

OPIS PRZEDMIOTU ZAMÓWIENIA

Przedmiotem zamówienia jest świadczenie usługi polegającej na zbieraniu i przygotowaniu materiału badawczego w postaci prób materiału biologicznego od zdrowych osób stanowiących grupę kontrolną oraz od osób ze zdiagnozowaną chorobą Alzheimera w ramach realizowanego projektu „*Mutacje nabywane w trakcie rozwoju i życia człowieka powodujące zwiększone ryzyko chorób, w szczególności nowotworów*” przez okres 36 miesięcy.

Projekt realizowany jest w Programie na Rzecz Nauki Polskiej pt. „Międzynarodowe Agendy Badawcze” finansowanym ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój, Oś IV: Zwiększenie potencjału naukowo-badawczego, Działanie 4.3. Międzynarodowe Agendy Badawcze, nr umowy MAB/2018/6.

ZAKRES USŁUGI

Charakterystyka osób włączonych do badania	Minimalna wymagana liczba osób (miesięcznie)	Maksymalna liczba osób (miesięcznie)	Minimalna łączna liczba osób	Maksymalna łączna liczba osób
Zdrowe osoby powyżej 65. roku życia bez osobistej historii choroby Alzheimera i nowotworowej oraz osoby ze zdiagnozowaną chorobą Alzheimera	2	40	72	1440

Zakres świadczenia usługi:

- Zbieranie i przygotowanie prób materiału biologicznego od zdrowych osób powyżej 65. roku życia bez osobistej historii choroby Alzheimera i nowotworowej oraz od osób ze zdiagnozowaną chorobą Alzheimera
 - krw obwodowa 35 ml,
 - wymaz z jamy ustnej.
- Zbieranie materiału biologicznego będzie odbywać się:
 - w ramach wizyty domowej,
 - lub
 - w siedzibie Wykonawcy.
- Osoby włączone do badania rekrutuje Zamawiający.

4. Do ostatniego dnia roboczego każdego tygodnia kalendarzowego Zamawiający przekaże Wykonawcy listę osób do pobrania w kolejnym tygodniu. Lista osób uwzględni dane kontaktowe i adresowe.
5. Zamawiający określi, czy pobranie materiału biologicznego ma się odbyć w ramach wizyty domowej, czy w siedzibie Wykonawcy.
6. Wizyty domowe będą odbywać w odległości maksymalnie 50 km od siedziby Zamawiającego.
7. W przypadku wizyt domowych Wykonawca sam organizuje i pokrywa koszt dojazdu do pacjenta.
8. Wyjazdy w ramach wizyt domowych w odległości powyżej 35 km od siedziby zamawiającego nie będą odbywać się częściej niż 4 razy w miesiącu.
9. Zbieranie materiału powinno odbywać się w wyznaczone 3 dni tygodnia: wtorki, środy, czwartki. Zamawiający zastrzega możliwość zwiększenia liczby dni tygodnia do 5 dni (tj. poniedziałek i piątek).
10. Zbieranie materiału powinno odbywać się od maksymalnie 2 pacjentów dziennie. Zamawiający zastrzega możliwość zwiększenia liczby do 4 pacjentów dziennie.
11. Świeży materiał musi być dostarczony do siedziby Zamawiającego do godziny 10:00 w dniu badania.
12. Pobieranie i przechowywanie materiału biologicznego będzie przeprowadzone zgodnie z procedurą dostarczoną przez Zamawiającego.
13. Zamawiający w ramach umowy dostarczy próbówki na pobranie krwi oraz próbówki do wykonania wymazu z jamy ustnej.
14. Zamawiający w ramach umowy dostarczy druki świadomej zgody oraz ankiety medycznej.
15. W celu prawidłowej realizacji usługi Wykonawca wskaże osobę odpowiedzialną za koordynację działań w zakresie merytorycznym i administracyjnym po stronie Wykonawcy.
16. Wykonawca zobowiąże się do uzyskania od zrekrutowanej osoby zgody na udział w badaniu MAB poprzez uzyskanie podpisu na druku świadomej zgody oraz do uzyskania prawidłowo wypełnionego druku ankiety medycznej.
17. Rozliczenie za wykonaną liczbę pobrań materiału biologicznego będzie odbywało się na koniec miesiąca kalendarzowego na podstawie protokołu.

