS I dr. Georgeta-Camelia Cozaru

Doctorand: Mitu (căsăt. Ionescu) Cristina-Anita

CUPRINS

Motivația cercetării.....	4
I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	7
1.1. Epidemiologia cancerului de prostată	7
1.2. Biologia cancerului de prostată	7
1.3. Clasificarea și stadializarea cancerului de prostată	8
1.4. Diagnosticarea cancerului de prostată avansat	9
1.5. Mecanisme celulare și moleculare în cancerul de prostată avansat.....	10
1.6. Terapii inovative pentru cancerul de prostată avansat.....	11
II. CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	12
2.1. Metodologia cercetării.....	12
2.2. Rezultate și discuții	15
2.2.1. Studiul I: Caracterizarea clinico-morfo-histochimică a cazurilor de cancer de prostată la pacienții diagnosticați în SCAP din cadrul SCJU „Sf. Apostol Andrei” din Constanța	15
2.2.2. Studiul II: Caracterizarea micromediului tumoral și a proceselor biologice cu rol în tumorigeneza prostatică.....	16
2.2.3. Studiul III: Analiza interacțiunilor genetice și a căilor de semnalizare cu rol în cancerul de prostată avansat	21
3. Concluzii generale și direcții viitoare de cercetare	23
4. Originalitatea tezei de doctorat.....	24
Bibliografie selectivă	25

Teza de doctorat cuprinde: ▶229 de pagini, din care 52 pagini *Stadiul actual al cunoașterii* ▶ 65 de figuri, dintre care 22 în *Stadiul actual al cunoașterii* ▶ 28 de tabele, dintre care 2 în *Stadiul actual al cunoașterii* ▶ 235 de referințe bibliografice

Motivația cercetării

În ciuda progresului în îngrijirea medicală, cancerul în stadiu avansat reprezintă încă o problemă foarte comună. A avea cancer în stadiu avansat înseamnă pentru unii pacienți a avea o boală care nu mai este tratabilă. Pentru alții înseamnă a avea nesiguranță de a nu ști dacă boala se va trata.

Cancerul de prostată (CP) reprezintă la nivel mondial, o problemă majoră de sănătate publică datorită prevalenței, mortalității și morbidității ridicate. Deși în prezent este al doilea cel mai frecvent cancer în ansamblu, se estimează că până în 2035 vor exista peste 75.000 de noi cazuri de cancer de prostată în fiecare an, ceea ce îl plasează ca cea mai frecventă neoplazie în ansamblu. (1) Conform statisticilor, cancerul de prostată este rareori depistat înainte de vârsta 40 de ani; se apreciază că 6 din 10 cazuri sunt diagnosticate la bărbații cu vârsta de peste 65 de ani. Studiile au arătat că vârsta medie este de aproximativ 66 de ani, la momentul diagnosticului.(2)

În prezent, se observă o creștere a incidenței acestei patologii datorită îmbătrânirii populației și ca urmare a screeningului realizat pe scară largă. Important este să diagnosticăm și să intervenim terapeutic cât mai precoce pentru formele agresive și să nu se trateze radical tumorile fără impact clinic. Este esențial să dezvoltăm și să folosim biomarkeri de diagnostic și predictivi, pentru a diagnostica cancerul de prostată precoce, într-un stadiu cât mai incipient și totodată pentru a facilita alegerea unor scheme terapeutice optime, personalizate.(2, 3)

În ciuda prevalenței sale ridicate, mecanismul molecular implicat în apariția CP și progresia acestuia, nu este descifrat până la ora actuală. Date histopatologice și genetice arată că tumorile provin dintr-o singură celulă dar, pe măsură ce tumorile cresc, ele devin din ce în ce mai heterogene, datorită modificărilor genetice și fenotipice care apar în timpul tumorigenezei.(4)

Astfel, din cauza fenotipului cancerului de prostată care este heterogen, de multe ori diagnosticul și prognosticul sunt dificile: deseori este vorba de o tumoră multi-focală, care prezintă mai mult decât un grad histologic și frecvent este juxtapus / combinat cu hiperplazie benignă de prostată (5,6). Este absolut necesar în cazul pacienților cu CP avansat, care au prin definiție un prognostic infaust, să identificăm biomarkeri ai răspunsului la tratament, lucru care se traduce în final în alegerea unor terapii personalizate, centrate pe pacient și pe scăderea costurilor prin evitarea utilizării medicației pe conceptul „One Size Fits All”.

În ciuda progreselor înregistrate în identificarea mecanismelor patogene implicate în procesul neoplazic, în prezent, studiile care au ca scop identificarea unor biomarkeri utili în alegerea optimă a tratamentului pentru pacienții cu CP avansat sunt de mare actualitate (6), iar prin acestea se urmărește identificarea unor mecanisme celulare și moleculare, cu specificitate și sensibilitate crescută față de biomarkerii standard (PSA - antigen specific prostatic, TR - tușeu rectal și țesut prostatic biptic pentru realizarea HP- examenului histopatologic), în vederea obținerii diagnosticului precoce și a unui factor de prognostic de mare acuratețe, în cancerul de prostată. (7)

Cercetările genomice recente au transformat înțelegerea cancerului de prostată, oferind noi instrumente pentru diagnosticarea, monitorizarea și tratarea acestei boli. (8) Deși încă există provocări și limitări, progresul în acest domeniu promite să îmbunătățească semnificativ îngrijirea pacienților și să deschidă calea către medicina personalizată în oncologie.

Prin urmare, este imperativă îmbunătățirea metodelor de diagnostic prin explorarea unor biomarkeri cu potențial crescut în detectarea formelor de cancer de prostată rezistente la tratament ce pot beneficia de terapie curativă țintită sau pentru îmbunătățirea globală a prognosticului bolii.

Evaluarea profilului molecular al acestei patologii va permite stabilirea unui plan de management adecvat particularităților clinice și biologice pentru ca fiecare pacient să beneficieze de tratamente personalizate pentru subtipul molecular de cancer de prostată. Prin înțelegerea detaliată a profilului genomic al fiecărui pacient, medicina de precizie devine o realitate, permițând tratamente adaptate specific fiecărui individ și îmbunătățind astfel prognosticul și calitatea vieții pacienților.

În partea generală a lucrării, am prezentat stadiul actual asupra cunoștințelor existente în literatura de specialitate despre patologia abordată, realizând o trecere în revistă a cunoștințelor existente privind epidemiologia și biologia cancerului de prostată, inclusiv incidența și prevalența bolii la nivel global și național, precum și factorii de risc și etiologia bolii. Se pune accent pe aspectele anatomice și fiziologice ale prostatei, precum și pe mecanismele moleculare și celulare implicate în procesul de carcinogeneză.

Secțiunea care vizează cercetarea personală, descrie metodologia cercetării și rezultatele obținute din studii clinice realizate pe pacienți diagnosticați cu cancer de prostată în stadiu avansat. Studiul a fost realizat în colaborare cu Spitalul Clinic Județean de Urgență Constanța și centrul de cercetare CEDMOG, utilizând echipamente moderne de biologie moleculară pentru a evalua expresia biomarkerilor implicați în carcinogeneză.

Teza include trei studii principale. Primul studiu caracterizează clinic și morfo-histochimic pacienții cu cancer de prostată. Al doilea studiu explorează micromediul tumoral și rolul proceselor biologice în progresia bolii, iar al treilea se concentrează pe analiza interacțiunilor genetice și de semnalizare implicate în cancerul de prostată avansat. Aceste studii au scopul de a corela datele clinice și moleculare pentru a obține o înțelegere detaliată a mecanismelor de progresie tumorală și pentru a îmbunătăți abordările terapeutice.

Rezultatele fiecărui studiu sunt discutate cu datele din literatura de specialitate, iar la finalul fiecărui studiu sunt extrase cele mai relevante concluzii, susținute de observațiile prezentate.

Teza se remarcă printr-o iconografie bogată, grafice, imagini și tabele concludente pentru a prezenta cât mai clar rezultatele obținute.

Teza se încheie cu „Bibliografia generală”, în care este expusă în ordine alfabetică, literatura consultată, la sfârșitul fiecărui capitol al tezei existând o bibliografie selectivă, în care autorii sunt prezentați în ordinea citării în text.

Valoarea rezultatelor obținute mi-a permis să transpun rezultatele studiilor realizate în cadrul acestei cercetări doctorale în articole științifice care au fost publicate în reviste de specialitate cotate WoS, toate cu factor de impact ridicat peste 3 (cum ar fi: *Biomedicine*, FI = 4.7; *International Journal of Molecular Sciences* și *Biomedicines*, FI = 4.9) sau să le prezint în cadrul unor conferințe internaționale importante, reflectând impactul și relevanța cercetărilor pentru comunitatea științifică.

Astfel, teza oferă o perspectivă profundă și complexă asupra cancerului de prostată avansat, cu potențialul de a influența direcțiile viitoare de cercetare și de a îmbunătăți abordările terapeutice existente.

