

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

STUDIUL BIOMARKERILOR GENETICI
ÎN LITIAZA RENALĂ
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. JINGA VIOREL

Student doctorand:

Dr. SIMA CRISTIAN SORIN

2021

CUPRINS

Introducere	4
I. Stadiul actual al cunoașterii	4
1. Litogeneza	4
2. Factori de risc implicați în apariția nefrolitiaziei	6
2.1. Factori de risc modificabili	6
2.2. Factori de risc nemodificabili	7
2.3. Alte patologii	7
3. Aspecte ale geneticii litiaziei renale	7
4. Evoluția studiilor genetice	8
4.1. Evoluția studiilor genetice umane	8
4.2. Conceptele care stau la baza proiectării studiului	8
4.3. Identificarea variației comune	8
4.4. Tehnologii de genotipare	9
4.5. Proiectarea studiului	10
4.6. Testul de asociere	10
4.7. Replicare și metaanaliză	10
4.8. Viitorul	10
II. Contribuția personală	11
5. Obiectiv	11
6. Material și metode	11
6.1. Prezentarea metodologiei ROMCAN și ProMark	11
6.2. Analiza statistică utilizată	11
6.3. Populația din studiu	11
6.4. Chestionarul utilizat	12
6.5. Declarație de etică	13
6.6. Genotiparea și analiza datelor	13
7. Rezultate	13
7.1. Analiza genetică a SNP-ului RS1256328 – varianta genei ALPL	14
7.2. Analiza genetică a SNP-ului RS823123 – varianta genei RAB29	14
7.3. Analiza genetică a SNP-ului RS8098701 – varianta genei EPG5	15
7.4. Analiza genetică a SNP-ului RS1762563 – varianta genei MISP	15

7.5 Analiza genetică a SNP-ului RS35148638-C – varianta genei CCNH	16
7.6 Analiza genetică a SNP-ului RS3775182 – varianta genei MAPK10	16
7.7 Analiza genetică a SNP-ului RS9572356 – varianta genei KLHL1	17
7.8 Analiza genetică a SNP-ului RS1950031 – varianta genei ALKBH8	17
7.9 Analiza genetică a SNP-ului RS3826607 – varianta genei MOCOS	18
7.10 Analiza populației de etnie romă	18
8 Discuții	19
8.1 Aspecte epidemiologice	19
8.2 Componenta genetică a nefrolitiazii	19
8.3 Elementele de bază ale nefrolitiazii și factorii săi genetici	20
8.4 Identificarea de markeri genetici asociați nefrolitiazii în cohorta din România	20
8.4.1. Gena SLC26A1	20
8.4.2. Nefrolitiazia asociată bolilor ereditare	21
8.4.2.1. Boala lui Dent	21
8.4.2.2. Cistinuria	21
Concluzii	22
Bibliografie	23
Lista lucrărilor științifice publicate	26

Introducere

Litiază renală este o patologie des întâlnită. Cele mai optimiste studii plasează riscul de formare și eliminare al unui calcul, cu toate manifestările clinice zgomotoase caracteristice, la 1%. Există însă și studii care plasează acest risc la 15%. Riscul trebuie însă calculat însă în funcție de sex, vârstă, rasă și mediul de viață al pacienților.[1]

Stadiul actual al cunoașterii

Capitolul 1. Litogeneza

Calculii renali sunt depuneri minerale cristaline formate din cristale microscopice în bucla Henle, tubii contorți distali sau în ductul colector. Aceste depuneri apar ca răspuns la niveluri crescute de substanțe dizolvate în urină, cum ar fi calciul, acidul uric, oxalatul și sodiul, precum și la niveluri scăzute de inhibitori ai litogenezei, cum ar fi citratul și magneziul. Volumul urinar scăzut și pH-ul urinar anormal de scăzut sau ridicat contribuie, de asemenea, la acest proces de formare a calculilor renali.

La mulți pacienți cu boală litiazică nu se poate găsi o explicație pentru tendința urinei (sau a fluidului tubular) de a forma un nucleu de precipitare din componenți ai calculului la niveluri mai mici de suprasaturare, pentru susținerea creșterii accelerate a cristalelor formate sau pentru aderarea cristalelor unul la altul sau la o anumită structură intrarenală. În discuția din paginile următoare lichidul tubular care străbate la un moment dat diverse segmente ale nefronului va fi denumit în mod generic urină.

O soluție este saturată atunci când există o cantitate maximă de solvat în solvent. O soluție suprasaturată este o soluție în care solvatul în exces depășește o valoare critică de echilibru și nu poate astfel intra în soluție. Urină pacienților care suferă de nefrolitiază majoritar calcică este suprasaturată cu oxalat de calciu și fosfat de calciu. Suprasaturarea este exprimată ca raportul dintre concentrația urinară de oxalat sau fosfat de calciu și solubilitățile lor. Această este mai mare la pacienții cu litiază renală recurentă, iar tipul de calcul care se formează se corelează cu suprasaturația urinară. La niveluri de suprasaturare peste 1, cristalele formează nuclee de agregare și cresc, favorizând formarea calculilor. Suprasaturarea oxalatului de calciu este independentă de pH-ul urinei. Suprasaturarea fosfatului de calciu crește rapid pe măsură ce pH-ul urinei crește de la 6 la 7. Deoarece

calculii de oxalat de calciu se pot forma peste un strat inițial de fosfat de calciu, tratamentul ar trebui să scadă în mod optim suprasaturarea ambelor specii chimice.

Chiar și în soluțiile metastabile, nucleația va avea loc dacă suprasaturarea crește suficient de mult. În consecință, formarea de nuclee de agregare reprezintă limita superioară a metastabilității. Acest lucru a condus la conceptul de produs de formare sau de limita superioară a metastabilității care denotă activitatea care induce formarea de cristale în urină sau în soluții artificiale realizate pentru a simula urină. Acesta este punctul de început al fazei cristaline în soluție. În acest moment este inițiată nucleația.

Nucleația este procesul prin care ionii liberi în soluție se asociază în particule microscopice. Cristalizarea poate avea loc în micromedii reprezentate de diverse puncte ale nefronului unde soluția care încă nu poartă numele de urină finală are diverse concentrații din diverși ioni. Procesul de cristalizare poate avea loc și pe suprafețe, cum ar fi cele ale celulelor și pe matricea extracelulară. Există o divergență de opinii între susținătorii ideii de cristalizare a soluției libere și cei care susțin ideea cristalizării în alte locuri, în tubulii renali sau pe pereții vezicii urinare, pe celulele normale sau deteriorate, pe zonele denudate de celule de anumite leziuni, sau în interstițiu.

