



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE D
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

RICARDO MANUEL SILVA GOMES

Estudo genético em doentes com carcinoma da próstata

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

ÁREA CIENTÍFICA DE UROLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSOR DOUTOR ARNALDO JOSÉ DE CASTRO FIGUEIREDO

MESTRE EDGAR MIGUEL CALVO LOUREIRO TAVARES DA SILVA

MARÇO/2023

Estudo genético em doentes com carcinoma da próstata

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

Autor: Ricardo Manuel Silva Gomes (1)

Orientador: Professor Doutor Arnaldo José de Castro Figueiredo (1,2)

Coorientador: Mestre Edgar Miguel Calvo Loureiro Tavares da Silva (1,3)

1. Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal
2. Professor Associado da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal
3. Assistente convidado da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal

Endereço de correio eletrónico:

ricardogomes029p@gmail.com

Morada institucional:

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Polo III – Polo das Ciências da Saúde.

Azinhaga de Santa Comba, Celas 3000-548 Coimbra

Índice

Lista de abreviaturas	6
Resumo	8
Abstract.....	9
Introdução.....	10
Materiais e métodos.....	11
Resultados.....	12
1. Mutações genéticas com risco aumentado para CaP.....	12
1.1. Genes HBOC (Hereditary Breast and Ovarian Cancer).....	12
1.2. Genes de reparação DNA tipo mismatch (MMR)- Síndrome de Lynch (SL).....	13
1.3. Gene PTEN.....	14
1.4. Outros genes relevantes	14
2. Indicações para estudo genético	18
3. Metodologia de estudo	21
3.1. Aconselhamento genético.....	21
3.2. Teste germinativo vs Somático	22
3.3. Biópsia Líquida	23
4. Implicações terapêuticas.....	26
4.1. Radioterapia.....	26
4.2. Vigilância ativa.....	27
4.3. Inibidores da PARP.....	28
4.4. Quimioterapia com platina	29
4.5. Imunoterapia	30
4.6. Inibidores da AKT.....	31
5. Limitações.....	33
Conclusão.....	34
Agradecimentos.....	35
Referências bibliográficas	36

Lista de abreviaturas

ATM: Ataxia telangiectásica mutada

BRCA 1/2: Breast cancer 1/2

CaP: Carcinoma da Próstata

CDK12: Cyclin Dependent Kinase 12

CHECK2: Checkpoint Kinase 2

CPRCm: Cancro da Próstata resistente a castração metastizado

CTC: células tumorais circulantes

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

DNAc: DNA circulante

DNAtc: DNA tumoral circulante

EAU: European Association of Urology

FDA: Food and Drug Administration

HOXB12: Homebox B12

HR: Recombinação homóloga

ICI: Inibidores do checkpoint imunológico

MMR: reparação de DNA tipo mismatch

NCCN: National Comprehensive Cancer Network

NGS: Next-generation sequencing

PALB2: Partner and localizer of BRCA2

PARP: poly ADP-ribose polymerase

PSA: Antígeno específico da Próstata

PTEN: Phosphate and Tensin Homolog deleted from chromosome ten

RB1: Retinoblastoma Protein

RT: Radioterapia

TP53: Tumor Protein 53

VA: Vigilância ativa

VUS: Variante de significado incerto

Resumo

O carcinoma da próstata (CaP) é uma das mais comuns neoplasias dos países desenvolvidos, com um amplo espectro de manifestações clínicas que varia desde décadas de indolência a progressões metastáticas rápidas e letais. Neste trabalho, pretende-se fazer uma revisão narrativa sobre a aplicabilidade do estudo genético na gestão clínica de doentes com carcinoma da próstata, oferecendo uma apreciação atualizada e baseada na evidência deste tema científico.

Várias mutações genéticas de moderada a alta penetrância têm sido destacadas pelo comprovado aumento de risco para carcinoma da próstata. Exemplo são os genes de reparação de DNA por recombinação homóloga (BRCA1/2, ATM, CHECK2 e PALB2) e genes envolvidos no mecanismo MMR (MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2). Outros genes candidatos têm sido sugeridos, no entanto, é necessária mais evidência para serem incluídos nos painéis de estudo genético. As indicações incluem critérios de história familiar, clínico/patológicos e étnicos. O estudo genético pode ser realizado com recurso à técnica de NGS, por análise de tecido tumoral obtido na biópsia (teste somático) ou por colheita de sangue periférico, saliva ou raspagem da mucosa oral (estudo germinativo). Com o objetivo de superar limitações inerentes à progressão de doença, bem como à heterogeneidade temporal e espacial do tumor, estudos têm demonstrado que a biópsia líquida de células tumorais circulantes ou de DNA tumoral circulante pode ser utilizada no futuro como uma ferramenta alternativa ou complementar no estudo genético. Recentes desenvolvimentos têm demonstrado que o estudo genético representa uma janela de oportunidade para a aplicação de terapias dirigidas inovadoras. Para o CaP localizado, informação sobre a expressão genética poderá ter impacto na indicação para vigilância ativa e radioterapia. No CaP metastizado, os inibidores da PARP, quimioterapia com platina, imunoterapia e inibidores da AKT tem demonstrado resultados bastante promissores na gestão de doentes com formas mais agressivas e resistentes a terapias convencionais. Por último, o surgimento de achados incidentais, variantes de significado incerto, bem como custos associados ou a falta de recursos humanos/logísticos, representam alguns dos obstáculos à inclusão e disponibilidade do estudo genético na prática clínica corrente.

Palavras-chave: Testes Genéticos, Terapia de Alvo Molecular, Reparação de DNA, Mutações Germinativas, Neoplasias da Próstata

Abstract

Prostate cancer is one of the most common neoplasms in developed countries, with a wide spectrum of clinical manifestations ranging from decades of indolence to swift and lethal metastatic progression. This paper aims to provide a narrative review on the applicability of the genetic study in the clinical management of patients with prostate carcinoma, offering an updated and evidence-based appreciation of this scientific subject.

Several moderate to high penetrance gene mutations have been highlighted for their established increased risk for prostate cancer. Examples are DNA repair genes by homologous recombination (BRCA1/2, ATM, CHECK2 and PALB2) and genes involved in the MMR mechanism (MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2). Other candidate genes have been suggested, however more evidence is required to be included in genetic study panels. Indications include family history, clinical/pathological and ethnic criteria. The genetic study can be performed using the NGS technique, by analysis of tumor tissue obtained in biopsy (somatic test) or by collection of peripheral blood, saliva or oral mucosa scraping (germline study). To overcome limitations inherent to disease progression as well as temporal and spatial heterogeneity of the tumor, studies have demonstrated that liquid biopsy of circulating tumor cells or circulating tumor DNA may be used in the future as an alternative or complementary tool in the genetic study. Recent developments have demonstrated that the genetic study represents a window of opportunity for the application of innovative targeted therapies. For localized prostate cancer, information on gene expression may have an impact on the indication for active surveillance and radiotherapy. In metastatic prostate cancer, PARP inhibitors, platinum chemotherapy, immunotherapy and AKT inhibitors have shown very promising results in the management of patients with more aggressive forms and resistant to conventional therapies. Finally, the emergence of incidental findings, variants of uncertain significance, as well as associated costs or the lack of human/logistic resources, represent some of the obstacles to the inclusion and availability of the genetic study in current clinical practice.

Keywords: Genetic Screening, Molecular Targeted Therapy, DNA Repair, Germ-Line Mutation, Prostatic Neoplasms.

Introdução

O carcinoma da próstata é o segundo cancro mais comum nos homens, com 160.000 novos casos nos EUA e mais de 1,3 milhões novos casos por ano a nível global, constituindo por isso um importante encargo para a saúde pública.¹

Após a incorporação do doseamento de Antígeno específico da Próstata (PSA) nos programas de rastreio, que a quantidade de pacientes com doença metastática tem reduzido substancialmente, com o diagnóstico a ser estabelecido mais precocemente e em fases em que a cura é mais provável.² E apesar da maioria dos homens com CaP apresentarem uma sobrevida global inalterada, em consequência da natureza “indolente” da doença, continuam a surgir numa pequena percentagem casos metastáticos ab initio e situações em que, apesar de um correto tratamento, há evolução para doença metastática e resistente à castração associada a taxas de morbilidade e mortalidade significativas.³⁻⁵ Por isso, a identificação destas formas agressivas e fatais de CaP que requerem tratamento urgente permanece ainda um grande desafio na prática clínica.

Os principais fatores de risco para o CaP são a idade (a probabilidade de ser diagnosticado com CaP antes dos 50 anos é de 1 para 450 homens, ao passo que em indivíduos com 70 anos ou mais esta razão ascende para 1 em cada 11)⁶, raça, história familiar e a presença de variantes patogénicas em genes de suscetibilidade.⁷

De facto, o carcinoma da próstata é uma patologia heterogénea quer sob o ponto de vista clínico quer sob o componente genético associado, com vários estudos a demonstrar que a proporção de carcinomas da próstata associados a fatores hereditários chega até aos 15%.^{2,8,9} Apesar da melhor compreensão da prevalência das variantes patogénicas nos homens com carcinoma da próstata, ainda permanece incerto que homens beneficiariam do estudo genético. E associado ao surgimento de novas terapias dirigidas, urologistas, oncologistas e outros profissionais de saúde são convidados a desempenhar um papel mais ativo na orientação para estudo genético, devendo para isso estar familiarizados com as atuais guidelines, bem como as diversas vertentes do estudo genético.¹⁰

Posto isto, este artigo de revisão procura oferecer uma visão geral e compreensiva do estudo genético na patologia do cancro da próstata, à luz da evidência científica atual, abordando quais os doentes que beneficiam com o estudo genético, quais os genes de interesse, as nuances associadas aos métodos de estudo, as implicações terapêuticas e prognósticas para o doente, bem como para os familiares.

Materiais e métodos

A pesquisa bibliográfica foi efetuada, na sua grande maioria, recorrendo à base de dados PubMed da MedLine. Após a determinação dos tópicos cuja abordagem seria mais relevante, foram feitas pesquisas com recurso a operadores booleanos AND (E) e OR (OU), combinando as seguintes palavras-chave: *“Prostate cancer”*, *“Molecular profiling”*, *“Homologous recombination deficiency”*, *“Microsatellite instability”*, *“PARP inhibitors”*, *“genetic counselling”*, *“Germline testing”*, *“Immunotherapy”* e *“Targeted treatment”*. À pesquisa referida foram aplicados filtros de inclusão de trabalhos publicados apenas na língua portuguesa e inglesa que tenham sido publicados nos últimos 12 anos, ordenados por “Best Match”.

Adicionalmente, foram também recolhidas informações das principais guidelines de sociedades internacionais na área da urologia e oncológica, nomeadamente da National Comprehensive Cancer Network (NCCN), European Society for Medical Oncology (ESMO), European Association of Urology (EAU) e American Urological Association (AUA).