OPIS POSTĘPOWANIA BADAWCZEGO

1. Wykonawca oświadcza, że każdorazowo dla potrzeb badania:
 - a) zostanie pobrane 35 ml krwi obwodowej: 4 próbówki BD Vacutainer CPT (maksymalna objętość 8 ml) + 1 próbówka Vacutainer z EDTA (maksymalna objętość 6 ml),
 - b) zostanie pobrany wymaz z błony śluzowej jamy ustnej (próby odniesienia),

GDAŃSKI UNIwersytet MEDYCZNY • MIĘDZYNARODOWA AGENDA BADAWCZA • LABORATORIUM MEDYCZNY 3P
80-210 Gdańsk, ul. M. Skłodowskiej-Curie 3A, tel. 58 349 11 83, email: mab@gumed.edu.pl

2. Postępowanie badawcze będące przedmiotem zamówienia zostało przyjęte i zatwierdzone przez Niezależną Komisję Bioetyczną ds. Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym w Gdańsku, powołaną przez Rektora Uczelni, na podstawie rozporządzenia MZiOZ (Dz.U.nr.47, poz.480).

ZAKRES ZADAŃ KOORDYNATORA

1. Koordynowanie przebiegu pozyskiwania próbek materiału biologicznego zgodnie z dokumentacją i wytycznymi zatwierdzonymi przez Komisję Bioetyczną.
2. Informowanie zrekrutowanych osób o badaniu - przekazywanie świadomych zgód do podpisu
3. Monitorowanie i raportowanie o ilości pozyskiwanych próbek tygodniowo.
4. Monitorowanie i raportowanie o zapotrzebowaniu na dostarczenie probówek.

WARUNKI REALIZACJI

1. Materiał biologiczny wraz z danymi klinicznymi będzie przechowywany w siedzibie Zamawiającego w Biobanku Zakładu Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.
2. Pobrane próby materiału biologicznego zostaną wykorzystane na potrzeby ww. projektu oraz w celu realizacji przyszłych projektów naukowych, które mogą zostać opracowane w miarę poszerzania wiedzy na temat mechanizmów rozwoju choroby Alzheimera.
3. Usługa badawcza będzie świadczona u Wykonawcy lub poza siedzibą Wykonawcy.

INFORMACJA O BADANIACH W RAMACH PROJEKTU MAB

a) założenie badań

Mutacje post-zygotyczne (PZMs – Post-Zygotic Mutations), są aberracjami genetycznymi nabywanymi podczas życia i występującymi w klonach normalnych komórek somatycznych. Zjawisko to, nazywane również mozaicyzmem somatycznym, może stanowić predyspozycję do rozwoju wielu chorób, w tym nowotworów i choroby Alzheimer'a. PZMs obejmują szeroką gamę mutacji, tj. od mutacji pojedynczych nukleotydów do aberracji całych chromosomów. Przez wiele lat uważano, że PZMs są łagodnym i rzadko występującym efektem starzenia się komórek. Jednak stale wzrastająca liczba badań naukowych wskazuje na tak powszechne występowanie PZMs, że zasadniczo w jednym organizmie nie ma dwóch identycznych genetycznie komórek, a PZMs mogą być przyczyną chorób somatycznych [1-5]. Projekt, którego dotyczy niniejszy wniosek, obejmuje głównie (ale nie wyłącznie) problematykę dotyczącą związku PZMs z nowotworami: rakiem piersi u kobiet, rakiem prostaty u mężczyzn, oraz rakiem okrężnicy/odbytnicy i pęcherza moczowego u obu płci. Ponadto, projekt obejmuje również zagadnienia dotyczące mechanizmu rozwoju choroby Alzheimer'a w kontekście utraty chromosomu Y w leukocytach krwi obwodowej (ang. Loss Of chromosome Y - LOY) [6].

Nadrzędna hipoteza projektu zakłada, że analiza PZMs u reprezentatywnej liczby pacjentów dostarczy nowych informacji odnośnie molekularnych mechanizmów rozwoju wyżej wymienionych chorób, a w konsekwencji pozwoli na identyfikację nowych, wczesnych biomarkerów tych chorób.

