

# Genetsko testiranje pri raku prostate

## Genetic testing in prostate cancer

**Vida Stegel**  
**Srdjan Novaković**

---

dr. Vita Stegel, spec. lab. med. gen., spec. med. biokem.

znan. svet. dr. Srdjan Novaković, univ. dipl. biol., spec. lab. med. gen.

Oddelek za molekularno diagnostiko, Onkološki inštitut Ljubljana

### **POVZETEK**

Rak prostate je v svetovnem merilu drugi najpogostejši rak pri moških. Genetski dejavniki lahko pomembno zvišajo tveganje za rak prostate. Genetsko testiranje na zarodne patogene različice v genih BRCA1, BRCA2, ATM, PALB2, CHEK2, HOXB13, MLH1, MSH2, MSH6 in PMS2 se izvaja za ocenjevanje ogroženosti bolnika, da zboli za drugimi raki, in za oceno ogroženosti njegovih družinskih članov. Pri metastatskem raku prostate se za zdravljenje uporabljajo tarčna zdravila, kot so zaviralci poli-ADP-riboza polimeraze (PARP) in imunoterapija. Obe vrsti zdravil sta dokazano bolj učinkoviti pri delovanju na tumorje s specifičnimi okvarami v genih, ki so soudeleženi v mehanizmih za popravljanje napak na DNA, t. j. homologne rekombinacije (HR) ali popravljanje neujemanj baz (MMR). Zato molekularnogenetsko testiranje tumorjev bolnikov z rakom prostate uporabljamo za določanje okvar HR in okvar v genih MMR. Kot pomoč pri natančnejši opredelitvi lokaliziranega raka prostate in sub-klasifikaciji glede na verjetnost napredovanja bolezni se v zadnjem času preizkušajo tudi molekularnogenetske preiskave, ki temeljijo na merjenju ekspresije različnih genov v kombinaciji z drugimi kliničnimi in histopatološkimi dejavniki.

**Ključne besede:** rak prostate, zaviralci poli-ADP-riboza polimeraze, homologna rekombinacija, genetsko testiranje, mutacija

## **ABSTRACT**

Prostate cancer is the second most common cancer in men worldwide. Inherited pathogenic or likely pathogenic variants can significantly increase the risk of prostate cancer. Genetic testing for germline pathogenic variants in the BRCA1, BRCA2, ATM, PALB2, CHEK2, HOXB13, MLH1, MSH2, MSH6, and PMS2 genes is performed to assess personal and family cancer risk. Targeted drugs such as PARP inhibitors and immunotherapy are used to treat metastatic prostate cancer. Both types of drugs have been shown to be more effective in targeting tumors with specific defects in genes involved in DNA repair mechanisms, i.e. homologous recombination (HR) or mismatch repair (MMR). Therefore, molecular genetic testing of prostate cancer tumors is used to identify HR defects and defects in MMR genes. Recently, molecular genetic tests based on the measurement of the expression of different genes in combination with other clinical and histopathological factors have also been tested as an aid for a more precise definition of localized prostate cancer and subclassification of tumors according to the likelihood of disease progression.

**Key words:** prostatic neoplasms, poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors, homologous recombination, genetic testing, mutation

## **UVOD**

Rak prostate je v svetovnem merilu drugi najpogostejši rak pri moških (GLOBOCAN). Pri raku prostate so najpomembnejši dejavniki tveganja starost, rasa in genetski dejavniki.

## **DEDNI RAK PROSTATE**

Med genetskimi dejavniki, ki pomembno zvečajo ogroženost za raka prostate, so verjetno patogene in patogene različice (mutacije) v genih BRCA1, BRCA2, ATM, PALB2, CHEK2, HOXB13, MLH1, MSH2, MSH6 in PMS2. Ocenjujejo, da imajo nosilci zarodnih mutacij v genih BRCA2 od 2,2- do 8,6-krat večjo verjetnost, da zbolijo, kot splošna populacija, v genih BRCA1 pa 3,7-krat večjo.