A posterior seleção dos artigos baseou-se na avaliação do título, objetivo de estudo e no resumo dos mesmos, sendo excluído qualquer artigo cujo objetivo não se enquadrava com o tema desta revisão narrativa. No final foram selecionados 97 artigos, incluindo artigos de revisão sistemática e meta-análise, artigos de revisão narrativa, livros e documentos publicados sobre o tema discutido.

Certos artigos foram excluídos da análise por não disponibilizarem o texto completo ou por conterem informações que foram consideradas desatualizadas face às evidências mais recentes. Por outro lado, as referências bibliográficas dos estudos selecionados foram exploradas de maneira a detetar outros estudos relevantes, não identificados na pesquisa pelas bases de dados.

Resultados

1. Mutações genéticas com risco aumentado para CaP

Dada a associação entre certas variantes e o aumento do risco para CaP, as normas da NCCN estabeleceram uma lista de genes recomendados para o estudo genético. Posto isto, pacientes com CaP preenchendo os critérios, abordados em seguida, devem ser considerados para estudo da linha germinativa com painéis multigene via NGS contendo pelo menos os seguintes genes: BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, e os genes MMR (MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2). Outros genes podem também ser incluídos num contexto investigacional ou clínico específicos. Por outro lado, para os grupos de risco, as mesmas normas recomendam para o estudo somático do tumor que os seguintes genes sejam incluídos: BRCA 1/2, ATM, PALB2, FANCA, RAD51D, CHEK2 e CDK12, bem como genes associados a MMR.^{11,12} De salientar que a possibilidade de sequenciar vários genes no mesmo painel em conjunto com um conhecimento mais aprofundado do impacto genético no CaP, é possível antever que a lista de genes recomendados continue a aumentar. Em seguida, serão abordados individualmente diferentes genes que demonstraram aumentar o risco para o desenvolvimento de CaP, encontrando-se posteriormente o Quadro 1 com essa informação sintetizada.

1.1. Genes HBOC (Hereditary Breast and Ovarian Cancer)

A constatação de forte agregação familiar de tumores do ovário e da mama, e a descoberta dos genes breast cancer 1 e 2 (BRCA1 e BRCA2) em 1994 e 1995, respetivamente, conduziu à investigação e definição da síndrome cancro hereditário da mama e ovário.¹³ Sabe-se que a perda funcional dos genes BRCA1/2 (localizados no cromossoma 17q21 e 13q12, respetivamente) resulta na incapacidade de reparação de quebras de dupla cadeia via recombinação homóloga (HR) e, conseqüentemente, processos não conservadores e teoricamente mutagénicos são utilizados para corrigir o DNA no seu lugar.¹⁴ Alterações patológicas nestes genes associam-se também ao surgimento de outras neoplasias, designadamente melanoma, CaP, tubas uterinas e do pâncreas.^{14,15} Relativamente à prevalência na população em geral, estima-se que a relação de portadores para não portadores seja aproximadamente de 1 para 400¹³, e a percentagem de mutações nos genes BRCA2 e BRCA1 nos pacientes com CaP metastizado seja de 5.3% e 0.9%, respetivamente.¹⁶

A análise aprofundada de mutações na linha germinativa dos genes BRCA1 e BRCA2 adquire especial preponderância com a identificação de variantes fundadoras específicas de determinadas populações ou grupos étnicos. Um caso típico são as mutações fundadoras BRCA1 (185delA e 5382insC) e BRCA2 (6174delT) presentes em 1 a cada 40 judeus Ashkenazi.¹³ Foi verificado que, em indivíduos portadores de uma destas três variantes, têm 16% de probabilidade de desenvolver carcinoma da próstata aos 70 anos de idade.¹⁷ Outras variantes fundadoras têm sido também descritas, nomeadamente a variante c.156_157insAlu no gene BRCA2 que, atualmente, é apenas encontrada em famílias com HBOC de ascendência portuguesa. Neste subgrupo verificou-se que esta variante é responsável pela maioria das mutações no gene BRCA2 e por aproximadamente um terço da totalidade das mutações germinativas.¹⁸

1.2. Genes de reparação DNA tipo mismatch (MMR)- Síndrome de Lynch (SL)

O sistema de MMR desempenha um papel essencial na manutenção da estabilidade genómica, sendo responsável por corrigir inserções, deleções e emparelhamento incorretos que surjam no decorrer do processo de replicação e recombinação de DNA. Na ausência de correção destas incompatibilidades, estas são acumuladas e resultam na disrupção do DNA e, em última instância, na apoptose da célula.¹⁹ Seguidamente, as mutações em genes de MMR de DNA, MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2 (localizados na banda 21.3 do braço curto do cromossoma 3 - 3p21.3, 2p21, 2p16 e 7p22.2, respetivamente) estão coletivamente associadas à SL, anteriormente designado de carcinoma colorretal hereditário sem pólipos. Sabe-se que o SL primariamente predispõe para o cancro colorretal, porém outras entidades carcinogénicas estão também associadas, nomeadamente neoplasias gástricas, do intestino delgado, pâncreas, hepatobiliar, endométrio, ovário e da próstata.¹⁵ De facto, a incidência de CaP entre famílias com síndrome de Lynch, ou em homens com variantes patológicas nos genes MMR, tem-se mostrado superior em diversos estudos. Uma meta-análise, que incluiu 23 estudos, concluiu que o risco relativo estimado para desenvolver CaP em portadores de variantes patológicas de MMR era de 3,67. Um outro estudo, com uma população amostral de 1033 indivíduos com CaP sujeitos a estudo genético, verificou que aproximadamente 3,1% apresentavam mutações em genes de MMR, sendo que 21,9% desses apresentavam mutações em genes associados ao SL (aproximadamente 0,68% da população total).²⁰

1.3. Gene PTEN

O gene PTEN (Phosphate and Tensin Homolog deleted from chromosome ten), localizado no cromossoma 10q23.3, frequentemente inativado em tumores esporádicos, atua como um dos principais reguladores negativos da via de sinalização PI3K/ AKT/ mTOR, por conversão da PIP3 gerada pela PI3K de volta a PIP2. Com a redução funcional do PTEN, os elevados níveis de PIP3 vão condicionar uma sobre ativação da via de sinalização PI3K/ AKT/ mTOR no carcinoma da próstata. Associada a esta condição estão piores prognósticos (resistência a castração hormonal, recorrência pós-cirúrgica, químio- e radio-resistência e metastização), crescimento e divisão celular e redução da eficácia dos agentes hormonais de 2ª geração (por exemplo: abiraterona). Posto isto, vários estudos têm sido realizados com o propósito de desenvolver fármacos que inibam pontos específicos da via de sinalização PI3K/ mTOR/ AKT, nomeadamente os inibidores da AKT.²¹⁻²⁵

1.4. Outros genes relevantes

Homebox B13 (HOXB12)

O gene HOXB13, localizado no cromossoma 17, é um fator de transcrição da família *Homebox*, que desempenha um papel relevante na regulação do crescimento celular e diferenciação no decorrer do normal desenvolvimento embriológico da glândula prostática, pela sua interação com o recetor de androgénio. Em 2012, um estudo demonstrou pela primeira vez que pacientes com a variante mutacional G84E no gene HOXB13 tinham uma probabilidade 8 vezes superior de surgir carcinoma da próstata, comparativamente aos indivíduos sem essa variante. No entanto, estudos posteriores vieram a demonstrar um impacto mais modesto no incremento de risco para CaP. Atualmente, esta mutação tem sido observada em 0.7% a 1.4% dos casos de cancro da próstata e em cerca de 6% dos casos que surge em início precoce.^{26,27}

Ataxia telangiectásica mutada (ATM)

O gene ATM, localizado no cromossoma 11, desempenha um importante papel no processo de resposta ao dano de DNA e controlo do ciclo celular. Associada a mutações em homozigotia (perda de função bialélica), surge a síndrome de ataxia telangiectasia. Esta entidade neurodegenerativa, de envolvimento sistémico, caracteriza-se pelo surgimento de

alterações neurológicas, ataxia cerebelosa progressiva, comprometimento imunológico com risco aumento para infecções, telangiectasias cutâneo-oculares e predisposição para o desenvolvimento de diversos tumores (mama, colorretal, gástrico, prostático, entre outros).⁵ A prevalência desta mutação na população em geral é aproximadamente de 0.5%, sendo que nas formas localizadas e metastizadas da doença esta percentagem ascende para 1% e 1.6%, respetivamente. Por outro lado, mutações no gene ATM está também associado a formas mais agressivas de CaP, em específico à forma metastizada.^{7,16} Atendendo a um estudo realizado na Polónia, aproximadamente metade dos indivíduos portadores de mutações no gene ATM apresentavam um score de Gleason entre 8 e 10, contrastando com a percentagem de 22.7% verificada em indivíduos não portadores.²⁸

Checkpoint Kinase 2 (CHECK2)

O gene CHECK2, localizado no cromossoma 22q12.1, codifica um imunossupressor tumoral envolvido na via de sinalização de dano no DNA, apoptose e bloqueio do ciclo celular. Mutações patológicas neste gene confere risco acrescido para tumores da mama, ovário, cólon, tireoide e próstata. Relativamente à sua prevalência na população em geral, estima-se que seja encontrada em cerca de 0.6% dos indivíduos, no entanto esta percentagem sobe para 2% em pacientes com CaP metastizado.^{5,7}

Partner and localizer of BRCA2 (PALB2)

Posicionado no cromossoma 16p12.2, o gene PALB2 interage ativamente no processo de formação do complexo de supervisão do genoma associado ao BRCA (atua como facilitador da interação entre o gene BRCA1 e 2), resultando no início via de reparação de dano no DNA por recombinação homóloga. Alterações patológicas no PALB2 estão principalmente relacionadas com o desenvolvimento de cancro da mama, porém associações com o cancro do ovário, estômago e próstata têm sido também reportadas.^{5,7,29} Associadamente a mutações em homozigotia está a anemia de Fanconi, condição autossómica recessiva rara que condiciona malformações congénitas variáveis, falência de medula óssea e elevado risco para o desenvolvimento de neoplasias. Um estudo demonstrou que, apesar da prevalência de portadores entre indivíduos com ou sem CaP ser semelhante, a presença da variante patológica do PALB2 confere uma manifestação mais agressiva da doença (score de Gleason 8-10 em 64.3% dos portadores em comparação com 18.1% em não portadores).³⁰

Tumor Protein 53 (TP53) e Retinoblastoma Protein (RB1)

Genes que coordenam a interrupção do ciclo celular, tal como o TP53 e RB1, encontram-se frequentemente alterados no cancro da próstata resistente a castração metastizado (CPRCm). Na forma localizada da doença, o TP53 e RB1 estão apenas alterados numa frequência de 8% e 1%, respetivamente, porém na presença de metástases, estes surgem alterados numa frequência de 27% e 5% no CaP sensível à castração metastizado e de 50% e 21% no CPRCm, respetivamente. Estes dados realçam o impacto da disfunção destes genes com a progressão para a forma metastizada.^{31,32}