Cele szczegółowe:

Cel 1) Rozwój nowych standardów biobankowania materiału biologicznego pobranego od pacjentów z chorobami nowotworowymi, chorobą Alzheimer'a oraz grupy kontrolnej

Niniejszy projekt wymaga opracowania nowych standardów biobankowania prób biologicznych obejmujących nie tylko standardowy materiał jak np. krew obwodowa, czy mrożone lub utrwalone fragmenty guzów. W przypadku pacjentów z chorobami nowotworowymi pobierany materiał będzie uwzględniał również próby niezmienionej nowotworowo tkanki z okolicy guza oraz fragmenty skóry z okolicy cięcia chirurgicznego [7, 8]. Poza mrożeniem i utwaleniem chemicznym prób, fragmenty niezmienionej nowotworowo tkanki z okolicy guza, a także fibroblasty wyizolowane ze skóry będą wprowadzane i utrzymywane w hodowlach komórkowych. Dodatkowo od wszystkich osób włączonych do badań w ramach niniejszego projektu pobierany będzie wymaz z błony śluzowej jamy ustnej w celu zabezpieczenia komórek nabłonkowych. Ponadto, gromadzone będą dane kliniczne, w tym follow-up, wymagające

bezpiecznego deponowania i deidentyfikacji przed przekazaniem do badań. Te zadania będą realizowane przez Zakład Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej – BioBank GUMed, który dysponuje odpowiednimi kompetencjami oraz zasobami ludzkimi i sprzętowymi. Należy podkreślić, że celem biobankowania prowadzonego w ramach niniejszego projektu jest stworzenie unikatowego repozytorium materiału biologicznego, który będzie mógł być wykorzystany nie tylko na potrzeby planowanych badań, ale także na potrzeby przyszłych projektów naukowych.

Cel 2) Poszukiwanie w tkance nienowotworowej PZMs predysponujących do powszechnie występujących nowotworów.

W trakcie naszych wcześniejszych badań wykazaliśmy, że w nienowotworowej tkance wydzielniczej gruczołu sutkowego występują wczesne genetyczne aberracje strukturalne (mutacje chromosomalne albo subchromosomalne), które mogą być odpowiedzialne za somatyczną predyspozycję do rozwoju guza. Aberracje te współwystępują i są prawdopodobnie warunkowane mutacjami punktowymi genów odpowiedzialnych za zachowanie stabilności genomowej [2, 3]. Rozszerzenie tych badań pozwoli na mocniejsze poparcie hipotezy wskazującej na powiązanie rearanżacji genomowych z mutacjami genów zapewniających zachowanie integralności genomu. Ponadto, badaniami objęci zostaną również pacjenci z: rakiem prostaty, rakiem okrężnicy/odbytnicy i rakiem pęcherza moczowego. Wymienione wyżej typy nowotworów zostały wybrane do badań, ponieważ występują z wysoką częstością, a ich etiologia, podobnie jak w przypadku raka piersi, może być powiązana ze stresem komórkowym w odpowiedzi na ekspozycję na czynniki środowiskowe lub hormonalne.

Cel 3) Utrata chromosomu Y w leukocytach krwi obwodowej jako przyczyna krótszego życia mężczyzn.

Krótsza długość życia mężczyzn w porównaniu do kobiet jest znanym faktem [9-16]. W skali globalnej różnica wynosi ok. 4 lata, a w populacjach o dłuższym okresie życia jest jeszcze większa, np. ok. 6 lat w Unii Europejskiej i ok. 7 lat w Japonii. Należy tu podkreślić, że im dłuższa jest średnia długość życia dla danego regionu, tym większa różnica między tym, jak długo żyją mężczyźni i kobiety w tych społeczeństwach ([Life expectancy graph](#) w Wikipedii). Badania własne oraz innych zespołów wykazały, że czynnikiem powiązanim z ogólną wcześniejszą śmiertelnością mężczyzn jest mozaikowata utrata chromosomu Y w leukocytach krwi obwodowej [1, 6, 17-25]. W związku z tym planujemy poddać analizom wybrane typy leukocytów wyizolowane z krwi obwodowej mężczyzn ze stwierdzonym rakiem prostaty, okrężnicy/odbytnicy lub pęcherza moczowego, aby sprawdzić czy utrata chromosomu Y w tych komórkach może być związana z wczesnym rozwojem guzów. Zakładamy również, że analogiczny mechanizm jest podłożem zmian neurodegeneracyjnych w ośrodkowym układzie nerwowym u pacjentów z chorobą Alzheimera, co także zostanie poddane analizie. Główna hipoteza tych badań zakłada, że utrata chromosomu Y w leukocytach krwi obwodowej

upośledza funkcję nadzoru immunologicznego. Nadzór immunologiczny umożliwi skuteczną eliminację nieprawidłowych komórek, które w przeciwnym razie mogą ewoluować w kierunku komórek nowotworowych lub prowadzić do powstawania blaszek amyloidowych w mózgu [26-33].