I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

1.1. *Epidemiologia cancerului de prostată*

Cancerul de prostată reprezintă cel mai frecvent cancer diagnosticat la bărbați în multe țări dezvoltate. Potrivit Globocan 2022 (1), cancerul de prostată se situează pe locul unu dintre cancerele diagnosticate la bărbați la nivel global, cu aproximativ 1,46 milioane de noi cazuri diagnosticate anual fiind pe locul trei printre cauzele de deces prin neoplasm la bărbați la nivel global. În 2022, aproximativ 397.430 de bărbați au murit din cauza cancerului de prostată la nivel mondial. (1, 2). Aproximativ 8.000 de cazuri noi de cancer de prostată au fost diagnosticate anual în România și au fost raportate 3.000 de decese anual din cauza cancerului de prostată. Incidența CP este într-o creștere proporțională cu vârsta, triplându-se după vârsta de 50 de ani conform statisticilor. Deși incidența acestuia este în creștere, mortalitatea cauzată de cancerul de prostată este în scădere, în principal din cauza supradiagnosticării unor boli care nu ar fi devenit evidente din punct de vedere clinic în timpul vieții pacientului. (2, 3)

1.2. *Biologia cancerului de prostată*

Biologia cancerului de prostată presupune implicarea unor procese complexe la nivel molecular și celular. Prostata este alcătuită din două tipuri principale de celule: celulele epiteliale, care formează glandele și ductele prostatei, și celulele stromale, care formează țesutul de susținere. Cancerul de prostată începe de obicei în celulele epiteliale ale glandelor prostatei (adenocarcinom). Acest proces implică transformarea celulelor normale în celule canceroase, care își pierd controlul asupra creșterii și diviziunii.(8)

Mecanismele moleculare și celulare implicate în carcinogeneză

Carcinogeneza prostatică este un proces complex care implică o serie de mecanisme moleculare și celulare. Aceste mecanisme contribuie la dezvoltarea și progresia cancerului de prostată și includ modificări genetice, epigenetice și de semnalizare celulară.

Factorii de creștere și principalele căi de semnalizare celulară

- *Hormonii androgeni*: testosteronul și alți androgeni sunt esențiali pentru dezvoltarea și menținerea prostatei. Celulele canceroase de prostată sunt de obicei sensibile la acești hormoni. Prostata este stimulată de androgeni, iar proliferarea celulelor canceroase este adesea dependentă de aceștia.(9)

- *Receptori pentru androgeni (AR)*: receptorii pentru androgeni joacă un rol crucial în dezvoltarea cancerului de prostată. Acești receptori se leagă de androgeni și activează genele care promovează creșterea celulară. În multe cazuri de cancer de prostată, acești receptori sunt supraexpresați sau mutați, ceea ce duce la o proliferare necontrolată a celulelor. (10)
- *Căi de semnalizare*: alte căi de semnalizare, cum ar fi calea PI3K/Akt și calea MAPK, sunt de asemenea implicate în progresia cancerului de prostată. Aceste căi sunt implicate în procese precum proliferarea celulară, supraviețuirea celulară și metastazare. (11,12)

Micromediul tumoral

Microambientul tumoral (sau microambientul tumorii) joacă un rol crucial în carcinogeneza prostatică, influențând dezvoltarea, progresia și metastazarea cancerului de prostată. (13) Acest mediu complex include nu doar celulele tumorale, dar și o varietate de componente non-tumorale, cum ar fi celulele stromale, vasele de sânge, matricea extracelulară și celulele sistemului imunitar. (14,15) Importante în tumorigeneză sunt componentele imune celulare ale micromediului tumoral (TME), inclusiv celulele T helper intacte, foarte activate, limfocitele T citotoxice (CTL), macrofagele asociate tumorii (TAM) M1 și subseturile de ucigași naturali (NK). După inițierea oncogenezei, respingerea imunologică a tumorilor este mediată în mare măsură de celulele T care infiltrează tumora. Activarea cronică determină reglarea în creștere a moleculelor asociate epuizării, inclusiv ligandul de moarte programată 1 (PD-L1), antigenul 4 asociat limfocitelor T citotoxice (CTLA-4) și imunoglobulina celulelor T și proteina 3 care conține domeniul mucinului (TIM3). (16, 17, 18) Microambientul tumoral în cancerul de prostată joacă un rol esențial în carcinogeneză, influențând dezvoltarea, progresia și metastazarea tumorii prin intermediul interacțiunilor complexe dintre celulele tumorale și componentele non-tumorale ale microambientului. (19,20) Înțelegerea acestor interacțiuni poate oferi noi perspective asupra mecanismelor tumorale și poate ghida dezvoltarea unor strategii terapeutice mai eficiente. (20-22)

1.3. Clasificarea și stadializarea cancerului de prostată

Stadializarea și clasificarea cancerului de prostată sunt esențiale pentru a determina tratamentul adecvat și prognosticul bolii. (22) Aceste procese implică evaluarea extinderii tumorii, a implicării ganglionilor limfatici și a prezenței metastazelor. (23, 24) Există mai multe sisteme utilizate pentru clasificarea și stadializarea cancerului de prostată, printre care cele mai

importante sunt sistemul TNM, sistemul de scor Gleason și stadializarea în funcție de PSA. (25) Stadializarea cancerului de prostată este crucială pentru (26,27):

- planificarea tratamentului: determină tipul de tratament adecvat (chirurgie, radioterapie, terapie hormonală, chimioterapie etc.).
- prognostic: oferă informații despre prognosticul bolii și șansele de supraviețuire.
- evaluarea răspunsului la tratament: ajută la monitorizarea eficienței tratamentului și ajustarea acestuia în funcție de răspunsul pacientului.

Diagnosticul precoce și stadializarea corectă sunt esențiale pentru managementul eficient al cancerului de prostată. Controlul medical regulat și testarea PSA sunt metode importante pentru depistarea precoce a cancerului de prostată.

1.4. Diagnosticarea cancerului de prostată avansat

Diagnosticarea cancerului de prostată avansat implică o serie de metode și tehnici pentru a confirma prezența bolii, a determina extensia acesteia și a planifica tratamentul adecvat. (24-28)

Biomarkeri de diagnostic și prognostic în cancerul de prostată

Biomarkerii sunt extrem de importanți în contextul cancerului de prostată, având multiple aplicații în diagnostic, prognoză, monitorizarea tratamentului și personalizarea terapiei (24 – 30). Aceștia pot fi serici, urinari sau tisulari și oferă informații valoroase despre prezența, extinderea și agresivitatea bolii. (29)

- **Diagnostic:** biomarkerii pot ajuta la identificarea cancerului de prostată în stadii incipiente, atunci când simptomele clinice nu sunt evidente. De exemplu, antigenul specific prostatic (PSA) este cel mai utilizat biomarker în screening-ul cancerului de prostată. Cu toate acestea, PSA nu este perfect, deoarece poate fi influențat și de alte afecțiuni, cum ar fi hiperplazia benignă de prostată.

Specificitate și sensibilitate: biomarkerii serici și urinari oferă un diagnostic mai precis, reducând necesitatea biopsiilor inutile.

Non-invazivitate: testele urinare și de sânge sunt mai puțin invazive comparativ cu biopsiile tisulare.

- **Prognostic:** de asemenea, biomarkerii pot ajuta la evaluarea agresivității cancerului de prostată, ajutând medicii să prezică evoluția bolii și pot ajuta la estimarea riscului de recurență după tratament.

Predicția agresivității tumorale: biomarkerii tisulari, cum ar fi scorul Gleason și Ki-67, ajută la evaluarea agresivității cancerului.

Monitorizarea evoluției bolii: PSA și alți markeri serici sunt utilizați pentru a monitoriza răspunsul la tratament și progresia bolii.

➤ **Planificarea tratamentului:**

Selecția terapiei: markerii moleculari și genetici, cum ar fi AR-V7 și PTEN, pot ghida selecția tratamentului personalizat.

Predicția rezistenței la tratament: în anumite cazuri, cancerul de prostată poate deveni rezistent la tratamentele convenționale, iar biomarkerii pot ajuta la identificarea acestor cazuri. De exemplu, în cazul cancerului de prostată rezistent la castrare (CRPC), biomarkerii care indică mutații genetice specifice sau semnalizare celulară alterată pot sugera necesitatea unor terapii alternative.

1.5. *Mecanisme celulare și moleculare în cancerul de prostată avansat*

Cancerul de prostată avansat este caracterizat de o serie de mecanisme celulare și moleculare complexe care contribuie la progresia bolii, rezistența la tratament și metastazare. (1,24-30)

Studii genomice

Diverse studii au identificat mutații în gene cheie, mutații recurente în gene cum ar fi **TP53**, **PTEN**, **BRCA1/2**, **RB1**, și **PIK3CA**. Aceste mutații joacă un rol critic în promovarea instabilității genomice și în progresia cancerului. Amplificări și deleții genice, de exemplu, amplificările genei **MYC** și delețiile în genele **PTEN** și **RB1** sunt frecvent observate în cancerul de prostată avansat. Fuzionarea **TMPRSS2-ERG** (27), este una dintre cele mai comune fuzionări genice în cancerul de prostată, prezentă în aproximativ 50% dintre cazurile de cancer de prostată. Aceasta fuzionare activează calea de semnalizare ERG, contribuind la oncogeneză.

Studii epigenetice

Metilarea ADN-ului (25-30). Un mecanism implicat ar fi hipermetilarea promotorului. Genele supresoare tumorale cum ar fi **GSTP1** sunt frecvent hipermetilate în cancerul de prostată, ceea ce duce la scăderea expresiei acestora. Studii globale de metilare a ADN-ului au evidențiat modele specifice de metilare asociate cu progresia și agresivitatea tumorii.

