

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.625>

<https://orcid.org/0009-0007-4805-9713>

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Tomas Januškevičius

Agresyvos eigos prostatos vėžio nustatymas taikant skysčių biopsiją

DAKTARO DISERTACIJA

Medicinos ir sveikatos mokslai,
Medicina (M 001)

VILNIUS 2024

Disertacija rengta 2019–2023 metais Vilniaus universitete.

Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo taryba, Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas, Ateities biomedicinos fondas.

Mokslinis vadovas

Prof. dr. **Feliksas Jankevičius** (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Mokslinė konsultantė

Prof. dr. **Sonata Jarmalaitė** (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, biologija – N 010).

Gynimo taryba:

Pirmininkas – Prof. dr. **Tomas Poškus** (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Nariai:

Prof. dr. **Marius Miglinas** (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001),

Doc. dr. **Saulius Mikalauskas** (Graco universiteto ligoninė, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001),

Prof. dr. **Darijus Skaudickas** (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001),

Doc. dr. **Arūnas Želvys** (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Disertacija ginama viešame Gynimo tarybos posėdyje 2024 m. birželio mėn. 19 d. 10 val. Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Raudonojoje (E122) auditorijoje.

Adresas: Santariškių g. 2, Vilnius, Lietuva, tel. +370 5 236 5250; el. paštas regina.valenteliene@mf.vu.lt

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje ir VU interneto svetainėje adresu: <https://www.vu.lt/naujienos/ivykiu-kalendorius>

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.625>

<https://orcid.org/0009-0007-4805-9713>

VILNIUS UNIVERSITY

Tomas Januškevičius

Detection of Aggressive Prostate Cancer Using Liquid Biopsy

DOCTORAL DISSERTATION

Medicine and Health Sciences,
Medicine (M 001)

VILNIUS 2024

The dissertation was prepared between 2019 and 2023 at Vilnius University. The research was supported by the Research Council of Lithuania, Vilnius University Faculty of Medicine, and the Future Biomedicine Foundation.

Academic supervisor

Prof. Dr. **Feliksas Jankevičius** (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

Academic consultant

Prof. Dr. **Sonata Jarmalaitė** (Vilnius University, Natural Sciences, Biology – N 010).

This doctoral dissertation will be defended in a public meeting of the Dissertation Defence Panel:

Chairman – Prof. Dr. **Tomas Poškus** (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

Members:

Prof. Dr. **Marius Miglinas** (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001),

Assoc. Prof. Dr. **Saulius Mikalauskas** (University Hospital Graz, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001),

Prof. Dr. **Darijus Skaudickas** (Lithuanian University of Health Sciences, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001),

Assoc. Prof. Dr. **Arūnas Želvys** (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

The dissertation shall be defended at a public meeting of the Dissertation Defence Panel at 10 PM on 19 June 2024 in the Red (E122) auditorium of Vilnius University Hospital Santaros klinikos.

Address: Santariskiu Str. 2, Vilnius, Lithuania. Phone No. +370 5 236 5250; e-mail: regina.valenteliene@mf.vu.lt.

The text of this dissertation can be accessed at the Vilnius University Library, as well as on the website of Vilnius University:

www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius

SANTRUMPOS

AA – abiraterono acetatas

ADT – androgenų deprivacijos terapija

ATM – *ATM* genas, angl. *Ataxia-telangiectasia mutated gene*

BRCA1 – *BRCA1* genas, angl. *BReast CAncer 1 gene*

BRCA2 – *BRCA2* genas, angl. *BReast CAncer 2 gene*

CI – pasikliautinis intervalas, angl. *confidence interval*

CHEK2 – *CHEK2* genas, angl. *Checkpoint kinase 2 gene*

cISUP – klinikinis ISUP balas

DDR – DNR pažaidų atsako kelio genai, angl. *DNA damage response pathway genes*

DNR – deoksiribonukleorūgštis

DPA – DNR pažaidų atsakas

EAU – Europos urologų asociacija, angl. *European Association of Urology*

HR – rizikos santykis, angl. *hazard ratio*

ISUP – Tarptautinė urologinės patologijos draugija, angl. *International Society of Urological Pathology*

IQR – tarpkvartilinis plotis, angl. *interquartile range*

KAPV – kastracijai atsparus prostatos vėžys

kPGR – realaus laiko kiekybinė polimerazės grandininė reakcija

mHJPV – metastatinis hormonams jautrus prostatos vėžys

mKAPV – metastatinis kastracijai atsparus prostatos vėžys

mpMRT – multiparametrinio magnetinio rezonanso tomografija

NBN – *NBN* genas, angl. *Nibrin gene*

NCCN – Jungtinių Amerikos Valstijų vėžio draugija, angl. *National Comprehensive Cancer Network*

NKS – naujos kartos sekoskaita

NVI – Nacionalinis vėžio institutas

OR – šansų santykis, angl. *odds ratio*

PB – prostatos biopsija

PI-RADS – prostatos magnetinio rezonanso vaizdų ir pokyčių interpretavimo sistema, angl. *Prostate Imaging Reporting and Data System*

PSA – prostatos specifinis antigenas

PSAT – PSA tankis

PT – prostatos tūris

PV – prostatos vėžys

ŠF – šarminė fosfatazė

TNM – TNM klasifikacijos sistema, angl. *Tumor, Node, Metastasis*

UG – ultragarsas

TURINYS

1. ĮVADAS.....	10
1.1. Darbo aktualumas.....	10
1.2. Darbo tikslas.....	11
1.3. Darbo uždaviniai	11
1.4. Darbo naujumas ir praktinė reikšmė	11
1.5. Disertacijos ginamieji teiginiai.....	12
2. LITERATŪROS APŽVALGA.....	14
2.1. Prostatos vėžys	14
2.1.1. Prostatos vėžio epidemiologija ir etiologija	14
2.1.2. Prostatos vėžio stadijavimas, histologija ir klasifikacija	15
2.2. Skysčių biopsijos.....	19
2.2.1. Palyginimas su standartinėmis biopsijomis	19
2.2.2. Skysčių biopsijų pritaikymas	21
2.3. DNR pažaidų atsako kelio genai sergant prostatos vėžiu.....	22
2.3.1. Reikšmė ir paplitimas	22
2.3.2. <i>BRCA1</i> ir <i>BRCA2</i> genai	23
2.3.3. <i>ATM</i> genas	25
2.3.4. <i>CHEK2</i> genas	26
2.3.5. <i>NBN</i> genas	27
2.4. Sintetinio letalumo mechanizmas.....	27
2.5. Genetinis testavimas sergant prostatos vėžiu	29
3. DARBO METODOLOGIJA.....	32
3.1. Įtraukimo kriterijai	32
3.2. Atmetimo kriterijai.....	32
3.3. Klinikiniai ir pataloginiai duomenys.....	33
3.3.1. Klinikinių, radiologinių ir pataloginių duomenų rinkimas....	33
3.3.2. Kastracijai atsparaus prostatos vėžio sąvoka, ligos progresavimas ir tiriamųjų sekimas	34

3.3.3. Išgyvenamumas be ligos progresavimo, bendrasis išgyvenamumas	34
3.4. Mėginiai ir genetinė analizė	34
3.4.1. Mėginių rinkimas ir paruošimas	34
3.4.2. DNR gryninimas.....	35
3.4.3. Realaus laiko kiekybinė polimerazės grandininė reakcija mutacijoms nustatyti.....	35
3.4.4. Naujos kartos sekoskaita mutacijoms nustatyti	35
3.5. Statistinė analizė.....	36
3.6. Pacientų grupavimas ir palyginimai.....	37
3.7. Doktoranto ir kitų tyrėjų indėlis	37
4. TYRIMO REZULTATAI	39
4.1. Pažengusio prostatos vėžio tyrimai	39
4.1.1. Imtis ir analizuoti tiriamieji	39
4.1.2. Mutacijų dažnis pažengusio prostatos vėžio kraujo mėginiuose.....	39
4.1.3. Mutacijų dažnis pažengusio prostatos vėžio šlapimo mėginiuose.....	39
4.1.4. Pacientų grupės pagal mutacijos tipą.....	41
4.1.5. Atsakas į ilgalaikę androgenų deprivacijos terapiją	43
4.1.6. Atsakas į pirmos eilės sisteminį gydymą.....	46
4.1.7. Atsakas į gydymą abiraterono acetatu bei docetakseliu	47
4.1.8. Gydymas radžio-223 dichlorido terapija	49
4.1.9. Bendrasis išgyvenamumas.....	52
4.2. Lokalaus prostatos vėžio tyrimai.....	53
4.2.1. Imtis ir analizuoti tiriamieji	53
4.2.2. Mutacijų dažnis lokalaus prostatos vėžio grupėje	54
4.2.3. Mutacijų sąsaja su klinikiniais, radiologiniais ir patologiniais rodikliais	56
4.2.4. Mutacijos ir rizika susirgti prostatos vėžiu.....	59
4.3. Bendra pažengusio ir lokalaus prostatos vėžio analizė	60

4.3.1. Mutacijų dažnis kraujo mėginiuose.....	60
4.3.2. Mutacijų sąsajos su amžiumi ir histologiniais rodikliais.....	60
5. REZULTATŲ APTARIMAS	62
5.1. Pažengusio prostatos vėžio grupė.....	62
5.2. Lokalaus prostatos vėžio grupė.....	64
5.3. Pažengusio ir lokalaus prostatos vėžio grupių palyginimas.....	66
5.4. Biomedicininio tyrimo trūkumai.....	66
6. IŠVADOS	67
7. REKOMENDACIJOS.....	68
8. PUBLIKACIJŲ IR PRANEŠIMŲ SĄRAŠAS.....	69
8.1. Straipsniai disertacijos tema.....	69
8.2. Pranešimai disertacijos tema.....	69
9. SUMMARY	70
10. FINANSINĖ PARAMA.....	107
11. <i>CURRICULUM VITAE</i>	108
12. PADĖKA.....	111
13. LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	112
14. PRIEDAI.....	130

1. ĮVADAS

1.1. Darbo aktualumas

Prostatos vėžys (PV) yra antras pagal dažnumą vyrų vėžys (1). Ligoniams, sergantiems žemos rizikos lokaliu PV, gali būti taikomas aktyvus stebėjimas arba pirminis gydymas radikaliais chirurginiais ar radioterapiniais metodais, kas paprastai sukelia ilgalaikę pilną ligos remisiją. Vidutinės ir aukštos rizikos lokalaus PV pacientams liga gali progresuoti, nepaisant sėkmingo pirminio gydymo. Pacientams, turintiems specifinių genetinių mutacijų, PV gali išsivystyti anksčiau, pasireikšti agresyvesne eiga, o atsparumas įprastiniam gydymui atsirasti greičiau. Ligai progresuojant formuojasi kastracijai atsparus prostatos vėžys (KAPV), kuris vėliau gali metastazuoti į minkštuosius audinius ar kaulus. Tai lemia sunkesnių klinikinių simptomų atsiradimą, blogina pacientų gyvenimo kokybę, trumpina pacientų išgyvenamumą bei didina sveikatos priežiūros įstaigų kaštus (2–4).

Genetinių technologijų pažangos dėka sukuriama vis nauji, ypatingai jautrūs ir informatyvūs vėžio diagnostavimo metodai. Genetinių mutacijų analizė, taikant naujos kartos sekoskaitą (NKS), leidžia identifikuoti specifinius genetinius pokyčius, kurie padeda prognozuoti PV klinikinę eigą. Tokiam tyrimui nėra būtina navikinio darinio biopsija. Pakitimai gali būti analizuojami pasitelkiant organizmo skysčius, pvz.: kraujo plazmą, šlapimą ir kt. Toks tyrimas, dar vadinamas skysčių biopsija, pasižymi dideliu jautrumu ir specifiskumu, yra mažai invazyvus, tausojantis pacientą. Skysčių biopsijos pasižymi maža rizika pacientui (pvz.: šlapimo surinkimas), gali suteikti tikslios informacijos apie paciento genetines paveldimas ir įgytas mutacijas, taip įvertinant šių pakitimų įtaką kancerogenėzei.

Sergant PV, yra aptinkami įvairūs genetiniai ir epigenetiniai pokyčiai. Visgi, daugiausia PV paveldimumas yra siejamas su genetiniiais deoksiribonukleorūgšties (DNR) pažaidų atsako (DPA) kelio pasikeitimais (5). Šis molekulinis kelias yra atsakingas už ląstelės genomo vientisumo palaikymą (6), o pagrindiniai šio kelio dalyviai yra baltymai, kuriuos koduoja *ATM*, *ATR*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK1*, *CHEK2*, *NBN*, *TP53* ir kai kurie kiti genai. DPA kelio baltymai aptikę DNR pažeidimus, inicijuoja ląstelės ciklo sustabdymą ir DNR taisymą bei apsaugo ląsteles nuo žalingų genetinių pakitimų kaupimosi (7–9). Esant neaktyviam DPA keliui dėl mutacijų minėtuose genuose, atsiranda palankios sąlygos genomo nestabilumui, nekontroliuojamam ląstelių augimui ir piktybėjimui (10,11). Supratimas apie DPA kelio genų svarbą, sergant PV, yra itin reikšmingas klinikinėje

praktikoje, norint identifikuoti prastesnes prognozės pacientus, susiduriančius su agresyvia PV eiga.