Cyclin Dependent Kinase 12 (CDK12)

O gene CDK12, localizado no cromossoma 17q12, forma um complexo heterodímero com a cyclin K, participando no mecanismo de reparação de DNA, splicing e de diferenciação. Após a análise da componente genética de 360 amostras de CPRCm, foi constatado que CaP com mutações no CDK12 apresentavam diversas duplicações em tandem, rearranjos genéticos, número elevado de neoantigenes e aumentado infiltrado de linfócitos no tumor. Perante estas características, a presença de variantes patológicas do gene CDK12 no CaP pode ser um biomarcador preditivo pertinente, tal como os genes MMR, a ser equacionado em ensaios de imunoterapia. Foi também demonstrado que alterações bialélicas no CDK12 configurava, à data de diagnóstico, scores de Gleason mais elevados e menor tempo de sobrevida.³³

Gene	Localização	Prevalência, em percentagem (%)			Outros tumores associados	Função/ Impacto no CaP
		Mutações germinativas no CaP metastizado ¹⁶	Mutações germinativas e somáticas no CPRCm ³⁴	Mutações germinativas em doentes com história pessoal de CaP ⁸		
BRCA1	17q21	0.9%	0.7%	0.7%	Cancro da mama, ovário, tubas uterinas, pâncreas e melanoma	Reparação de quebras de dupla cadeia via recombinação homóloga; Via de sinalização de dano no DNA, apoptose e bloqueio do ciclo celular
BRCA2	13q12.3	5.4%	13.3%	4.7%		
PALB2	16p12.2	0.4%	-	0.56%		
CHECK 2	22q12.1	1.9%	-	2.9%		
ATM	11q22.3	1.6%	7.3%	2.0%		
Genes MMR (MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2)	3p21.3 2p21 7p22.2 17q21.2	- 0.14% 0.14% 0.3%	0.7% 2.0% - -	0.06% 0.69% 0.45% 0.54%	Síndrome de Lynch- CCR, neoplasias gástricas, intestino delgado, pâncreas, endométrio, ovário e hepatobiliar	Correção de inserções, deleções e emparelhamentos incorretos que ocorrem durante o processo de replicação de DNA
PTEN	10q23	-	40.7%	-	Endométrio, glioblastoma, ovário, pulmão e mama	bloqueadores da via de sinalização PI3K/ AKT/ mTOR
HOXB1 3	17q21.2	-	-	1.1%	CaP hereditário	Regulação do crescimento celular e diferenciação da glândula prostática
TP53	17p13	-	53.3%	0.7%	Cancro da mama, pulmão, mama e sarcoma	Supressor tumoral
RB1	13q14.2	-	9.3%	-	Retinoblastoma, melanoma e sarcoma	
CDK12	17q12	-	4.7%	-	Cancro do pulmão, mama, gástrico e endométrio	Reparação de DNA, splicing e de diferenciação

Tabela 1: Mutações genéticas com risco aumentado para o carcinoma da próstata e outras neoplasias, com respetiva localização, prevalência e função/ impacto

2. Indicações para estudo genético

O surgimento de evidência científica que sustenta a importância da componente genética no controlo clínico da doença, em comunhão com a crescente acessibilidade por redução dos custos associados à técnica NGS, tem levado a comunidade internacional, nos últimos anos, a procurar estabelecer um conjunto de normas consensuais com o objetivo de avaliar o risco genético de doentes com CaP, entre as quais a NCCN adquiriu particular destaque.

De acordo com as *guidelines* da NCCN para o CaP, o estudo genético está recomendado para todos os doentes com cancro da próstata com história familiar de variantes germinativas de alto risco (particularmente para genes associados às vias HR ou MMR), ou com herança genética dos judeus Ashkenazi, devido à alta prevalência de alterações fundadoras nos genes BRCA 1/2.¹⁷ Por outro lado, pacientes com história familiar suspeita, definida pelas *guidelines* NCCN como tendo elevada história familiar de cancro da próstata (com 1 ou mais familiares de 1º com CaP antes dos 60 anos ou múltiplos membros familiares de 1º, 2º e 3º diagnosticados em qualquer idade), 3 ou mais familiares de 1º ou 2º com neoplasias do espectro da síndrome de Lynch (especialmente se diagnosticados antes dos 51 anos) ou, por último, se 1 ou mais parentes de 1º, 2º ou 3º com cancro da mama antes dos 51 anos, cancro da mama no homem, colorretal, endométrio, ovárico, pâncreas exócrino e cancro da próstata metastático/regional de alto risco ou de muito alto risco em qualquer idade.^{11,35}

Na ausência dos critérios anteriormente mencionados, as *guidelines* NCCN também recomendam estudo genético para pacientes com cancro da próstata localizado de alto e muito alto risco ou em doença metastizada.^{11,35} Esta indicação surge, por exemplo, face à frequência de mutações nos genes de reparação de DNA na linha germinativa ser consideravelmente superior nos homens com CaP metastizado (11,8%) em comparação com as formas localizadas (4,6%) ou com os indivíduos sem patologia (2-3%).³⁶ Por outro lado, características histopatológicas da doença podem também ser preponderantes para a referenciação de estudo genético, nomeadamente a presença de carcinoma intraductal/cribiforme, um comprovado marcador de mau prognóstico.^{11,35,37} Um estudo demonstrou que homens com CaP têm uma probabilidade superior de apresentarem carcinoma intraductal quando alterações patológicas em genes de reparação de DNA estão presentes, face à sua ausência (48% vs 12%, respetivamente).³⁸

Posto isto, torna-se evidente a necessidade de obter uma história detalhada do indivíduo, bem como dos seus familiares, relativamente aos seus antecedentes neoplásicos. De uma forma geral, informações sobre a história familiar deve incluir 3 gerações, do lado

materno e também do lado paterno, retratando todos os câncros diagnosticados, idade em que foram diagnosticados, os regimes de tratamento realizados, a mortalidade em consequência das neoplasias e respetiva idade e se tem antepassados judeus Ashkenazi.^{10,26}

Apesar de não fazer parte das recomendações da NCCN para estudo genético, o CaP que surge em idade precoce (<55 anos) tem demonstrado conter um componente genético mais significativo, comparativamente ao de incidência em idades mais tardias e, por isso, tem sido discutido o seu potencial impacto na avaliação do risco genético nestes doentes.^{39,40}

Em contrapartida, a implementação de orientações para estudo genético abrangentes como as supracitadas requer a alocação de recursos económicos, humanos e logísticos incompatíveis com a realidade atual de muitos países. E por esse motivo, guidelines mais restritivas são ainda colocadas na prática clínica. Um exemplo são as guidelines da European Association of Urology-European Association of Nuclear Medicine-European Society for Radiotherapy and Oncology-European Association of Urology Section of Urological Research-International Society of Geriatric Oncology (EAU-EANM-ESTRO-ESTRO-ESUR-ISUP-SIOG). Os seus critérios para estudo genético incluem (1) homens com CaP metastizado; (2) homens com CaP de alto risco com um familiar diagnosticado com cancro da próstata com idade < 60 anos; (3) múltiplos familiares diagnosticados com cancro da próstata com idade < 60 anos ou quando o CaP tenha sido causa de morte de um familiar; (4) história familiar de mutações de alto risco na linha germinativa ou múltiplas neoplasias no mesmo lado da família.⁴¹ Em seguida, o Quadro 2 estabelece uma comparação entre as recomendações da NCCN e EAU.

	NCCN Prostate cancer (versão 2022)²⁹	European Association of Urology⁴¹
Critérios de história familiar	<p>História familiar de mutações genéticas de alto risco na linha germinativa, tais como BRCA1/2 e Síndrome de Lynch</p> <p>Ascendência judaica Ashkenazi</p> <p>1 ou mais parentes de 1º, 2º, ou 3º com cancro da mama aos 50 anos de idade ou menos, cancro da mama no homem, cancro colorretal ou do endométrio, cancro do ovário, cancro do pâncreas exócrino, cancro da próstata metastático/regional de alto risco ou de muito alto risco em qualquer idade</p> <p>1 ou mais parentes de 1º com cancro da próstata aos 60 anos de idade ou menos (exceto para o grupo de grau 1 localizado)</p> <p>2 ou mais parentes de 1º, 2º ou 3º grau com cancro da próstata (exceto para o grupo de Grau 1 localizado) em qualquer idade</p> <p>3 ou mais parentes de 1º ou 2º com neoplasias relacionados com a síndrome de Lynch, especialmente se diagnosticados <51 anos</p>	<p>História familiar múltiplas neoplasias no mesmo lado da família</p> <p>Múltiplos familiares diagnosticados com cancro da próstata com idade < 60 anos ou quando o CaP tenha sido causa de morte de um familiar</p>
Caraterísticas clínicas/patológicas	<p>Homens com CaP metastizado</p> <p>Presente em gânglios ou CaP localizado de alto/muito alto risco</p> <p>História pessoal de cancro da mama</p> <p>Considerar em CaP de risco intermédio com localização intraductal/cribiforme à histologia</p> <p>Considerar se história pessoal de cancro do pâncreas exócrino, colorretal, gástrico, intestino delgado, glioblastoma e melanoma</p>	<p>Homens com CaP de alto risco + familiar diagnosticado com cancro da próstata com idade < 60 anos</p>

Tabela 2 Guidelines da National Comprehensive Cancer Network (NCCN) e European Association of Urology (EAU)

3. Metodologia de estudo

3.1. Aconselhamento genético

O aconselhamento genético é um campo especializado que requer aos seus profissionais a combinação de conhecimento médico, aptidões em aconselhamento e compressão na área da genética. O objetivo principal visa ajudar indivíduos e respetivas famílias a compreender as implicações terapêuticas, prognósticas, psicológicas e familiares da informação genética, e a tomar decisões informadas sobre os seus cuidados de saúde. O processo de aconselhamento genético envolve tipicamente sessões de pré-teste e pós-teste.^{10,42}

Durante o aconselhamento pré-teste, o conselheiro genético deve abordar o objetivo com que é realizado o teste, bem como os seus riscos e limitações; quais os painéis multigene disponíveis; quais os possíveis resultados; os encargos para o doente; e por último, se necessário, deve prestar apoio emocional/psicológico.²⁶

No que diz respeito às opções de estudo, estão disponíveis painéis pequenos/focados (com aproximadamente 5-6 genes), painéis específicos para tumores (aproximadamente 10-15 genes) ou então painéis alargados (com possibilidade de compreender mais de 80 genes).¹² Uma outra modalidade está também disponível, os painéis reflexos, em que num primeiro tempo é efetuado um estudo com um painel composto por um conjunto menor de genes, e, se o resultado surgir negativo, é então realizado num segundo tempo um estudo com um painel composto por um conjunto de genes mais alargado na mesma amostra.¹⁰