Agregarea este procesul prin care se formează particule mai mari din aglomerarea cristalelor care se formează în soluție liberă. Poate cuprinde, de asemenea, fenomenul de nucleație secundară a cristalelor noi pe suprafața celor deja formate. Structura pietrelor sugerează că unul dintre aceste procese trebuie să se desfășoare pentru că un calcul să crească până la o dimensiune semnificativă din punct de vedere clinic. Precum betonul care are nevoie de un liant cum este cimentul și particule cum sunt pietrele sau nisipul, așa și calculii au nevoie de cristale și o matrice organică, această din urmă servind ca agent de legare. Matricea organică conține proteine, lipide, polizaharide și alt material derivat din celule.

Creșterea cristalelor microscopice se realizează prin ieșirea ionilor din soluție și aderarea acestora la formățiunea cristalină. Această creștere a cristalelor prin aderarea de ioni care ies din soluție este însă, teoretic, un proces limitat deoarece în vivo nu se observă calculi de mari dimensiuni care să fie formați numai dintr-un singur tip de ion sau moleculă. Este mult mai probabil că un calcul să crească prin agregarea cristalelor preformate pe o matrice acoperită cu cristale ale altui calcul în formare, proces numit nucleație secundară. S-a speculat că anumiți calculi cresc în interiorul sistemului pielocaliceal și pot deveni

semnificativi din punct de vedere clinic, fără să fie eliminați o dată cu urină finală deoarece agregă sau se atașează la structuri intrarenale specifice.

Deși în general urină nu este suprasaturată cu fosfat de calciu, în buclă Henle acest lucru poate să se întâmple, ceea ce poate duce la precipitarea fosfatului de calciu în interstițiul din medulară. Aceste depozite devin adesea suficient de extinse pentru a fi vizibile macroscopic și au fost denumite plăci ale lui Randall, după descoperitorul lor, Alexander Randall. [2]

Capitolul 2. Factori de risc implicați în apariția nefrolitiazii

2.1. Factori de risc modificabili

2.1.1. Factori urinari

- 2.1.1.1. Hipercalciurie
- 2.1.1.2. Hiperoxalurie
- 2.1.1.3. Hipocitraturia
- 2.1.1.4. Hiperuricozuria
- 2.1.1.5. Volum scăzut de urină
- 2.1.1.6. pH-ul urinar

2.1.2. Factori dietetici

- 2.1.2.1. Aportul de lichide (scăzut)
- 2.1.2.2. Calciul
- 2.1.2.3. Oxalatul
- 2.1.2.4. Potasiul
- 2.1.2.5. Sodiul
- 2.1.2.6. Proteinele
- 2.1.2.7. Fitatul
- 2.1.2.8. Zaharoza
- 2.1.2.9. Vitamina C
- 2.1.2.10. Modele dietetice
- 2.1.2.11. Medicamente

2.2. Factori de risc nemodificabili

2.2.1. Istoricul familial

2.2.2. Factori genetici

Datele din istoricul familial nu fac distincție între factorii genetici și factorii de mediu. Cu toate acestea, există dovezi ale susceptibilității genetice la dezvoltarea nefrolitiazii calcice [3]. Majoritatea anchetatorilor consideră că sunt implicați mai mulți loci genetici, afectând poate absorbția, resorbția și excreția de calciu; absorbția oxalatului; și absorbția și excreția citratului.

2.3. Alte patologii

O varietate de afecțiuni medicale au fost asociate cu un risc crescut de formare al calculilor: ● Hiperparatiroidism primar ● Hipertensiune arterială ● Guta. ● Diabet zaharat. ● Obezitatea ● Rinichiul spongios ● Acidoza tubulară renală distală (tip 1) ● Boală inflamatorie intestinală, sindrom intestinal scurt, rezecție intestinală sau intervenție chirurgicală de bypass gastrointestinal ● Infecția tractului urinar ● Cistinurie [3]

Capitolul 3. Aspecte ale geneticii litiazei renale

Eforturile pentru screeningul litiazei renale s-au intensificat după introducerea în uz a GWAS- genome-wide association study sau whole genome association study (studiu de asociere a întregului genom), dar încă nu s-au creat panouri de SNP-uri (single nucleotide polymorphism) care să ajute clinicienii în depistarea precoce a pacienților predispuși la recurență litiazică.

Unul dintre primele GWAS-uri de mare anvergură care a dus la identificarea de SNP-uri responsabile de apariția calculilor renali este descris în articolul „Common and rare variants associated with kidney stones and biochemical traits” publicat în revista „Nature” în iulie 2015 de către Oddsson, A. et al.

Date similare au fost descoperite de Thorleifsson, Urabe și Tanikawa care au studiat mutațiile genetice în cohorte din Islanda și Japonia și au observat modificări genetice care au

un impact asupra fenomenelor de cristalizare și filtrare glomerulară la pacienți cu nefrolitiază. [4,5]

Capitolul 4. Evoluția studiilor genetice

4.1. Evoluția studiilor genetice umane

Identificarea factorilor de risc genetic pentru boli comune sau complexe, de exemplu schizofrenia, diabetul de tip II, sau alte mai rare, cum ar fi fibroză chistică și anemia falciformă a fost și rămâne în continuare un obiectiv important al geneticii.

4.2. Conceptele care stau la baza proiectării studiului

4.2.1 Polimorfisme mononucleotidice (SNP)

Polimorfismul nucleotidic unic (SNP) este o modificare a unei singure perechi de baze într-o secvență ADN și apare cu frecvență ridicată în genomul uman. El reprezintă unitatea modernă de variație genetică. [6]. SNP-urile sunt cea mai des întâlnită formă de variație genetică din genomul uman.

4.2.2 Eșecurile conexiunii pentru bolile complexe

Afecțiunile genetice rare, cum ar fi patologia amintită mai devreme, fibroză chistică, poate fi cauzată de variante genetice diferite în cadrul unei singure gene. Atunci când se aplică la tulburări mai frecvente, cum ar fi bolile de inimă sau diferite forme de cancer, analiză înlănțuirii genice nu a reușit să ducă la rezultatele scontate. Această înseamnă că mecanismele genetice care influențează tulburările comune sunt diferite de cele care provoacă tulburări rare [7].

4.2.3 Ipoteza variantei comune asociată bolilor comune

În ultimul deceniu, ipoteza boală comună / varianta comună a fost testată pentru o varietate de boli comune și, deși o mare parte a eredității pentru aceste afecțiuni nu este încă explicată, alelele comune joacă cu siguranță un rol în susceptibilitate.

4.3. Identificarea variației comune

4.3.1 Proiectul Harta Haplotipului Uman (The Human Haplotype Map Project- Hap Map)

Pentru a testa ipoteza boală comună / variantă comună pentru un fenotip, este necesară o abordare sistematică. Este nevoie de verificarea a unei părți semnificative din variațiile comune ale genomului uman.