Cel 4) Analizy funkcjonalne mutacji scharakteryzowanych w trakcie realizacji celów 1 i 2. *Interpretacja funkcjonalna rzadkich wariantów sekwencyjnych jest utrudniona, ponieważ tylko niektóre warianty wykazują efekt układowy, który może być zaobserwowany w różnych rodzajach komórek. Często efekt jest swoisty i ograniczony do określonych komórek i czasu w trakcie ontogenezy. Dlatego postawiono hipotezę, że efekt rzadkich wariantów sekwencyjnych jest najbardziej widoczny w stymulowanych, podlegających intensywnym podziałom komórkach [34]. Zamierzeniem proponowanych badań jest odtworzenie i monitorowanie tego efektu in vitro poprzez stymulację mitotyczną komórek pozyskanych od pacjentów, w warunkach stresu replikacyjnego.*

Cel 5) Opracowanie prototypów układów diagnostycznych do analiz PZMs jako biomarkerów chorób.

Na podstawie wyników badań otrzymanych w trakcie realizacji celów 1-4 zostaną przygotowane i zwalidowane prototypy prostych układów diagnostycznych do analiz PZMs jako biomarkerów raka i choroby Alzheimer'a. Ten cel będzie realizowany retrospektywnie z użyciem wcześniej zgromadzonego materiału (cel 1).

b) metodyka badań (szczegółowo)

Cel 1) Procedura pozyskiwania materiału do badań.

Pacjenci będą rekrutowani w jednostkach (wyłonionych w drodze przetargu nieograniczonego) przez lekarzy prowadzących wskazanych przez kierowników tych jednostek.

Lekarz prowadzący będzie przedstawiać informację o badaniu i odbierać zgodę pacjentów, którzy wyrażą wolę uczestnictwa w badaniu. Pacjenci będą rekrutowani spośród osób ze wskazaniem do zabiegu chirurgicznego z powodu raka piersi u kobiet, raka prostaty u mężczyzn, oraz raka okrężnicy/odbytnicy i pęcherza moczowego u obu płci lub z chorobą Alzheimer'a. Preferowani będą pacjenci, którzy nie zostali poddani terapii neoadiuwantowej i bez podłoża rodzinnego. Planowane jest pobranie materiału od ok. 800 pacjentów dla każdej z wymienionych diagnoz nowotworowych oraz około 1500 pacjentów z chorobą Alzheimer'a. W szczególności, przed zabiegiem zostanie pobrane 30-35 ml krwi obwodowej (4 próbki Vacutainer o maksymalnej pojemności 10 ml), która zostanie poddana frakcjonowaniu na elementy morfotyczne krwi i osocze. Od pacjentów zostanie także pobrany wymaz z błony śluzowej jamy ustnej, który będzie stanowił dodatkowy/alternatywny materiał badawczy z tkanki nie objętej procesem chorobowym. W przypadku pacjentów z diagnozą choroby Alzheimer'a

będą to jedyne pobrane próby. Od pacjentów z diagnozami nowotworowymi wymienionymi w niniejszym wniosku, po wykonaniu operacji, z usuniętych fragmentów tkanek (tzn. odpadów medycznych), zostanie pobrany wycinek nienowotworowej tkanki (ok. 0,5 cm³) (próba stanowiąca główny materiał badawczy), fragment guza pierwotnego (ok. 0,5 cm³), przerzutów, jeśli będą usuwane (ok. 0,5 cm³) (próby porównawcze), oraz fragment skóry (ok. 0,5 cm²) (próba stanowiąca dodatkowy/alternatywny materiał badawczy z normalnej tkanki niewłączonej w proces chorobowy). Wszystkie próby zostaną niezwłocznie zamrożone w -80 C. Ponadto, z prób nienowotworowej tkanki oraz skóry zostaną założone hodowle pierwotne *in vitro*, odpowiednio komórek nabłonka oraz fibroblastów. Materiał do badań zostanie przekazany do Zakładu Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej - BioBanku GUMed, gdzie wszystkie dane jak również opis z próbą zostaną poddane deidentyfikacji przed przekazaniem do badań naukowych. Dalsze badania laboratoryjne będą prowadzone w Międzynarodowej Agencji Badawczej GUMed oraz w Uppsala University w Szwecji. Proponowane badanie jest poznawczo-porównawcze i nie stanowi zagrożenia dla zdrowia badanych osób.