Após a realização do teste genético, vários são os resultados que podem surgir. Variante patogénica ou provavelmente patogénica refere-se a uma mutação que está associada à neoplasia e pode condicionar uma abordagem terapêutica específica. Variantes de significado incerto (VUS- designação atribuída na língua inglesa) são variantes genéticas que não preenchem todos os critérios para serem classificadas como patogénicas ou provavelmente patogénicas e por isso estão situadas numa zona cinzenta em que informação adicional é necessária. VUS pode ser posteriormente reclassificada conforme novas informações surjam ou novas técnicas de classificação funcional sejam desenvolvidas. VUS não requerem gestão quando é reportado, nem se deve proceder com estudo de familiares. Se VUS são reclassificadas como patogénica ou provavelmente patogénica, os pacientes procedem com continuação do estudo e o estudo dos seus familiares pode ser recomendado. De acordo com um estudo, 7.7% das VUS são reclassificadas: 91% como sendo benignas/provavelmente benignas e 9% como patogénicas/provavelmente patogénicas.⁴³ O estudo

pode também surgir negativo, e recomendações para pacientes com VUS ou negativos é baseada na história pessoal e familiar.^{10,44}

Em seguida, o aconselhamento pós-teste envolve a discussão dos resultados dos testes com o paciente e o fornecimento de recomendações para a gestão médica, opções de terapia de precisão, identificação de riscos adicionais de cancro (com potencial inclusão em programas de rastreio), e identificação de membros da família em risco com recurso a testes em cascata.^{10,26} Este último parâmetro adquire particular importância, uma vez que a identificação de indivíduos portadores num momento oportuno permite orientá-los para programas de rastreio (um exemplo disso é o doseamento dos valores de PSA a partir dos 40 anos em indivíduos portadores de mutações germinativas nos genes BRCA2 para diagnóstico precoce de CaP)^{41,45} ou para a realização de intervenções profiláticas (por exemplo, salpingo-ooforectomia bilateral profilática para portadoras de variantes patológicas nos genes BRCA1/2).⁴⁶

3.2. Teste germinativo vs Somático

O DNA da linha germinativa é material herdado do espermatozoide e ovócito e pode ser transmitido a gerações futuras. Uma mutação patológica na linha germinativa é constitucional e, por isso, presente em todas as células. Com algumas exceções, estas variantes patológicas que estão associadas a síndrome de neoplasias hereditárias (a título de exemplo, a mutação BRCA 1/2 e as neoplasias do ovário e da mama) são transmitidas de forma autossómica dominante. Por isso, cada filho tem uma probabilidade de 50% de herdar essa mutação. Por outro lado, as variantes somáticas são alterações que surgem no decorrer da vida, não estando presentes nas células da linha germinativa (espermatozoide ou ovócito) e, por isso, não são transmitidas às gerações seguintes.^{36,44}

Os testes genéticos podem ser realizados em duas sequências distintas, uma vez que tanto as variantes germinativas como as somáticas são relevantes para a patogénese molecular do CaP: testes germinativos, após aconselhamento genético e consentimento informado (tal como se sucede em pacientes com história familiar de CaP); teste somático de tecido tumoral, que ocasionalmente podem revelar alterações genéticas expectáveis de ter origem germinativa.^{10,44} Um estudo realizado em larga escala avaliou 451 homens com história pessoal de CaP que foram submetidos a estudo genético do tecido tumoral, dos quais 221 foram também submetidos a estudos germinativos revelou que 27% apresentavam variantes patogénicas nos genes BRCA 1/2, ATM e CHEK2. Mais precisamente, BRCA2: 8.6%, BRCA1: 0.9%, ATM: 2.3%, CHEK2: 4.1% eram variantes da linha germinativa; BRCA2:

7.7%, BRCA1: 0.9%, ATM: 4.5%, CHEK2: 0.9% eram variantes somáticas.⁴⁷ Ou seja, aproximadamente metade das mutações em genes de reparação de DNA descobertas através de testes somáticos, a partir de tecido tumoral, são mutações expectáveis de ser da linha germinativa. Porém, outros estudos demonstraram um impacto mais modesto, com percentagens a variar entre 3-17.5%, provavelmente devido às diferenças nas populações em estudo e aos genes investigados.^{44,48-50} Posto isto, torna-se importante comunicar essa possibilidade aos doentes antes de realizar qualquer teste somático. Muitas das plataformas de estudo somático não estão capacitadas para diferenciar as mutações germinativas das somáticas, apesar da frequência do alelo poder ser indicativa, é necessário ser referenciado para um programa de aconselhamento genético para determinar se teste da linha germinativa está indicado para confirmação.^{11,15,42,51,52}

Atualmente, o estudo da linha germinativa é um processo mais simplificado, com muitos dos laboratórios com capacidade de identificar as mutações genéticas a partir de amostra de sangue periférico, saliva ou raspagem da mucosa oral.^{10,26,36} Em alguns pacientes, com certas neoplasias hematológicas ou antecedentes de transplante de células estaminais, o DNA isolado após cultura de fibroblastos recolhidos via biópsia puncional da pele pode ser necessário para obtenção de resultados mais precisos, uma vez que a saliva ou raspagem da mucosa oral estão frequentemente contaminadas com células hematopoéticas.^{10,26,53}

3.3. Biópsia Líquida

Apesar da biópsia de tecido tumoral ser largamente utilizada para caracterizar a neoplasia (interpretação mais ampla, com sequenciação do genoma completo), esta apresenta algumas limitações associadas: implica recorrer a procedimentos invasivos, com riscos inerentes valorizáveis; nem sempre é exequível ou repetível por dificuldades técnicas, em particular destaque a biópsia de metástases, que muitas vezes acomete o osso; fornece dados limitados a apenas um ponto específico no tempo e espaço e, portanto, incapaz de captar a heterogeneidade tumoral complexa.^{5,36,54} Consultar Figura 1 para análise comparativa entre biópsia tecidual e líquida.

Tendo isso em conta, estratégias específicas têm surgido para ultrapassar barreiras associadas a heterogeneidade inter e intra tumoral e às alterações que surgem no decorrer da progressão da doença (por pressões seletivas relacionadas com a terapêutica ou pela instabilidade genética). Em particular destaque a biópsia líquida do sangue, por isolamento das células tumorais circulantes (CTCs) ou a partir do DNA circulante (DNAC). Os níveis de

CTC passam a ser mensurável no sangue após a barreira hemato-tecidual ser ultrapassada e o tumor começar a disseminar pela corrente sanguínea.^{5,10,15,54}

DNAC são pequenos fragmentos de ácidos nucleicos de células (a rondar 150-200 pares de bases), que após passarem pelo processo de apoptose e necrose, surgem em praticamente todos os fluidos corporais. A maioria do DNAC é proveniente de células saudáveis/normais, no entanto, numa pequena percentagem é DNA tumoral circulante (DNATc) proveniente de um tumor primário ou de metástases.^{55,56} Visto que o rácio de DNATc no DNAC é dependente do volume tumoral e da sua atividade, com contagem a surgirem inferiores a <0.1% do DNAC total, a deteção de alterações somáticas no DNATc pode ser desafiante.⁵⁶ Estratégias como sequenciação com amplificação ou captação híbrida têm sido desenvolvidas para enriquecer as amostras para alvos de interesse.⁵⁷

Curiosamente, foi observado que pacientes com CaP em fases mais avançadas da doença (forma metastizada) apresentavam níveis de DNATc mais elevados ao passo que as formas localizadas apresentavam valores consideravelmente inferiores, e que a percentagem de DNATc está correlacionada com a taxa de sobrevivência.^{5,57-59} Outra potencial implicação clínica do DNATc está relacionada com a compreensão de alguns mecanismos de resistência a agentes terapêuticos.^{54,57,58}

Ainda que o doseamento das CTC tenha algum valor no prognóstico e follow-up, os algoritmos bioinformáticos e meios tecnológicos atuais não são sensíveis o suficiente para detetar anomalias epigenéticas e genéticas em fase precoces da doença, e, por isso, atualmente não é útil como técnica de diagnóstico precoce.^{16,56,57,60}

Posto isto, esforços têm sido aplicados com o propósito de evidenciar que a sequenciação por NGS do DNATc pode ser uma alternativa ou uma abordagem complementar. A concordância demonstrada entre as alterações encontradas no DNATc e no tecido tumoral foi devidamente avaliada no estudo PROfound, com valor preditivo positivo de 81% e com valor preditivo negativo de 92% nos genes BRCA e ATM.⁶¹

Biópsia tecidual	Biópsia Líquida
Peça cirúrgica ou biópsia de agulha fina	Fluidos corporais (geralmente sangue)
Invasivo, com riscos associados	Não invasivo
Complexo se necessário repetir colheita	Fácil e repetível
Captura isolada no tempo e espaço	Deteção em tempo real do perfil tumoral
Elevada sensibilidade	Baixa sensibilidade
Gold standard na prática clínica	Falta de regulamentação

Vaso sanguíneo



Figura 1: Quadro comparativo entre características de biópsia tecidual e biópsia líquida (procedimento não invasivo e de baixo risco, que permite a monitorização das alterações em tempo real durante o curso da doença). Em baixo, ilustrações do DNA tumoral circulante (DNA_{tc}), DNA circulante (DNA_c) e células tumorais circulantes (CTC) presentes em circulação nos vasos sanguíneos. (Adaptado de *Liquid biopsy and tumor heterogeneity in metastatic solid tumors: the potentiality of blood samples*⁵⁴)

4. Implicações terapêuticas

Atendendo a que o CaP pode ter uma longa história natural, a sua divisão em estados clínicos é importante para que haja uma contextualização da doença. Esta diferenciação é obtida tendo em conta o grau do tumor principal, a presença ou ausência de doença à distância com recurso a imagiologia (metastizado vs não metastizado), os níveis de testosterona (resistente a castração vs hormono-sensível), e exposição prévia a quimioterapia.⁶²

Como previamente abordado, a identificação de variantes patogénicas em genes que regulam o mecanismo de reparação de dano no DNA em homens com CaP podem ter diversas implicações terapêuticas, assim como, a sua determinação fornece informações relevantes sobre a severidade e prognóstico da doença, visto que se associam sistematicamente a formas de apresentação em idades mais jovens, com comportamento clínico mais agressivo e com mortalidade específica ao tumor mais elevada.²² De seguida, iremos sumarizar a evidência científica atual relativamente às diversas modalidades terapêuticas dirigidas para o CaP que albergam variantes patogénicas nos genes de reparação de DNA.