4.3.2 Dezechilibrul de linkage (înlănțuire)

Dezechilibrul de linkage (înlănțuire) (DL) reprezintă asocierea nonrandomizată, neîntamplatoare a alelelor la diferiți loci și reprezintă un indicator sensibil al forțelor genetice care structurează un genom dintr-o anumită populație. Este o proprietate a SNP-urilor contigue dintr-o secvența genomică care descrie gradul în care o alelă a unui SNP este moștenită sau corelată cu o alelă a altui SNP în cadrul unei populații. Termenul de DL fost creat de geneticieni pentru descrierea matematică a modificărilor de variație genetică în timp a unei populații.

4.3.3 Asocierea indirectă

Prezența LD creează două rezultate pozitive posibile dintr-un studiu de asociere genetică. În primul rezultat, SNP care influențează un sistem biologic care duce în cele din urmă la fenotip este direct genotipat în studiu și se dovedește că este asociat statistic cu trăsătura. Această este denumită asociere directă, iar SNP-ul genotipat este uneori denumit SNP funcțional. A doua posibilitate este că SNP-ul influent să nu fie tastat direct, ci, în schimb, un tag SNP în LD mare cu SNP-ul influent să fie tastat și asociat statistic fenotipului (figura 3). Această este denumită asociere indirectă [7].

4.4. Tehnologii de genotipare

Studiile de asociere la nivelul genomului au fost posibile prin disponibilitatea tehnologiei microarray bazate pe cip-uri pentru testarea unui milion sau chiar mai multe SNP-uri. Două platforme primare au fost utilizate pentru majoritatea GWAS. Acestea includ produse de la Illumina (San Diego, CA) și Affymetrix (Santa Clara, CA).

4.5. Proiectarea studiului

4.5.1 Controlul cazurilor versus proiectele cantitative

4.5.2 Criteriile standardizate ale fenotipului

4.5.3 Extragerea fenotipului din fișele medicale electronice

4.6. Testul de asociere

4.6.1. Analiza locusului unic

4.6.2 Reglarea covariatei și stratificarea populației

4.6.3 Corecții pentru teste multiple

4.6.4 Analiză multi-locus

4.7. Replicare și metaanaliză

4.7.1 Replicarea statistică

4.7.2 Metaanaliza rezultatelor analizei multiple

Rezultatele mai multor studii GWAS pot fi reunite împreună pentru a realiza o meta-analiză.

4.7.3 Imputarea datelor

Pentru a efectua o meta-analiză corect, trebuie evaluat efectul aceleiași alele pe mai multe studii distincte. Acest lucru se poate dovedi dificil dacă diferite studii folosesc diferite platforme de genotipare (care folosesc seturi de markeri SNP diferite).

4.8. Viitorul

Studiile de asociere la nivelul genomului au avut un impact uriaș pe domeniul geneticii umane. Ei au identificat noi factori de risc genetic pentru multe boli umane comune și au forțat comunitatea genetică să se gândească la scara largă a genomului. În următorii câțiva ani vom vedea sosirea tehnologiei de secvențare ieftine care va înlocui un milion de SNP-uri cu întreaga secvență genomică de trei miliarde de nucleotide.

Contribuția personală

5. Obiectiv

Teza are ca obiectiv stabilirea unor asocieri între profilul genetic populațional și procese implicate în etiopatogeneza genetică a nefrolitiazăi. Factorii etiopatologici ereditari sunt localizați la nivelul codul genetic, fiind transmiși pe parcursul a mai multor generații. Identificarea acestor factori este esențială în evaluarea corectă a prognosticului acestei patologii și dezvoltarea de seturi de markeri genetici utili în programe de screening activ în cadrul populațiilor la risc.

6. Material și metode

6.1. Prezentarea metodologiei ROMCAN și ProMark

Datele folosite în cadrul studiului sunt rezultatul grantului de cercetare ROMCAN – *Genetic epidemiology of Cancer in Romania*, proiect desfășurat în perioada 2014–2017 și un al set de date folosite în cadrul studiului sunt cele rezultate din proiectul Promark ce s-a desfășurat între 2007 și 2010. Din aceste două cohorte au fost selectate toate cazurile de litiază renală. O componenta importantă a a fost reprezentată de investigarea nefrolitiazăi într-o sub-cohortă de pacienți și martori de etnie romă.

6.2. Analiza statistică utilizată

Asocierea genetică a SNP-urilor cu fenotipul reprezentat de nefrolitiază a fost analizată în doua etape consecutive reprezentate de doua teste de tip Fisher cu grad de libertate folosind software-ul de analiză PLINK.

6.3. Populația din studiu

Pentru acest studiu am selectat 335 de cazuri de nefrolitiază confirmate din cohorta ROMCAN [4] și ProMark [5] și un set de eșantioane de control de 5105 de indivizi fără litiază renală recrutate din cinci mari spitale din București între 2008 și 2017. Sânge și bucal swab au fost colectate în cadrul studiului ProMark, respectiv ROMCAN.

Vârstă	Număr	Indice de masă corporală	
81-90	21	Subponderal	28

71-80	52	Greutate normală	50
61-70	95	Supraponderal	92
51-60	71	Clasa de obezitate I	84
41-50	54	Clasa de obezitate II	41
31-40	27	Clasa de obezitate III	36
21-30	14	NA	4
NA	1	Sindrom de intestin iritabil	
Sex		Prezent	15
F	121	Absent	320
M	214	Infecție cronică de tract urinar	
		Prezentă	235
		Absentă	100
		Aport proteic crescut	
		Prezent	134
		Absent	201

6.4. Chestionarul utilizat

Datelor fenotipice au fost colectate pe baza unui chestionarului dezvoltat in cadrul proiectului ROMCAN, acest chestionar fiind format din cinci componente conexe: 1) informații generale despre pacient, 2) informații medicale colectate in cadrul anamnezei, 3) antecedente heredo-colatorale, 4) comportamente de risc și 5) aspecte relevante medical privind stilul de viață.

6.5. Declarație de etică

Toți participanții au semnat un consimțământ înainte de înscriere și au acceptat utilizarea datelor personale, clinice și a probelor biologice pentru cercetarea genetică.

6.6. Genotiparea și analiza datelor

ADN-ul a fost extras din sângele integral pentru probele ProMark și bucal swabs pentru probele ROMCAN, respectiv, la deCODE Genetics (Reykjavik, Islanda) și genotipate folosind platofram Infinium OmniExpress - 24 (Illumina) [4,5].