1.2. Darbo tikslas

Disertacijos tikslas – ištirti DPA kelio genų (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ir *NBN*) mutacijų dažnį kraujo ir / ar šlapimo mėginiuose bei įvertinti šių mutacijų įtaką klinikinei ligos eigai pažengusio ir lokalaus PV imtyse.

1.3. Darbo uždaviniai

1. Nustatyti DPA kelio genų mutacijų (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN*) spektrą ir dažnį pažengusio PV pacientų leukocitų ir šlapimo DNR bei lokalaus PV pacientų leukocitų DNR.
2. Nustatyti DPA kelio genų mutacijų sąsajas su atsaku į gydymą ir bendruoju išgyvenamumu pažengusio PV imtyje.
3. Nustatyti DPA kelio genų mutacijų bei klinikinių, radiologinių ir histopatologinių rodiklių sąsajas su lokalaus PV agresyvumu ir PV rizika.
4. Palyginti pažengusio ir lokalaus PV mutacijas turinčių pacientų amžių ir histologinius rezultatus.

1.4. Darbo naujumas ir praktinė reikšmė

Šiame tyrime, DPA kelio genų (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN*) mutacijos buvo tirtos dviejose nepriklausomose, gerai charakterizuotose – pažengusio ir lokalaus PV – imtyse. Mūsų žiniomis, tai pirmas tokio pobūdžio PV tyrimas Lietuvoje. Gauti rezultatai atskleidė didelį minėtų mutacijų paplitimą tarp Lietuvos PV sergančių vyrų abiejose tirtose grupėse, taip apimant dalį Lietuvos PV populiacijos, skirtinguose ligos etapuose. Kadangi dauguma tarptautinių gairių kolkas aiškiai neįvardina konkrečių PV DPA kelio genų, kurie turi būti įtraukti į PV genetinio testavimo paneles – tyrime rastas aukštas PV mutacijų dažnis patvirtina specifiškai tirtų 5 genų svarbą PV patogenezėje, kas ateityje gali padėti parinkti tinkamiausius PV molekulinį biožymenų testus.

Tyrimas įvertino *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN* genų mutacijų įtaka pažengusio – metastatinio KAPV (mKAPV) – imtyje. Šioje grupėje daugiausiai stebėti reikšmingi skirtumai tarp pažengusio PV mutacijų nešiotojų ir šių mutacijų neturinčių pacientų, pastarųjų naudai, remiantis išgyvenamumu be ligos progresavimo taikant skirtingas sisteminio gydymo eiles: nuo ilgalaikės androgenų deprivacijos terapijos (ADT) hormonams

jautrioje fazėje iki radžio-223 terapijos esant ženkliai išplitusiai ligai kauluose. Taip pat, mutacijas turinčių pažengusio PV pacientų grupėje, stebėti prastesni bendrojo išgyvenamumo rodikliai. Visi šie rezultatai leidžia nuspėti, kad pacientai turintys mutacijas minėtuose DPA kelio genuose yra susiję su agresyvia pažengusio PV eiga ir prastesne prognoze, daugeliu atveju mutacijas tyrime nurodant kaip inovatyvų nepriklausomą prognostinį rodiklį.

Tyrimas lokalaus PV imtyje įvertino agresyvesnę PV pacientams turintiems mutacijas tirtuose genuose, atsižvelgiant į klinikinius, radiologinius ir histopatologinius rodiklius; taip pat rasta didesnė rizika susirgti PV esant šių specifinių mutacijų nešiotoju. Nors reikšmingiems skirtumams išryškinti lokalaus PV grupėje reikalingi tyrimai didesnėse imtyse, tačiau rastas aukštas mutacijų dažnis ir galima agresyvios eigos vėžio sąsaja su mutacijomis tyrime atskleidė, kad DPA kelio genų mutacijos greičiausiai yra ankstyvas įvykis agresyvių prostatos navikų patogenezėje. Tai leidžia daryti naują prielaidą apie galimą specifiskai pritaikytų genetinių tyrimų naudą šioje grupėje – anksti identifikuojant lokalaus PV mutacijų nešiotojus, kuriems būdinga agresyvios eigos liga.

Tyrimė taip pat galėjome palyginti pažengusio ir lokalaus PV nepriklausomų imčių charakteristikas – stebėta tendencija, kad kai kurių genų mutacijų nešiotojai lokalaus PV kohorte buvo jaunesni, o tai dar kartą leidžia manyti apie mutacijas, kaip ankstyvus įvykius agresyvaus PV eigoje.

Mūsų tyrimo metu mutacijų profilis *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN* genuose tirtas kraujo arba šlapimo mėginiuose. Toks molekulinio testo pritaikymas klinikinėje praktikoje yra ne tik inovatyvių šiuolaikinių technologijų pavyzdys, tačiau svarbiausia – jis yra itin saugus pacientui.

1.5. Disertacijos ginamieji teiginiai

1. Pacientų, sergančių pažengusiu ir lokaliu PV, kraujo ir / ar šlapimo mėginiuose aptinkamas aukštas DPA kelio genų mutacijų dažnis.
2. *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ir *NBN* genų mutacijų nešiotojai yra susiję su agresyvios eigos pažengusiu PV, vertinant atsaką į sisteminį gydymą, o *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* (c.1100delC), *NBN* genų mutacijų nešiotojai yra susiję ir su blogesniais bendrojo išgyvenamumo rodikliais.
3. Sergantys lokaliu PV *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* genų mutacijų nešiotojai yra susiję su agresyvesne ligos eiga, vertinant jų klinikinius, radiologinius ir histopatologinius duomenis bei PV rizika nešiotojams yra didesnė.

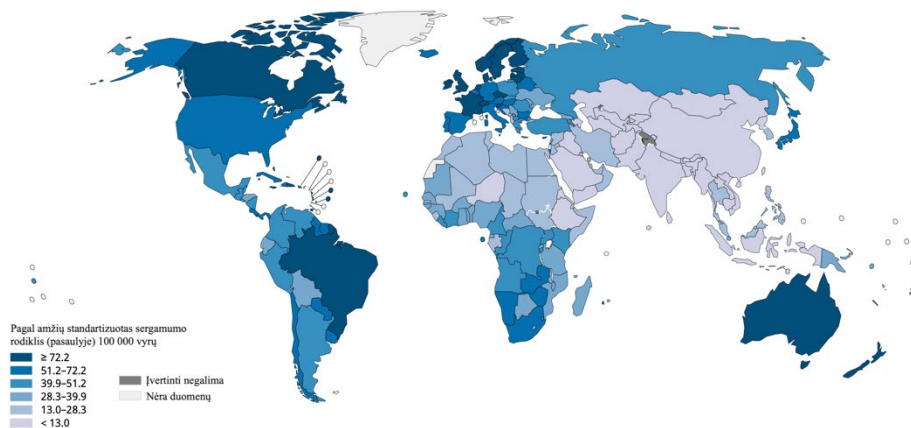
4. *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2* mutacijų nešiotojai lokalaus PV grupėje yra jaunesni, palyginus su pažengusio PV pacientais, o *CHEK2* mutacijų nešiotojų liga yra agresyvesnė esant pažengusiai ligos formai.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1. Prostatos vėžys

2.1.1. Prostatos vėžio epidemiologija ir etiologija

PV – vienas iš dažniausių vyrų onkologinių susirgimų. Skaičiuojama, kad visame pasaulyje kasmet diagnozuojama apie 1,4 mln. naujų PV atvejų ir net 375 000 mirčių (1). Remiantis šia statistika, PV pasaulyje yra antras pagal dažnumą vyrų vėžys ir penkta pagrindinė mirties nuo vėžio priežastis. Didžiausias, pagal amžių standartizuotas PV sergamumo rodiklis 100 000 vyrų 2020 m., stebėtas Šiaurės ir Vakarų Europoje, Karibų jūros regione, Australijoje / Naujojoje Zelandijoje, Šiaurės ir Pietų Amerikoje bei Pietų Afrikoje (1 pav.). Tikėtina, kad skirtinga PV diagnostikos praktika tarp įvairių pasaulio šalių, galėtų būti vienas iš pagrindinių veiksnių, įtakančių ir skirtingą paplitimą (12). Šiuo metu visuotinai pripažinta, kad prostatos specifinio antigeno (PSA) koncentracija pagrįsta PV paieška yra veiksmingas būdas užkirsti kelią šio vėžio sukeltoms mirtims, tačiau ji turėtų būti taikoma selektyviai – esant didelei sergamumo ir mirties nuo šios ligos rizikai (13).



1 pav. Pagal amžių standartizuotas prostatos vėžio sergamumo rodiklis pasaulyje (pritaikyta pagal prieigą internete: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/27-Prostate-fact-sheet.pdf>, GLOBACON 2020).

PV pasižymi dideliu heterogeniškumu ir šios ligos etiologija nėra iki galo aiški. Vyresnis amžius, rasė ir vėžio anamnezė tarp artimųjų šiuo metu yra vieninteliai patvirtinti PV rizikos faktoriai (14–18). Pastarasis veiksnys sietinas su genetine predispozija. Paveldimas PV (angl. *hereditary prostate cancer*) laikomas tuomet, kai yra nustatyti ≥ 3 PV atvejai šeimoje; PV nustatytas trijose šeimos kartose arba > 2 šeimos narių PV buvo nustatytas

jaunesniame nei 55 m. amžiuje. Šeiminiu PV (angl. *familial prostate cancer*) laikomas vėžys, kuriam būdinga šeiminių PV anamnezė ir ligonis neatitinka paveldimo PV kriterijų, pavyzdžiui, PV nustatytas > 2 pirmos ar antros eilės giminaičių. Nors sporadiniai PV atvejai išlieka dažniausi ir sudaro apie 85 % visų atvejų, tačiau paveldimo ir šeiminių PV dažnis irgi užimą reikšmingą vietą: 3–5 % ir 10–15 %, atitinkamai (19). Paminėtina, kad paveldimas PV siejamas su 6–7 m. ankstensne ligos pradžia, lyginant su sporadiniais atvejais, tačiau aiškūs skirtumai tarp ligos agresyvumo ar klinikinės eigos yra diskutuojami (20,21).

Geriausiai yra ištirti skirtumai tarp rasių: afrikiečių ir baltųjų, turintys įtakos PV. Afrikiečiams labiau būdingos nepalankios PV išėitys, ir tai yra susiję su daugialypėmis priežastimis: įskaitant skirtingus biologinius, aplinkos, socialinius ir sveikatos priežiūros veiksnius (22,23). Dalis epidemiologinių studijų, atliktų tirinėjant skirtumus tarp baltųjų ir afroamerikiečių, atskleidžia, kad suteikus vienodas sveikatos priežiūros sąlygas lyginamoms grupėms, PV išėitys yra panašios (24,25). Dabar atsiranda vis daugiau duomenų, kad šie skirtumai tarp rasių greičiausiai yra labiau susiję su skirtingais biologiniais ir genetiniais mechanizmais (26–29).

Mitybos ir aplinkos veiksniai gali būti siejami su rizika susirgti PV, tačiau tikslų rekomendacijų prevencijai kol kas nėra. Kai kurių autorių duomenimis, įtakos gali turėti kavos, likopeno ar fitoestrogenų turinčių produktų vartojimas ir vitamino D koncentracijos kiekis kraujyje (30–33). Mažas fizinis aktyvumas ir daug riebalų turinčių produktų vartojimas sąlygoja nutukimą bei lėtinius sisteminius uždegiminius procesus, kas irgi gali turėti įtakos PV atsiradimui per imuninės sistemos mechanizmus (34). Ne išimtis ir šlapimo takų infekcijų sukėlėjai, kurie yra atsakingi už pačios priešinės liaukos uždegimus. Ilgainiui prostatos uždegimai tampa lėtiniai, sukelia ląstelių atrofiją, didėja ląstelių oksidacinis stresas, atsiranda epigenetinių pokyčių tikimybė, taip vystantis tinkamoms sąlygoms prostatos kancerogenezės pradžia (35).