4.1. Radioterapia

A radioterapia (RT) tem sido amplamente utilizada com o intuito curativo ou paliativo em pacientes com diversos tipos de cancro. O mecanismo de ação da RT envolve a formação de quebras de dupla cadeia de DNA induzindo instabilidade genómica, resultando em última instância na apoptose das células. Assim sendo, com a intenção de demonstrar o potencial benefício da utilização da RT em neoplasias com erros no mecanismo de reparação de DNA (mutação nos genes ATM e BRCA1/2), um estudo retrospectivo avaliou os registos médicos de 97 pacientes que realizaram estudo genético de tecido tumoral com NGS e foram submetidos a RT. Os autores verificaram que a maior taxa de resposta foi observada nas lesões com mutações simultâneas nos genes ATM e BRCA1/2 com 80%, tendo registado também que, num intervalo de 1 ano, a recorrência local de lesões nos indivíduos deste subgrupo em comparação com o controlo foi de 0% e 47,9%, respetivamente. Posto isto, o estudo concluiu que neoplasias com variantes patológicas nos genes ATM e BRCA1/2 demonstram ser mais radiosensíveis, e, por isso, exibiram respostas excecionais à RT.⁶³ No futuro, espera-se que o estudo genético possa ter impacto na decisão de oferecer RT a doentes com CaP localizado.

No entanto, algumas reservas surgem na utilização de RT em doentes com mutações germinativas em genes de reparação de DNA, pelo aumentado risco de toxicidade e de neoplasias secundárias. Um caso particular registado foi o surgimento de cancro da mama contralateral em mulheres portadoras de mutações germinativas ATM que foram submetidas a RT.⁶⁴

4.2. Vigilância ativa

A vigilância ativa (VA) surge como uma opção viável para indivíduos que manifestam CaP de baixo risco, em vista a redução de sobrediagnóstico e sobretratamento. O processo da tomada de decisão baseia-se na combinação de vários fatores, entre os quais o nível da PSA (<10ng/mL), o estágio clínico (T1c ou T2a), o grau da neoplasia, esperança de vida estimada e o resultado da biópsia (número de lobos prostáticos envolvidos, percentagem de envolvimento no lobo principal, entre outros). Em seguida, a VA é realizada com doseamento dos valores da PSA a cada 3-6 meses, toque retal anual (com avaliação da consistência, limites, dimensões e da regularidade da superfície) e biópsia confirmatória após 6-12 meses, com novas biópsias a cada 3-5 anos. Adicionalmente, *guidelines* como a EAU, defendem a utilização de ressonância magnética multiparamétrica como alternativa às biópsias confirmatórias. Especificamente, a biópsia confirmatória não está recomendada no *follow-up* durante a VA se a suspeita de progressão clínica for baixa e se a ressonância magnética de *follow-up* também for negativa. No entanto, perante a progressão clínica (toque retal), PSA ou baseada na ressonância magnética, a biópsia confirmatória está indicada.^{41,65} Entre 36-73% dos doentes sob este regime vão necessitar de tratamento num intervalo de 10 anos, porém o desenvolvimento de metástases é raro.⁷

Face ao *gap* nas *guidelines* relativamente à gestão de portadores de mutações BRCA1/2 com CaP localizado com indicação para VA, e recordando que a presença destas mutações está associada a formas de apresentação mais agressivas e precoces^{66,67}, um estudo procurou estabelecer a taxa de reclassificação de grau entre portadores e não portadores em VA. De 1185 pacientes não portadores, 278 tiveram reclassificação de grau (23,5%), contrastando com os 6 de 11 portadores de mutações no gene BRCA2 (54,5%). As biópsias de vigilância foram realizadas 1-2 anos após o diagnóstico de CaP ter sido estabelecido.⁶⁸ Atendendo a estes resultados, o estudo genético pode no futuro fazer parte dos requisitos para indicação de VA, servindo como um indicador para a escolha de tratamento local radical em detrimento da VA na presença de mutações em genes de reparação de DNA, nomeadamente BRCA1/2. No entanto, dados mais robustos são

necessários para recomendações definitivas. Atualmente, a presença de mutações BRCA2 não exclui os pacientes de integrar na VA, caso as características da doença sejam favoráveis.⁴¹

4.3. Inibidores da PARP

A poli-ADP ribose polimerase (PARP) faz parte de um grupo de enzimas que participam nas vias de reparação do dano no DNA, mais concretamente na regulação do processo de identificação e reparação de quebras em cadeias simples de DNA através da excisão de bases. A inibição da PARP resulta no bloqueio da replicação celular através da paralisação ou colapso da forquilha de replicação, bem como na acumulação de quebras de cadeia simples (que podem resultar em quebras de cadeia dupla, caso estas alterações não sejam corrigidas antes do processo de replicação de DNA), comprometendo assim a integridade genética da célula. Posto isto, e tendo em conta a inativação da PARP, as proteínas envolvidas na via de reparação homóloga, codificadas por genes como o BRCA 1/2, vão compensar o bloqueio da PARP com a reparação das quebras de dupla cadeia. Contudo, perante uma neoplasia com defeito subjacente na via de reparação homóloga, por mutação patológica dos genes de HR, estas células não estarão capacitadas para gerir as quebras de cadeia dupla acumuladas, resultando em última instância numa perda da viabilidade das células. A este mecanismo foi-lhe atribuída a designação de “synthetic lethality”.⁶⁹⁻⁷²

Tendo esta premissa em consideração, vários são os estudos que têm procurado confirmar o impacto tumoral em pacientes com perfis genéticos similares, independentemente do grau histológico do carcinoma. Atualmente, os inibidores da PARP que foram aprovados ou estão sob investigação para o tratamento do CaP são: olaparib, rucaparib, talazoparib, niraparib e o veliparib.^{5,10}

Num estudo de fase III comparando a eficácia do olaparib com um ADT de segunda linha em doentes com CPRCm com pelo menos uma deleção num dos genes de HR, foi verificado um benefício claro na sobrevida livre de doença com base na comparação imagiológica, na taxa de resposta objetiva, e no tempo médio até progressão da dor. Consequentemente, o uso do olaparib, previamente aprovado para o tratamento de neoplasias da mama, pâncreas e ovário com a mutação nos genes BRCA1 ou BRCA2, foi recentemente estendido para ser usado no tratamento da CPRCm em pacientes com suspeita ou presença de variante mutacional somática ou germinativa em 15 genes de HR (ATM, BRCA1, BRCA2, BARD1, BRIP1, CDK12, CHEK1, CHEK2, FANCL, PALB2, PPP2R2A,

RAD51B, RAD51C, RAD51D, e RAD54L), desde que tivessem sido sujeitos terapia de privação de androgénios de segunda linha previamente.⁷³

Um outro fármaco da mesma classe, o rucaparib, evidenciou num estudo de fase II resposta radiográfica em 44% e redução do valor de PSA >50% em 51% dos pacientes com mutações patológicas nos genes BRCA1/2 (germinativas e/ou somáticas). No entanto, a taxa de resposta em doentes com mutação em outros genes de HR revelou ser bastante inferior (13%) e, perante estes resultados, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou a utilização deste fármaco apenas para CPRCm com alterações no BRCA1/2, no contexto de progressão de doença após previamente terem sido sujeitos a terapia de privação de androgénios e a quimioterapia.⁷⁴

Todavia, várias questões carecem de esclarecimento, nomeadamente em que cenários clínicos estes fármacos revelam ser mais eficazes e se é previsível que todas as alterações genómicas associadas aos mecanismos de reparação de DNA respondam aos inibidores da PARP.

4.4. Quimioterapia com platina

Regimes de quimioterapia com base em compostos de platina (tal como cisplatina ou carboplatina) têm sido utilizados com eficácia no tratamento do carcinoma da mama e do ovário com variantes patológicas nos genes BRCA1/2, uma vez que defeitos em genes de reparação homóloga de DNA confere às células a maior suscetibilidade a estes agentes de lesão de DNA.^{22,75,76} Em consequência, diversos estudos retrospectivos têm sido realizados com o intuito de demonstrar o seu impacto positivo. Pomerantz e colegas reportaram que 75% dos pacientes com CPRCm com variante patológica no gene BRCA 2 evidenciaram redução do valor da PSA superior a 50% nas primeiras 12 semanas, comparativamente ao controlo (aproximadamente 17%), sendo que a redução da PSA estava associada ao aumento da sobrevida.⁷⁶ Um outro estudo evidenciou resultados excecionais à quimioterapia com platina após insucesso ou progressão com tratamentos de primeira linha, em 3 pacientes com CPRCm e variantes bialélicas no gene BRCA 2.⁷⁷ Posto isto, apesar da evidência surgir apenas de estudos retrospectivos, estes têm indicado repetidamente que a quimioterapia à base de platina pode ser utilizada em pacientes com formas avançadas de CPRCm com alterações aberrantes em genes de HR, após progressão com os tratamentos de primeira linha.

4.5. Imunoterapia

A imunoterapia pode ser utilizada para tratar o cancro da próstata, potenciando a capacidade do sistema imunitário de reconhecer e atacar as células tumorais. Diferentes tipos de imunoterapia, tais como inibidores do checkpoint imunitário (ICI) e vacinas terapêuticas, têm vindo a ser estudados e utilizados em ensaios clínicos para tratar o cancro da próstata. Embora a imunoterapia tenha mostrado ser promissora em alguns casos, a sua eficácia varia em função das características específicas do cancro e do sistema imunitário do paciente.

Atualmente, os ICI podem ser subdivididos em duas classes: inibidores do antígeno dos linfócitos T citotóxicos (CTLA-4) e inibidores da via PD-1/PD-L1 (receptor das programmed cell death e respetivo ligante).