7. Rezultate

Din 5434 participanți incluși (4234 bărbați, 1200 femei), 329 au reprezentat cohorta de pacienți diagnosticați cu nefrolitiază și 5105 indivizi au fost incluși în cohorta de controale. Distribuția valorilor rezultatelor testului de asociere (graficul de tip Manhattan plot al valorilor logaritmice ale P-ului) observate pentru acest fenotip este prezentată în figura următoare :

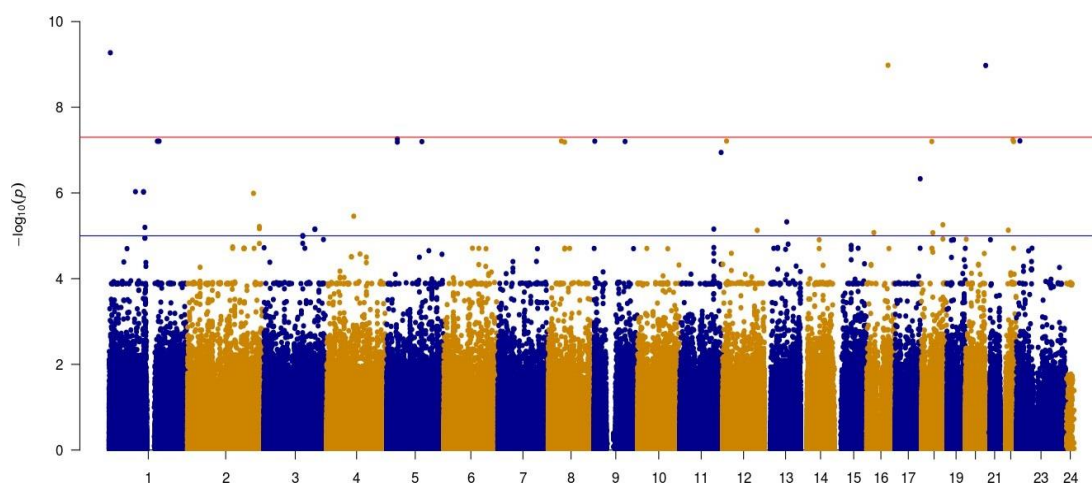


Figura 1. Analiza genetică a SNP-ului RS1256328 – varianta genei ALPL

Pentru SNP-ul RS1256328, localizat pe cromozomul 1 poziția 21570274 a fost observată o valoare a P-ului de $3.20E-05$ și un risc de 1.21 în cadrul testului de asociere. Acest marker reprezintă o variantă intragenică a genei ALPL. Gena ALPL este localizată pe chr19:751126

– 764318, fiind o genă raportată anterior ca fiind implicată în diferite procese metabolice importante [18].

7.1. Analiza genetică a SNP-ului RS1256328 - varianta genei ALPL

Pentru SNP-ul RS1256328, localizat pe cromozomul 1 poziția 21570274 a fost observată o valoare a P-ului de $3.20E-05$ și un risc de 1.21 în cadrul testului de asociere. Acest marker reprezintă o variantă intragenică a genei ALPL. Gena ALPL este localizată pe chr19:751126 – 764318, fiind o genă raportată anterior ca fiind implicată în diferite procese metabolice importante [18]. Analiza datelor din cele mai importante bio-bănci care pot fi consultate online, după interogarea privind expresia acestei gene în diferite probe de țesut renal indică o valoare medie de 29.9 pTPM. Această expresia medie genei ALPL la nivelul renal poate reprezenta punctul de plecare al unor investigații ulterioare privind implicarea acestei gene în apariția LR (litiiza renală).

Comparativ cu alte populații descrise din punct de vedere genético-epidemiologic, SNP-ul RS1256328 este raportat în cadrul rezultatelor noastre cu o frecvență a alelei minore de 0.1494. Această valoare este una medie în contextul distribuțiilor acestor valori la nivel mondial, având șanse mici să reprezinte un posibil marker genetic utilizat în viitoare paneluri de screening genetic a LR în populația din România. Frecvențele raportate pentru acest marker sunt enumerate în tabelul următor:

7.2. Analiza genetică a SNP-ului RS823123 – varianta genei RAB29

RS823123 localizat pe cromozomul 1 poziția 205756218 cu alele T și C, este o variantă genică situată în apropierea genei RAB29. RS823123 a fost raportat anterior în articolul “GWAS identifies nine nephrolithiasis susceptibility loci related with metabolic and crystallization pathways” [21] cu valoarea P-ului de 5×10^{-13} . În rezultatele observate în studiul de față, RS823123 a atins valoare P-ului de 0.004325 și un OR de 0.82044. Gena RAB29 este localizată pe cromozomul 1, mai exact chr1: 205767986 – 205775460. Analiza bio-bănciilor privind expresia genei RAB29 în diferite probe de țesut renal indică o valoare scăzută de 6.9 pTPM. Totuși expresia moderată a acestei gene la nivel renal duce la ipoteza unor posibile investigații ulterioare privind implicarea acestei gene în LR.

7.3. Analiza genetică a SNP-ului RS8098701 – varianta genei EPG5

RS8098701 este localizat pe cromozomul 18, în poziția 45971047 cu alele C și T, fiind o variantă nucleotidică situată în apropierea genei EPG5 (ectopic P-granules autophagy protein 5 homolog). RS8098701 a fost raportat anterior ca fiind asociat cu prezența LR în studiul “GWAS identifies nine nephrolithiasis susceptibility loci related with metabolic and crystallization pathways” [20] cu valoarea P-ului de 2×10^{-6} . În cadrul rezultatelor observate în studiul nostru, RS8098701 a atins o valoare P-ului de 0.00033 și un OR de 0.85972 cu valori mai semnificative statistic în cazul analizei realizate pe cohorta studiată (P-value= 0.00080 și OR=0.89701). Gena EPG5 este localizată pe cromozomul 18, chr18: 45847609 – 45967274.

Comparativ cu alte populații descrise din punct de vedere genético-epidemiologic, SNP-ul RS8098701 este raportat în rezultatele noastre cu o frecvență a alelei minore de 0.7492. Această valoare este mult peste valorile observate în rândul frecvențelor observate la nivel mondial. Astfel, RS8098701 poate reprezenta un marker genetic în viitoare panouri de screening genetic a LR în populația din România.

7.4. Analiza genetică a SNP-ului RS1762563 – varianta genei MISP

SNP-ul RS1762563 este localizat pe cromozomul 19 poziția 756985. Pentru acest polimorfism s-a calculat o valoare a P-ului de 1.24×10^{-5} și un risc de 14.81 în cadrul testului de asociere. Acest marker reprezintă o variantă intragenică a MISP (mitotic spindle positioning). Gena MISP este localizată pe cromozomul 19, mai exact chr19:751126 – 764318. Analiza bio-băncii privind expresia acestei gene în diferite probe de țesut renal indică o valoare scăzută de 6.9 pTPM. Totuși expresia moderată a acestei gene la nivelul rinichiului formulează posibilitatea unor investigații ulterioare privind implicarea acestei gene în apariția nefrolitiazii. Comparativ cu alte populații descrise din punct de vedere genético-epidemiologic, SNP-ul RS1762563 este raportat în cadrul rezultatelor noastre cu o frecvență a alelei minore de 0,29287, ceea ce cotează această frecvență în eșalonul superior al valorilor frecvențelor acestei alele la nivel mondial. Valoarea frecvenței raportate poate reprezenta o particularitate genetică a acestei patologii în populația din România.