2.1.2. Prostatos vėžio stadijavimas, histologija ir klasifikacija

PV stadijavimo ir klasifikavimo tikslas yra sugrupuoti ir susieti pacientus su galimai panašia klinicine išėitimi. Šiuo metu PV stadijavimui taikoma TNM klasifikacija (36), kur T suteikia informacijos apie patį prostatos naviką (angl. *tumor*), N – naviko išplitimą į regioninius limfmazgius (angl. *node*), o M – informaciją apie tolimąsias metastazes (angl. *metastasis*). Patologinis TNM klasifikavimas (pTNM) atspindi klinikinę TNM klasifikavimą (cTNM), išskyrus klinikinius cT1 ir cT2 pogrupius: patologinės pT1a/b/c stadijos

neegzistuoja, o histologiškai patvirtintas apribotas prostatoje navikas yra klasifikuojamas kaip pT2 be atskirų a/b/c stadijų. Detali TNM klasifikacija pateikta 1 lentelėje.

1 lentelė. Prostatos vėžio TNM klasifikacija.

T Pirminis navikas
Tx Pirminis navikas negali būti įvertintas
T0 Pirminio naviko egzistavimas neįrodytas
T1 Kliniškai neapčiuopiamas (neapčiuopiamas) navikas
T1a Histologiškai atsitiktinai rastas navikas <5 % pašalintų audinių
T1b Histologiškai atsitiktinai rastas navikas >5 % pašalintų audinių
T1c Navikas identifikuotas po prostatos biopsijos (pvz.: dėl padidėjusio PSA)
T2 Navikas apčiuopiamas ir yra apribotas prostatoje
T2a Navikas įtraukia pusę vienos prostatos skilties arba mažiau
T2b Navikas įtraukia daugiau negu pusę vienos prostatos skilties, tačiau ne abi skiltis
T2c Navikas įtraukia abi prostatos skiltis
T3 Navikas apčiuopiamai plinta už prostatos kapsulės ribų
T3a Ekstrakapsulinis plitimas (vienos arba abiejų skilčių)
T3b Navikas įtraukia sėklinės pūsleles
T4 Navikas fiksuotas arba įtraukia kitas, nei sėklinės pūslelės, struktūras: išorinį rauką, tiesiąją žarną, tarpvietes raumenis ir/ar pilvo sieną
N Sritiniai limfmazgiai¹
Nx Regioniniai limfmazgiai negali būti įvertinti
N0 Regioninių limfmazgių metastazių nėra
N1 Nustatyta regioninė limfmazgių metastazė
M Tolimosios metastazės²
M0 Tolimųjų metastazių nėra
M1 Nustatyta tolimoji metastazė
M1a Ne regioniniuose limfmazgiuose
M1b Kauluose
M1c Kitose organizmo vietose

¹ Metastazės, ne didesnės kaip 0,2 cm, gali būti priskirtos pNmi stadijai.

² Kai metastazių verifikuojama daugiau, pasirenkama blogesnė kategorija, laikantis nuostatos, kad blogiausia kategorija yra (p)M1c.

Anatomiškai einant iš viršaus į apačią prostatą sudaro bazė, vidurinė skiltis ir viršūnė. Ji suskirstyta į keturias histologines zonas: priekinė fibromuskulinė stroma, kurioje nėra liaukinio audinio; tanzitorinė zona, kuri supa šlaplę proksimaliai nuo sėklinio kolikulo (angl. *seminal colliculus/verumontanum*), joje yra 5 % liaukinio audinio; centrinė zona, supanti sėklos išmetamuosius latakus (angl. *ejaculatory ducts*), joje yra apie 20 % liaukinio audinio; ir periferinė zona, kurioje yra 70–80 % liaukinio audinio. Maždaug 70–75 % PV atvejų vystosi periferinėje zonoje ir tik 20–30% – tranzitorinėje. Centrinės zonos vėžys yra retas ir paprastai atsiranda dėl peraugimo iš kitų zonų. Histologiškai PV klasifikuojamas pagal 2022 m. Pasaulio sveikatos organizacijos (angl. *World Health Organization, WHO*) priimtas nuostatas (37). Išskiriamos šios histologinės grupės – epiteliniai navikai: liaukinės karcinomos (intraduktalinė, acininė, duktalinė, su gydymu susijusi neuroendokrininė karcinomos), urotelio karcinoma, plokščių ląstelių karcinomos (plokščialąstelinė, adenoskvamozinė, bazinių ląstelių karcinomos); prostatai specifiški mezenchiminiai navikai: prostatos neaiškaus piktybinio potencialo stromos navikas, prostatos stromos sarkoma. Dažniausias PV histologinis tipas yra liaukinė acininė adenokarcinoma ir jos dažnis siekia apie 93–95 % visų atvejų, tuo tarpu intraduktalinė ir duktalinė karcinoma pasitaiko 0,3–3,0 % atvejų (38,39). Paminėtina, kad nors pastarosios yra retos, joms būdinga agresyvesnė PV eiga ir prastesnės išeitys (40–42). Kitų histologinių tipų navikai yra sutinkami dar rečiau.

Prostatos navikų diferenciacijos laipsniui nusakyti plačiausiai pasaulyje yra taikoma, dar 1974 m. sukurta, Gleasono vertinimo sistema (43). Kuo vėžinė ląstelė labiau diferencijuota, tuo ji yra mažiau piktybiška, kuo mažiau diferencijuota – tuo labiau pasižymi agresyvesne eiga. Kadangi Gleasono sistema skaičiuojama balais nuo 2 iki 10, remiantis 2014 m. ir 2019 m. Tarptautinės urologinės patologijos draugijos (angl. *International Society of Urological Pathology, ISUP*) nutarimais rekomenduojama naudoti išvestinę ISUP vertinimo sistemą, taip sumažinant gradavimo skaičius nuo 1 iki 5 (44,45). Gleasono ir ISUP vertinimo sistemos pavaizduotos 2 lentelėje.

2 lentelė. Gleasono ir ISUP vertinimo sistemos.

Gleasono balas ^{*, **}	ISUP balas [*]
2–6	1
7 (3 + 4)	2
7 (4 + 3)	3

Gleasono balas* **	ISUP balas*
8 (4 + 4 arba 3 + 5 arba 5 + 3)	4
9–10 (4 + 5 arba 5 + 4 arba 5 + 5)	5

Santrumpos: ISUP – Tarptautinė urologinės patologijos draugija, angl. *International Society of Urological Pathology*.

* Didesnis balas rodo mažiau diferencijuotą ir agresyvesnį naviką.

** Vertinama balų suma, kur pirmasis skaičius – daugiausiai pagal tūrį užimantis diferenciacijos laipsnis, antrasis skaičius – antrasis pagal dydį diferenciacijos laipsnis. Esant tik vienam diferenciacijos laipsniui – balas dauginamas iš 2. Jeigu randama 3 ir daugiau diferenciacijos laipsnių – pirmasis balas žymi daugiausiai pagal tūrį užimančią diferenciacijos laipsnį ir prie jo pridedamas mažiausią diferenciacijos laipsnį turintis navikas.

PV reikšmingumui ir agresyvumui įvertinti taip pat yra naudojamas pacientų skirstymas į rizikos grupes, kurios dažniausiai remiasi prieš tai aptartomis klasifikacijomis (TNM klasifikacija, Gleasono ir ISUP vertinimo sistema) bei PSA koncentracija. Europos urologų asociacija (angl. *European Association of Urology, EAU*) siūlo remtis jų rizikos vertinimo modeliu, kur PV pacientai yra suskirstyti į žemos, vidutinės arba aukštos rizikos (46) (3 lentelė). Žemos rizikos PV pacientai dažnai yra siejami su mažiau agresyvia liga, kuri dažniausiai nesukelia didelės žalos (47). Tokiems pacientams gali būti siūlomas aktyvus stebėjimas, o ne radikalus gydymas, tačiau kiekvieną atvejį reikėtų vertinti individualiai, įvertinant žemos rizikos PV piktybinį potencialą.

3 lentelė. Europos urologų asociacijos prostatos vėžio rizikos grupės.

Žemos rizikos PV	Vidutinės rizikos PV	Aukštos rizikos PV	
PSA < 10 ng/ml	PSA 10–20 ng/ml	PSA > 20 ng/ml	Bet koks PSA
+ Gleasono balų suma < 7 (ISUP 1)	ir / ar Gleasono balų suma 7 (ISUP 2 / 3)	ir / ar Gleasono balų suma > 7 (ISUP 4 / 5)	Bet kokia Gleasono balų suma (bet koks ISUP balas)
+ cT1–2a stadija*	ir / ar cT2b stadija*	ir / ar cT2c* stadija	cT3–4* stadija arba cN+** liga
Lokalus PV			Lokaliam pažengęs PV

Santrumpos: PV – prostatos vėžys; PSA – prostatos specifinis antigenas; ISUP – Tarptautinė urologinės patologijos draugija, angl. *International Society of Urological Pathology*; cT – klinikinė T stadija (remiantis TNM klasifikacija); cN – klinikinė N stadija (remiantis TNM klasifikacija).

* Remiantis digitaliniu rektaliniu tyrimu.

** Nustatytos metastazės limfmazgiuose remiantis kompiuterine tomografija arba kaulų scintigrafija.

Prostatos multiparametrinio magnetinio rezonanso tomografija (mpMRT) dabar yra plačiai naudojama PV diagnostikos tikslais. Šiuo tyrimu siekiama įvertinti rizikas ir galimai kliniškai reikšmingą PV (48,49). Pasitelkiant mpMRT galima ne tik įtarti PV, tačiau ir atlikti pritaikomąją prostatos biopsiją (PB) iš židinių, suliejant prostatos ultragarso (UG) ir mpMRT vaizdus. Remiantis mpMRT, pakitusių prostatos pažeidimų ir židinių klasifikacijai dabar naudojama patobulinta prostatos magnetinio rezonanso vaizdų ir pokyčių interpretavimo sistemos (PI-RADS, angl. *Prostate Imaging Reporting and Data System*) versija – 2.1 (v2.1) (50,51). Ji pavaizduota 4 lentelėje.

4 lentelė. PI-RADS v2.1 vertinimo sistema

PI-RADS balas	PV rizika
PI-RADS 1	Labai maža (kliniškai reikšmingas vėžys labai mažai tikėtinas)
PI-RADS 2	Maža (kliniškai reikšmingas vėžys mažai tikėtinas)
PI-RADS 3	Vidutinė (galimai yra kliniškai reikšmingas vėžys)
PI-RADS 4	Didelė (kliniškai reikšmingas vėžys tikėtinas)
PI-RADS 5	Labai didelė (kliniškai reikšmingas vėžys labai tikėtinas)

Santrumpos: PI-RADS – prostatos magnetinio rezonanso vaizdų ir pokyčių interpretavimo sistema, angl. *Prostate Imaging Reporting and Data System*; PV – prostatos vėžys.

Taigi, prostatos mpMRT turėtų būti atliktas visiems pacientams, prieš PB, kuriems įtariamas PV arba pacientams, kuriems jau buvo atlikta PB, tačiau vėžys nerastas, o pagal kitus duomenis PV yra vis tiek įtariamas.

2.2. Skysčių biopsijos

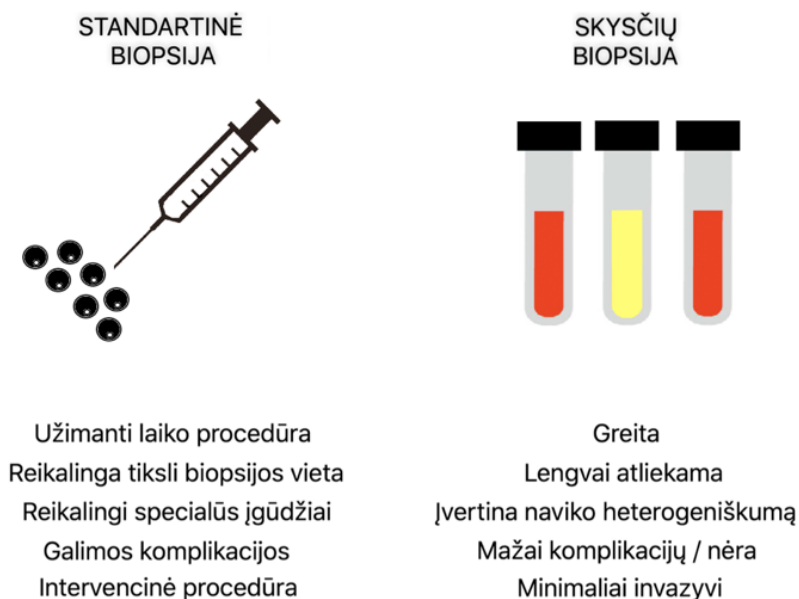
2.2.1. Palyginimas su standartinėmis biopsijomis

Radiologiniai tyrimai laikomi auksiniu standartu, naudojamu įvairioms onkologinėms ligoms diagnozuoti. Molekulinių pokyčių analizei ilgą laiką buvo reikalingas navikinis audinys, taip gaunant informaciją tiesiogiai iš piktybinių ląstelių. Tačiau dabar, jau daugiau nei dešimtmetį, skysčių biopsija pakeitė ateities viziją onkologijoje, kaip neinvazinis metodas, įvairaus tipo vėžio pokyčiams ištirti.