Cel 2) Poszukiwanie w tkance nienowotworowej PZMs predysponujących do powszechnie występujących nowotworów w tkance nienowotworowej.

Materiał: wg opisu powyżej, pobrany w trakcie realizacji **Celu 1**.

W celu identyfikacji (i) destabilizacji genomu i (ii) rzadkich wariantów sekwencyjnych, mutacji-kandydatów, zostaną wykonane: (i) całogenomowa ocena genetycznych rearanżacji strukturalnych i ekspresji genów z użyciem mikromacierzy aCGH+SNP oraz wysokoprzepustowego sekwencjonowania równoległego; (ii) celowane wysokoprzepustowe sekwencjonowanie równoległe znanych *loci* predyspozycji, oraz genów kierujących w somatycznym procesie rozwoju raka, ze szczególnym uwzględnieniem genów związanych z utrzymaniem stabilności genomu oraz genów kontrolujących cykl komórkowy; ponadto sekwencjonowanie obejmie również tzw. bliźny informacyjne w miejscach granicznych rearanżacji strukturalnych oraz analizę ekspresji genów metodą sekwencjonowania pojedynczych cząsteczek DNA i RNA w czasie rzeczywistym (Single Molecule Real-Time Sequencing, SMRT). Ze względu na szybki rozwój technik analizy genomów, planowane jest użycie innych nowszych metod w miarę ich rozwoju.

Cel 3) Utrata chromosomu Y w leukocytach krwi obwodowej jako przyczyna krótszego życia mężczyzn.

Materiał: wg opisu powyżej - pobrany w trakcie realizacji **Celu 1** z tym, że analiza będzie ograniczona do leukocytów krwi obwodowej od mężczyzn z następującymi chorobami: rak prostaty, rak okrężnicy/*odbytnicy*, rak pęcherza moczowego, oraz z chorobą Alzheimer'a. Poszczególne frakcje leukocytów zostaną wyodrębnione z użyciem na przykład cytometru przepływowego z sorterem komórek lub innych metod. Następnie zostaną wykonane

analogiczne analizy jak w opisie metodyki **Celu 2** powyżej. Ze względu na szybki rozwój technik analizy genomów, planowane jest użycie innych nowszych metod w miarę ich rozwoju.

Cel 4) Analizy funkcjonalne mutacji scharakteryzowanych w trakcie realizacji celów 2 i 3.

Materiał: wg opisu powyżej - pobrany w trakcie realizacji **Celu 1** z tym, że ograniczony do hodowli pierwotnych *in vitro* komórek nabłonka oraz fibroblastów wyprowadzonych z prób nienowotworowej tkanki oraz skóry od pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem piersi, prostaty, okrężnicy/odbytnicy lub pęcherza moczowego (**Cel 1**).

Komórki z hodowli *in vitro* zostaną poddane stresowi replikacyjnemu, a następnie zostanie wykonana analiza konsekwencji stresu poprzez monitorowanie załamania widełek replikacyjnych, powstawania dwuniciowych pęknięć DNA, profilu transkryptomicznego mRNA/miRNA. Ponadto, analogiczne doświadczenia zostaną wykonane podczas różnicowania *in vitro* komórek progenitorowych (otrzymanych ze skóry/fibroblastów) do komórek nabłonka. Dodatkowo, w celach referencyjnych, zostaną podjęte próby modelowania i naprawy mutacji metodą CRISPR/Cas9 w komórkach z hodowli *in vitro*.

Dalsza analiza genetyczna będzie ograniczona do pacjentów wyselekcjonowanych podczas realizacji **Celu 2**, tj. ze stwierdzonymi mutacjami somatycznymi. Analizy genetyczne zostaną wykonane analogicznie jak analizy w opisie metodyki **Celu 2** powyżej. Ze względu na szybki rozwój technik analizy genomów, planowane jest użycie innych nowszych metod w miarę ich rozwoju.

Cel 5) Opracowanie prototypów układów diagnostycznych do analiz PZMs jako biomarkerów chorób.