Por um lado, o CTLA-4 é um importante receptor do checkpoint imunológico, sendo expresso na membrana das células T ativadas. Este inibe as células T efetoras, a diferenciação das células T em células T de memória e potencia a atividade das células T reguladoras, modulando dessa forma a resposta imunitária e estabelecendo um microambiente de imunossupressão ideal para a replicação tumoral desregulada.⁷⁸ Após a realização de dois ensaios de fase 3, o Ipilimumab (anticorpo monoclonal humano, inibidor do CTLA-4) em monoterapia não evidenciou aumentar a sobrevida dos pacientes CaP. Este achado pode ser explicado pelo aumento de expressão de PD-1/PD-L1 como mecanismo compensatório, mantendo suprimida a resposta dos linfócitos T. No entanto, alguma atividade clínica foi registada, nomeadamente redução dos valores de concentração da PSA e melhoria da progressão livre de doença.^{79,80}

Por outro lado, após a aprovação por parte da FDA em 2017, a NCCN incluiu o inibidor de PD-1 pembrolizumab (um anticorpo monoclonal) no tratamento de neoplasias sólidas irresssecáveis ou metastáticas com elevada instabilidade de microssatélites ou mutações nos genes de MMR que progrediram após terem sido sujeitos a pelo menos uma linha de terapia sistémica, incluindo o CaP. Sabe-se que a via PD-1/PD-L1 está relacionada com a regulação da atividade das células T, com a resposta inflamatória a surgir localmente confinada, poupando dessa forma os tecidos saudáveis na proximidade (minimizando o fenómeno de autoimunidade). Todavia, determinadas neoplasias induzem a expressão excessiva da PD-L1, conduzindo à expressão de PD-1 nos linfócitos T reguladores e linfócitos infiltrados no tumor, criando um nicho propício à replicação desregulada.^{5,7,26,51,81} Um estudo prospetivo de fase II avaliou o impacto do pembrolizumab em doentes com CPRCm, e revelou uma taxa de resposta radiográfica de 5% com duração média de resposta de 16.8 meses.⁸² Um outro

ensaio retrospectivo registou que 54.5% dos doentes com CPRCm, com mutações patológicas nos genes MMR, tiveram uma redução da PSA em 50%.²⁰

Em seguida, e à semelhança das neoplasias com defeitos no sistema MMR, a presença de elevada carga mutacional tumoral (TMB - reflete o conjunto de mutações somáticas presentes numa determinada neoplasia), definido como >10 mutações por megabase, aparenta aumentar a probabilidade de formação de neoantígenos e, conseqüentemente, potencia a capacidade do sistema imunitário de reconhecer e atuar sobre estas células alteradas. Com esta hipótese em consideração, foi realizado um estudo num subgrupo de indivíduos com neoplasias sólidas de elevada TMB. Verificou-se uma taxa de resposta de 29%, com duração de resposta superior a 12 meses em 57% dos indivíduos testados. Face a estes resultados, a FDA decide aprovar em 2020 o uso de pembrolizumab no tratamento de doentes com tumores sólidos metastizados ou não ressecáveis com elevada TMB, à condição de ausência de resposta a terapêuticas prévias e ausência de alternativas satisfatórias.⁸³

Posto isto, apesar dos ICI terem revelado ser uma abordagem com resultados bastante positivos em certas neoplasias (em particular destaque no melanoma, carcinoma de células renais e no carcinoma do pulmão de células não pequenas), estes têm mostrado de momento um papel moderado no tratamento de doentes não-selecionados com CPRCm.⁸⁴⁻⁸⁸ Em parte, deve-se à baixa carga mutacional do tumor e ao microambiente tumoral imunossupressor que é estabelecido, o que confere dificuldade acrescida de indução de resposta imunitária anti-tumoral.^{22,89} Não obstante, várias estratégias e combinação de diferentes classes farmacológicas têm sido estudadas com o objetivo de ultrapassar estes mecanismos de resistência no carcinoma da próstata, nomeadamente a combinação de pembrolizumab com olaparib, pembrolizumab com docetaxel e prednisolona ou nivolumab (inibidor da PD-1) e ipilimumab.⁹⁰⁻⁹²

4.6. Inibidores da AKT

Um dos estudos desenvolvidos comparou o efeito da associação do ipatasertib (um seletivo competidor da ATP, inibidor das 3 isoformas da AKT) e abiraterona com o uso da abiraterona mais o placebo em doentes com CPRCm. Os resultados deste estudo não demonstraram haver benefício nos doentes com CaP em geral, porém confirmaram que a combinação do bloqueio da via de sinalização dos recetores dos androgénios e da AKT, com recurso ao ipatasertib e abiraterona, resulta na redução do risco de progressão da doença radiograficamente e melhoria do prognóstico comparado com o uso isolado do bloqueador

dos recetores de androgénio em doentes com CPRCm e PTEN diminuída (um subgrupo com marcado mau prognóstico).²³

Um outro estudo procurou determinar o impacto da combinação da capivasertib (um inibidor AKT) e a quimioterapia com docetaxel no tratamento de doentes com CPRCm. Os resultados revelaram aumento da sobrevida com a associação destes fármacos, porém sem tradução na progressão livre de doença (objetivo principal desse estudo). De momento é ainda incerto qual o mecanismo que justifique o aumento da sobrevida, sendo, por isso, necessário proceder com estudos mais alargados com o intuito de clarificar o impacto desta associação.^{21,93}

Em suma, estas novas modalidades terapêuticas geneticamente direcionadas apoiam a relevância dos testes genéticos na gestão clínica da doença, particularmente para pacientes com CaP metastático que não demonstram resposta às terapias clássicas. Contudo, devido à falta de biomarcadores válidos e de preditores robustos que possibilitem a escolha do tratamento mais apropriado, estas novas terapêuticas devem ser equacionadas individualmente em concordância com as características do doente (sintomas, presença ou ausência de envolvimento visceral, comorbilidades, entre outros), as suas preferências, os possíveis efeitos adversos, bem como as terapêuticas já efetuadas. Espera-se que o arsenal terapêutico para o CPRCm sofra atualizações, com melhor entendimento das atuais opções e com o surgimento de novos fármacos e biomarcadores e, conseqüentemente, com a sua introdução na prática clínica, possibilite aos prestadores de cuidados exercer uma medicina de precisão, oferecendo uma abordagem terapêutica verdadeiramente personalizada.^{22,94}

5. Limitações

O estudo genético em doentes com CaP tem várias limitações que devem ser consideradas, sendo importante lembrar que o estudo genético não é adequado para todos os pacientes com cancro da próstata e que deve ser discutido com um profissional de saúde qualificado, como um geneticista clínico ou conselheiro genético, para melhor entender as vantagens e limitações do teste genético e determinar se é apropriado para cada indivíduo.

O atual paradigma dos serviços genéticos é moroso e dispendioso, e uma vez que o estudo genético pode ter implicações emocionais, éticas e legais, muitos pacientes podem precisar de aconselhamento genético para entender as implicações dos resultados. Por outro lado, o número de conselheiros genéticos é insuficiente para aplicar este paradigma na avaliação de todos os doentes com cancro da próstata. Outras possibilidades devem ser tidas em conta para alargar a disponibilidade dos testes genéticos. Testes genéticos diretos ao consumidor e testes genéticos mediados por médicos são apenas algumas das abordagens que estão a ser investigadas.^{7,36}

Tal como abordado anteriormente, a avaliação da patogenicidade das variantes com significado desconhecido é um dos maiores obstáculos aos testes genéticos. A categorização das VUS baseia-se no facto de não haver informação suficiente para determinar se são benignas ou patogénicas, o que torna difícil prever as consequências clínicas para os indivíduos que as apresentam. Uma vez que as VUS não ajudam no diagnóstico ou na gestão clínica, aconselha-se que sejam tratadas como achados não passíveis de ação. Em princípio, a percentagem de categorização das VUS deve aumentar à medida que mais indivíduos são testados e mais genes são incluídos nos painéis dos testes genéticos.^{95,96}

Uma outra barreira que perpetua diz respeito à cobertura, preços e acesso a testes genéticos, que apesar das recomendações aumentarem a quantidade de indivíduos elegíveis para testes genéticos, este fator impede que haja aceitação completa das novas diretrizes. Algumas companhias de seguros acrescentam mais um obstáculo ao estabelecerem as suas próprias normas de cobertura de testes genéticos.¹⁵ Por exemplo, apesar de as recomendações da NCCN terem sido alteradas para cobrir todos os pacientes CaP metastizado, certas companhias de seguros continuam a impor critérios adicionais, como a necessidade ter um historial familiar de cancro da próstata.⁹

Por último, e não menos importante, a deteção de achados acidentais clinicamente relevantes resultantes da vasta quantidade de dados genéticos produzidos coloca em evidência outra potencial dificuldade no rastreio genético, com desafios adicionais a serem colocados aos laboratórios e aos médicos.⁹⁷

Conclusão

Em suma, nós agora encontramos-nos na posição de converter o nosso conhecimento da natureza poligenética do CaP para aprimorar as estratégias de gestão clínica, estratificando os homens com base no seu estatuto genético e história familiar. Alterações clinicamente significativas podem ser identificadas com recurso ao estudo genético a partir do sangue e do tecido tumoral, e espera-se que no futuro a análise de DNA_{tc} ou CTC via biópsia líquida possa ser incluída como uma abordagem complementar ou alternativa. Quando indicado, os testes devem ser realizados na presença de uma equipa experiente de médicos e conselheiros genéticos, de modo a providenciar o pré-teste e o pós-teste onde devem ser abordadas as diversas vertentes do estudo genético, possibilitando que o doente possa tomar decisões informadas. A realização de testes genéticos vai seguramente aumentar, com evidência crescente do seu potencial impacto na gestão da doença nas fases mais precoces, nomeadamente na indicação para vigilância ativa e radioterapia. No entanto, neste momento o grupo que apresenta maior utilidade clínica são os CPRC_m, uma vez que têm implicação terapêutica mais imediata, designadamente com a utilização de inibidores da PARP e quimioterapia com platina na presença de mutações em genes de HR, bem como a indicação de ICI para variantes patológicas nos genes de MMR.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Doutor Arnaldo José de Castro Figueiredo, pela disponibilidade, orientação e auxílio no âmbito geral deste projeto, desde a escolha do tema até à revisão deste texto.

Ao meu coorientador, Mestre Edgar Miguel Calvo Loureiro Tavares da Silva, pela atenção e pela disponibilidade, rigor e clareza na resolução de dúvidas durante a realização deste artigo de revisão.

À minha família, amigos e colegas de curso, um agradecimento especial pelo apoio ao longo do meu percurso académico, em particular aos meus pais, pela confiança, motivação e carinho incondicional que sempre demonstraram.

Referências bibliográficas

1. Carlsson S V., Vickers AJ. Screening for Prostate Cancer. Vol. 104, Medical Clinics of North America. W.B. Saunders; 2020. p. 1051–62.
2. Kafka M, Surcel C, Heidegger I. Recent Insights on Genetic Testing in Primary Prostate Cancer. Vol. 25, Molecular Diagnosis and Therapy. Adis; 2021. p. 425–38.
3. Heidegger I, Tsaur I, Borgmann H, Surcel C, Kretschmer A, Mathieu R, et al. Hereditary prostate cancer – Primetime for genetic testing? Vol. 81, Cancer Treatment Reviews. W.B. Saunders Ltd; 2019.
4. Ni Raghallaigh H, Eeles R. Genetic predisposition to prostate cancer: an update. Vol. 21, Familial Cancer. Springer Science and Business Media B.V.; 2022. p. 101–14.
5. Vietri MT, D’elia G, Caliendo G, Resse M, Casamassimi A, Passariello L, et al. Hereditary prostate cancer: Genes related, target therapy and prevention. Vol. 22, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2021.
6. American Cancer Society. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2022. 2022.
7. Finch A, Clark R, Vesprini D, Lorentz J, Kim RH, Thain E, et al. An appraisal of genetic testing for prostate cancer susceptibility. Vol. 6, npj Precision Oncology. Nature Research; 2022.
8. Nicolosi P, Ledet E, Yang S, Michalski S, Freschi B, O’Leary E, et al. Prevalence of Germline Variants in Prostate Cancer and Implications for Current Genetic Testing Guidelines. In: JAMA Oncology. American Medical Association; 2019. p. 523–8.
9. Das S, Salami SS, Spratt DE, Kaffenberger SD, Jacobs MF, Morgan TM. Bringing Prostate Cancer Germline Genetics into Clinical Practice. Vol. 202, Journal of Urology. Lippincott Williams and Wilkins; 2019. p. 223–30.
10. Giri VN, Morgan TM, Morris DS, Berchuck JE, Hyatt C, Taplin M. Genetic testing in prostate cancer management: Considerations informing primary care. CA Cancer J Clin. 2022 Jul;72(4):360–71.
11. Mohler JL, Antonarakis ES, Armstrong AJ, D’Amico A v., Davis BJ, Dorff T, et al. Prostate cancer, version 2.2019. JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network. 2019;17(5):479–505.
12. Giri VN, Knudsen KE, Kelly WK, Cheng HH, Cooney KA, Cookson MS, et al. Implementation of Germline Testing for Prostate Cancer: Philadelphia Prostate Cancer Consensus Conference 2019. Journal of Clinical Oncology. 2020 Aug 20;38(24):2798–811.
13. Abul-Husn NS, Soper ER, Odgis JA, Cullina S, Bobo D, Moscati A, et al. Exome sequencing reveals a high prevalence of BRCA1 and BRCA2 founder variants in a diverse population-based biobank. Genome Med. 2019 Dec 31;12(1).
14. Shah S, Rachmat R, Enyiona S, Ghose A, Revythis A, Boussios S. Brca mutations in prostate cancer: Assessment, implications and treatment considerations. Vol. 22, International Journal of Molecular Sciences. MDPI; 2021.