Visų pirma, skysčių biopsijos pranašumas yra intervencijos į organizmą lygis: jos yra mažiau invazinės (pvz.: kraujo ar šlapimo surinkimas) negu standartinė audinio biopsija ar kita chirurginė intervencija. Skysčių biopsijų

medžiagos surinkimas paprastai yra greitesnis, nereikalauja specifinių įgūdžių ir turi mažiau arba iš viso neturi komplikacijų po procedūros; joms paimti nereikalinga tiksli organizmo vieta.

Vienas iš pagrindinių audinių biopsijos trūkumų lyginant ją su skysčių biopsija – standartinė biopsija negali pilnai atskleisti naviko heterogeniškumo realiu laiku, kadangi daugkartinės biopsijos retai taikomos klinikinėje praktikoje, o kartais, pašalinus pirminį navikinį židinį arba esant sunkiai pasiekiamai (pvz.: metastazės) lokalizacijai – atlikti standartinės biopsijos neįmanoma. Pagrindiniai biopsijų skirtumai pavaizduoti 2 pav.



2 pav. Pagrindiniai standartinės ir skysčių biopsijos skirtumai.

Skysčių biopsijų kaštai gali skirtis, priklausomai nuo tiriamos onkologinės ligos, naudojamų genetinių metodų ar tikslo (pvz.: diagnostika, stebėjimas ar kt.) (52). Nors laikui bėgant skysčių biopsijų finansinė našta vis mažėja dėl atsirandančių naujų technologinių platformų, bioinformatinių įrankių ir reagentų, tačiau analizė vis dar gali būti gana brangi, ypač atsižvelgiant į tai, kad jai atlikti reikia specialios įrangos ir žinių. Kita vertus, NKS pagrįstas biožymenų identifikavimas ilgai gali būti ekonomiškai efektyvi strategija, nes pritaikant į biožymenis nukreiptą personalizuotą gydymą siekiama pagerinti pacientų išėtis, tačiau tai labai priklauso nuo taikomų nevienodų praktikų skirtingose sveikatos priežiūros įstaigose (53).

2.2.2. Skysčių biopsijų pritaikymas

Skysčių biopsijos gali padėti aptikti, charakterizuoti vėžį ir būti naudingos stebint ligonius su onkologiniais susirgimais (54). Didelis daugelio mokslininkų, medicinos genetikų ir gydytojų indėlis visame pasaulyje vis labiau standartizuoja skysčių biopsijas, kaip metodą, įprastą kasdienėje klinikinėje praktikoje.

Plačiai tiriami molekuliniai biožymenys, pasitelkiant skysčių biopsijas, yra cirkuliuojanti laisva DNR (cLDNR), cirkuliuojanti naviko DNR (cnDNR) ir cirkuliuojančios naviko ląstelės (CNL). cLDNR atspindi visą cirkuliuojančią DNR, kuri gali būti randama kraujo plazmoje ar kituose organizmo skysčiuose. cLDNR kraujyje gali atsirasti vykstant tiek sveikų, tiek vėžinių ląstelių apoptozei, nekrozei ar aktyvios sekrecijos metu (55). cnDNR yra maža cLDNR sudėtinė dalis, ir sudaro iki 1 % visos cLDNR (56). Ji gali būti randama esant pirminiam navikui ar metastazėms, taip pat iš CNL (55). Pastebėta, kad cLDNR ar ctDNR koncentracijų pakitimai yra sietini su prastesnėmis PV išėitimis (57). Pastarųjų biožymenų skirtinga koncentracija susijusi su prastesniu atsaku į sisteminį gydymą ir su blogesniu bendruoju išgyvenamumu sergant pažengusiu PV (58–60). Tuo tarpu CNL į kraujotaką tiesiogiai patenka iš pirminio naviko ar metastazių. Sergant pažengusiu PV, geresni išgyvenamumo rodikliai sietini su CNL sumažėjimu po sisteminio gydymo (61), o jų koncentracijos didėjimas susijęs su greitesniu ligos progresavimu ir prastesniu išgyvenamumu (62,63). Pasitelkiant organizmo skysčius gali būti analizuojami ir kiti biožymenys, tokie kaip RNR (64,65) ar ekstraląstelinės pūslelės (66) sergant ne tik PV, bet ir kitoms onkologinėms ligoms.

Naudojant skysčių biopsijas, taip pat galima identifikuoti genetinę mutacijų profilį, įskaitant DPA kelio genus, tokius kaip *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ir kt. Genetinės mutacijos šiuose genuose, turinčios įtakos įvairių onkologinių susirgimų atsiradimo rizikai ir ligos agresyvumui, taip pat plačiai tiriamos sergant PV. Pasitelkiant tokias technologijas kaip NKS, šių mutacijų identifikavimas genuose gali tapti dar lengviau prieinamas kiekvienam PV pacientui panaudojant kraują arba šlapimą, o tokių ligonių gydymas palapsniui tampa vis labiau individualizuotas ir specifiskai pritaikytas.

2.3. DNR pažaidų atsako kelio genai sergant prostatos vėžiu

2.3.1. Reikšmė ir paplitimas

DPA kelias – tai sudėtingas, kompleksinis signalų perdavimo kelias, kuris reikalingas DNR užkoduotai genetinei informacijai išsaugoti ir užtikrinti tikslų jos perdavimą iš kartos į kartą (67). DNR kasdien patiria egzogenines (68) (pvz.: jonizuojanti radiacija, ultravioletiniai spinduliai, cheminės medžiagos ir kt.) ir endogenines (69) (pvz.: DNR replikacijos metu sutrikusi topoizomerazių funkcija ir kt.) pažaidas. DNR pažaidų atpažinimas ir yra pirmasis DPA kelio etapas, kuriame dalyvauja pažeidimui specifinės jutimo molekulės (angl. *sensors*), taip sukuriant specifinį atsako tinklą ir perduodant pažeidimo signalus (70). Atpažinus ir perdavus informaciją apie pažaidas įsijungia specialūs mechanizmai, reguliuojami *ATM*, *ATR*, *TP53* ir kt. genų gaminamų baltymų, kurių pagalba inicijuojamas ląstelės ciklo sustabdymas skirtingose stadijose ir sudaromos palankios sąlygos DNR taisymui (71). Galiausiai vyksta DNR pažaidų taisymas – vienais iš svarbiausių yra laikomi bazių ekscizijos (angl. *base excision repair*), nukleotidų ekscizijos (angl. *nucleotide excision repair*), neatitinkančių nukleotidų (angl. *mismatch repair*), homologinės rekombinacijos (angl. *homologous recombination*) ir nehomologinio galų sujungimo (angl. *nonhomologous end joining*) taisymo mechanizmai (72).

Taigi, DPA kelio genų (pvz.: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN* ir kt.) gaminami baltymai yra kritiškai svarbūs normaliam ląstelės funkcionavimui. Šio atsako kelio genų mutacijos priveda prie vienu iš pagrindinių organizmo ląstelių funkcijų sutrikimų ir gali sąlygoti didesnę riziką susirgti vėžiu arba sergant turėti įtakos agresyvesnei ligos eigai. Šie patogeniniai pakitimai žmogaus genome būdingi sergant daugeliu onkologinių ligų, įskaitant ir PV.

DPA kelio genų mutacijos gali būti paveldėtos iš abiejų tėvų. Kiekvienas vieno iš tėvų, turinčio bet kokią vieno iš šių genų mutaciją, vaikas turi 50 % tikimybę (arba 1 iš 2) paveldėti mutaciją. Paveldimos mutacijos, kitaip vadinamos germinacinėmis, yra nuo gimimo visose organizmo ląstelėse. Net jei vieno iš tėvų paveldima, pvz.: *BRCA2* geno mutacija, iš kito iš tėvų dažniausiai gaunama normali to geno kopija. Daugeliu atvejų embrionai su to paties geno genetinėmis mutacijomis iš abiejų tėvų nesivysto. Nepaisant to, per žmogaus gyvenimą net ir normali geno kopija gali būti prarasta arba įvykti pokyčiai kai kuriose organizmo ląstelėse – toks nepaveldėtas pokytis yra vadinamas somatine mutacija.

Dideli DPA kelio genų mutacijų dažniai rodo, kad šių mutacijų svarba yra didesnė, nei tikėtasi iš pat pradžių. DPA kelio genų mutacijos dažnai

aptinkamos sergant PV, ypač metastatinės ligos atvejais (73). Sisteminė didžiausių PV tyrimų metaanalizė (74) parodė didelį šių mutacijų paplitimo vidurkį tiriant germinacines mutacijas: vidutinis jų paplitimas bendroje (neatrinktoje) PV populiacijoje yra didesnis nei metastatinės ligos atveju – 18,6 % prieš 11,6 %, atitinkamai; palyginimui, somatinių PV mutacijų dažnis varijuoja nuo 10,7 % bendroje PV populiacijoje iki 13,2 % sergant metastatine liga. Tuo tarpu lokalaus PV atveju, paprastai yra tiriamos germinacinės mutacijos, ir jų dažnis gali siekti nuo 1,44 % iki 9,5 % (75–77). Panašu, kad PV atvejais germinacinės genų mutacijos yra paplitusios dažniau nei somatinės ir, dėl mažos mutacijų klinikinės išraiškos, jos lieka neaptiktos šeimose, iki atsirandant agresyvioms vėžio formoms (74).

Reikėtų paminėti, kad iki ketvirtadalio pacientų, sergančių PV, kuriems yra nustatomos germinacinės mutacijos, neturi su vėžiu susijusios šeiminės anamnezės (78) ir mutacijos greičiausiai atsiranda “naujai” (lot. *de novo*). Taip gali atsitikti, kai patogeninė mutacija atsirado vieno iš tėvų lytinėje ląstelėje (spermatozoide arba kiaušialąstėje) ir dabar jau yra visose iš tos ląstelės išaugusio asmens (vaiko) ląstelėse.

Kai kurie mutacijų tipai neturi klinikinės reikšmės – jie vadinami nežinomos reikšmės variantais (angl. *Variant of Uncertain Significance*). Tokiais atvejais nėra mokslinių ar klinikinių duomenų, kad šių mutacijų nešiotojams yra padidinta rizika susirgti vėžiu ar kad jos yra susijusios su agresyvesne ligos eiga. Gydytojai ir mokslininkai aktyviai dalijasi informacija apie šias mutacijas, kad jas būtų galima pergrupuoti į aiškiai kenksmingas arba aiškiai nekenksmingas (79,80). Svarbu pabrėžti, kad kol nėra įrodyta kitaip, šie nežinomi mutacijų variantai nėra įtraukiami į mokslinius ir klinikinius tyrimus, kaip turintys kokią nors įtaką, apsiribojant tik jų identifikavimu.

Bendrai, ankstyvas DPA kelio genų mutacijų radimas yra itin svarbus ne tik pačiam pacientui, bet ir jo šeimos nariams, dėl didesnės rizikos susirgti, ar jau sergant susidurti su agresyvesnės eigos prostatos, krūties, kiaušidžių ar kitomis vėžio formomis.

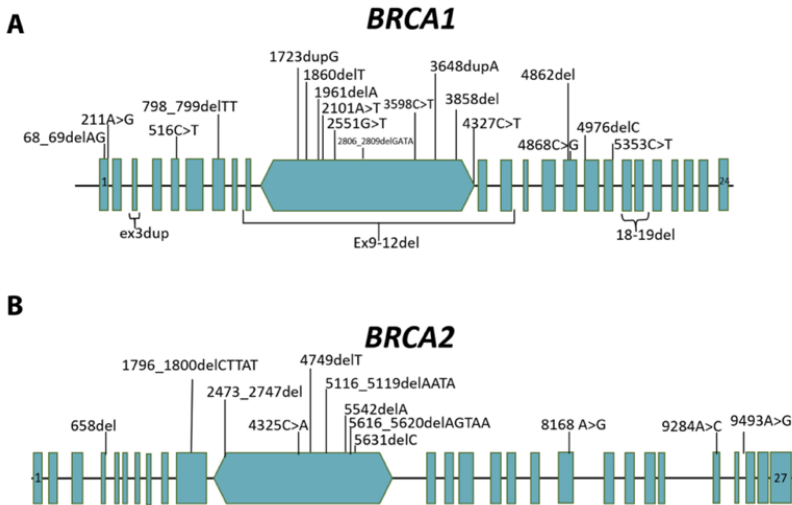
2.3.2. *BRCA1* ir *BRCA2* genai

BRCA1 (angl. *BReast CAncer 1*) ir *BRCA2* (angl. *BReast CAncer 2*) genai koduoja baltymus (proteinus) atsakingus už DNR pažaidų taisymą. Jie priskiriami naviko augimą slopinančių genų grupei ir yra randami 17q12-21 (*BRCA1*) bei 13q12-13 (*BRCA2*) chromosomų regionuose (81,82). Abu genai, be DNR pažaidų taisymo, atlieka įvairias kitas funkcijas skirtinguose ląstelės procesuose, įskaitant transkripcinę reguliaciją (83,84). Šie genai buvo atrasti dar 1994 metais (85,86), ilgai ieškant genetinės priežasties, kodėl krūties ir

kiaušidžių vėžys yra toks dažnas moterims, kurių motinos ar seserys serga šiomis onkologinėmis ligomis. Galimi skirtingi mutacijų variantai šiuose genuose pavaizduoti 3 pav.