7.5. Analiza genetică a SNP-ului RS35148638-C – varianta genei CCNH

RS35148638 localizat pe cromozomul 5 poziția 87315172 (5q14.3) cu alele A și C, este situat în intronul 1 al genei CCNH (cyclin H). RS35148638 a fost raportat anterior în studiul “GWAS identifies nine nephrolithiasis susceptibility loci related with metabolic and crystallization pathways” [20] cu valoarea P-ului de 6×10^{-9} . În rezultatele obținute în cadrul studiului nostru RS35148638 a atins valoarea P-ului de 0,000731 și un risc pentru alela testată de 1,1905. Gena CCNH este localizată pe cromozomul 5, chr5:7123126 – 7315418, fiind o genă raportată anterior ca fiind implicată în diferite procese metabolice. O analiză completă a expresiei genei CCNH în diferite seturi de țesuturi a fost realizată utilizând atât GTEx Analysis Release V7 cât și GeneAtlas U133A și s-au putut observa valori medii crescute la nivelul țesutului renal. Analizând toate datele disponibile în urma analizei realizate în populația din acest studiu coroborate cu raportările anterioare ale acestei variante care atestă faptul că este implicată în patologia renală, se confirmă faptul că varianta are o valoare predicativă în populația din România. Comparativ cu alte populații descrise din punct de vedere genético-epidemiologic, SNP-ul RS35148638 este raportat în cadrul rezultatelor noastre cu o frecvență a alelei minore de 0,4414. Această valoare este cotate la nivelul superior al distribuției acestor valori la nivel mondial, și reprezintă o posibilă particularitate genetică pentru nefrolitiază în populația din România.

7.6. Analiza genetică a SNP-ului RS3775182 – varianta genei MAPK10

SNP-ul RS3775182 localizat pe cromozomul 4 poziția 86058430 are o valoare a p-ului de $3.48E-06$ și un risc de 2.332 în cadrul testului de asociere. RS3775182 reprezintă varianta genetică cu cel mai mic P-value obținut în urma testului de asociere final, alela minoră prezentând caracteristici de stabilitate statistică reflectate de valorile riscului raportat (OR). Luând în considerare toate particularitățile statistice menționate mai sus, consider că această variantă este o candidată ideală pentru investigații biologice ulterioare. Acest marker reprezintă o variantă intragenică a MAPK10. Această varianta genetică a fost raportată anterior în publicația „Gemcitabine and arabinosylcytosin pharmacogenomics: genome-wide association and drug response biomarkers” [23] în 2009. Gena MAPK10 este localizată pe chr4:85,990,007-86,594,625 conform GRCh38/hg38, fiind o genă menționată anterior în literatura de specialitate ca fiind implicată în diferite procese metabolice oncogenetice. Comparativ cu alte populații descrise din punct de vedere genetic și epidemiologic, SNP-ul RS3775182 este raportat în rezultatele acestei teze cu o frecvență a alelei minore de 0.07139.

Această valoare este comparabilă cu valori medii ale distribuției acestora la nivel mondial, reprezentând o posibilă particularitate genetică a acestei patologii în populația din România.

7.7. Analiza genetică a SNP-ului RS9572356 – varianta genei KLHL1

SNP-ul RS9572356 localizat pe cromozomul 13 poziția 70085026 a fost observat cu o valoare a p-ului de $4.72E-06$ și un risc de 2.398 în cadrul testului de asociere. RS9572356 reprezintă varianta genetică cu una din cele mai mici P-value obținute în cadrul testului de asociere final, alela minoră prezentând caracteristici de stabilitate statistică reflectate de valorile riscului raportat (OR). Luând în considerare toate particularitățile statistice menționate mai sus, consider această variantă ca fiind o candidată ideală pentru investigații biologice ulterioare. Acest marker reprezintă o variantă intronică a genei KLHL1 fiind situat în intronul 4. Gena KLHL1 este localizată pe chr13:69,700,593-70,108,493 conform GRCh38/hg38, fiind o genă menționată anterior în literatura de specialitate ca fiind implicată în procese legate de asocierea farmacocinetică a acidului micofenolic și transplantul renal renal [24]. O altă raportare semnificativă din perspectiva biologică a acestei gene este reprezentată de implicarea ei în modularea funcției canalelor de calciu de tip P/Q. [25] Analiza bio-băncii privind expresia acestei gene în diferite probe de țesut renal indică o valoare extrem de scăzută de 0.1pTPM. Această valoare scăzută raportată în cazul genei studiate la nivelul rinichiului susține foarte puțin posibilitatea valorii predictive a acesteia în patologia studiată în această teză. Analiza acestei gene a fost inițiată în urma trecerii în revistă a puținelor publicații științifice ce susțin o ipoteză de studiu și implicarea acestei gene în procese metabolice comune metabolismului calciului. Comparativ cu alte populații descrise din punct de vedere genetic și epidemiologic SNP-ul RS9572356 este raportat în rezultatele acestei teze cu o frecvență a alelei minore de 0.06054. Această valoare este comparabilă cu valori medii ale distribuției acestora la nivel mondial.

7.8. Analiza genetică a SNP-ului RS1950031 – varianta genei ALKBH8

Pentru SNP-ul RS1950031, localizat pe cromozomul 11 în poziția 107558697 a fost observată o valoare a P-ului de $6.95E-06$ și un risc de 1.795 în cadrul testului de asociere. RS1950031 reprezintă varianta genetică cu una din cele mai mici P-value obținute în cadrul testului de asociere final, alela minoră prezentând caracteristici de stabilitate statistică reflectate de valorile riscului raportat (OR). Gena ALKBH8 este localizată pe 1:107,502,726-107,565,742 conform GRCh38/hg38, fiind o genă menționată anterior în literatura de specialitate ca fiind implicată în procese legate de progresia cancerului de vezică urinară. [27]

Analiza bio-bănciiilor privind expresia acestei gene în diferite probe de țesut renal indică o valoare extrem de scăzută de 4.8 pTPM. Aceasta valoare scăzută la nivelul rinichiului raportată în cazul genei ALKBH8 susține foarte puțin posibilitatea ca aceasta să aibă valoare predictivă pentru LR. Analiza genei a fost inițiată ca urmare a informațiilor furnizate în publicații științifice ce susțin o ipoteză de studiu și implicarea acestei gene în procese metabolice de corecție a transcripției genice.