Na podstawie wyników badań otrzymanych w trakcie realizacji celów 1-4 zostaną przygotowane i zwalidowane prototypy prostych układów diagnostycznych do analiz PZMs jako biomarkerów raka i choroby Alzheimer'a. Od strony metodycznej zostanie wykorzystane celowane wysokoprzepustowe sekwencjonowanie równoległe oraz celowane mikromacierze aCGH+SNP. Ze względu na szybki rozwój technik analizy genomów, planowane jest użycie innych nowszych metod w miarę ich rozwoju.

c) badani: wiek, płeć, stan zdrowia

Wiek 18 - 85 lat

Obie płcie

d) kryteria włączenia:

Podpisana zgoda na pobranie materiału do ZMDL - BioBank

Rozpoznany rak piersi u kobiet, rak prostaty u mężczyzn, rak okrężnicy//odbytnicy lub pęcherza moczowego u obu płci.

kryteria wyłączenia:

Brak zgody na pobranie materiału

e) liczebność grupy badanej

- W przypadku raka piersi u kobiet, raka prostaty u mężczyzn, raka okrężnicy/odbytnicy lub pęcherza moczowego u obu płci – 800 pacjentów dla każdego wymienionego rozpoznania.
- Zdrowe osoby (bez żadnych diagnoz nowotworowych, dotyczy tylko pobierania krwi obwodowej), około 400 osób. Osoby te będą rekrutowane w Poradni Chirurgii Onkologicznej, z pośród osób, które przychodzą na rutynowe kontrole.
- Zdrowe osoby (bez żadnych podejrzeń otępienia, dotyczy tylko pobierania krwi obwodowej), około 400 osób. Osoby te będą rekrutowane w poradni i Klinice Chorób Wewnętrznych, Chorób Tkanki Łącznej i Geriatrii, Gdański Uniwersytet Medyczny, z pośród osób, które przychodzą na rutynowe kontrole.

f) miejsce wykonywania badań laboratoryjnych

Zakład Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej – Biobank, Gdański Uniwersytet Medyczny
<http://www.informator.gumed.edu.pl/335>

Międzynarodowa Agenda Badawcza, tzn. badania na Gdańskim Uniwersytecie Medycznym oraz na Uniwersytecie w Uppsali.

Nie wykluczamy też możliwości badań naukowych w innych krajach, po nawiązaniu współpracy z dodatkowymi jednostkami naukowymi.

g) przewidywany okres przeprowadzania badań

60 miesięcy, z możliwością przedłużenia, w zależności od uzyskanych wyników i dalszego finansowania.

Piśmiennictwo:

1. Forsberg LA, Gisselsson D, Dumanski JP: Mosaicism in health and disease - clones picking up speed, Nat Rev Genet 2017, 18:128-142; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27941868>)
2. Ronowicz A, Janaszak-Jasiecka A, Skokowski J, Madanecki P, Bartoszewski R, Balut M, Seroczynska B, Kochan K, Bogdan A, Butkus M, Peksa R, Ratajska M, Kuzniacka A, Wasag B, Gucwa M, Krzyzanowski M, Jaskiewicz J, Jankowski Z, Forsberg L, Ochocka JR, Limon J, Crowley MR, Buckley PG, Messiaen L, Dumanski JP, Piotrowski A: Concurrent DNA Copy-Number Alterations and Mutations in Genes Related to Maintenance of Genome Stability in Uninvolved Mammary Glandular Tissue from Breast Cancer Patients, Hum Mutat 2015, 36:1088-1099; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26219265>)
3. Forsberg LA, Rasi C, Pekar G, Davies H, Piotrowski A, Absher D, Razzaghian HR, Ambicka A, Halaszka K, Przewoznik M, Kruczek A, Mandava G, Pasupulati S, Hacker J, Prakash KR, Dasari RC, Lau J, Penagos-Tafurt N, Olofsson HM, Hallberg G, Skotnicki P, Mitus J, Skokowski J, Jankowski M, Srutek E, Zegarski W, Tiensuu Janson E, Rys J, Tot T, Dumanski JP:

- Signatures of post-zygotic structural genetic aberrations in the cells of histologically normal breast tissue that can predispose to sporadic breast cancer, *Genome Res* 2015, 25:1521-1535; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26430163>)
4. Forsberg LA, Absher D, Dumanski JP: Non-heritable genetics of human disease: spotlight on post-zygotic genetic variation acquired during lifetime, *J Med Genet* 2013, 50:1-10; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23172682>)
 5. Dumanski JP, Piotrowski A: Structural genetic variation in the context of somatic mosaicism. Edited by Feuk L. New York, Humana Press, 2012, p. pp. 249-272; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22228016>)
 6. Dumanski JP, Lambert JC, Rasi C, Giedraitis V, Davies H, Grenier-Boley B, Lindgren CM, Campion D, Dufouil C, European Alzheimer's Disease Initiative I, Pasquier F, Amouyel P, Lannfelt L, Ingelsson M, Kilander L, Lind L, Forsberg LA: Mosaic Loss of Chromosome Y in Blood Is Associated with Alzheimer Disease, *Am J Hum Genet* 2016, 98:1208-1219; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27231129>)
 7. Pekar G, Davies H, Lukacs AP, Forsberg L, Hellberg D, Dumanski J, Tot T: Biobanking multifocal breast carcinomas: sample adequacy with regard to histology and DNA content, *Histopathology* 2016, 68:411-421; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26083274>)
 8. Witon M, Strapagiel D, Glenska-Olender J, Chroscicka A, Ferdyn K, Skokowski J, Kalinowski L, Pawlikowski J, Marciniak B, Pasterk M, Matera-Witkiewicz A, Kozera L: Organization of BBMRI.pl: The Polish Biobanking Network, *Biopreserv Biobank* 2017, 15:264-269; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28103080>)
 9. Blatt Kalben B: Why Men Die Younger, *North American Actuarial Journal* 2000, 4:83-111; (<http://dx.doi.org/10.1080/10920277.2000.10595939>)
 10. Gleit DA, Horiuchi S: The narrowing sex differential in life expectancy in high-income populations: effects of differences in the age pattern of mortality, *Popul Stud (Camb)* 2007, 61:141-159; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17558883>)
 11. Cassell JA, Mercer CH, Sutcliffe L, Petersen I, Islam A, Brook MG, Ross JD, Kinghorn GR, Simms I, Hughes G, Majeed A, Stephenson JM, Johnson AM, Hayward AC: Trends in sexually transmitted infections in general practice 1990-2000: population based study using data from the UK general practice research database, *BMJ* 2006, 332:332-334; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16439371>)
 12. Austad SN: Why women live longer than men: sex differences in longevity, *Gend Med* 2006, 3:79-92; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16860268>)
 13. Zarulli V, Barthold Jones JA, Oksuzyan A, Lindahl-Jacobsen R, Christensen K, Vaupel JW: Women live longer than men even during severe famines and epidemics, *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29311321>)