BRCA1 / *BRCA2* genų mutacijų dažnis PV populacijose yra skirtingas: *BRCA1* mutacijos aptinkamos 0,4–0,9 % ligonių (87–90), o *BRCA2* mutacijos identifikuojamos dažniau – nuo 1,0 iki 3,0 % (75,90–93). Tarp aškenazių žydų, sergančių PV, šių mutacijų paplitimas yra didesnis – iki 2,0 % (*BRCA1*) (94) ir 3,2–4,2 % (*BRCA2*) (94,95).

Šiuo metu jau yra žinoma, kad mutacijos *BRCA1* ir *BRCA2* genuose taip pat didina riziką susirgti ne tik krūties ar kiaušidžių, tačiau ir kiaušintakių (96,97), pirminiu pilvaplėvės (98), kasos ir priešinės liaukos vėžiu (99–101). Pripažįstama, kad PV yra paveldimo krūties ir kiaušidžių vėžio sindromo sudedamoji dalis. Šeimose, kuriose žinomi krūties ir kiaušidžių vėžio atvejai, ir dažniau pasitaiko *BRCA1* / *BRCA2* mutacijų, vyrai turi didesnę riziką susirgti PV, palyginus su bendra populiacija (91,102). Nors kai kurių autorių duomenimis ši rizika gali siekti net 3,8 kartų – su *BRCA1* geno mutacijomis (102) ir 8,6 kartų – su *BRCA2* geno mutacijomis (91), sisteminė 19-os PV studijų metaanalizė (103) atskleidė, kad visiems *BRCA* (*BRCA1* ir / arba *BRCA2*) mutacijų nešiotojams yra 1,9 karto didesnė rizika susirgti PV: šią padidėjusią riziką daugiausia lemia didelė (2,64 karto) rizika turintiems *BRCA2* geno mutacijas, palyginus su vidutine (1,35 karto) rizika turintiems patogeninius pakitimus *BRCA1* gene.



3 pav. *BRCA1* ir *BRCA2* genuose aptinkamų 34 mutacijų vietos. A – 22 mutacijų vietos *BRCA1* gene. B – 12 mutacijų vietos *BRCA2* gene. Pritaikyta pagal (104).

BRCA1 / BRCA2 mutacijas turintiems asmenims taip pat pasireiškia agresyvesnė PV eiga (105,106). Didelės imties PV studija (90) aprašė statistiškai reikšmingus skirtumus tarp grupių skirtingais aspektais: *BRCA1 / BRCA2* germinacinių mutacijų nešiotojai, palyginus su mutacijų neturinčiais pacientais, buvo dažniau susiję su agresyvesne eiga – vidutinis specifinis išgyvenamumas dėl vėžio (8,6 prieš 15,7 metų, atitinkamai, daugialypėje analizėje $p < 0,015$; HR = 1,8) ir vidutinis bendrasis išgyvenamumas (8,1 prieš 12,9 metų, atitinkamai, daugialypėje analizėje $p < 0,012$; HR = 1,9) buvo trumpesni, lokalaus PV atveju – penkerių metų bendras išgyvenamumas be metastazių buvo mažesnis (atitinkamai 77 % prieš 93 %; daugialypėje analizėje $p = 0,009$; HR = 2,7); taip pat, mutacijas turinčių pacientų grupėje, lyginant su *BRCA1 / BRCA2* genuose patogeninių pakitimų neturinčiais pacientais, stebėtas aukštesnis Gleasono balas ≥ 8 (35 % prieš 15%, atitinkamai, $p < 0,00003$), didesne stadija – T3 / T4 (37 % prieš 28 %, atitinkamai, $p < 0,003$) bei dažnesnis limfmazgių (N1: 15 % prieš 5 %, atitinkamai, $p < 0,0005$) ir tolimųjų (M1: 18 % prieš 9 %, atitinkamai, $p < 0,005$) metastazių atsiradimas. Kitų autorių duomenys taip pat patvirtina, kad PV pacientai su *BRCA1 / BRCA2* genų mutacijomis yra susiję su agresyvesne histologija, agresyvesne stadija, dažnesnėmis metastazėmis ir prastesniu atsaku į standartinį gydymą, prastesne prognoze bei išgyvenamumu (88,107–111).

2.3.3. *ATM* genas

ATM (angl. *Ataxia-telangiectasia mutated*) yra naviko augimą slopinantis genas, kuris lokalizuojasi 11q22-23 chromosomoje ir koduoja 350-kDa masės baltymą, susidedantį iš 3056 aminorūgščių (112). Jis priklauso *PIKKs* (angl. *phosphatidylinositol 3-kinase-related protein kinases*) šeimai ir jo koduojamas baltymas dalyvauja DNR pažaidų taisymo procesuose, aktyvinant DPA kelią; pažeidus DNR, jis prisijungia prie dvigrandės (angl. *double-stranded*) DNR lūžių, taip sujungiant abu galus (113). Apskritai, *ATM* genas dalyvauja ląstelės ciklo kontrolės, apoptozės, genų reguliavimo, oksidacinio streso ir telomerų palaikymo procesuose ir jo nenormalūs pakitimai randami sergant daugeliu piktybinių ligų (114), įskaitant prostatos, krūties, kasos, plaučių, ir skydliaukės vėžį (115).

Bendroje populiacijoje *ATM* geno mutacijos gali būti randamos 0,5–1,0 % atveju (116). Sergant PV, *ATM* geno mutacijų paplitimas kai kurių autorių duomenimis nesiskiria nuo bendros populiacijos (0,6 %) (117), tačiau gali siekti ir 5,0 % (118), dažniau jas identifikuojant metastatinės PV ligos atveju.

ATM geno germinacinės abiejų alelių mutacijos lemia ankstyvoje vaikystėje pasireiškiantį ataksijos–teleangiektazijos sindromą, kuriam būdinga neurodegeneracija, imuninės sistemos sutrikimai ir padidėjęs polinkis į vėžį (115). Paprastai mutacijos būna paveldimos iš vieno iš tėvų, rezultate paveldint mutaciją tik viename alelyje (heterozigotai) ir išvengiant sindromo pasireiškimo – tokie pakitimai ir yra tiriami sergant PV. Istoriskai *BRCA1* / *BRCA2* ir *ATM* genai daugumoje PV analizių yra grupuojami kartu, nes visi jie koduoja vienus iš pagrindinių baltymų, atsakingų už DPA kelią. *ATM* geno mutacijos taip pat yra siejamos su didesne rizika susirgti PV (119,120), agresyvesne PV histologija (76,121), ir agresyvesne PV eiga bei prastesne prognoze (75,122).

2.3.4. *CHEK2* genas

CHEK2 genas (angl. *Checkpoint kinase 2*) yra randamas 22q12.1 chromosomoje (123). Jis koduoja *CHK2* kinazę, kuri dalyvauja DNR pažaidų taisyme per *ATM-CHK2-p53* kelią, taip efektyviai reaguojant į dvigrandės (angl. *double-stranded*) DNR lūžius (124,125). *CHK2* kinazė skatina genomo stabilumą ir užkerta kelią kancerogenezei, todėl *CHEK2* yra priskiriamas naviko augimą slopinantiems genams (126).

Sergant PV, *CHEK2* germinacinės mutacijos paplitusios 1,4–7,8 % ligonių (127–130). Dažnai, atskirai pabrėžiama ir tiriama, baltymo sutrumpėjimo (angl. *truncating*) mutacija – *CHEK2* 1100delC – PV populiacijose sutinkama rečiau (0,4–0,7 % atvejų) (130,131). Bendrai, *CHEK2* germinacinių mutacijų dažnis yra vienas didžiausių, sergant PV, todėl atliekant genetinį testavimą šis genas paprastai įtraukiamas į įvairias paveldimo vėžio NKS paneles (132).

Y. Wang ir bendraautoriai (133) nustatė, kad *CHEK2* c.470T>C mutacija didina riziką susirgti PV 1,8 karto (OR 1,80, 95 % CI: 1,51–2,14, $p < 0,0001$). Reikšmingas ryšys tarp *CHEK2* mutacijų ir PV rizikos (OR 1,9, 95 % CI: 1,6–2,2, $p < 0,0001$) taip pat buvo rastas kitame tyrime (134). Nagrinėjant detaliau, buvo įrodyta, kad *CHEK2* c.1100delC mutacija yra genetinis krūties vėžio žymuo, turintis reikšmingos įtakos invazinei krūties vėžio ilgalaikiai prognozei (ankstyvai mirčiai ir nuo vėžio priklausomai mirčiai) (135,136). PV atveju, *CHEK2* c.1100delC mutacija taip pat yra reikšmingai siejama su agresyvesne histologija, limfmazgių įtraukimo ir agresyvios ligos išsivystymo (137) bei mirtino PV rizika (127,138).

2.3.5. *NBN* genas

NBN (angl. *Nibrin*) arba kitaip, *NBS1* (angl. *Nijmegen breakage syndrome*), genas lokalizuojasi 8q21 chromosomoje (139). Geno produkuojamas baltymas nibrinas dalyvauja įvairiose kritiškai svarbiose ląstelės funkcijose, įskaitant vieną iš pagrindinių – DNR pažaidų taisymo (140). Nibrinas kartu su kitais dviem baltymais (koduojamais *MRE11A* ir *RAD50* genų) yra baltymų komplekso – *MRE11A / RAD50 / NBN (MRN)* – dalis (141). Šis kompleksas veikia kaip jutiklis, atpažindamas dvigrandės DNR lūžius, ir pritraukia *ATM* geno gaminamą baltymą į trūkių vietas, kur jis yra aktyvuojamas, tokiu būdu sėkmingai išsaugant DNR vientisumą (142–144). Dėl savo savybių *NBN* priklauso naviko augimą slopinantiems genams.

NBN geno patogeniniai pakitimai, kaip ir kitų DPA kelio genų, yra aptinkami sergant PV. Neatrinktose PV populiacijose, *NBN* mutacijų dažnis gali siekti nuo 0,42 iki 1,42 %, ir, įprastai, jos yra randamos dažniau, nei sveikiems asmenims (0,13–0,6 %) (122,134,145).

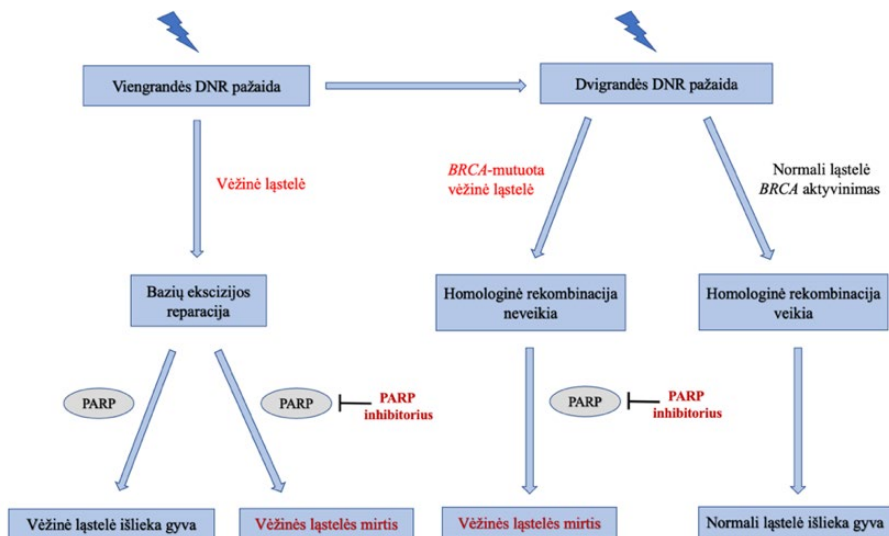
Homozigotinės (abiejų alelių) *NBN* geno mutacijos lemia Nijmegeno lūžio sindromą (angl. *Nijmegen breakage syndrome*), kuriam būdingas spontaniškas chromosomų nestabilumas, imunodeficitas ir polinkis į vėžį (146). Heterozigotams (mutacija viename alelyje) šis sindromas nepasireiškia, tačiau jie siejami su 2,0–4,5 karto didesne PV rizika (134,145,147,148). Jiems būdinga prastesnė PV prognozė: mirtingumas sergant PV yra reikšmingai didesnis *NBN* mutacijų nešiotojų tarpe, nei tų, kurie šių mutacijų neturi (HR = 1,85; p = 0,008) (134), taip pat *NBN* mutacijos reikšmingai siejamos su agresyviu (aukštesnė stadija, didesnė Gleason balų suma) ar metastatiniu PV (p = 0,0017) (149). Nagrinėjant plačiau, patogeniniai pakitimai *NBN* gene taip pat yra tiriami sergant krūties (150), kasos (151), plaučių (152) vėžiu ir kitomis onkologinėmis ligomis.