Modificări ale histonelor (25-30). Un alt mecanism incriminat ar fi acetilarea și metilarea histonelor. Modificările post-tranlaționale ale histonelor, cum ar fi acetilarea și

metilarea, joacă un rol în reglarea expresiei genelor. De exemplu, metilarea **H3K27me3** este asociată cu reprimarea genelor supresoare tumorale. Alte studii au evidențiat rolul unor enzime modificatoare de histone. Dereglarea enzimelor care modifică histonele, cum ar fi **HDAC** și **EZH2**, contribuie la oncogeneză și reprezintă ținte terapeutice potențiale.

ARN-uri ne-codante (26, 30). Dereglarea microARN-urilor (**miRNA-uri**), cum ar fi **miR-21** și **miR-221**, este implicată în reglarea proliferării celulare, apoptozei și metastazării.

1.6. Terapii inovative pentru cancerul de prostată avansat

Tratamentul cancerului de prostată adesea implică terapie de privare androgenică pentru a reduce nivelurile de androgeni sau pentru a bloca receptorii pentru androgeni. Cu toate acestea, multe tumori dezvoltă rezistență la această terapie în timp, prin mecanisme precum mutații ale receptorilor pentru androgeni sau activarea căilor alternative de semnalizare. (1)

Cercetările recente includ dezvoltarea de strategii de imunoterapie și terapie genică pentru tratamentul cancerului de prostată, dar acestea sunt încă în faze experimentale și în dezvoltare. (24,31) Medicina personalizată și utilizarea biomarkerilor reprezintă o abordare inovatoare în tratamentul CP avansat, permițând personalizarea terapiei pe baza caracteristicilor moleculare și genetice ale fiecărui pacient.

Perspective viitoare

Biopsia lichidă și medicina de precizie vor revoluționa diagnosticul și monitorizarea cancerului de prostată, permițând detectarea precoce a recurenței și ajustarea terapiei în timp real. Cercetările viitoare se concentrează pe combinații de tratamente care să depășească mecanismele de rezistență. O altă soluție o reprezintă utilizarea inteligenței artificiale (AI) în diagnostic și tratament. Algoritmii AI pot analiza date moleculare și imagistice pentru a ghida deciziile terapeutice. O direcție importantă o reprezintă dezvoltarea de noi ținte terapeutice. Studiile asupra metabolismului tumoral și a microambientului ar putea duce la noi tratamente mai eficiente. Cancerul de prostată rămâne o provocare majoră, dar progresele tehnologice și medicina personalizată oferă speranțe pentru **diagnostic mai precis, tratamente mai eficiente și o îngrijire mai accesibilă** pentru toți pacienții. Medicina personalizată și utilizarea biomarkerilor reprezintă o abordare promițătoare pentru îmbunătățirea tratamentului cancerului de prostată avansat. Prin identificarea caracteristicilor moleculare specifice ale fiecărui pacient, este posibilă personalizarea terapiei pentru a obține cele mai bune rezultate. Continuarea cercetării și dezvoltarea de noi biomarkeri și terapii țintite vor fi esențiale pentru avansarea acestei abordări și pentru îmbunătățirea calității vieții pacienților.

II. CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

2.1. Metodologia cercetării

Studiul de față își propune să realizeze o analiză clinico-morfologică detaliată a cancerelor de prostată avansate prin studii la nivel celular și molecular, cu scopul de a obține perspective noi și profunde asupra procesului lor oncogenetic. Prin această cercetare, mi-am propus să identific și să corelez caracteristicile clinice și morfologice ale tumorilor prostatice avansate cu principalele mecanisme moleculare și genetice care le conduc dezvoltarea și progresia. Pentru atingerea obiectivelor stabilite, cazurile au fost selectate din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Constanța „Sf. Apostol Andrei”. Am selectat metode și instrumente de lucru cu un grad ridicat de relevanță pentru fenomenul studiat (Tabel 1).

Studii realizate:

Studiu de tip longitudinal, retrospectiv, indirect – care a permis formarea **lotului de studiu I**.

Studiu de tip transversal, prospectiv, direct – care a permis formarea **loturilor de studiu II și III**.

Lotul I a fost obținut în urma unui studiu de tip longitudinal, retrospectiv indirect, fiind alcătuit pe baza datelor extrase din foile de observație ale Serviciului Clinic de Anatomie Patologică (SCAP) și a informațiilor obținute de la departamentul de statistică al SCJU „Sf. Apostol Andrei” din Constanța, acoperind o perioadă de 5 ani (2019 - 2023).

Criterii de includere:

- ✓ Pacienții au un diagnostic cert de cancer de prostată, confirmat prin biopsie și evaluare histopatologică.
- ✓ Disponibilitatea datelor clinice complete.
 - Pacienții trebuie să aibă un istoric medical detaliat și accesibil, incluzând informații despre tratamentele anterioare și actuale (TPA, chimioterapie, radioterapie, intervenții chirurgicale), precum și răspunsul la acestea.
 - Datele privind nivelurile PSA, imagistica de stadializare, și alte evaluări clinice sunt necesare pentru corelarea cu parametrii morfologici și moleculari.
- ✓ Consimțământul informat al tuturor participanților, după ce aceștia au fost complet informați despre scopul, metodele, riscurile și beneficiile studiului.

Tabel 1 - Metode de lucru folosite în studiu – designul cercetării

Nr.	Studiul	Nr. Cazuri	Metode
1.	STUDIUL INDIRECT RETROSPECTIV (lotul I) ✚ <i>Caracterizarea clinico-morfologică a cazurilor de cancer de prostată</i>	1925 cazuri cu patologie prostatică (2019 – 2023) ↓ 440 cazuri de tumori maligne de prostată ↓ 96 cazuri analizate	• Colectarea și analiza datelor din dosarele medicale electronice (programul Hipocrat) • Extracția datelor clinice și demografice: datele precum vârsta, istoricul medical, nivelurile PSA, stadiul bolii, și tratamentele anterioare, dozări hormonale, probe inflamatorii, date imagistice etc. • Studiarea registrelor din cadrul SCAP pentru identificarea cazurilor de cancer de prostată • Analize statistice • Utilizarea registrelor naționale și internaționale de cancer pentru realizarea comparațiilor
2.	STUDIUL DIRECT PROSPECTIV (lotul II) ✚ <i>Evaluarea micromediului tumoral și a proceselor biologice cu rol în tumorigeneza prostatică</i>	80 cazuri (40 cazuri CaP și 40 cazuri HBP)	• Colectarea și analiza datelor clinico-morfologice: datele precum vârsta, istoricul medical, nivelurile PSA, stadiul bolii, și tratamentele anterioare pot fi extrase sistematic pentru a fi utilizate în analize longitudinale. • Utilizarea probelor biologice arhivate (țesuturi incluse în blocuri de parafină) • Analiza imunohistochimică a cazurilor investigate • Studii moleculare de genomică și proteomică • Analize statistice
3.	Studiu direct prospectiv (lotul III) ❖ <i>Analiza interacțiunilor genetice și de semnalizare implicate în cancerul de prostată avansat</i>	43 cazuri CaP avansat	• Colectarea și analiza datelor clinico-morfologice: datele precum vârsta, istoricul medical, nivelurile PSA, stadiul bolii, scorul Gleason etc.. • Utilizarea probelor biologice arhivate (țesuturi incluse în blocuri de parafină) • Analiza imunohistochimică a cazurilor investigate • Studii moleculare de citogenetică prin tehnica FISH • Analize statistice

Loturile II / III s-au format printr-un *studiu direct, prospectiv* din cazuri tratate în cadrul Secției Clinice de Urologie, din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență „Sf. Apostol Andrei” din Constanța.

Criterii de includere:

- ✓ Pacienții au un diagnostic de cancer de prostată avansat confirmat, documentat prin biopsie și evaluare histopatologică.
 - Avansarea bolii poate fi definită fie prin metastaze (de exemplu, metastaze osoase sau la alte organe), fie prin progresia locală a tumorii care nu mai poate fi tratată eficient prin intervenții chirurgicale sau radioterapie localizată.
- ✓ Participanții sunt în stadii avansate ale bolii, cum ar fi stadiul III sau IV (conform sistemului TNM), sau să prezinte cancer de prostată rezistent la castrare (CRPC).
 - Pacienții cu semne de progresie a bolii sub terapie de privare de androgeni (TPA) sau chimioterapie ar fi prioritari pentru includere.
- ✓ Acces la probe biologice adecvate de țesut tumoral pentru analize morfologice și moleculare.
 - Acestea pot include biopsii recente sau țesut tumoral inclus în blocuri de parafină păstrate în condiții corespunzătoare pentru studii ulterioare.
 - Mostrele ar trebui să fie de calitate suficientă pentru a permite evaluarea histologică detaliată și extragerea de material genetic și proteic pentru analize ulterioare.
- ✓ Excluderea altor tipuri de malignități active pentru a evita interferențele în rezultatele studiului.
 - Această excludere ajută la concentrarea exclusivă asupra mecanismelor specifice cancerului de prostată avansat.
- ✓ Consimțământul informat al tuturor participanților, după ce aceștia au fost complet informați despre scopul, metodele, riscurile și beneficiile studiului.

Diagnosticul histopatologic a fost efectuat de către medicii anatomopatologi din cadrul SCAP al SCJU Constanța. Toate imaginile au fost digitalizate folosind scannerul automat TISSUEScope 4000XT produs de Huron Technologies din dotarea Laboratorului de Microscopie virtuală al Centrului CEDMOG. Determinările de genomică și proteomică au fost realizate în laboratoarele Centrului CEDMOG al Universității „Ovidius” din Constanța.