7.9. Analiza genetică a SNP-ului RS3826607 – varianta genei MOCOS

SNP-ul RS3826607 este localizat pe cromozomul 18 poziția 107558697. Pentru această variantă s-a calculat o valoare a P-ului de 8.48E-06 și un risc de 0.45 în cadrul testului de asociere. RS3826607 reprezintă variantă genetică cu una din cele mai mici P-value obținut în cadrul testului de asociere final, alela minoră prezentând caracteristici de stabilitate statistică reflectate de valorile riscului raportat (OR). Luând în considerare toate particularitățile statistice menționate mai sus, consider această variantă ca fiind o candidată ideală pentru investigații biologice ulterioare. Acest marker reprezintă o variantă situată în amonte de gena MOCOS fiind întânită la 2KB în fața acesteia. Această gena este responsabilă de producerea unei enzime ce sulfurează cofactorul pe bază de molibden care este necesar pentru activarea xantindehidrogenazei (XDH) și aldehidoxidazei (AO). XDH catalizează conversia hipoxantinei spre acid uric via xantina, de asemenea convertind alupurinolul în oxipurinol și pirazinamida în 5-hidoxi pirazinamida. Mutațiile acestei gene cauzează o afecțiune metabolică cunoscută ca xantinurie de tip 2, astfel alterarea expresiei genei MOCOS duce la scăderea nivelului de acid uric în urină cu creșterea nivelurilor serice a xantinei și hipoxantinei, cu formarea de calculi de xantină și miozită prin depunerea tisulară de xantină. [28] Comparativ cu alte populații descrise din punct de vedere genetic și epidemiologic SNP-ul RS3826607 este raportat în rezultatele acestei teze cu o frecvență a alelei minore de 0.1417. Această frecvență are o valoare asemănătoare cu valorile raportate la nivel mondial, ceea ce face probabilă ipoteza ca RS3826607 să reprezinte o posibilă particularitate genetică a LR în populația din România.

7.10. Analiza populației de etnie romă

După cum menționam în obiectivele acestei teze, am considerat oportun să analizăm un subset de indivizi de etnie romă ce au făcut parte din studiul de asociere genetică. Pentru a înțelege particularitățile genetice ale acestei populații am analizat din perspectiva antropo-

genetică legatura dintre această populație și populația română. În același timp am extins această analiză la nivelul a încă 14 populații europene în vederea evaluării așa numitei “distanțe genetice” dintre populații. Studiul structurii genetice la populația romă a dezvăluit că există o similitudine de circa 80% între populația romă și cea majoritară, română. Mai mult, analiza distribuției genetice a identificat mai multe asemănări între romi și grupuri de populație ne-romă, sugerând o derivă genetică slabă. Analizând în ansamblu aceste rezultate nu putem concluziona că există un impact asupra fenotipului studiat bazat pe particularitățile genetice ale populației rome din cadrul acestui studiu. Menționez că acest rezultat are o valoare medicală cât și antropologică, susținând dezvoltarea unei strategii comune de screening al nefrolitiazii la nivel european. Beneficiile unui program de screening uniform sunt de natură medicală, logistică cât și economică, considerând aceste rezultate ca fiind o posibilă fundamentare pentru viitoare programe de screening genetic mixt.

8. Discuții

8.1.Aspecte epidemiologice

Litiaza renală este o afecțiune importantă în urologia contemporană deoarece prezintă o prevalență însemnată comparativ cu restul patologiilor din sfera urologiei și este întâlnită în toate regiunile mapamondului. Această patologie este depistată la aproximativ 1-3% din populația generală, după unele studii, și din păcate afectează în special persoanele de vârstă productivă, ceea ce are un impact social și economic deosebit, prin pierderea capacității de muncă. Este foarte rară la copii, în peste 70% din cazuri fiind afectați pacienții cu vârstă cuprinsă între 20-50 de ani, excepție făcând țării în curs de dezvoltare sau subdezvoltate în care malnutriția infantilă și bolile diareice sunt frecvent întâlnite. [29]

8.2.Componenta genetică a nefrolitiazii

Nefrolitiaza este o patologie comună care poate fi asociată cu modificări ale compoziției solutului urinar, cum ar fi hiper calciuria. Studiile sugerează că prevalența tulburărilor monogenice responsabile de apariția calculilor renali, incluzând acidoză tubulară renală, sindrom Bartter, hiperoxalurie primară și cistinurie, la pacienții care se prezintă în mod frecvent în clinice de urologie în căutarea tratamentului este de circa 15%. [2] Cu toate acestea, pentru majoritatea indivizilor, nefrolitiaza are o etiologie multifactorială care implică factori genetici și de mediu. Factorii ereditari implicați în formarea calculilor au fost

recunoscuți de multă vreme și odată cu apariția erei genomice, avem potențialul de a defini defectele genetice subiacente. Formarea calculilor renali este multifactorială, cu factori de mediu care interacționează cu factorii genetici de bază. Defectele genetice izolate și tulburările ale unei singure gene care duc la formarea calculilor au fost valoroase în definirea fiziopatologiei renale, dar acestea rămân boli rare.

8.3.Elementele de bază ale nefrolitiazii și factorii săi genetici

Există mai multe tipuri de litiază renală, dar de departe cei mai frecvenți calculi sunt calculii care conțin calciu (cel mai adesea calculii de oxalat de calciu), care reprezintă 75% din toate cazurile de litiază. Numeroase studii au evidențiat unii dintre factorii metabolici predispozanți pentru de formarea de calculi și aceștia au o relevanță deosebită pentru ca pot influența o predispoziție genetică subiacentă. [29] Cei mai frecvenți calculi renali sunt cei formați din oxalat de calciu și factorii metabolici care stau la baza formării acestora, sunt de cele mai multe ori hiper calciurie, hiperoxalurie, și hipocitraturie.

Hiperoxaluria se poate datora tulburărilor monogenice rare responsabile de apariția hiperoxaluriei primare (PH tip 1, 2 și 3) sau mai frecvent în cazul hiperoxaluriei enterice sau hiperoxaluriei idiopatice. Genetica moleculară a PH și fenotipurile sale asociate au fost recent revizuite și actualizate. PH cuprinde un set rar autozomal recesiv de tulburări (prevalența 1:58,000) care conduc la supraproducție de oxalat ce au ca rezultat hiperoxaluria, ceea ce în schimb duce la litiază renală și/sau nefrocalcinoză.