Ena od študij navaja, da so med moškimi z rakom prostate, neselekcioniranimi glede na starost ob diagnozi, stopnjo bolezni ob diagnozi ali družinsko anamnezo rakavih bolezni, med geni, povezanimi z dednim rakom prostate, dokazali mutacije v genu BRCA2 pri 4,5 %, v CHEK2 pri 2,6 %, v ATM pri 1,8 %, v genih

MMR (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) pri 1,6 %, v BRCA1 pri 1,2 %, v HOXB13 pri 1 %, v PALB2 pri 0,6 % in v genu NBN pri 0,3 %. Deleži nosilcev mutacij v posameznih genih se sicer med študijami razlikujejo, vendar povsod ostaja največji delež nosilcev mutacij v genu BRCA2.

Delež zarodnih mutacij v genih, vpletenih v popravljanje DNA, je največji v skupini bolnikov z metastatskim, na kastracijo odpornim rakom prostate (mKORP) (11,8-30 %). V skupini z lokaliziranim rakom prostate je delež večji v skupini z visokim tveganjem (6 %) in najmanjši v skupini z nizkim tveganjem (2 %). Predvsem mutacije v genu BRCA2 naj bi bile povezane z agresivnejšim rakom prostate in slabšim izidom bolezni.

Genetsko testiranje na zarodne različice se izvaja za ocenjevanje ogroženosti bolnika, da zbolí za drugimi raki, in za oceno ogroženosti njegovih družinskih članov. Testiranje na zarodne različice se izvaja tudi, kadar je treba opredeliti tarče za načrtovanje zdravljenja (npr. tarčno zdravljenje z zaviralci PARP).

## **PRIPOROČILA ZA MOLEKULARNOGENETSKO TESTIRANJE ZARODNIH PATOGENIH IN VERJETNO PATOGENIH RAZLIČIC PRI RAKU PROSTATE**

Smernice ESMO (angl. European Society for Medical Oncology; Prostate cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up) za diagnostiko, zdravljenje in spremljanje bolnikov z rakom prostate iz leta 2020 priporočajo testiranje na prisotnost zarodnih mutacij v genu BRCA2 in drugih genih, ki sodelujejo pri popravljanju poškodb na DNA in so povezani z dednimi raki, pri vseh bolnikih z rakom prostate in družinsko anamnezo raka. Prav tako je priporočen razmislek o testiranju pri vseh bolnikih z metastatskim rakom prostate ne glede na družinsko anamnezo. Smernice ne definirajo podrobneje panela genov.

Smernice NCCN (angl. National Comprehensive Cancer Network: Clinical practice Guidelines in Oncology-Prostate cancer v.1.2023) pri začetni obravnavi bolnika z rakom prostate, ne glede na to, ali gre za lokaliziran, regionalni ali metastatski rak, priporočajo, da če ima bolnik družinsko anamnezo rakov, povezanih z dednim rakom prostate, ga je treba napotiti na genetsko svetovanje in testiranje. Natančna priporočila za oceno, ali je bolnik primeren za napotitev na genetsko svetovanje, so opisana v smernicah NCCN za raka prostate v.1.2023. Pri napotitvi na genetsko svetovanje in testiranje naj bi se upoštevala tudi pri-

poročila, ki so navedena v smernicah NCCN za dedni rak dojk, jajčnikov in trebušne slinavke »NCCN Guidelines for Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic«, kjer se rak prostate pojavlja kot del sindroma dednega raka dojk in/ali jajčnikov ali del sindroma Lynch.

Priporočeni panel genov za testiranje na prisotnost zarodnih različic po smernicah NCCN vsebuje gene BRCA1, BRCA2, ATM, PALB2, CHEK2, HOXB13, MLH1, MSH2, MSH6 in PMS2.