2.2. Rezultate și discuții

2.2.1. Studiul I: Caracterizarea clinico-morfo-histochimică a cazurilor de cancer de prostată la pacienții diagnosticați în SCAP din cadrul SCJU „Sf. Apostol Andrei” din Constanța

Prin acest studiu mi-am propus să identific factorii predictivi care îmbunătățesc diagnosticul cancerului de prostată și care pot avea un rol predictiv pentru evoluția către forme agresive, respectiv pentru o atitudine terapeutică adecvată, asociat prognosticului fiecărui caz. De asemenea, un alt obiectiv a fost analizarea rolului predictiv al raportului neutrofile/limfocite (NLR) în prognosticul oncologic al pacienților cu cancer de prostată localizat și local avansat, la care a fost practică prostatectomie radicală (PR).

Pe baza informațiilor obținute din registrele din cadrul SCAP al SCJU „Sf. Apostol Andrei” din Constanța și sistemul informatic al spitalului, am identificat un număr de 96 cazuri de cancer de prostată investigate și diagnosticate în perioada 2019 – 2023, care au întrunit criteriile de includere în studiu: diagnostic confirmat de cancer de prostată (localizat + avansat, la care a fost practică prostatectomie radicală), documentat prin biopsie și evaluare histopatologică; date clinico-paraclinice disponibile, valori PSA sugestive (PSA peste 10 ng/mL), imagistica de stadializare și consimțământul informat semnat de către pacient. Au fost preluate din dosarele electronice ale pacienților toate datele clinice necesare pentru corelarea cu parametrii morfologici și moleculari. În acest interval au fost diagnosticate 440 de tumori maligne dintre care cele mai multe au fost diagnosticate în anul 2019 (115 cazuri), iar cele mai puține în anul 2021 (64 de cazuri). Au fost diagnosticate 266 de leziuni benigne pseudoneoplazice de prostată în perioada 2019 - 2023. Dintre acestea, cele mai multe au fost în anul 2020 (65 de cazuri), iar cele mai puține în anul 2023 (41 de cazuri).

Rezultatele obținute confirmă că inflamația joacă un rol în promovarea metastazelor în cancerul de prostată. Acest lucru sugerează că inflamația cronică poate contribui la diseminarea tumorală prin crearea unui microambient favorabil migrației celulare și invaziei. Cu toate acestea, inflamația nu pare să influențeze caracteristicile intrinseci ale tumorii, cum ar fi scorul Gleason sau stadiul tumoral, subliniind importanța microambientului tumoral în progresia bolii. Pentru pacienții cu un NLR crescut și metastaze ganglionare dovedite, limfadenectomia supraextinsă poate avea potențialul de a îmbunătăți rezultatele oncologice.

Analiza simultană a unui panou de biomarkeri pentru a prezice stadiul patologic reprezintă un punct forte al prezentului studiu, dar, cu toate acestea, atunci când analizăm

rezultatele cercetării, trebuie să ținem cont de caracteristicile grupului, numărul redus de cazuri incluse în evaluare și posibilitatea combinării variabilelor preoperatori sau a includerii altor factori de risc care pot face o predicție de mare precizie în ceea ce privește stadiul patologic final.

2.2.2. Studiul II: Caracterizarea micromediului tumoral și a proceselor biologice cu rol în tumorigeneza prostatică

Heterogenitatea intratumorală a prostatei, rezultată din plasticitatea epitelial-mezenchimală, contribuie la răspunsul limitat al tumorii la tratamentele convenționale, subliniind importanța utilizării biomarkerilor pentru a detecta și analiza această variabilitate într-un mod eficient și rapid. Identificarea și monitorizarea acestor biomarkeri sunt esențiale pentru îmbunătățirea prognosticului și a supraviețuirii pacienților. Analiza citometrică în flux a ploidiei și a ciclului celular, împreună cu evaluarea glicoproteinelor de adeziune esențiale pentru proliferarea celulară și apoptoza, oferă o metodă rapidă și eficientă pentru măsurarea caracteristicilor micromediului tumoral (TME). Citometria în flux măsoară conținutul de ADN pentru a determina frecvența celulelor în diferitele etape ale ciclului celular (G0/G1, S, respectiv G2/M) și evaluează ploidia ADN-ului. Evidența aneuploidiei servește ca un marker al prezenței tumorii, oferind indicii importante privind progresia tumorală și eficacitatea tratamentului. Integrarea acestor tehnici în practica clinică poate facilita o mai bună înțelegere a dinamicii tumorii și poate contribui la dezvoltarea unor strategii terapeutice mai adaptate nevoilor individuale ale pacienților.

Prin urmare, în studiul prezent, *am urmărit caracterizarea micromediului tumoral și a proceselor biologice cu rol în tumorigeneza prostatică și realizarea de corelații între parametrii studiați pentru a evidenția rolul lor în carcinogenza prostatică*

În acest studiu - **Lotul II de studiu** - au fost incluse 80 de cazuri de tumori de prostată de la pacienți *diagnosticați cu cancer de prostată (CaP) fără tratament (n = 40) și pacienți cu hiperplazie benignă de prostată (HBP) fără tratament (n = 40)*. Probele de țesut adiacent nemalign, recuperate de la pacienți cu cancer de prostată (CaP) sau HBP, au fost utilizate ca martori (controale). Țesuturile de CaP, HBP și martor, au fost utilizate pentru evaluarea infiltrației celulelor T, CD34, și indicele de proliferare nucleară Ki-67 prin metode de imunohistochimie (IHC) în cadrul SCAP, respectiv pentru analize prin citometrie în flux, incluzând evaluarea conținutului de ADN și a ciclului celular, apoptozei celulare, autofagiei și

pinozei, ROS și expresia biomarkerilor CD34, CD61 și CD42b, la Platforma de Biologie Celulară, CEDMOG, Universitatea „Ovidius” din Constanța.

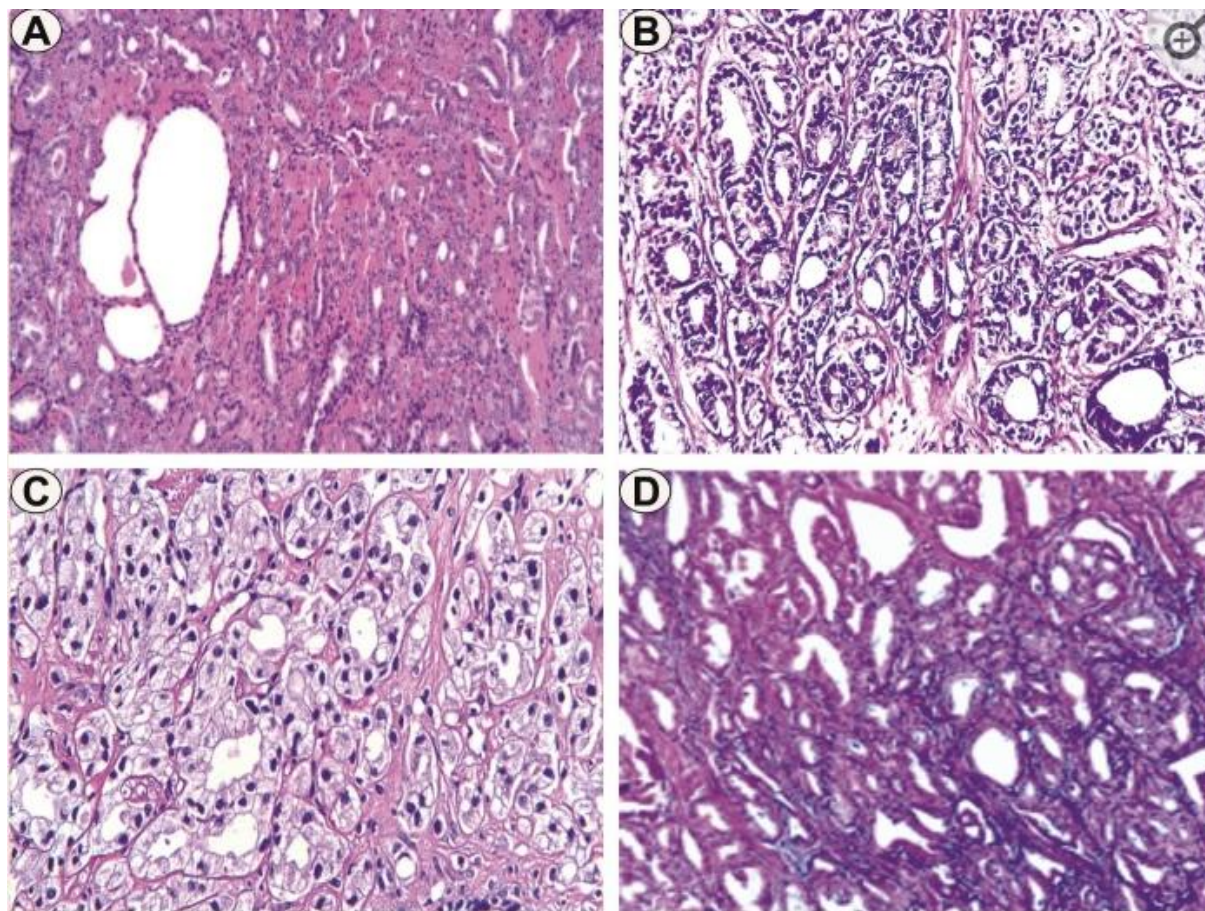


Fig.1 (A-D) - Adenocarcinom de prostată. A. Patternuri convenționale și atrofice, GS 6 (3+3)/ISUP 1, colorare HE, $\times 200$; B. Pattern convențional, GS 7 (3+4)/ISUP 2, colorare HE, $\times 400$; C. Patternuri de glandă spumoasă, GS 7 (3+4)/ISUP 2, colorare HE, $\times 400$; D. Patterni convenționali, GS 7 (4+3)/ISUP 3, colorare HE, $\times 200$;