8.4.Identificarea de markeri genetici asociați nefrolitiazii în cadrul cohortei din România

8.4.1. Gena SLC26A1

Recent, interesul pentru SLC26A1 ca genă candidată pentru hiperoxalurie a crescut. Gena SLC26A1 codifică o proteină implicată în schimbul de anioni sulfat SAT1. Un pacient din cohorta studiată a prezentat mutații heterozigote compuse ce au fost identificate în SLC26A1. La un al doilea pacient, o singură variantă homozigotă a fost identificată în SLC26A1. Aceste rezultate indică faptul că SLC26A1 poate fi incriminat ca o cauză genetică a nefrolitiazii cu oxalat de calciu, prin rolul jucat de aceste modificări genetic în transportul oxalatului intestinal și tubular.

Cele doua variante identificate au fost RS746627874 și RS775172497. Chiar și într-o stare heterozigotă, pot conferi, prin urmare, un risc crescut de nefrolitiază.

8.4.2. Nefrolitiază asociată bolilor ereditare

8.4.2.1 Boala lui Dent

Boala lui Dent este o patologie rară, recesivă, X linkată, care afectează tubul proximal al nefronului. Afectiunea este determinată în circa 60% din cazuri, adică la cei cu Boala Dent tip 1, de o afectare a genei CLCN5. La 15% din cazuri, adică cei care suferă de varianta 2 a acestei boli, mutația afectează gena OCRL1. Aceste gene sunt localizate pe cromozomul Xp11.22, respectiv Xq25. Patologia este asociată cu mutații ale schimbătorului proximal de clorură. Din punct de vedere fenotipic, se constată că acești pacienți prezintă nefrocalcinoză, polidipsie și poliurie, hipercalciurie, proteinurie cu proteine cu greutate moleculară mică, insuficiență renală, hiofosfatemie, rahitism sau osteomalacie și nefrolitiază. În unele cazuri, pacienții pot prezenta un sindrom Fanconi parțial (afectarea tubului renal proximal și dereglări ale metabolismului osos) sau sindromul Bartter (hipokaliemie prin afectarea părții ascendente a ansei Henle). La pacienții cu Boala Dent tip 2 pot apărea și manifestări extrarenale, cum ar fi retardul intelectului, cataracta, hipotonie. În multe cazuri, tratamentul hipercalciuriei este cea mai directă abordare a prevenirii calculilor renali. [45]

În populația studiată am identificat 4 indivizi ce prezintă SNP-uri neraportate anterior la nivelul genei CLCN5.

8.4.2.2. Cistinuria

Cistinuria, este semnul clinic al unei boli care implică mutații ale subunităților responsabile de transportul aminoacizilor în tubul proximal; rămâne în continuare una dintre bolile ce duc la nefrolitiază care pun probleme deosebite de diagnostic și de tratament. Cistinuria de tip A implică mutații ale genei SLC3A1, care se găsește pe cromozomul 2. Aceasta codifică subunitatea grea a transportorului de aminoacizi, iar moștenirea bolii în această populație de pacienți este autosomal recesivă, cu grad de penetranță de 100%; purtătorii au modele normale de excreție și risc normal de nefrolitiază. Aceasta rămâne cea mai frecventă formă a bolii și cuprinde 45%-64% dintre pacienții cu cistinurie. Cistinuria de tip B este legată de mutațiile genei SLC7A9 de pe cromozomul 19, care codifică subunitatea ușoară a transportorului de aminoacizi. Moștenirea în această populație a fost autosomală

recesivă sau autosomal dominantă cu penetranță incompletă. Purtătorii au un risc crescut de cistinurie și cu până la 18% risc mai mare de nefrolitiază. În cazuri rare, pacienții pot prezenta mutații la ambele subunități ale transportatorului cu debut ulterior al bolii. Acest subtip a fost denumit cistinurie de tip AB și se găsește la 2%-4% dintre pacienții cu cistinurie. [46]. În populația studiată în cadrul acestui studiu am identificat purtători ai variantelor mutante ale genele SLC3A1 și SLC7A9, dar nu am întâlnit nici un individ purtător al mutațiilor din ambele gene simultan (tip AB).

În cadrul coortei analizate au fost identificate 3 variante mutante în gena SLC3A1, la trei indivizi diferiți, toate cele trei fiind variante exonice. În gena SLC7A9 a fost observată o singură variantă intronică la un bărbat de 49 de ani.

Concluzii

Contribuții proprii:

1. Publicarea a două studii de tip GWAS care au investigat nefrolitiază în România, lucrări acceptate de către reviste importante la nivel internațional și regional.

2. Evaluarea completă a profilului genetic asociat nefrolitiază în România, demers finalizat prin identificarea unui set de markeri cu valoare predictivă. 3. Formarea unei bio-bănci și a unui set de date fenotipice adiacente ce poate prezenta utilizări și în proiecte viitoare.

4. Stabilirea frecvenței alelelor de risc menționate la punctul 2, aspect ce poate avea un impact în evaluarea riscului ereditar în familiile cu risc genetic.

5. Evaluarea factorilor de risc exogeni în contextul prezenței unui profil de risc genetic preexistent și clasificarea lor în raport cu evoluția bolii.

6. Prin publicare în mod transparent a rezultatelor obținute am creat oportunitatea dezvoltării de metaanalize ce pot include subseturi de pacienți de origine română.

7. Setul de date obținut poate avea valoare de panel de screening în urma continuării studiilor la nivelul populației din țara noastră.

8. Analiza realizată în cadrul proiectului ROMCAN a dus la o evaluare completă (genome wide) a unei subcoorte de etnie romă, acest aspect reprezentând un precedent la nivel mondial.

Bibliografie

Partea generală

1. Campbell-Walsh Urology 11th Edition Review [Internet]. Google Books. 2013 Available from:<https://books.google.ro/books?id=1B3mCgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=ro#v=onepage&q&f=false/> part IX chapter 51 pag 1170
2. Clin Rev Bone Miner Metab. 2011 Dec; 9(3-4): 187–197.doi: 10.1007/s12018-011-9104-8PMCID: PMC3252394NIHMSID: NIHMS315333 PMID: 22229020 Mechanisms of Stone Formation, Vishal N Ratkalkar, MD and Jack G Kleinman, MD
3. Uptodate.com. 2021 Available from: <https://www.uptodate.com/contents/kidney-stones-in-adults-epidemiology-and-risk-factors#references>
4. Urabe Y, Tanikawa C, Takahashi A, Okada Y, Morizono T, Tsunoda T, Kamatani N, Kohri K, Chayama K, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. A Genome-Wide Association Study of Nephrolithiasis in the Japanese Population Identifies Novel Susceptible Loci at 5q35.3, 7p14.3, and 13q14.1. Gibson G, editor. PLoS Genetics [Internet]. 2012 Mar 1 [cited 2021 Mar 21];8(3):e1002541. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3291538/>
5. Tanikawa C, Kamatani Y, Terao C, Usami M, Takahashi A, Momozawa Y, Suzuki K, Ogishima S, Shimizu A, Satoh M, Matsuo K, Mikami H, Naito M, Wakai K, Yamaji T, Sawada N, Iwasaki M, Tsugane S, Kohri K, Yu ASL. Novel Risk Loci Identified in a Genome-Wide Association Study of Urolithiasis in a Japanese Population. Journal of the American Society of Nephrology [Internet]. 2019 Apr 11 [cited 2021 Mar 21];30(5):855–64. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6493984/>
6. A map of human genome variation from population-scale sequencing. Nature. 2010 Oct;467(7319):1061–73.
7. Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. Nature Reviews Genetics. 2005 Feb;6(2):95–108.