## **POTEK GENETSKEGA TESTIRANJA ZARODNIH RAZLIČIC**

Genetsko testiranje na zarodne različice opravimo iz netumorskega tkiva – običajno iz krvi. Iz krvi (odvzete v epruvete EDTA) izoliramo DNA. Genotipizacijo zarodnih mutacij v genih, povezanih z dednim rakom prostate, izvedemo s tarčnim sekvenciranjem druge generacije (NGS). Detektirane različice klasificiramo glede na njihov klinični pomen po smernicah ACMG/AMP (angl. American College of Medical Genetics and Genomics/Association for Molecular Pathology). Na izvidu poročamo patogene in verjetno patogene različice ter različice z neznanim kliničnim pomenom.

Genetsko testiranje na zarodne različice se vedno izvede po predhodnem genetskem svetovanju in informiranju bolnika. Pred odvzemom krvi mora bolnik podpisati soglasje k testiranju. Za primer testiranja z namenom uvedbe zdravljenja je na Onkološkem inštitutu Ljubljana uvedena t. i. hitra klinična pot, kjer svetovanje in pridobitev soglasja pred testiranjem ter napotitev na odvzem krvi lahko poleg kliničnega genetika ali genomskega svetovalca opravi tudi lečeči onkolog, svetovanje po testiranju pa klinični genetik Oddelka za onkološko klinično genetiko.

## **GENETSKO TESTIRANJE TUMORJEV PRI BOLNIKI Z RAKOM PROSTATE**

Z genotipizacijo tumorjev zaznamo somatske (pridobljene), kot tudi zarodne različice. Molekularnogenetsko testiranje tumorja uporabimo za določanje diagnostičnih, prognostičnih in napovednih biomarkerjev. Slednji so povezani z odzivom na zdravljenje s tarčnimi zdravili.

Kot pomoč pri natančnejši opredelitvi lokaliziranega raka prostate in subklasifikaciji glede na verjetnost napredovanja bolezni se v zadnjem času preizkušajo tudi molekularnogenetske preiskave, ki temeljijo na merjenju ekspresije različnih genov v kombinaciji z drugimi kliničnimi in histopatološkimi dejavniki.

## **RIPOROČILA ZA MOLEKULARNOGENETSKO TESTIRANJE TUMORSKEGA TKIVA ZA NAMEN UVEDBE TARČNEGA ZDRAVLJENJA**

Smernice ESMO za obravnavo bolnikov z rakom prostate iz leta 2020 priporočajo pri metastatskem raku prostate testiranje tumorja na okvaro genov homologne rekombinacije ali okvare mehanizma za popravljanje neujemanj baz oz. oceno mikrosatelitske nestabilnosti (MSI). Bolniki z mKORP, ki so že bili zdravljeni s hormonskim zdravljenjem in imajo somatske ali zarodne mutacije v genih BRCA1 ali BRCA2, so primerni za zdravljenje z zaviralci PARP. Tumorji z izgubo izražanja proteinov MMR ali MSI-H (visoka mikrosatelitska nestabilnost) so primerni za zdravljenje s pembrolizumabom.

Smernice NCCN v1.2023 za obravnavo bolnikov z rakom prostate priporočajo, da se molekularno testiranje tumorja (genotipizacija) lahko uporabi za iskanje genetskih biomarkerjev, ki vplivajo na izbiro zdravljenja in/ali možnost vključevanja v klinične študije. Zgolj z genotipizacijo tumorjev ne moremo ločiti med somatskimi in zarodnimi različicami. Za razjasnitev je potrebno dodatno testiranje netumorskega tkiva. Bolnik mora biti pred testiranjem seznanjen s tem, da lahko genotipizacija tumorjev razkrije tudi potencialno zarodne različice in da bo v primeru takih najdb ponovno vabljen na testiranje.

Smernice NCCN priporočajo, da je testiranje tumorja usmerjeno v iskanje sprememb (mutacij) v genih, povezanih s popravljanjem DNA s homologno rekombinacijo (HR), kot so BRCA1, BRCA2, ATM, PALB2, FANCA, RAD51D, CHEK2 in CDK12. V tumorju raka prostate se mutacije v genih HR najpogosteje pojavljajo v genu BRCA2, sledijo ATM, CHEK2, BRCA1 in CDK12 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Pogostost pojavljanja mutacij pri tumorjih prostate v genih, povezanih z DNA popravljivimi mehanizmi homologne rekombinacije.