Studiul a confirmat utilitatea citometriei în flux pentru analiza ciclului celular și ploidiei ADN în cancerul de prostată (PCa) și hiperplazia benignă de prostată (HBP). Rezultatele au arătat că un procent semnificativ de cazuri de PCa și HBP sunt aneuploide, cu o distribuție variată a ploidiei, inclusiv hipodiploidie, hiperdiploidie și tetraploidie. Tumorile cu un procent mare de celule în faza S ($\geq 12.0\%$) au fost corelate cu un risc crescut de recidivă și deces, în timp ce tumorile cu faza S scăzută ($< 7.0\%$) au prezentat un risc mai mic. Aceste evaluări pot fi utile în stratificarea pacienților și în ghidarea deciziilor terapeutice. O prevalență ridicată a celulelor în faza S poate sugera o proliferare necontrolată, contribuind la dezvoltarea unei tumori agresive. Acest lucru ar putea servi ca un alt biomarker nefavorabil, reflectând potențialul mare de creștere și diseminare a celulelor tumorale.

În HBP, rata apoptozei este relativ echilibrată, dar mai mică decât rata proliferării, contribuind la mărirea benignă a prostatei. În adenocarcinomul de prostată, rata apoptozei este mult redusă, ceea ce permite celulelor canceroase să supraviețuiască și să se prolifereze.

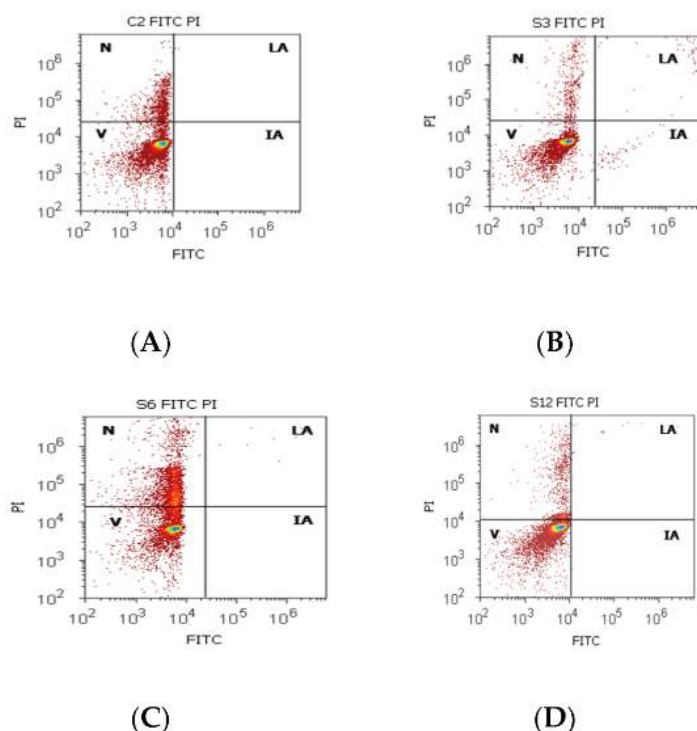


Fig.2 (A-D) - Apoptoză celulară prin colorarea dublă cu anexină V-FITC/iodură de propidiu (PI). Viabilitate: (A) 83,50%; (B) 94,72%; (C) 68,79%; (D) 87,90%; **Apoptoză incipientă (IA):** (A) 0,00%; (B) 0,54%; (C) 0,005%; (D) 0,025%; **Apoptoză tardivă (LA):** (A) 0,00%; (B) 0,49%; (C) 0,07%; (D) 0,22%; **Necroză (n):** (A) 17,12%; (B) 4,23%; (C) 31,13%; (D) 11,85%. **Legendă:** A, țesut prostatic nemalign adiacent țesutului hiperplazic nodular; B, țesut prostatic adenoleiomiom, hiperplazie inflamatorie cronică; C, țesut tumoral malign de prostată; D, HBP.

Ca biomarker prognostic, apoptoză tardivă sugerează un rezultat clinic mai nefavorabil, ceea ce poate ajuta la stratificarea pacienților în funcție de riscul evoluției bolii.

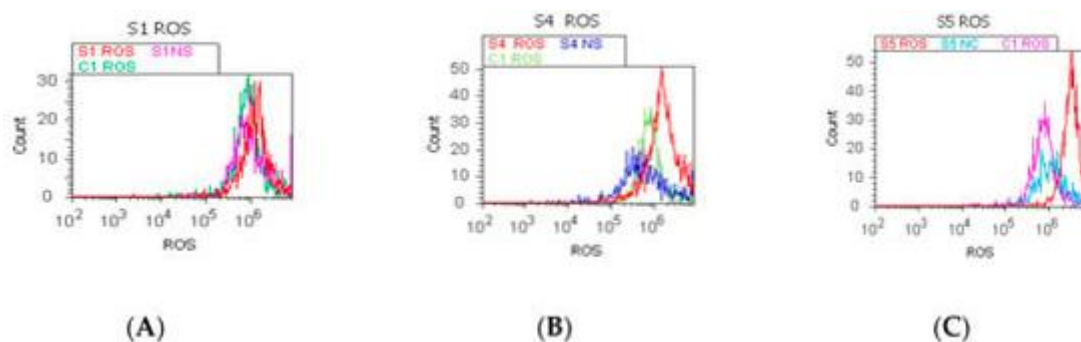


Fig. 3 - Modificări ale stresului oxidativ în probele HBP (S5) și ADK (S4) versus control (S1). ROS: D- 30×10^6 ; E- 51×10^6 ; F- 28×10^7 ; C1- 35×10^6 .

Studiul a evidențiat importanța evaluării parametrilor de proliferare, apoptoză și aderență celulară în cancerul de prostată. De asemenea, a subliniat necesitatea unor strategii terapeutice care să includă medicamente anti-angiogenice și imunoterapie pentru a îmbunătăți prognosticul și pentru a răspunde mai bine la tratamentele existente.

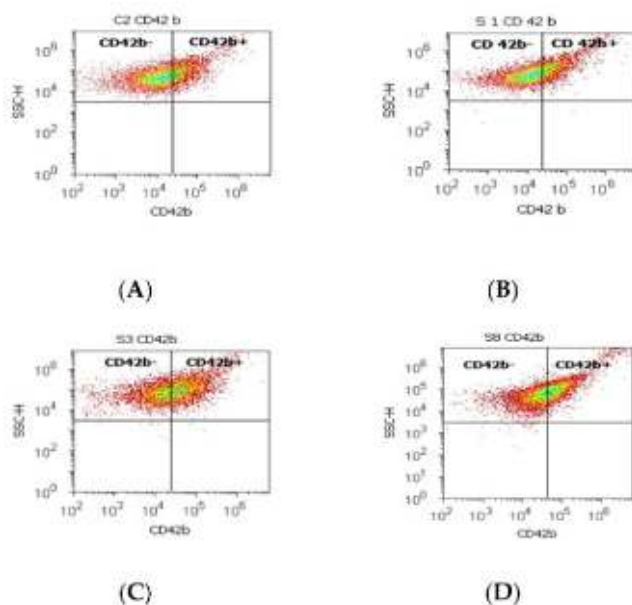


Fig.4 (A-D) - Medierea integrală a agregării trombocitelor la celulele tumorale și endoteliale prin evidențierea populațiilor de glicoproteine pozitive și negative (CD42b-/CD42b+) cu colorație CD 42b-PE. Populația CD42b+: (A) 25,80 %; (B) 16,79%; (C) 41,10%; (D) 39,74%; CD42b- populație: (A) 73,08%; (B) 82,88%; (C) 57,58%; (D) 57,23%. Legendă: (A) țesut prostatic nemalign adiacent țesutului hiperplazic nodular; (B) țesut de prostată adenoleiomiom, hiperplazie inflamatorie cronică; (C) țesut malign al tumorii de prostată; (D) hiperplazie benignă a țesutului prostatic.

Semnalul pro-apoptotic evidențiat de cascada biochimică arată modificări semnificative ale apoptozei timpurii (EA) în probele de HBP și ADK raportate la control (HPB: 24.75 ± 16.50 ; ADK: 10.45 ± 1.12 ; vs. C1: 0.02 ± 0.01 , $p < 0.05$, Figura 17 J-L).