15. Zhen JT, Syed J, Nguyen KA, Leapman MS, Agarwal N, Brierley K, et al. Genetic testing for hereditary prostate cancer: Current status and limitations. Vol. 124, *Cancer*. John Wiley and Sons Inc.; 2018. p. 3105–17.
16. Pritchard CC, Mateo J, Walsh MF, De Sarkar N, Abida W, Beltran H, et al. Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2016 Aug 4;375(5):443–53.
17. Effery J, Truewing PS, Atricia P, Artge H, Holom S, Acholder W, et al. THE RISK OF CANCER ASSOCIATED WITH SPECIFIC MUTATIONS OF BRCA1 AND BRCA2 AMONG ASHKENAZI JEWS A BSTRACT Background Carriers of germ-line mutations in [Internet]. Vol. 336, *The New England Journal of Medicine* © Copyr ight. 1401. Available from: <http://www.nhgri>.
18. Peixoto A, Santos C, Pinheiro M, Pinto P, Soares MJ, Rocha P, et al. International distribution and age estimation of the Portuguese BRCA2 c.156-157insAlu founder mutation. *Breast Cancer Res Treat*. 2011 Jun;127(3):671–9.
19. Chiu PKF, Lee EKC, Chan MTY, Chan WHC, Cheung MH, Lam MHC, et al. Genetic Testing and Its Clinical Application in Prostate Cancer Management: Consensus Statements from the Hong Kong Urological Association and Hong Kong Society of Uro-Oncology. *Front Oncol*. 2022 Jul 18;12.
20. Abida W, Cheng ML, Armenia J, Middha S, Autio KA, Vargas HA, et al. Analysis of the Prevalence of Microsatellite Instability in Prostate Cancer and Response to Immune Checkpoint Blockade. *JAMA Oncol*. 2019 Apr 1;5(4):471–8.
21. Crabb SJ, Griffiths G, Marwood E, Dunkley D, Downs N, Martin K, et al. Pan-AKT Inhibitor Capivasertib With Docetaxel and Prednisolone in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: A Randomized, Placebo-Controlled Phase II Trial (ProCAID). *J Clin Oncol* [Internet]. 2020;39:190–201. Available from: <https://doi>.
22. Henríquez I, Roach M, Morgan TM, Bossi A, Gómez JA, Abuchaibe O, et al. Current and emerging therapies for metastatic castration-resistant prostate cancer (Mcrpc). Vol. 9, *Biomedicines*. MDPI; 2021.
23. Sweeney C, Bracarda S, Sternberg CN, Chi KN, Olmos D, Sandhu S, et al. Ipatasertib plus abiraterone and prednisolone in metastatic castration-resistant prostate cancer (IPATential150): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *The Lancet*. 2021 Jul 10;398(10295):131–42.
24. Wise HM, Hermida MA, Leslie NR. Prostate cancer, PI3K, PTEN and prognosis. *Clin Sci*. 2017;131(3):197–210.
25. Álvarez-García V, Tawil Y, Wise HM, Leslie NR. Mechanisms of PTEN loss in cancer: It's all about diversity. Vol. 59, *Seminars in Cancer Biology*. Academic Press; 2019. p. 66–79.
26. Russo J, Giri VN. Germline testing and genetic counselling in prostate cancer. Vol. 19, *Nature Reviews Urology*. Nature Research; 2022. p. 331–43.
27. Ewing CM, Ray AM, Lange EM, Zuhlke KA, Robbins CM, Tembe WD, et al. Germline Mutations in HOXB13 and Prostate-Cancer Risk A bs t r ac t [Internet]. Vol. 366, *n engl j med*. 2012. Available from: <http://cran.r-project.org>

28. Wokołorczyk D, Kluźniak W, Huzarski T, Gronwald J, Szymiczek A, Rusak B, et al. Mutations in ATM, NBN and BRCA2 predispose to aggressive prostate cancer in Poland. *Int J Cancer*. 2020 Nov 15;147(10):2793–800.
29. Khan HM, Cheng HH. Germline genetics of prostate cancer. Vol. 82, *Prostate*. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. S3–12.
30. Wokołorczyk D, Kluźniak W, Stempa K, Rusak B, Huzarski T, Gronwald J, et al. PALB2 mutations and prostate cancer risk and survival. *Br J Cancer*. 2021 Aug 17;125(4):569–75.
31. Rebello RJ, Oing C, Knudsen KE, Loeb S, Johnson DC, Reiter RE, et al. Prostate cancer. *Nat Rev Dis Primers*. 2021 Dec 1;7(1).
32. Maxwell KN, Cheng HH, Powers J, Gulati R, Ledet EM, Morrison C, et al. Inherited TP53 Variants and Risk of Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2022 Mar 1;81(3):243–50.
33. Rescigno P, Gurel B, Pereira R, Crespo M, Rekowski J, Rediti M, et al. Characterizing CDK12-mutated prostate cancers A C. *Clinical Cancer Research*. 2021 Jan 15;27(2):566–74.
34. Robinson D, Van Allen EM, Wu YM, Schultz N, Lonigro RJ, Mosquera JM, et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. *Cell*. 2015 May 30;161(5):1215–28.
35. Mohler JL, Antonarakis ES. NCCN Guidelines Updates: Management of Prostate Cancer. Vol. 17, *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. NLM (Medline); 2019. p. 583–6.
36. PRACTICAL INTEGRATION OF GENETIC TESTING FOR ADVANCED PROSTATE CANCER GERMLINE DNA REPAIR DEFECTS ARE ASSOCIATED WITH POOR PROGNOSIS AND ENRICHED IN METASTATIC PROSTATE CANCER TABLE 1. DNA Repair Genes, Prevalence of Mutations/Deletions in Metastatic Prostate Cancer, and Early Evidence of Therapeutic Response to PARP Inhibitors Gene Prevalence of Germline Mutations in Metastatic Prostate Cancer (%) a [Internet]. 2022. Available from: www.nccn.org
37. Risbridger GP, Taylor RA, Clouston D, Sliwinski A, Thorne H, Hunter S, et al. Patient-derived xenografts reveal that intraductal carcinoma of the prostate is a prominent pathology in brca2 mutation carriers with prostate cancer and correlates with poor prognosis. *Eur Urol*. 2015 Mar 1;67(3):496–503.
38. Isaacsson Velho P, Silberstein JL, Markowski MC, Luo J, Lotan TL, Isaacs WB, et al. Intraductal/ductal histology and lymphovascular invasion are associated with germline DNA-repair gene mutations in prostate cancer. *Prostate*. 2018 Apr 1;78(5):401–7.
39. Salinas CA, Tsodikov A, Ishak-Howard M, Cooney KA. Prostate cancer in young men: An important clinical entity. Vol. 11, *Nature Reviews Urology*. Nature Publishing Group; 2014. p. 317–23.
40. Lange EM, Salinas CA, Zuhlke KA, Ray AM, Wang Y, Lu Y, et al. Early onset prostate cancer has a significant genetic component. *Prostate*. 2012 Feb 1;72(2):147–56.
41. Mottet N, van den Bergh RCN, Briers E, Van den Broeck T, Cumberbatch MG, De Santis M, et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer—2020 Update. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. Vol. 79, *European Urology*. Elsevier B.V.; 2021. p. 243–62.

42. Szymaniak BM, Facchini LA, Giri VN, Antonarakis ES, Beer TM, Carlo MI, et al. Practical Considerations and Challenges for Germline Genetic Testing in Patients With Prostate Cancer: Recommendations From the Germline Genetics Working Group of the PCCTC. 2020; Available from: <https://doi>.
43. Mersch J, Brown N, Pirzadeh-Miller S, Mundt E, Cox HC, Brown K, et al. Prevalence of variant reclassification following hereditary cancer genetic testing. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2018 Sep 25;320(12):1266–74.
44. Cheng HH, Sokolova AO, Schaeffer EM, Small EJ, Higano CS. Germline and somatic mutations in prostate cancer for the clinician. Vol. 17, *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. Harborside Press; 2019. p. 515–21.
45. Daly MB, Pal T, Berry MP, Buys SS, Dickson P, Domchek SM, et al. Genetic/familial high-risk assessment: Breast, ovarian, and pancreatic, version 2.2021. Vol. 19, *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. Harborside Press; 2021. p. 77–102.
46. Tschernichovsky R, Goodman A. Risk-Reducing Strategies for Ovarian Cancer in BRCA Mutation Carriers: A Balancing Act . *Oncologist*. 2017 Apr 1;22(4):450–9.
47. Nelson PS. Beyond the Androgen Receptor: Targeting Actionable Drivers of Prostate Cancer. *JCO Precis Oncol*. 2017 Nov;(1):1–3.
48. Mandelker D, Zhang L. The emerging significance of secondary germline testing in cancer genomics. Vol. 244, *Journal of Pathology*. John Wiley and Sons Ltd; 2018. p. 610–5.
49. Mandelker D, Zhang L, Kemel Y, Stadler ZK, Joseph V, Zehir A, et al. Mutation detection in patients with advanced cancer by universal sequencing of cancer-related genes in tumor and normal DNA vs guideline-based germline testing. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2017 Sep 5;318(9):825–35.
50. Schrader KA, Cheng DT, Joseph V, Prasad M, Walsh M, Zehir A, et al. Germline variants in targeted tumor sequencing using matched normal DNA. In: *JAMA Oncology*. American Medical Association; 2016. p. 104–11.
51. Sokolova AO, Cheng HH. Genetic Testing in Prostate Cancer. Vol. 22, *Current Oncology Reports*. Springer; 2020.
52. Hyatt C, McDougall C, Miller-Samuel S, Russo J. Genetic Counseling for Men with Prostate Cancer. Vol. 48, *Urologic Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2021. p. 323–37.
53. Niemeyer CM, Mecucci C. Practical considerations for diagnosis and management of patients and carriers. Vol. 54, *Seminars in Hematology*. W.B. Saunders; 2017. p. 69–74.
54. Russano M, Napolitano A, Ribelli G, Iuliani M, Simonetti S, Citarella F, et al. Liquid biopsy and tumor heterogeneity in metastatic solid tumors: The potentiality of blood samples. Vol. 39, *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. BioMed Central Ltd; 2020.
55. Lu YT, Delijani K, Mecum A, Goldkorn A. <p>Current status of liquid biopsies for the detection and management of prostate cancer</p>. *Cancer Manag Res*. 2019 Jun;Volume 11:5271–91.
56. Huang CC, Du M, Wang L. Bioinformatics analysis for circulating cell-free DNA in cancer. Vol. 11, *Cancers*. MDPI AG; 2019.