2.4. Sintetinio letalumo mechanizmas

Taigi, besidalindamos piktybinės ląstelės kaupia DNR pažaidas, kurios ilgainiui sukelia ląstelės žūtį. Yra du pagrindiniai keliai, kaip ląstelė gali ištaisyti DNR pažaidas ir likti gyvybinga. Pirmasis vadinamas bazių ekscizijos reparacija (angl. *base excision repair*): šiuo keliu ląstelė gali ištaisyti viengrandes (angl. *single-stranded*) DNR pažaidais ir tai jai gali padėti padaryti fermentas poli(ADP-ribozės) polimerazė (PARP) arba kai kurių minėtų DPA kelio genų (pavyzdžiui, *BRCA*) aktyvinimas. Antrasis kelias yra, kai ląstelė ištaiso dvigrandes (angl. *double-stranded*) DNR pažaidas homologinės rekombinacijos taisymo (angl. *homologous recombination*)

metu. Jeigu ląstelė turi mutaciją gene (pvz.: *BRCA1* ar *BRCA2*), ji nebegali ištaisyti dvigrandžių DNR pažeidimų su *BRCA1* ar *BRCA2* aktyvinimo pagalba, ir naudojasi homologinės rekombinacijos taisymo funkcija, kur jai padeda fermentas PARP (153).

PARP inhibitoriai veikia remiantis sintetinio letalumo teorija. Sintetinis letalumas reiškia, kad vėžinės ląstelės mirtis, naudojant PARP inhibitorių (sintetinę medžiagą – vaistą), įvyksta tik esant genetiniam homologinės rekombinacijos funkcijos sutrikimui (pvz.: esant *BRCA1* ar *BRCA2* mutacijai), dėl kurio bus sutrikdyti tiek viengrandžių, tiek dvigrandžių DNR pažeidimų taisymo mechanizmai, taip atsirandant genomo nestabilumui ir ląstelės žūčiai (154). Sintetinio letalumo teorija pavaizduota 4 pav.



4 pav. Sintetinio letalumo teorija: PARP inhibitorių vaidmuo. Santrumpos: DNR – deoksiribonukleorūgštis; PARP – poli(ADP-ribozės) polimerazė.

Viena iš pirmųjų studijų, įrodančių PARP inhibitorių naudą PV pacientams su mutacijomis buvo *TOPARB-A* (155), kur mKAPV pacientai, kuriems liga progresavo po 1–2 sisteminio gydymo eilių buvo gydomi olaparibu. Pacientams su DPA kelio genų mutacijomis (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN* ir kitais) atsako dažnis į vaistą, pagal studijos dizainą, siekė net 88 %, tuo tarpu pacientų, kurie mutacijų neturėjo – tik 6 % (155). Vėliau sekė *TOPARB-B* studija, kuri buvo skirta olaparibo efektui įrodyti ir tinkamai dozuotei įvertinti: mKAPV pacientams su mutacijomis buvo skirta 300 arba 400 mg olaparibo du kartus dienoje – didesnė vaisto dozė parodė geresnį PARP inhibitoriaus efektą (156). *PROfound* studijoje mKAPV pacientai su mutacijomis, po kito skirto PV sisteminio gydymo, gydyti olaparibu arba

naujos kartos antiandrogenais: *ATM*, *BRCAl* arba *BRCA2* genuose mutacijas turintys pacientai, kurie buvo gydyti olaparibu, parodė reikšmingą skirtumą – jų bendras išgyvenamumas be radiologinio ligos progresavimo buvo ilgesnis (7,4 mėn. prieš 3,6 mėn., $p < 0,001$), taip pat buvo ilgesnis ir bendrasis ligos išgyvenamumas nuo metastazių atsiradimo (18,5 mėn. prieš 15,1 mėn., $p = 0,02$), lyginant su mutacijas turinčiais pacientais, kurie buvo gydyti naujos kartos antiandrogenais (157). Minėtinos ir kitos studijos, kurių dėka yra įrodytas arba bandomas įrodyti (dalis studijų vyksta ir pateikiami tik tarpiniai rezultatai) PARP inhibitorių teigiamas efektas gydant pažengusį PV pacientams su DPA kelio genų mutacijomis. Jų dizainas skiriasi ne tik skiriamu PARP inhibitoriumi kaip monoterapija, tačiau ir derinyje su kitu sistemiškai veikiančiu vaistu, taip pat skirtinga gydymo eile ar PV stadija: mKAPV – *TRITON-2* (158) (rukaparibas) ir *TRITON-3* (159) (rukaparibas), *GALAHAD* (160) (niraparibas), *TALAPRO-1* (161) (talazoparibas), *MAGNITUDE* (162) (niraparibas su abiraterono acetatu (AA)), *PROpel* (163) (olaparibas su AA) *TALAPRO-2* (164) (talazoparibas su enzalutamidu); metastatiniam hormonams jautriame PV (mHJPV) – *AMPLITUDE* (165) (niraparibas su AA), *TALAPRO-3* (166) (talazoparibas su enzalutamidu) ir kitose.

2.5. Genetinis testavimas sergant prostatos vėžiu

Genetinis testavimas, kurį rekomenduojama atlikti sergant PV, skiriamas pagal tarptautines ar nacionalines gaires ir bendro sutarimo konferencijų rekomendacijas. Paveldimo ar šeiminio PV genetinių tyrimų kriterijai dažniausiai grindžiami remiantis paciento šeimine vėžio anamneze, asmeninėmis arba ligos stadijos ir kitomis savybėmis.

Jungtinių Amerikos Valstijų vėžio draugija (angl. *National Comprehensive Cancer Network, NCCN*) pateikia detaliausias gaires (167) kada yra reikalingas genetinis testavimas sergant PV (vidutinis / stiprus įrodymų lygmuo) – apimant *BRCAl*, *BRCA2*, *ATM*, *PALB2*, *CHEK2*, *HOXB13*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, ir *PMS2* genus germinacinių mutacijų identifikavimas rekomenduojamas vyrams:

- Sergantiems aukštos arba labai aukštos rizikos PV, esant tolimosioms (M1) arba limfmazgių (N1) metastazėms, neatsižvelgiant į šeimine vėžio anamnezę.
- PV sergantiems vyrams, kurie asmeniškai sirgo krūties vėžiu.
- PV sergantiems vyrams, kurių šeimoje buvo:
 - ≥ 1 -am 1-os, 2-os arba 3-čios eilės giminaičiui nustatytas ankstyvas krūties, storosios žarnos ar gimdos endometriumo

vėžys (amžius ≤ 50 metų), kiaušidžių, egzokrininis kasos arba vyrų krūties vėžys (bet kokio amžiaus), aukštos rizikos arba labai aukštos rizikos, arba N1, arba M1 PV;

- ≥ 1 -am 1-os eilės giminaičiui nustatytas PV ≤ 60 metų amžiuje;
- ≥ 2 -viem 1-os, 2-os arba 3-čios eilės giminaičiams nustatytas prostatos ar krūties vėžys (bet kokio amžiaus);
- ≥ 3 -im 1-os, 2-os arba 3-čios eilės giminaičiams nustatytas su Lynčo sindromu susijęs vėžys, ypač jei jis diagnozuotas < 50 metų amžiuje;
- Giminėje žinoma šeimtinė patogeninių ar galimai patogeninių mutacijų anamnezė (ypač *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *PALB2*, *CHEK2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, ir *EPCAM*).

- Aškenazių žydams.

Paminėtina, kad pagal *NCCN* (167), germinacinių mutacijų paieška taip pat yra svarstyтина, kuomet pacientui yra vidutinės-rizikos PV su intraduktalinė / kribriformine histologija arba, kai pačio PV sergančio paciento anamnezėje yra nustatytas egzokrininis kasos, kolorektalinis, skrandžio, tulžies lataų, plonųjų žarnų, viršutinių šlapimo takų vėžys, melanoma ar glioblastoma.

Tuo tarpu somatinis testavimas *NCCN* (167) rekomenduojamas įtraukiant tokius genus kaip *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *PALB2*, *FANCA*, *RAD51D*, *CHEK2* ir *CDK12*, pacientams, sergantiems metastazavusiu PV; taip pat galima svarstyti pacientams, sergantiems N1 liga. Pacientams, sergantiems mKAPV, rekomenduojama atlikti somatinius tyrimus dėl aukšto mikrosatelitų nestabilumo (angl. *microsatellite instability-high*) arba *MMR* genų trūkumo (angl. *DNA mismatch repair genes deficiency*) ir svarstyti pacientams, sergantiems N1 liga arba mHJPV. Pacientams, sergantiems mKAPV, taip pat gali būti svarstomas somatinis naviko mutacijų kiekio (angl. *tumor mutational burden*) nustatymas.

Pagal Europos urologų asociacijos (angl. *European Association of Urology, EAU*) gaires (46) genetinis testavimas apibrėžiamas siauresnėmis ir ne tokiomis konkrečiomis rekomendacijomis. *EAU* gairėse (46) dažniausiai minimi genai yra *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *CHEK2*, *HOXB13*, *MMR* (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*). Germinacinių mutacijų identifikavimas rekomenduojamas:

- sergant metastazavusiu PV;
- sergant aukštos rizikos PV, kai šeimos nariui PV diagnozuotas < 60 m. amžiuje;

- sergant PV, kai keliems šeimos nariams diagnozuotas PV < 60 m. amžiuje, arba esant faktui, kad šeimos narys mirė nuo PV.
- sergant PV, kai šeiminėje anamnezėje jau yra giminaičių su nustatytomis aukštos rizikos germinacinėmis mutacijomis arba yra nustatyta daug onkologinių susirgimų giminėje.
- atlikus somatinę testavimą rasta *BRCA* mutacija.

Tuo tarpu somatinę (ir / ar germinacinę) testavimą *EAU* (46) rekomenduoja visiems mKAPV pacientams, įtraukiant ir *MMR* genus bei mikrosatelitų nestabilumą (stiprus įrodymų lygmuo).

Remiantis Lietuvos Respublikos Sveikatos apsaugos ministerijos „Priešinės liaukos (prostatos) piktybinio naviko diagnostikos ir gydymo tvarkos metodika“ (2021 m.) Lietuvoje vyrams genetinė konsultacija ir genetinių testų atlikimas rekomenduojamas: sergant PV (Gleasono balų suma ≥ 7) ir jei bent viena 1-os eilės giminaitė, jaunesnė nei 50 metų, serga kiaušidžių, krūties vėžiu ir / arba bent du 1-os eilės giminaičiai serga kiaušidžių, krūties arba PV (Gleason balų suma ≥ 7) bet kokiame amžiuje.

Nors daugelis kitų (168–175) rekomendacijų siūlo ne tokius konkrečius ir išsamius genetinio ištyrimo kriterijus kaip *NCCN*, visos jos paprastai rekomenduoja atlikti germinacinius ir somatinius tyrimus vyrams, sergantiems metastazavusiu PV, ypač vyrams, kuriems būdinga šeiminė vėžio anamnezė, taip pat aškenazių žydams arba kai PV yra diagnozuotas jaunesniame amžiuje.

3. DARBO METODOLOGIJA

Pažengusio PV tiriamųjų grupei surinkti ir atlikti tyrimą išduotas Vilniaus regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto (VRBTEK) leidimas: 2017-02-07, Nr. 158200-17-874-411 (žr. 1 priedą). Vėliau išduotas leidimas pratęsti tyrimą: 2019-10-08, Nr. 2019-LP-46 (žr. 2 priedą). Lokalaus PV tiriamųjų grupei surinkti ir atlikti tyrimą taip pat išduotas VRBTEK leidimas: 2019-11-05, Nr. 2019/11-1166-654 (žr. 3 priedą). Vėliau taip pat išduotas leidimas pratęsti tyrimą: 2021-01-26, Nr. 2021-LP-7 (žr. 4 priedą).

Dalyvauti tyrime buvo kviečiami ligoniai, kurie gydyti Nacionaliniame vėžio institute (NVI) (Santariškių g. 1, LT-08660, Vilnius) nuo 2017 m. iki 2023 m., kurie sutiko dalyvauti tyrime ir atitiko tyrimų įtraukimo kriterijus ir kuriems nenustatyta atmetimo kriterijų.

Tyrime dalyvaujančių pacientų biologiniai mėginiai surinkti, paruošti ir ištirti molekulinės genetikos metodais NVI Genetinės diagnostikos laboratorijoje (Baublio g. 3B, LT-08406, Vilnius).