- Apoptoza timpurie (EA) se referă la fazele inițiale ale apoptozei, unde celulele încep să-și piardă integritatea membranară, dar nucleul rămâne încă intact.
- Rezultatele indică o creștere semnificativă a apoptozei timpurii în probele de HBP (24.75 ± 16.50) și ADK (10.45 ± 1.12) comparativ cu controlul (C1: 0.02 ± 0.01). Aceasta evidențiază faptul că celulele din probele patologice sunt într-o stare de stres crescut, predispunându-le la moarte celulară programată, subliniind faptul că procesele pro-apoptotice sunt mai pronunțate în condițiile patologice.
- Semnalul pro-apoptotic observat în ambele tipuri de probe sugerează că activarea caspazelor și apoptoza timpurie sunt mecanisme comune în procesele patologice de HBP și ADK, dar cu intensități diferite în funcție de natura specifică a afecțiunii.
- Semnalul pro-apoptotic evidențiat de activarea caspazei-3/7 sugerează că, în afecțiunile prostatei (atât ADK cât și HBP), există o creștere a celulelor care intră în apoptoză timpurie comparativ cu țesutul normal. Aceasta poate fi o strategie a organismului de a elimina celulele disfuncționale sau potențial maligne.

Prin urmare, rezultatele astfel obținute subliniază rolul important al apoptozei tardive în răspunsul cronic la stresul oxidativ în contextul HBP și ADK.

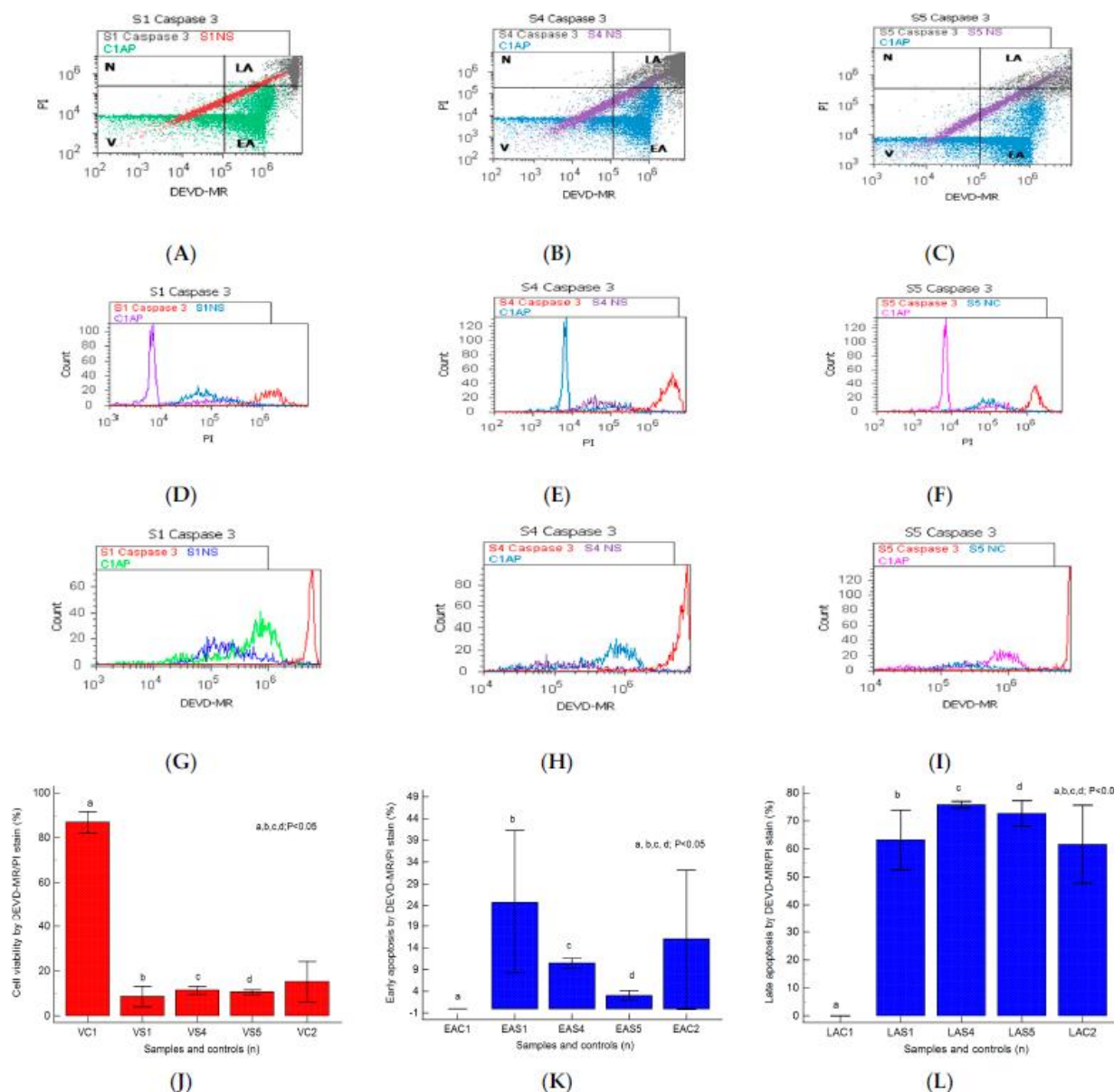


Fig.5 - Activitatea caspazelor-3/7 reprezentată grafic prin colorarea DEVD-MR/PI evidențiată pentru a observa viabilitatea (V), apoptoza precoce și târzie (EA; LA) și necroza (N) la cazurile de BPH (B,E,H), cazurile de ADK de prostată (C,F,I), versus control (A,D,G). (J–L): Analiza statistică a activității caspazelor 3/7 la cazurile de HBP (K) și cazurile de ADK (L) de prostată prin raportate la controale (J); $p < 0,05$ reprezintă diferențe statistice semnificative între probe și martori (testul Mann-Whitney prin programul MedCalc). Legendă: HBP - hiperplazie benignă de prostată; ADK – adenocarcinom de prostată;

Valorile semnificativ crescute de apoptoză tardivă în aceste condiții, comparativ cu țesuturile normale, sugerează o adaptare celulară la stresul cronic și subliniază importanța monitorizării acestui proces în diagnostic și tratament. Aceste informații pot fi utilizate pentru a îmbunătăți înțelegerea patofiziologiei afecțiunilor prostatei și pentru a dezvolta strategii terapeutice mai eficiente.

2.2.3. Studiul III: Analiza interacțiunilor genetice și a căilor de semnalizare cu rol în cancerul de prostată avansat

Scopul studiului este de a determina și caracteriza mutațiile genice și a transcriptelor de fuziune în cancerul de prostată avansat pentru a descoperi markeri biomoleculari utili pentru diagnosticarea precoce, stratificarea riscului și prognosticul pacienților, precum și pentru a ghida strategiile terapeutice personalizate. În acest sens, studiul a vizat analiza frecvenței mutațiilor genice comune (PTEN, AR-V7, TP53, ERBB2) în cancerul de prostată avansat prin tehnica FISH (Fluorescence In Situ Hybridization), respectiv, investigarea incidenței fuziunii TMPRSS2-ERG la cazurile de cancer de prostată avansat evaluate și corelarea cu fenotipul agresiv și evoluția bolii. Pentru realizarea acestui studiu am folosit probe de țesutul tumoral fixat în formol și încorporat în parafină, de la 43 de pacienți cu CaP avansat sau metastazat.

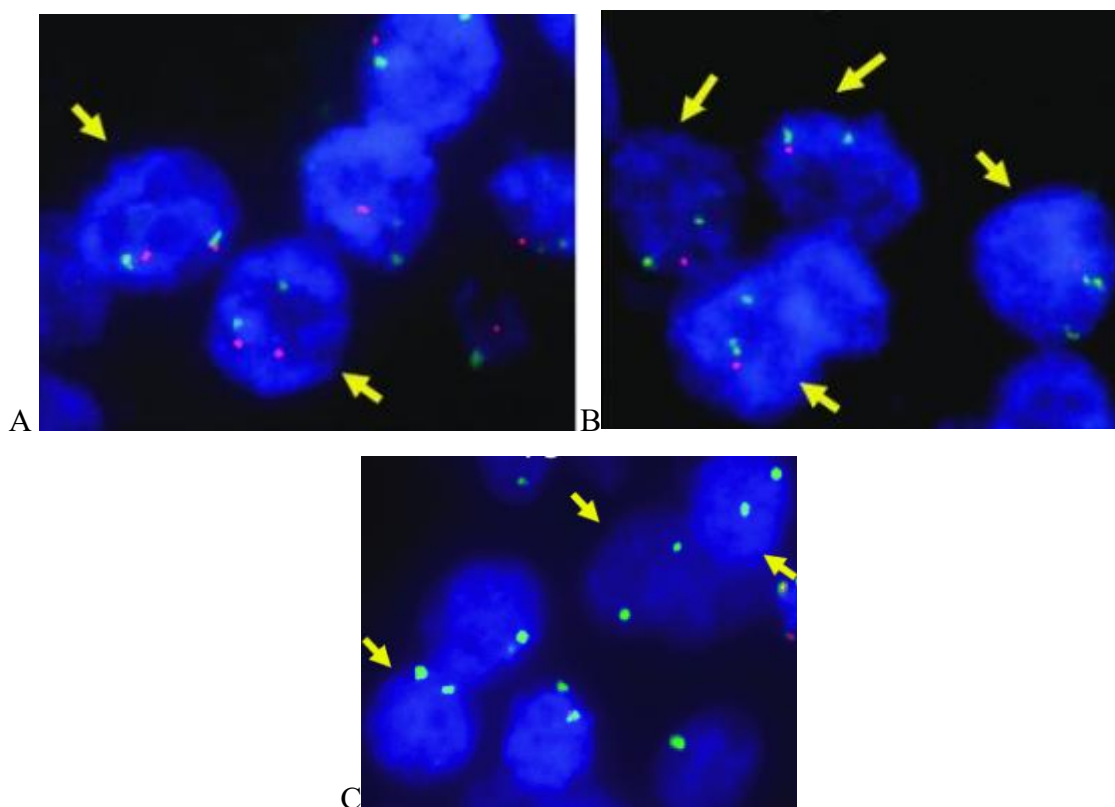


Fig. 6 - FISH pentru statutul PTEN în cancer de prostată avansat. (A) imaginea FISH arată două semnale roșii și două semnale verzi în nucleu, respectiv disomie; (B) imaginea FISH arată 1 semnal roșu (locus 10q23.3) și două semnale verzi (centromer 10) per nucleu indicând deleție PTEN hemizigotă; (C) imaginea FISH arată 0 semnale roșii (locus 10q23.3) și două semnale verzi (centromer 10) per nucleu indicând deleție PTEN homozigotă.