57. Merseburger AS, Waldron N, Ribal MJ, Heidenreich A, Perner S, Fizazi K, et al. Genomic Testing in Patients with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer: A Pragmatic Guide for Clinicians. Vol. 79, *European Urology*. Elsevier B.V.; 2021. p. 519–29.
58. Schwaederle M, Chattopadhyay R, Kato S, Fanta PT, Banks KC, Choi IS, et al. Genomic alterations in circulating tumor DNA from diverse cancer patients identified by next-generation sequencing. *Cancer Res*. 2017 Oct 1;77(19):5419–27.
59. Research landscape of liquid biopsies in prostate cancer.
60. Keller L, Belloum Y, Wikman H, Pantel K. Clinical relevance of blood-based ctDNA analysis: mutation detection and beyond. Vol. 124, *British Journal of Cancer*. Springer Nature; 2021. p. 345–58.
61. Kim N, Chi ABCSZLCCJAWJCBCAAPQAESD and EH. Concordance of BRCA1, BRCA2 (BRCA), and ATM mutations identified in matched tumor tissue and circulating tumor DNA (ctDNA) in men with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) screened in the PROfound study. *Journal of Clinical Oncology*. 2021;
62. Teo MY, Rathkopf DE, Kantoff P. Treatment of advanced prostate cancer. Vol. 70, *Annual Review of Medicine*. Annual Reviews Inc.; 2019. p. 479–99.
63. Kim KH, Kim HS, Kim SS, Shim HS, Yang AJ, Bock Lee JJ, et al. Increased Radiosensitivity of Solid Tumors Harboring ATM and BRCA1/2 Mutations. *Cancer Res Treat*. 2022 Jan 1;54(1):54–64.
64. Bernstein JL, Haile RW, Stovall M, Boice JD, Shore RE, Langholz B, et al. Radiation exposure, the ATM gene, and contralateral breast cancer in the women’s environmental cancer and radiation epidemiology study. *J Natl Cancer Inst*. 2010 Apr;102(7):475–83.
65. Walker CH, Marchetti KA, Singhal U, Morgan TM. Active surveillance for prostate cancer: selection criteria, guidelines, and outcomes. *World J Urol*. 2022 Jan 1;40(1):35–42.
66. Hartzfeld D, Berse B, Lowrance W, Dash A, Brawer M, Lawrence J, et al. Caring for Patients With Prostate Cancer Who Are BRCA Positive [Internet]. Available from: www.fedprac.com
67. Halstuch D, Ber Y, Margel D. Screening, Active Surveillance, and Treatment of Localized Prostate Cancer Among Carriers of Germline BRCA Mutations. Vol. 6, *European Urology Focus*. Elsevier B.V.; 2020. p. 212–4.
68. Carter HB, Helfand B, Mamawala M, Wu Y, Landis P, Yu H, et al. Germline Mutations in ATM and BRCA1/2 Are Associated with Grade Reclassification in Men on Active Surveillance for Prostate Cancer(Figure presented.). *Eur Urol*. 2019 May 1;75(5):743–9.
69. Lord CJ, Ashworth A. PARP inhibitors: Synthetic lethality in the clinic. Vol. 355, *Science*. American Association for the Advancement of Science; 2017. p. 1152–8.
70. Mateo J, Lord CJ, Serra V, Tutt A, Balmaña J, Castroviejo-Bermejo M, et al. A decade of clinical development of PARP inhibitors in perspective. *Annals of Oncology*. 2019 Sep 1;30(9):1437–47.
71. de Bono JS, Mehra N, Scagliotti G v., Castro E, Dorff T, Stirling A, et al. Talazoparib monotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer with DNA repair alterations (TALAPRO-1): an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2021 Sep 1;22(9):1250–64.

72. D'Andrea AD. Mechanisms of PARP inhibitor sensitivity and resistance. Vol. 71, DNA Repair. Elsevier B.V.; 2018. p. 172–6.
73. de Bono J, Mateo J, Fizazi K, Saad F, Shore N, Sandhu S, et al. Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2020 May 28;382(22):2091–102.
74. Anscher MS, Chang E, Gao X, Gong Y, Weinstock C, Bloomquist E, et al. FDA Approval Summary: Rucaparib for the Treatment of Patients with Deleterious BRCA-Mutated Metastatic Castrate-Resistant Prostate Cancer. *Oncologist*. 2021 Feb 1;26(2):139–46.
75. Alsop K, Fereday S, Meldrum C, DeFazio A, Emmanuel C, George J, et al. BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: A report from the Australian ovarian cancer study group. *Journal of Clinical Oncology*. 2012 Jul 20;30(21):2654–63.
76. Pomerantz MM, Spisák S, Jia L, Cronin AM, Csabai I, Ledet E, et al. The association between germline BRCA2 variants and sensitivity to platinum-based chemotherapy among men with metastatic prostate cancer. *Cancer*. 2017 Sep 15;123(18):3532–9.
77. Cheng HH, Pritchard CC, Boyd T, Nelson PS, Montgomery B. Biallelic Inactivation of BRCA2 in Platinum-sensitive Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2016 Jun 1;69(6):992–5.
78. Taghizadeh H, Marhold M, Tomasich E, Udovica S, Merchant A, Krainer M. Immune checkpoint inhibitors in mCRPC - rationales, challenges and perspectives. Vol. 8, *Oncoimmunology*. Taylor and Francis Inc.; 2019.
79. Beer TM, Kwon ED, Drake CG, Fizazi K, Logothetis C, Gravis G, et al. Randomized, double-blind, phase III trial of ipilimumab versus placebo in asymptomatic or minimally symptomatic patients with metastatic chemotherapy-naïve castration-resistant prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2017 Jan 1;35(1):40–7.
80. Kwon ED, Drake CG, Scher HI, Fizazi K, Bossi A, van den Eertwegh AJM, et al. Ipilimumab versus placebo after radiotherapy in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer that had progressed after docetaxel chemotherapy (CA184-043): A multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(7):700–12.
81. Schaeffer EM, Srinivas S, Adra N, An Y, Barocas D, Bitting R, et al. NCCN GUIDELINES® INSIGHTS: Prostate Cancer, Version 1.2023: Featured Updates to the NCCN Guidelines. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2022 Dec 1;20(12):1288–98.
82. Antonarakis ES, Piulats JM, Gross-Goupil M, Goh J, Ojamaa K, Christopher ;, et al. Pembrolizumab for Treatment-Refractory Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Multicohort, Open-Label Phase II KEYNOTE-199 Study. *J Clin Oncol [Internet]*. 2019;38:395–405. Available from: <https://doi.org/10.1200/JCO.2019.38.395>.
83. Marcus L, Fashoyin-Aje LA, Donoghue M, Yuan M, Rodriguez L, Gallagher PS, et al. FDA approval summary: Pembrolizumab for the treatment of tumor mutational burden-high solid tumors. *Clinical Cancer Research*. 2021 Sep 1;27(17):4685–9.

84. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 2015 Nov 5;373(19):1803–13.
85. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non–Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2015 Oct 22;373(17):1627–39.
86. Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Rutkowski P, Grob JJ, Cowey CL, et al. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2017 Oct 5;377(14):1345–56.
87. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WEE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non–Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2015 Jul 9;373(2):123–35.
88. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Rutkowski P, Lao CD, et al. Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2019 Oct 17;381(16):1535–46.
89. Runcie KD, Dallos MC. Prostate Cancer Immunotherapy—Finally in From the Cold? Vol. 23, *Current Oncology Reports*. Springer; 2021.
90. Yu EY, Piulats JM, Gravis G, Fong PCC, Todenhöfer T, Laguerre B, et al. Pembrolizumab plus Olaparib in Patients with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer: Long-term Results from the Phase 1b/2 KEYNOTE-365 Cohort A Study. *Eur Urol*. 2023 Jan 1;83(1):15–26.
91. Yu EY, Kolinsky MP, Berry WR, Retz M, Mourey L, Piulats JM, et al. Pembrolizumab Plus Docetaxel and Prednisone in Patients with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer: Long-term Results from the Phase 1b/2 KEYNOTE-365 Cohort B Study. *Eur Urol*. 2022 Jul 1;82(1):22–30.
92. Sharma P, Pachynski RK, Narayan V, Fléchon A, Gravis G, Galsky MD, et al. Nivolumab Plus Ipilimumab for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Preliminary Analysis of Patients in the CheckMate 650 Trial. *Cancer Cell*. 2020 Oct 12;38(4):489-499.e3.
93. Crabb SJ, Griffiths G, Dunkley D, Downs N, Ellis M, Radford M, et al. Overall Survival Update for Patients with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer Treated with Capivasertib and Docetaxel in the Phase 2 ProCAID Clinical Trial. *Eur Urol*. 2022 Nov 1;82(5):512–5.
94. Schaeffer EM, Srinivas S, Adra N, An Y, Barocas D, Bitting R, et al. NCCN Guidelines® Insights: Prostate Cancer, Version 1.2023. *J Natl Compr Canc Netw*. 2022 Dec 1;20(12):1288–98.
95. Mersch J, Brown N, Pirzadeh-Miller S, Mundt E, Cox HC, Brown K, et al. Prevalence of variant reclassification following hereditary cancer genetic testing. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2018 Sep 25;320(12):1266–74.
96. Turner SA, Rao SK, Hayes Morgan R, Vnencak-Jones CL, Wiesner GL. The impact of variant classification on the clinical management of hereditary cancer syndromes. *Genetics in Medicine [Internet]*. 2019;21:426–30. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41436->
97. Hegde M, Bale S, Bayrak-Toydemir P, Gibson J, Bone Jeng LJ, Joseph L, et al. Reporting incidental findings in genomic scale clinical sequencing - A clinical laboratory perspective: A

report of the Association for Molecular Pathology. *Journal of Molecular Diagnostics*. 2015 Mar 1;17(2):107–17.