<b>Gen</b>	<b>Delež somatskih mutacij (%)</b>	<b>Delež zarodnih mutacij (%)</b>	<b>Klinična uporabnost/pomen mutacij za zdravljenje z zaviralci PARP</b>	<b>Klinične študije</b>
<b>ATM</b>	3,7-5	1,6	Zmerna aktivnost zaviralcev PARP kot monoterapije. Študija kombinacije zaviralcev PARP in ATR.	TRITON2, TOPARP-B, TALAPRO-1, TRITON3
<b>BRCA1</b>	1	0,9	Jasno dokazana dobrobit zaviralcev PARP.	PROfound, TRITON 2, TOPARP-B, TALAPRO-1, GALAHAD
<b>BRCA2</b>	6-7	5,4	Jasno dokazana dobrobit zaviralcev PARP.	PROfound, TRITON 2, TOPARP-B, TALAPRO-1, GALAHAD
<b>BRIP1</b>	0,5	0,2	Zelo malo podatkov o dejanski učinkovitosti.	TRITON2
<b>CDK12</b>	2,8-10	NP	Zmerna aktivnost zaviralcev PARP kot monoterapije. Študija kombinacije zaviralca PARP in zaviralca PD1/PDL-1.	TRITON2
<b>CHEK2</b>	1-2	1,9	Zelo malo podatkov o dejanski učinkovitosti. Študija kombinacije zaviralcev PARP in ATR.	TRITON2, TOPARP-B
<b>FANCA</b>	0,1-3	0,1	Zelo malo podatkov o dejanski učinkovitosti.	TRITON2
<b>NBN</b>	0,5-1	0,3	Zelo malo podatkov o dejanski učinkovitosti.	
<b>PALB2</b>	0,5-2	0,4	Potencialna aktivnost zaviralcev PARP.	PROfound, TRITON 2, TOPARP-B, TALAPRO-1
<b>RAD51B</b>	3		Zelo malo podatkov o dejanski učinkovitosti.	TRITON2
<b>RAD51D</b>	2,7	0,4	Zelo malo podatkov o dejanski učinkovitosti.	TRITON2

(Tabela je povzeta po Ridson et al., 2021)

Posamezni zaviralci PARP (npr. olaparib) so po smernicah NCCN lahko uporabljeni pri mKORP z mutacijo v enem od genov: BRCA1, BRCA2, ATM, BARD1, BRIP1, CDK12, CHEK1, CHEK2, FANCL, PALB2, RAD51B, RAD51C, RAD51D ali RAD54L.

Testiranje tumorja na okvaro MMR ali MSI smernice NCCN priporočajo pri mKORP, lahko tudi pri regionalnem KORP ter pri na kastracijo občutljivem metastatskem raku prostate. Bolniki z mKORP in MSI-H (visoka mikrosatelitska nestabilnost) ali okvaro MMR so primerni za zdravljenje z imunoterapijo (npr. pembrolizumab). Testiranje bremena mutacij v tumorju (t. i. TMB - tumor mutation burden) priporočajo pri metastatskem KORP (NCCN). Smernice NCCN priporočajo še, da molekularno in histološko ovrednotimo biopsijo metastaze, če je to mogoče.

Pri genotipizaciji tumorskega tkiva prostate poleg različic, ki so pomembne za izbiro zdravljenja, lahko detektiramo tudi različice, ki so lahko povezane z neodzivnostjo na hormonsko zdravljenje, npr. različica AR-V7 v genu AR.

Testiranje plazemske cirkulirajoče tumorske DNA (cfDNA) je kot opcija možno le, če bioptičnega materiala tumorskih celic ni mogoče pridobiti. Vzorec za testiranje cfDNA mora biti odvzet med biokemijskim (PSA) ali radiološkim progresom. Potrebna je velika previdnost pri interpretaciji rezultatov testiranja cfDNA zaradi možne interference s klonalno hematopoezo.