Studiul prezent, care a evaluat și a identificat frecvența alterărilor genetice în genele PTEN, AR-V7, TMPRSS2-ERG, TP53 și ERBB2, a relevat nu doar distribuția acestor

modificări genetice, dar și asocieri importante între subtipurile moleculare și agresivitatea bolii. Rezultatele obținute au arătat o heterogenitate moleculară semnificativă în cazurile investigate, cu deleția PTEN și mutațiile TP53 drept cele mai frecvente anomalii identificate. Combinațiile de markeri precum (PTEN-) + (TP53+) +/- (AR-V7+) identificate la o parte din cazuri, sugerează tumori agresive și potențial rezistente la tratamentele convenționale.

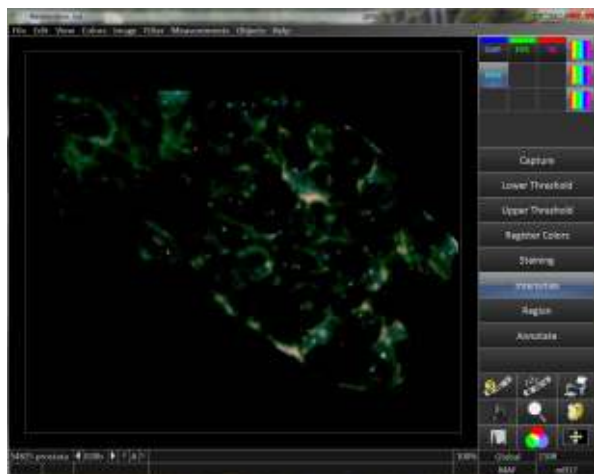


Fig. 7 – ADK de prostată. Imagine FISH sugestivă pentru TMPRSS2-ERG pozitiv (fuziune genică prin deleție) (TMPRSS2, 21q22.2-q22.3, Red; TMPRSS2, 21q22.2-q22.3, Green; ERG, 21q22.13-q22.2, Blue)

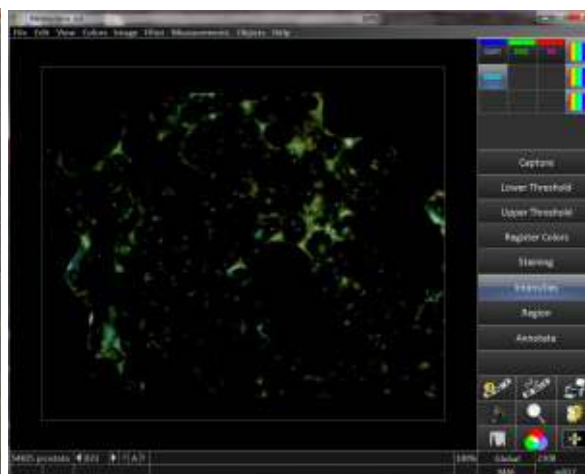


Fig. 8 - ADK de prostată. Imagine FISH sugestivă pentru TMPRSS2-ERG pozitiv (fuziune genică prin inserție) (TMPRSS2, 21q22.2-q22.3, Red; TMPRSS2, 21q22.2-q22.3, Green; ERG, 21q22.13-q22.2, Blue)

Biomarkerul **AR-V7+** este asociat cu un fenotip tumoral agresiv și o probabilitate crescută de invazie a veziculelor seminale. Prezența acestui marker indică rezistență la terapia hormonală, subliniind necesitatea unor opțiuni terapeutice alternative pentru pacienții cu **AR-V7+**. **TP53+** este asociat cu un scor Gleason patologic >7, indicând o legătură cu tumorile mai agresive și instabilitatea genomică. **TP53+** poate fi un predictor al unui prognostic mai slab și poate influența alegerile terapeutice.

Aceste rezultate subliniază cât de importantă este abordarea personalizată a fiecărui caz atunci în managementul optim al cancerului de prostată. Majoritatea cazurilor au arătat focare tumorale heterogene din punct de vedere al alterării genei PTEN. Aceasta sugerează că, în cadrul aceleași tumori, pot coexista celule cu diferite stadii de inactivare genetică, ceea ce poate influența atât evoluția bolii, cât și răspunsul la tratament. Heterogenitatea intratumorală este un factor important care contribuie la dificultatea tratamentului cancerului, deoarece diferite celule din cadrul aceleași tumori pot avea răspunsuri diferite la terapii.

3. Concluzii generale și direcții viitoare de cercetare

Teza de doctorat a adus o contribuție semnificativă la înțelegerea cancerului de prostată prin trei direcții de cercetare majore, fiecare cu implicații relevante pentru diagnosticare, prognostic și tratament. Sinteza acestor rezultate oferă o imagine comprehensivă asupra mecanismelor patogenetice, biomarkerilor prognostici și strategiilor terapeutice în cancerul de prostată.

Studiul mecanismelor biologice implicate în microambientul tumoral și în căile moleculare asociate carcinogenezei prostatei furnizează informații esențiale pentru diagnosticarea precisă și pentru dezvoltarea unor strategii terapeutice eficiente. Biomarkerii moleculari, cum ar fi AR-V7, ERBB2 și TP53, sunt elemente cheie care pot ghida selecția pacienților pentru terapii țintite. De exemplu, pacienții cu expresie AR-V7+ pot beneficia de inhibitori de androgeni, iar cei cu ERBB2+ de tratamente anti-HER2, optimizând astfel tratamentele pentru rezultate mai bune.

Deși imunoterapia nu este în mod curent o opțiune de primă linie în cancerul de prostată, markerii moleculari identificați ar putea oferi indicii asupra pacienților care ar putea beneficia de noi imunoterapii sau combinații terapeutice. De exemplu, modificările TP53 și deleția PTEN ar putea juca un rol important în selectarea pacienților pentru imunoterapii ce vizează mecanisme de reparare a ADN-ului sau căile imune.

Pe termen lung, cercetările viitoare ar trebui să exploreze în continuare interacțiunile dintre biomarkeri și evoluția cancerului, precum și potențialul intervențiilor terapeutice antiinflamatorii și personalizate. Aceste descoperiri oferă o bază solidă pentru dezvoltarea unor terapii mai eficiente și direcționate, cu scopul de a îmbunătăți supraviețuirea și calitatea vieții pacienților cu cancer de prostată.

Cercetările desfășurate în cadrul acestei teze au demonstrat clar importanța unei abordări multidisciplinare în diagnosticarea și tratamentul cancerului de prostată. Integrarea parametrilor inflamatori, citometrici și genetici oferă o abordare mai completă și personalizată, care poate îmbunătăți rezultatele clinice și prognosticul pacienților. Rezultatele subliniază faptul că tratamentul cancerului de prostată nu poate fi eficient decât printr-o personalizare riguroasă a strategiilor terapeutice, în funcție de caracteristicile fiecărei tumori și ale pacientului în parte. Această abordare ar putea reduce semnificativ recidivele și ar contribui la o îmbunătățire a calității vieții pacienților.

4. Originalitatea tezei de doctorat

- **Prima aplicare combinată a tehnicilor de citometrie și markerilor specifici determinați prin imunomarcaj și tehnici de citogenetică și biologie moleculară pe un lot de pacienți diagnosticați cu cancer de prostată:** studiul meu a integrat analiza ciclului celular, ploidia ADN, markerii glicoproteici de adeziune (CD61 și CD42b), neovascularizația (CD34), și infiltrarea limfocitelor T într-un singur set de date, premieră națională. Această abordare particulară, multidimensională oferă o imagine cuprinzătoare a aspectelor biologice ale cancerului de prostată, ceea ce poate aduce perspective noi în înțelegerea și managementul acestei boli.
- **Primul studiu care face corelarea procentului de celule în faza S a ciclului celular cu riscul clinic:** studiul a demonstrat că procentul de celule în faza S este un indicator semnificativ al riscului de recidivă și deces în cancerul de prostată. Această corelare specifică și detaliată poate aduce noi informații despre prognostic și stratificarea pacienților, comparativ cu alte studii care pot folosi evaluări mai generale.
- **Primul studiu național și printre primele rapoarte internaționale care evidențiază rolul glicoproteinelor de adeziune CD61/CD42b în progresia tumorală prostatică,** sugerând astfel, noi ținte anti-metastatice.
- **Noi dovezi privind rolul analizei densității microvaselor corelată multiparametric:** deși studiile anterioare au evaluat neovascularizația în cancerul de prostată, studiul meu aduce contribuții originale prin corelarea acestei caracteristici cu proliferarea și aderența celulară, și evaluarea impactului acesteia asupra evoluției bolii.
- **Date adiționale privind infiltrarea limfocitelor T și rolul răspunsului imun:** în acest studiu s-a evidențiat un model distinct de infiltrare a limfocitelor T în cancerul de prostată comparativ vs. HBP, cu implicații pentru selecția cazurilor candidate la imunoterapie.
- **Consolidarea evidenței prognostice pentru biomarkerii-cheie și recomandări terapeutice personalizate:** demonstrăm, pe o cohortă bine caracterizată, că profilul molecular (PTEN, AR-V7, TP53, fază S, CD34) poate ghida alegerea terapiilor sistemice, facilitând trecerea de la concept la algoritmi de decizie clinică.