14. Cook MB, McGlynn KA, Devesa SS, Freedman ND, Anderson WF: Sex disparities in cancer mortality and survival, *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention* 2011, 20:1629-1637; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21750167>)
15. Edgren G, Liang L, Adami HO, Chang ET: Enigmatic sex disparities in cancer incidence, *Eur J Epidemiol* 2012, 27:187-196; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22212865>)
16. Austad SN, Fischer KE: Sex Differences in Lifespan, *Cell Metab* 2016, 23:1022-1033; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27304504>)
17. Forsberg LA, Rasi C, Malmqvist N, Davies H, Pasupulati S, Pakalapati G, Sandgren J, de Stahl TD, Zaghlool A, Giedraitis V, Lannfelt L, Score J, Cross NC, Absher D, Janson ET, Lindgren CM, Morris AP, Ingelsson E, Lind L, Dumanski JP: Mosaic loss of chromosome Y in peripheral blood is associated with shorter survival and higher risk of cancer, *Nature Genetics* 2014, 46:624-628; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24777449>)
18. Dumanski JP, Rasi C, Lonn M, Davies H, Ingelsson M, Giedraitis V, Lannfelt L, Magnusson PK, Lindgren CM, Morris AP, Cesarini D, Johannesson M, Tiensuu Janson E, Lind L, Pedersen NL, Ingelsson E, Forsberg LA: Smoking is associated with mosaic loss of chromosome Y, *Science* 2015, 347:81-83; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25477213>)
19. Ganster C, Kampfe D, Jung K, Bräulke F, Shirneshan K, Machherndl-Spandl S, Suessner S, Bramlage CP, Legler TJ, Koziol MJ, Haase D, Schanz J: New data shed light on Y-loss-related pathogenesis in myelodysplastic syndromes, *Genes Chromosomes Cancer* 2015, 54:717-724; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26394808>)
20. Forsberg LA: Loss of chromosome Y (LOY) in blood cells is associated with increased risk for disease and mortality in aging men, *Hum Genet* 2017, 136:657-663; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28424864>)
21. Noveski P, Madjunkova S, Sukarova Stefanovska E, Matevska Geshkovska N, Kuzmanovska M, Dimovski A, Plaseska-Karanfilska D: Loss of Y Chromosome in Peripheral Blood of Colorectal and Prostate Cancer Patients, *PLoS One* 2016, 11:e0146264; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26745889>)
22. Machiela MJ, Dagnall CL, Pathak A, Loud JT, Chanock SJ, Greene MH, McGlynn KA, Stewart DR: Mosaic chromosome Y loss and testicular germ cell tumor risk, *J Hum Genet* 2017, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28275244>)
23. Zhou W, Machiela MJ, Freedman ND, Rothman N, Malats N, Dagnall C, Caporaso N, Teras LT, Gaudet MM, Gapstur SM, Stevens VL, Jacobs KB, Sampson J, Albanes D, Weinstein S, Virtamo J, Berndt S, Hoover RN, Black A, Silverman D, Figueroa J, Garcia-Closas M, Real FX, Earl J, Marenne G, Rodriguez-Santiago B, Karagas M, Johnson A, Schwenn M, Wu X, Gu J, Ye Y, Hutchinson A, Tucker M, Perez-Jurado LA, Dean M, Yeager M, Chanock SJ: Mosaic loss of chromosome Y is associated with common variation near *TCL1A*, *Nat Genet* 2016, 48:563-568; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27064253>)

24. Haitjema S, Kofink D, van Setten J, van der Laan S, Schoneveld A, Eales J, Tomaszewski M, de Jager S, Pasterkamp G, Asselbergs F, den Ruijter H: Loss of Y Chromosome in Blood Is Associated with Major Cardiovascular Events during Follow-up in Men after Carotid Endarterectomy, *Circulation: Cardiovascular Genetics* 2017, 10:e001544; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28768751>)
25. Grassmann F, Kiel C, den Hollander A, Weeks D, Lotery A, Cipriani V, Weber B, International Age-related Macular Degeneration Genomics Consortium (IAMDGC): Y chromosome mosaicism is associated with age-related macular degeneration, *European Journal of Human Genetics* 2018, August 2018; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30158665>)
26. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD: Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape, *Nat Immunol* 2002, 3:991-998; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12407406>)
27. Schwartz M, Ziv Y: Immunity to self and self-maintenance: a unified theory of brain pathologies, *Trends Immunol* 2008, 29:211-219; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18328784>)
28. Schwartz M, London A, Shechter R: Boosting T-cell immunity as a therapeutic approach for neurodegenerative conditions: the role of innate immunity, *Neuroscience* 2009, 158:1133-1142; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19103265>)
29. Schwartz M, Shechter R: Protective autoimmunity functions by intracranial immunosurveillance to support the mind: The missing link between health and disease, *Molecular psychiatry* 2010, 15:342-354; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20332793>)
30. Ousman SS, Kubes P: Immune surveillance in the central nervous system, *Nat Neurosci* 2012, 15:1096-1101; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22837040>)
31. Case LK, Wall EH, Dragon JA, Saligrama N, Kremontsov DN, Moussawi M, Zachary JF, Huber SA, Blankenhorn EP, Teuscher C: The Y chromosome as a regulatory element shaping immune cell transcriptomes and susceptibility to autoimmune disease, *Genome Res* 2013, 23:1474-1485; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23800453>)
32. Senovilla L, Galluzzi L, Zitvogel L, Kroemer G: Immunosurveillance as a regulator of tissue homeostasis, *Trends Immunol* 2013, 34:471-481; (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23891238>)
33. International Genomics of Alzheimer's Disease Consortium (IGAP): Convergent genetic and expression data implicate immunity in Alzheimer's disease, *Alzheimers Dement* 2014, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25533204>)
34. Danforth DN, Jr.: Genomic Changes in Normal Breast Tissue in Women at Normal Risk or at High Risk for Breast Cancer, *Breast Cancer (Auckl)* 2016, 10:109-146; (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27559297>)