Partea specială

1. Genetic epidemiology of Cancer in Romania | EEA Grants [Internet]. [cited 2021 Apr 14]. Available from: <https://eeagrants.org/archive/2009-2014/projects/RO14-0017>

2. Final Report Summary - PROMARK (Genetic prostate cancer variants as biomarkers of disease progression) | Report Summary | PROMARK | FP7 | CORDIS | European Commission [Internet]. [cited 2021 Apr 14]. Available from: <https://cordis.europa.eu/project/id/202059/reporting>
3. Aguet F, Brown AA, Castel SE, Davis JR, He Y, Jo B, et al. Genetic effects on gene expression across human tissues. *Nature* [Internet]. 2017 Oct 11 [cited 2021 Apr 14];550(7675):204–13. Available from: www.gtexportal.org
4. Tanikawa C, Kamatani Y, Terao C, Usami M, Takahashi A, Momozawa Y, et al. GWAS identifies nine nephrolithiasis susceptibility loci related with metabolic and crystallization pathways [Internet]. *bioRxiv*. bioRxiv; 2019 [cited 2021 Apr 14]. p. 519553. Available from: <https://doi.org/10.1101/519553>
5. Vodicska B, Cerikan B, Schiebel E, Hoffmann I. MISP regulates the IQGAP1/Cdc42 complex to collectively orchestrate spindle orientation and mitotic progression. *Sci Rep* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2021 Apr 14];8(1):1–12. Available from: www.nature.com/scientificreports/
6. Li L, Fridley BL, Kalari K, Jenkins G, Batzler A, Weinshilboum RM, et al. Gemcitabine and arabinosylcytosin pharmacogenomics: Genome-wide association and drug response biomarkers. *PLoS One* [Internet]. 2009 Nov 9 [cited 2021 Apr 14];4(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19898621/>
7. Lloberas N, Torras J, Cruzado JM {a. }, Andreu F, Oppenheimer F, Sanchez-Plumed J, Gentil MA, Brunet M, Ekberg H, Grinyo JM {a. }. Influence of MRP2 on MPA pharmacokinetics in renal transplant recipients-results of the Pharmacogenomic Substudy within the Symphony Study. *Nephrology Dialysis Transplantation* [Internet]. 2011 Mar 22 [cited 2021 Apr 23];26(11):3784–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21427078/>
8. Aromolaran KA, Benzow KA, Koob MD, Piedras-Rentería ES. The Kelch-like protein 1 modulates P/Q-type calcium current density. *Neuroscience* [Internet]. 2007 Mar [cited 2021 Apr 23];145(3):841–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17289272/>
9. Shimada K, Nakamura M, Anai S, De Velasco M, Tanaka M, Tsujikawa K, O uji Y, Konishi N. A Novel Human AlkB Homologue, ALKBH8, Contributes to Human Bladder

Cancer Progression. *Cancer Research* [Internet]. 2009 Mar 17 [cited 2021 Apr 23];69(7):3157–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19293182/>

10. Kitamura S, Sugihara K, Ohta S. Drug-metabolizing ability of molybdenum hydroxylases. [Internet]. Vol. 21, *Drug metabolism and pharmacokinetics. Drug Metab Pharmacokinet*; 2006 [cited 2021 Apr 14]. p. 83–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16702728/>
11. Alelign T, Petros B. *Kidney Stone Disease: An Update on Current Concepts* [Internet]. Vol. 2018, *Advances in Urology*. Hindawi Limited; 2018. Available from: </pmc/articles/PMC5817324/>
12. Vezzoli G, Terranegra A, Arcidiacono T, Soldati L. Genetics and calcium nephrolithiasis. Vol. 80, *Kidney International*. Nature Publishing Group; 2011. p. 587–93.
13. Devuyst O, Thakker R V. Dent's disease [Internet]. Vol. 5, *Orphanet Journal of Rare Diseases*. BioMed Central; 2010 [cited 2021 Apr 21]. p. 28. Available from: </pmc/articles/PMC2964617/>

Lista lucrărilor științifice publicate

1. Sima C, Iordache P, Poenaru E, Manolescu A, Poenaru C, Jinga V. Genome-wide association study of nephrolithiasis in an Eastern European population. *International Urology and Nephrology* [Internet]. 2020 Aug 31;53(2):309–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32865774/>
2. Sima C, Rascu A, Radavoi D, Badescu D, Ursu R, Iordache P, Jinga V, Sorin C. Clinical studies Profile of Common Nephrolithiasis Risk Variants in the Romanian Population [Internet]. ; Available from: <http://revista-urologia.ro/wp-content/uploads/2020/09/Profile-of-Common-Nephrolithiasis-Risk-Variants-in-the-Romanian-Population.pdf>
3. Iordache PD, Mates D, Gunnarsson B, Eggertsson HP, Sulem P, Guðmundsson J, Benónisdóttir S, Csiki IE, Rascu S, Radavoi D, Ursu R, Staicu C, Calota V, Voinoiu A, Jinga M, Rosoga G, Danau R, Sima SC, Badescu D, Suci N. Profile of common prostate cancer risk variants in an unscreened Romanian population. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* [Internet]. 2017 Dec 20 [cited 2021 Apr 10];22(3):1574–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29266682/>
4. Iordache PD, Mates D, Gunnarsson B, Eggertsson HP, Sulem P, Benonisdottir S, Csiki IE, Rascu S, Radavoi D, Ursu R, Staicu C, Calota V, Voinoiu A, Jinga M, Rosoga G, Danau R, Sima SC, Badescu D, Suci N, Radoi V, Mates IN, Dobra M, Nicolae C, Kristjansdottir S, Jonasson JG, Manolescu A, Arnadottir G, Jensson B, Jonasdottir A, Sigurdsson A, le Roux L, Johannsdottir H, Rafnar T, Halldorsson BV, Jinga V, Stefansson K. Identification of Lynch syndrome risk variants in the Romanian population. *J Cell Mol Med*. 2018 Dec;22(12):6068-6076. doi: 10.1111/jcmm.13881. Epub 2018 Oct 16. PMID: 30324682; PMCID: PMC6237568. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30324682/>