Rezultatele tezei demonstrează importanța biomarkerilor inflamatori și genetici în înțelegerea progresiei cancerului de prostată. Originalitatea tezei rezidă astfel din **convergența între investigații biomoleculare comprehensive și aplicații clinice concrete**, contribuind la personalizarea managementului cancerului prostatic avansat.

Bibliografie selectivă

1. Smittenaar CR, Petersen KA, Stewart K, Moitt N. Cancer incidence and mortality projections in the UK until 2035. *Br J Cancer*. 2016;115(9):1147-55.
2. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F (2024). Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>, accessed [09 08 2024].
3. Wang, L.; Lu, B.; He, M.; Wang, Y.; Wang, Z.; Du, L. Prostate Cancer Incidence and Mortality: Global Status and Temporal Trends in 89 Countries from 2000 to 2019. *Front. Public Health* 2022, 10, 811044.
4. Maekawa S, Takata R, Obara W. Molecular Mechanisms of Prostate Cancer Development in the Precision Medicine Era: A Comprehensive Review. *Cancers*. 2024; 16(3):523. <https://doi.org/10.3390/cancers16030523>
5. Feng, F.Y.; Huang, H.-C.; Spratt, D.E.; Zhao, S.; Sandler, H.M.; Simko, J.P.; Davicioni, E.; Nguyen, P.L.; Pollack, A.; Efstathiou, J.A.; et al. Validation of a 22-Gene Genomic Classifier in Patients with Recurrent Prostate Cancer: An Ancillary Study of the NRG/RTOG 9601 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2021, 7, 544–552.
6. Tzelepi V. (2022). Prostate Cancer: Pathophysiology, Pathology and Therapy. *Cancers*, 15(1), 281. <https://doi.org/10.3390/cancers15010281>
7. Robinson D., et al. Integrative Clinical Genomics of Advanced Prostate Cancer, *Cell*, Volume 161, ISSUE 5, P1215-1228, May 21, 2015, DOI:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.001>
8. Zhou Y, Li T, Jia M, Dai R, Wang R. The Molecular Biology of Prostate Cancer Stem Cells: From the Past to the Future. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(8):7482. <https://doi.org/10.3390/ijms24087482>
9. Ban F., Leblanc E., Cavga A.D., Huang C.-C.F., Flory M.R., Zhang F., Chang M.E.K., Morin H., Lallous N., Singh K., et al. Development of an Androgen Receptor Inhibitor Targeting the N-Terminal Domain of Androgen Receptor for Treatment of Castration Resistant Prostate Cancer. *Cancers*. 2021;13:3488. doi: 10.3390/cancers13143488.
10. Welén, K., Damber, JE. Androgens, aging, and prostate health. *Rev Endocr Metab Disord* 23,1221–1231 (2022) <https://doi.org/10.1007/s11154-022-09730-z>
11. Hashemi, M., Taheriazam, A., Daneii, P., Hassanpour, A., Kakavand, A., Rezaei, S., Hejazi, E. S., Aboutalebi, M., Gholamrezaie, H., Saebfar, H., Salimimoghadam, S.,

- Mirzaei, S., Entezari, M., & Samarghandian, S. (2023). Targeting PI3K/Akt signaling in prostate cancer therapy. *Journal of cell communication and signaling*, 17(3), 423–443. <https://doi.org/10.1007/s12079-022-00702-1>
12. Shorning, B. Y., Dass, M. S., Smalley, M. J., & Pearson, H. B. (2020). The PI3K-AKT-mTOR Pathway and Prostate Cancer: At the Crossroads of AR, MAPK, and WNT Signaling. *International journal of molecular sciences*, 21(12), 4507. <https://doi.org/10.3390/ijms21124507>
13. Messner EA, Steele TM, Tsamouri MM, Hejazi N, Gao AC, Mudryj M, Ghosh PM. The Androgen Receptor in Prostate Cancer: Effect of Structure, Ligands and Spliced Variants on Therapy. *Biomedicines*. 2020; 8(10):422.<https://doi.org/10.3390/biomedicines8100422>
14. Mackenzie, Nathan & Nicholls, Clarissa & Templeton, Abby & Perera, Mahasha & Jeffery, Penelope & Zimmermann, Kate & Kulasinghe, Arutha & Kenna, Tony & Vela, Ian & Thomas, Patrick. (2022). Modelling the tumor immune microenvironment for precision immunotherapy. *Clinical & Translational Immunology*. 11. 10.1002/cti2.1400.
15. Oseni SO, Naar C, Pavlović M, Asghar W, Hartmann JX, Fields GB, Esiobu N, Kumi-Diaka J. The Molecular Basis and Clinical Consequences of Chronic Inflammation in Prostatic Diseases: Prostatitis, Benign Prostatic Hyperplasia, and Prostate Cancer. *Cancers*. 2023; 15(12):3110. <https://doi.org/10.3390/cancers15123110>
16. Dutta S, Ganguly A, Chatterjee K, Spada S, Mukherjee S. Targets of Immune Escape Mechanisms in Cancer: Basis for Development and Evolution of Cancer Immune Checkpoint Inhibitors. *Biology*. 2023; 12(2):218. <https://doi.org/10.3390/biology12020218>
17. Ambrosini, G., Cordani, M., Zarrabi, A., Alcon-Rodriguez, S., Sainz, R. M., Velasco, G., Gonzalez-Menendez, P., & Dando, I. (2024). Transcending frontiers in prostate cancer: the role of oncometabolites on epigenetic regulation, CSCs, and tumor microenvironment to identify new therapeutic strategies. *Cell communication and signaling : CCS*, 22(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01462-0>
18. Chen C, Liu X, Chang C-Y, Wang HY, Wang R-F. The Interplay between T Cells and Cancer: The Basis of Immunotherapy. *Genes*. 2023; 14(5):1008. <https://doi.org/10.3390/genes14051008>
19. Sun, Q., Hong, Z., Zhang, C. et al. Immune checkpoint therapy for solid tumours: clinical dilemmas and future trends. *Sig Transduct Target Ther* 8, 320 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01522-4>

20. Arima Y, Matsueda S, Saya H. Significance of Cancer-Associated Fibroblasts in the Interactions of Cancer Cells with the Tumor Microenvironment of Heterogeneous Tumor Tissue. *Cancers*. 2023; 15(9):2536. <https://doi.org/10.3390/cancers15092536>
21. Zhang X, Ma H, Gao Y, Liang Y, Du Y, Hao S, Ni T. The Tumor Microenvironment: Signal Transduction. *Biomolecules*. 2024; 14(4):438. <https://doi.org/10.3390/biom14040438>
22. Zhao, Y., Shen, M., Wu, L., Yang, H., Yao, Y., Yang, Q., Du, J., Liu, L., Li, Y., & Bai, Y. (2023). Stromal cells in the tumor microenvironment: accomplices of tumor progression?. *Cell death & disease*, 14(9), 587. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-06110-6>
23. Rosario E, Rosario DJ. Localized Prostate Cancer. [Updated 2022 Sep 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563248/>
24. EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Paris 2024. ISBN 978-94-92671-23-3. <https://uroweb.org/guidelines>.
25. Mottet N., van den Bergh R.C.N., Briers E., Van den Broeck T., Cumberbatch M.G., De Santis M., Fanti S., Fossati N., Gandaglia G., Gillessen S., et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer—2020 Update. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *Eur. Urol.* 2021;79:243–262. doi: 10.1016/j.eururo.2020.09.042.
26. <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/prostate-cancer/stages/grades>
27. <https://ghr.nlm.nih.gov/art/large/stages-of-prostate-cancer.jpeg>.
28. <https://www.cancer.org/cancer/types/prostate-cancer/detection-diagnosis-staging/how-diagnosed.html>
29. Lamy P.J., Allory Y., Gauchez A.S., Asselain B., Beuzeboc P., de Cremoux P. Pronostic biomarkers used for localised prostate cancer management: asystematic review. *Eur Urol Focus*. 2017;7:30065–30072.
30. Chen J-Y, Wang P-Y, Liu M-Z, Lyu F, Ma M-W, Ren X-Y, Gao X-S. Biomarkers for Prostate Cancer: From Diagnosis to Treatment. *Diagnostics*. 2023; 13(21):3350. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13213350>
31. Becerra, M F., Atluri, S., V., Bhattu, A.S., Punnen, S., Serum and urine biomarkers for detecting clinically significant prostate cancer, *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, Volume 39, Issue 10, 2021, Pages 686-690, ISSN 1078-1439, <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2020.02.018>.