3.1. Įtraukimo kriterijai

Pažengusio PV grupė:

- mKAPV sergantys ligoniai, kuriems pradedamas ar jau pradėtas gydymas androgenų deprivacija kombinacijoje su chemoterapija, AA ar kitais sisteminiais vaistais.

Lokalaus PV grupė:

- Pacientai, kuriems dėl prostatos mpMRT radinių (balas ≥ 3 pagal PI-RADS v2.1 vertinimo sistemą) bei remiantis kitais duomenimis (klinikiniai duomenys ir / ar PSA > 3 ng/ml) numatoma atlikti PB.

3.2. Atmetimo kriterijai

Pažengusio PV grupė:

- mKAPV sergantys ligoniai, kuriems gydymas androgenų deprivacija kombinacijoje su chemoterapija, AA ar kitais sisteminiais vaistais nutrauktas dėl vaisto netoleravimo, tačiau nesant ligos progresavimo požymių.

Lokalaus PV grupė:

- Tiriamajam prieš PB nėra atlikta prostatos mpMRT.

- Tiriamajam atlikus prostatos mpMRT nustatytas PI-RADS v2.1 vertinimo sistemos balas < 3.
- Aktyviai gydomas PV.

3.3. Klinikiniai ir patologiniai duomenys

3.3.1. Klinikinių, radiologinių ir pataloginių duomenų rinkimas

Tiriamiesiems sutikus dalyvauti tyrime, prostatos PB histologinių tyrimų rezultatai buvo vertinti savalaikiai po atliktos biopsijos gydytojo patologo. Pažengusio ir lokalaus PV tiriamųjų grupės patologiniai rezultatai vertinti Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų (VUL SK) Valstybiniame patologijos centre (VPC, P. Baublio g. 5, 08406 Vilnius, Lietuva). Dalis pažengusio PV histologinių tyrimų rezultatų buvo gauti iš kitų Lietuvos gydymo įstaigų, todėl jie iš naujo VUL SK VPC nebuvo tirti. Histologiniuose rezultatuose aptikus PV (tiek pažengusio, tiek lokalaus PV imtyse) gauta Gleasono skalės balų suma vertinta remiantis 2014 m. ir 2019 m. Tarptautinės urologinės patologijos draugijos (ISUP, angl. *International Society of Urologic Pathology*) nutarimų rekomendacijomis (44,45), taip vietoje Gleasono skalės balų sumos tyrimuose pacientams priskiriant klinikinį ISUP balą (cISUP).

Kiti tiriamųjų duomenys buvo taip pat surinkti iš jų medicininių dokumentacijų. Pažengusio PV tiriamųjų grupėje vertintas amžius PV diagnozės pradžios metu, klinikinė T stadija (cT) pagal TNM klasifikaciją, PSA koncentracija (ng/ml) PV diagnozės metu, informacija apie taikytą arba netaikytą radikalų gydymo metodą (radikali prostatektomija / radikalus spindulinis gydymas). Taip pat vertinti biocheminiai (PSA ir šarminės fosfatazės (ŠF, U/L) koncentracijų dinamika) ir radiologiniai duomenys (kaulų scintigrafija / kompiuterinė tomografija arba MRT) gydymo eigoje. Surinkti duomenys apie tolimesnį skirtą gydymo metodą, skirtą gydymo eiliškumą ir gydymo laiką. Į tyrimą įtraukti gydymo metodai: ilgalaikė ADT, sisteminis gydymas – AA, chemoterapija docetakseliu, Ra-223 dichlorido terapija. Taip pat identifikuotos datos, kada PV tapo hormonorezistentiškas (KAPV) ir progresavo, kada verifikuotos tolimosios metastazės (mKAPV).

Lokalaus PV tiriamųjų grupėje vertintas amžius, PSA koncentracija (ng/ml) PV diagnozės metu, prostatos tūris (PT, ml), PSA tankis (PSAT), prostatos mpMRT PI-RADS v2.1 sistemos vertinimo balas. Prostatos mpMRT rezultatas buvo vertintas kaip teigiamas, kai PI-RADS v2.1 sistemos vertinimo balas buvo ≥ 3 . PSAT buvo apskaičiuotas PSA reikšmę (ng/ml) padalinus iš prostatos mpMRT apskaičiuoto PT (ml). Rizikos grupės lokalaus

PV tyrime suskirstytos į žemos, vidutinės ir aukštos rizikos grupes pagal Europos urologų asociacijos (angl. *European Association of Urology, EAU*) nuostatas (46).

Tiriamiesiems, kurie dalyvavo tyrimuose, buvo skirtas tinkamas PV ištyrimas ir gydymas ir jų sutikimas dalyvauti neturėjo reikšmės ar poveikio įprastai ligos diagnostikai, sekimui ar gydymui.

3.3.2. Kastracijai atsparaus prostatos vėžio sąvoka, ligos progresavimas ir tiriamųjų sekimas

Pažengusioje PV tiriamųjų imtyje KAPV buvo apibrėžtas kaip PV su kastraciniu serumo testosterono lygiu ($< 1,7$ nmol/l) ir su biocheminiu (trys PSA kilimai bent su vienos savaitės pertrauka tarp tyrimų, iš kurių rezultate bent dviejų tyrimų rezultatai 50 % pakilo virš nadiro arba $PSA > 2$ ng/ml), ir / ar radiologiniu (dvi ar daugiau naujų kaulų metastazių identifikuotų kaulų scintigrafijoje arba nauja minkštųjų audinių metastazė pagal RECIST (176) kriterijus) ligos progresavimu. Klinikinis (simptominis) ligos progresavimas kaip atskiras vienas veiksnys buvo vertinamas kaip nepakankamas ligos progresijai nustatyti. Esant metastazėms dubens limfmazgiuose, atvejus priskirdavome lokaliai pažengusiam PV ir nevertinome kaip tolimųjų kūno metastazių.

Visi tyrime dalyvaujantys mKAPV pacientai buvo sekami kas mėnesį, vertinant jų klinikinę būklę. PSA ir / ar ŠF tyrimai buvo atliekami kas du arba tris mėnesius. Radiologinį sekimą – kaulų scintigrafiją ir kompiuterinę tomografiją arba MRT – atlikdavome ne rečiau kaip kas šešis mėnesius.

3.3.3. Išgyvenamumas be ligos progresavimo, bendrasis išgyvenamumas

Pažengusio PV tiriamųjų imtyje išgyvenamumas be ligos progresavimo po skirtingų gydymo metodų buvo apibrėžtas kaip laikas, praėjęs nuo gydymo pradžios iki ligos progresavimo. Bendrasis išgyvenamumas buvo apibrėžtas kaip laikas nuo PV diagnozės pradžios iki mirties dėl bet kokios priežasties.

3.4. Mėginiai ir genetinė analizė

3.4.1. Mėginių rinkimas ir paruošimas

Pažengusio PV tyrime rinkti kraujo ir šlapimo mėginiai, lokalaus PV tyrime – tik kraujo mėginiai. Tiriamųjų kraujo mėginiai rinkti prospektyviai į EDTA kraujo paėmimo mėgintuvėlius, o šlapimo – pasišlapinus į sterilius šlapimo surinkimo indelius pagal standartizuotas gydymo įstaigos procedūras.

Mėginiai po paėmimo iš karto pristatyti į NVI Genetinės diagnostikos laboratoriją. Šlapimo mėginiai paruošti per 30 minučių nuo jų paėmimo pagal šį protokolą: šlapimas centrifuguotas 2000 rpm greičiu 15 minučių, o surinktos šlapimo nuosėdos praplautos du kartus fosfatų buferiniu druskos tirpalu. Kraujo mėginiai taip pat paruošti per 30 minučių nuo jų paėmimo ir atitinkamai paruošti centrifuguojant, plaunant bei išskiriant leukocitus. Paruošti mėginiai iki tolimesnio naudojimo saugoti -80 °C temperatūroje.

3.4.2. DNR gryninimas

Lokalaus PV grupės leukocitų DNR gryninimas atliktas naudojant *GeneJET Genomic DNA Purification* rinkinį (*Thermo Fisher Scientific (TFS)*, Vilnius, Lietuva) pagal gamintojo rekomendacijas. Pažengusio PV grupės leukocitų DNR gryninimas buvo atliktas visiškai automatizuota robotizuota QIAcube sistema, naudojant *QIAamp DNA Blood Mini Kit* (*Qiagen*, Hildenas, Vokietija). Šlapimo mėginių gryninimas atliktas naudojant *Viral RNA Mini Kit* (*Qiagen*, Hildenas, Vokietija) pagal gamintojo rekomendacijas. DNR kiekybiniai ir kokybiniai parametrai buvo patikrinti naudojant NanoDrop 2000 spektrofotometrą (*TFS*, Vilmingtonas, Delaveras, JAV). Paruošti mėginiai iki tolimesnio naudojimo saugoti -20 °C temperatūroje.

3.4.3. Realaus laiko kiekybinė polimerazės grandininė reakcija mutacijoms nustatyti

Šis tyrimo metodas taikytas tiriant pažengusio PV mėginius. DNR pažaidų genų mutacijų tyrimui naudoti *TaqMan™ assay* genotipavimo pradmenys (*Applied Biosystems (AB)*, *TFS*, Peislis, Didžioji Britanija): 6 *BRCA1 / BRCA2* (rs80359112, rs80356898, rs397507246, rs80357711, rs28897672A_C, rs80359604_GT), trys *CHEK2* (rs555607708, rs17879961, rs121908698) ir vienas *NBN* (rs587776650). Realaus laiko kiekybinės polimerazės grandininės reakcijos (kPGR) buvo atliekamos pagal gamintojo rekomendacijas, naudojant *7500 Real-Time PCR* sistemą (*AB*, *TFS*, Foster sitis, Kalifornija, JAV).

3.4.4. Naujos kartos sekoskaita mutacijoms nustatyti

Pažengusio PV genomines DNR sekvenavimui panaudoti ir kraujo (tik tie, kur mutacijos nenustatytos atlikus kPGR), ir visi šlapimo mėginiai. Lokalaus PV genomines DNR sekvenavimui naudoti kraujo mėginiai. Sekvenavimui abiejose nepriklausomose PV grupėse naudota specialiai pritaikyta penkių genų panelė: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ir *NBN*. Genominės DNR

koncentracija, reikalinga NKS, buvo nustatyta naudojant *Qubit™ 2.0 Fluorimeter* (Invitrogen, TFS, Judžinas, Oregonas, JAV) su šiuo aparatu suderinamu rinkiniu *Qubit™ dsDNA BR Assay Kit*. Bibliotekos paruošimui buvo naudotas bibliotekų ruošimo rinkinys *Ion AmpliSeq™ Library Kit 2.0* ir specialios panelės (iš *Life Technologies (LT)*, Karlsbadas, Kalifornija, JAV). Paruoštos bibliotekos koncentracija buvo nustatyta naudojant kPGR *Ion Library TaqMan™ Quantification Kit* (AB, TFS, Vilnius, Lietuva) rinkinį. Sekoskaita buvo atlikta naudojant *Ion Torrent™ Ion S5™* sistemą (TFS, Valthamas, Masačusetsas, JAV). Atsižvelgiant į TFS bioinformatikų rekomendacijas ir laboratorijoje naudojamą panelinę sekoskaitą, sekvenavimo duomenys buvo palyginti su žmogaus referentiniu genomu – hg19. Kiekvieno geno patogeninių ir tikėtina patogeninių mutacijų dažnis buvo patvirtintas *ClinVar* duomenų bazėje ir patikrintas naudojant *Integrative Genomics Viewer 2.4.8* įrankį, siekiant pašalinti klaidingai teigiamus atvejus.

3.5. Statistinė analizė

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant R 4.0.3, R 4.1.1 ir IBM SPSS Statistics 21 programinę įrangą. Sąsajos tarp kategorinių kintamųjų buvo vertintos naudojant Chi kvadratų kriterijų (angl. *Chi-squared test*) ir tikslųjį Fišerio kriterijų (angl. *Fisher's exact test*). Kiekybinių duomenų normalus pasiskirstymas įvertintas naudojant Šapiro–Vilko (W) kriterijų (angl. *Shapiro Wilk's W test*). Du nepriklausomi kintamieji buvo vertinti naudojant Man'oviti'no (U) kriterijų (angl. *Mann–Whitney U test*) arba t-testą (angl. *t-test*). Išgyvenamumo analizei (išgyvenamumo be ligos progresavimo, bendrojo išgyvenamumo) buvo naudotos Kaplano–Mejerio kreivės (angl. *Kaplan–Meier curves*) ir Cox regresija (angl. *Cox regression*). Išskirtimis buvo apibrėžti atvejai, viršijantys tris tarpkvartilinius pločius (angl. *interquartile range*) vertinant išgyvenamumą be ligos progresavimo ir bendrąjį išgyvenamumą (tiriamieji, kurie nutraukė savalaikį stebėjimą) – išskirtys buvo pašalintos iš statistinės analizės. PV rizika apskaičiuota pasitelkiant šansų santykį (angl. *OR – odds ratio*) analizuojant 2 x 2 lenteles (angl. *two-by-two tables*). Šansų santykiai pateikti kartu su 95 % pasikliautinaisiais intervalais (angl. *CI – confidence interval*). Šansų santykio statistinis reikšmingumas buvo įvertintas naudojant tikslųjį Fišerio kriterijų (angl. *Fisher's exact test*). Skirtumai tarp grupių buvo laikomi statistiškai reikšmingi, kai p reikšmė buvo < 0,05.