Tako smernice NCCN kot ESMO priporočajo, da je treba bolnika napotiti na genetsko svetovanje, če je v tumorju odkrita verjetno patogena ali patogena različica v genih BRCA1, BRCA2, ATM, PALB2, CHEK2, HOXB13, MLH1, MSH2, MSH6 in PMS2.

## **MOLEKULARNOGENETSKO TESTIRANJE ZA NAMEN UVRŠČANJA LOKALIZIRANEGA RAKA V SKUPINE GLEDE NA TVEGANJE (ANGL. RISK STRATIFICATION)**

Nekateri molekularnogenetski testi, ki temeljijo na analizi ekspresije genov, se lahko v kombinaciji s kliničnimi, histopatološkimi in drugimi biomarkerji uporabljajo za uvrščanje lokaliziranih rakov prostate v različne skupine glede na tveganje za ponovitev bolezni (angl. risk stratification) – priporočilo tako NCCN

kot ESMO. Po priporočilih NCCN v1.2023 naj bi se uporabljali testi Decipher, Oncotype DX Prostate in Prolaris.

## **POTEK GENETSKEGA TESTIRANJA TUMORJA**

Genetsko testiranje tumorja ali genotipizacijo tumorja naroči lečeči onkolog ali patolog. Lečeči onkolog ali patolog izbere bioptični material, na katerem se bo izvedlo testiranje, in kaj naj se testira. Bioptični material je običajno fiksiran v formalinu in vklopljen v parafin (FFPE). Iz vzorca FFPE izoliramo DNA in izvedemo tarčno sekvenciranje klinično pomembnih genov z metodo NGS, če je naročena genotipizacija BRCA1/2 in drugih genov HR. Običajno v tem primeru sekvenciranje izvedemo s širšim panelom genov, ki omogoča tudi oceno TMB. Če je naročeno tudi testiranje mikrosatelitske nestabilnosti (MSI), izvedemo test MSI. Za ta namen z metodo PCR pomnožimo 6 regij, kjer ležijo mikrosateliti, in jih analiziramo s fragmentno analizo. Pri metodi določanja MSI je priporočljivo test vzporedno delati na netumorskem tkivu preiskovanca, zato mora napotni zdravnik poleg biopsije tumorskega tkiva navesti tudi biopsijo netumorskega tkiva, če je na voljo, ali pa preiskovanca napotiti na odvzem krvi (epruveta EDTA).

Ker pri raku prostate velik delež biopsij predstavljajo igelne biopsije in je običajno materiala za testiranje malo, je posledično lahko količina izolirane DNA premajhna za uspešno genotipizacijo. Dodatno kakovost DNA poslabša fiksacija v formalinu. Temu primerno je lahko del genotipizacij neuspešen. V tem primeru je smiselno čim prej izvesti genotipizacijo zarodnih različic.

Različice, ki so delectirane v tumorju, klasificiramo glede na njihov klinični pomen po smernicah AMP/ASCO/CAP (Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists). Poročamo klinično pomembne različice (različice, ki imajo pomen za zdravljenje, diagnozo ali prognozo – po veljavnih smernicah), različice s potencialnim kliničnim pomenom in različice z neznanim kliničnim pomenom.



## LITERATURA

1. National Comprehensive Cancer Network. Prostate Cancer (Version 1.2023). [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/prostate.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate.pdf). Accessed November 4, 2022.
2. Parker C, Castro E, Fizazi K, et al. Prostate cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2020; 31 (9): 1119–34.
3. Risdon EN, Chau CH, Price DK, ET AL. PARP Inhibitors and Prostate Cancer: To Infinity and Beyond BRCA. *Oncologist*. 2021; 26 (1):e115–29.
4. Richards S, Aziz N, Bale S, et al; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015; 17 (5): 405–24.
5. Li MM, Datto M, Duncavage EJ, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn*. 2017; 19 (1): 4–23.