3.6. Pacientų grupavimas ir palyginimai

PV pacientai, kuriems nustatyta bent viena patogeninė mutacija tirtuose *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ir *NBN* genuose buvo priskirti DDR(+) grupei (angl. *DNA damage response*), kur (+) reiškia, kad mutacija rasta, o genuose mutacijų neturintys – DDR(-) grupei, kur (-) reiškia, kad genuose mutacija neidentifikuota.

Tiek pažengusio, tiek lokalaus PV tyrimuose buvo numatyta lyginti dvi grupes: DDR(+) ir DDR(-), t. y. mutacijas tirtuose genuose turinčius PV pacientus su mutacijų šiuose genuose neturinčiais pacientais. Pažengusio PV tyrime papildomai išskirta ir DDR(+)A grupė – pastarojoje įtraukiant tik daugiau piktybinio potencialo (127,137,138) turinčią *CHEK2* c1100delC mutaciją ir atmetant atvejus su *CHEK2* c.470T>C mutacija (detalesnį grupių aprašymą žr. rezultatų skiltyje).

Pažengusio PV tyrime tarp DDR(+) ir DDR(-) grupių, taip pat tarp DDR(+)A ir DDR(-) grupių numatyta lyginti atsaką į ilgalaikę ADT, pirmos eilės sisteminį gydymą, Ra-223 dichlorido terapiją, vertinti bendrąjį išgyvenamumą.

Lokalaus PV tyrime tarp DDR(+) ir DDR(-) grupių numatyta lyginti klinikinius, radiologinius ir histopatologinius rodiklius. Taip pat, pasitelkiant kontrolinę grupę, kurioje PV neverifikuotas, įvertinti lokalaus PV riziką esant mutacijų nešiotu.

Taip pat numatyta lyginti mutacijas turinčius pacientus tarp pažengusio ir lokalaus PV: mutacijų dažnį, pacientų amžių ir histologinius rezultatus.

3.7. Doktoranto ir kitų tyrėjų indėlis

Doktorantas Tomas Januškevičius, kartu su NVI Onkourologijos skyriaus gydytojų ir slaugytojų pagalba, dalyvavo įtraukiant tiriamuosius ir renkant skysčių biopsijos mėginius, vadovaujant prof. dr. Feliksui Jankevičiui, prof. dr. Sonatai Jarmalaitei ir dr. Albertui Uliui.

Doktorantas surinko visus klinikinius, radiologinius ir patologinius bei kt. duomenis, reikalingus tyrimams atlikti, buvo pagrindinis autorius abiejose mokslinėse publikacijose, parengtose iš tyrimų duomenų. Doktorantūros temos tyrimų rezultatai doktoranto buvo pristatyti trijose tarptautinėse mokslinėse konferencijose.

Surinktų mėginių paruošimas tyrimui ir molekulinė genetinė analizė buvo atlikta NVI Genetinės diagnostikos laboratorijoje Ilonos Kulikienės ir Ievos Vaicekauskaitės, vadovaujant doc. dr. Rasai Sabaliauskaitei.

Rengiant pirmąją publikaciją iš pažengusio PV tiriamųjų grupės dalyvavo visi bendraautoriai, tačiau ypač aktyviai prisidėjo doc. dr. Rasa Sabaliauskaitė, dr. Arnas Bakavičius, dr. Daiva Dabkevičienė. Doc. dr. Rasa Sabaliauskaitė bei Ieva Vaicekauskaitė taip pat aktyviai padėjo rengiant antrąją publikaciją iš lokalaus PV tiriamųjų grupės.

Prof. dr. Sonata Jarmalaitė buvo pagrindinė mokslinių tyrimų ir mokslinių idėjų konsultantė ne tik iš molekulinės analizės dalies, tačiau ženkliai prisidėjo prie viso tyrimo dizaino ir koordinavimo. Padėjo parengiant, taisant ir kritiškai išsakant vertingas pastabas, kai buvo rengiamos abi mokslinės publikacijos, taip pat aktyviai skatino dalyvauti tarptautinėse mokslinėse konferencijose, vertino paruoštus pranešimus ir jų rezultatus.

Prof. dr. Feliksas Jankevičius buvo mokslinių tyrimų vadovas, atsakingas už tyrimo konceptualizaciją ir viziją, kritiškai vertino abi mokslines publikacijas, išsakė vertingas pastabas, ypač susijusias su klinikine tyrimų dalimi ir padėjo rengiant, taisant abi mokslines publikacijas bei tarptautinių mokslinių konferencijų pranešimus.

4. TYRIMO REZULTATAI

4.1. Pažengusio prostatos vėžio tyrimai

4.1.1. Imtis ir analizuoti tiriamieji

Į mokslinio tyrimo pirmąją dalį įtraukta 149 mKAPV sergančių, NVI besigydančių tiriamųjų, kuriems iki tol buvo taikyta ilgalaikė ADT ir buvo numatytas ar jau pradėtas gydymas chemoterapija ar AA. Tirti jų mėginiai: 149 kraujo mėginiai ir 139 šlapimo mėginiai (10–ies pacientų šlapimo mėginiai neanalizuoti dėl mėginių kiekybinių trūkumų).

4.1.2. Mutacijų dažnis pažengusio prostatos vėžio kraujo mėginiuose

Iš 149 mKAPV atvejų, 23 pacientų (15,4 %) kraujyje buvo nustatytos specifiskai pasirinktų DPA kelio genų (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ir *NBN*) germinacinės mutacijos: 16 atvejų identifiukuota pasitelkiant kPGR ir 7 atvejai naudojant NKS. *ATM* mutacija nustatyta 5 pacientams (3,4 %), *BRCA1* – 2 (1,3 %), *BRCA2* – 3 (2,0 %), *CHEK2* – 12 (8,1 %), *NBN* – 1 (0,7 %). Dažniausia nustatyta mutacija buvo *CHEK2* geno: 11 pacientų buvo c.470T>C mutacijos nešiotojai ir vienas – c.1100delC. Trys nustatyti mutacijų variantai buvo nežinomos reikšmės, remiantis *ClinVar* duomenų baze, todėl nebuvo vertinti tyrime. Molekulinės mutacijų charakteristikos pateiktos 5 lentelėje.

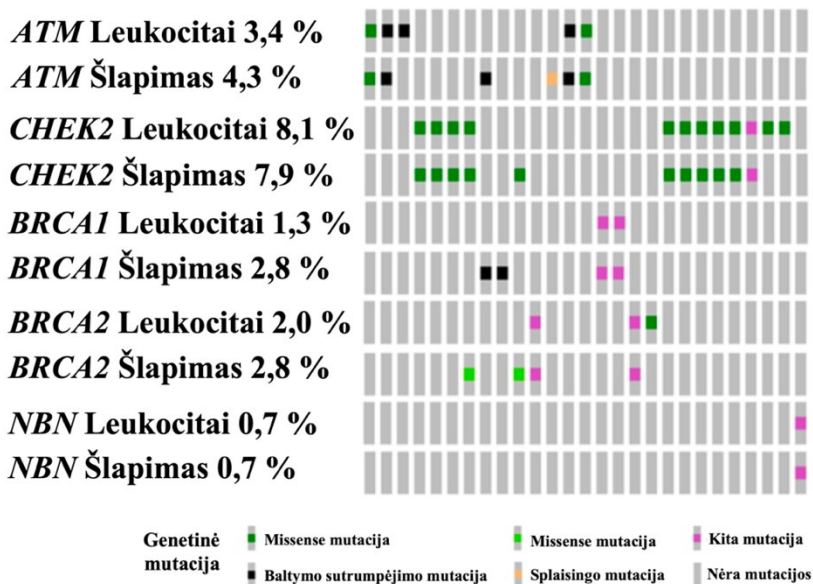
4.1.3. Mutacijų dažnis pažengusio prostatos vėžio šlapimo mėginiuose

Vertinant šlapimo skysčių biopsijos mėginius (n = 139), buvo rastos 26 patogeninės mutacijos DPA kelio genuose (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ir *NBN*) 23 pacientams: 23 / 139, 16,6 %. Visos germinacinės mutacijos, aptiktos tų pačių mKAPV pacientų leukocituose (iš viso 19), taip pat buvo nustatytos šlapimo mėginiuose. Papildomai nustatytos 7 somatinės mutacijos (2 – *ATM*, 2 – *BRCA1*, 2 – *BRCA2* ir 1 – *CHEK2*) 5 pacientų šlapime (5 / 139; 3,6 %). 3 pacientų šlapime buvo aptikta daugiau negu viena mutacija (3 / 139; 2,2 %), kai 1 atveju (1 / 139; 0,7 %) buvo rastos somatinės *ATM* ir *BRCA1* genų mutacijos, o *BRCA2* ir *CHEK2* mutacijų derinys buvo nustatytas 2 pacientams (2 / 139; 1,4 %; somatinė–somatinė ir somatinė–germinacinė). Visos tiek kraujyje, tiek šlapime rastos patogeninės mutacijos pateiktos 5 pav.

5 lentelė. Molekulinės mutacijų charakteristikos: patogeninių ir nežinomos reikšmės variantų.

Genas	Mėginio nr.	Patogeninis variantas			Aminorūgštis	dbSNP, rs	Metodas	
		Vieta	Tipas	Variantas				Egzonas
BRCA1	PN088; PN179	c.4035delA	INDEL	rėmlio tipo delecija	p.Glu1346Lysfs	rs80357711	kPGR	
	PN082	c.658_659delGT	INDEL	rėmlio tipo delecija	p.Val220Ilefs	rs80359604	kPGR	
	PS001	c.7879A>T	SNV	missense	p.Ile262V7Phe	rs80359014	NKS	
	PN050	c.3847_3848delGT	INDEL	rėmlio tipo delecija	p.Val1283fs	rs80359405	NKS	
	PN004; PN022; PN034 PN051; PN055; PN073; PN107; PN108; PN125; PN136; PN143	c.470T>C	SNV	missense	p.Ile157Thr	rs17879961	kPGR	
NBN	PN223	c.1100delC	INDEL	rėmlio tipo delecija	p.Trp367Metfs	rs55607708	kPGR	
	PN132	c.657_661delACAAA	INDEL	rėmlio tipo delecija	p.Lys219fs	rs587776650	kPGR	
	PN029; PN175	c.8122G>A	SNV	missense	p.Asp2708Asn	rs587782719	NKS	
	PN044	c.1339C>T	SNV	nonsense	p.Arg447Ter	rs587779815	NKS	
	PN090; PN206	c.5932G>T	SNV	nonsense	p.Glu1978Ter	rs587779852	NKS	
Genas	Mėginio nr.	Nežinomos reikšmės variantai			Aminorūgštis	dbSNP, rs	Metodas	
		Vieta	Tipas	Variantas	Egzonas			
	BRCA2	PN031	c.8242_8244delGGT	INDEL	ne rėmlio tipo delecija	18	p.Gly2748del	
	NBN	PN199	c.1445G>A	SNV	missense	11	p.Arg482Lys	rs775451862
ATM	PN048	c.4631A>G	SNV	missense	31	p.Tyr1544Cys	rs779718362	
Shapimas	Genas	Mėginio nr.	Patogeninis variantas			Aminorūgštis	dbSNP, rs	Metodas
			Vieta	Tipas	Variantas	Egzonas		
	BRCA1	PN025	c.3268C>T	SNV	nonsense	10	p.Gln1090Ter	rs80357402
		PN038	c.5574G>A	SNV	nonsense	24	p.Trp1858Ter	rs80356914
		PN088; PN179	c.4035delA	INDEL	rėmlio tipo delecija	11	p.Glu1346Lysfs	rs80357711
		PN033	c.1532C>A	SNV	nonsense	10	p.Ser511Ter	rs1555281935
	BRCA2	PN050; PN143	c.3847_3848delGT	INDEL	rėmlio tipo delecija	11	p.Val1283fs	rs80359405
		PN082	c.658_659delGT	INDEL	rėmlio tipo delecija	8	p.Val220Ilefs	rs80359604
		PN034 PN051; PN055; PN073; PN107; PN108; PN125; PN136; PN143	c.470T>C	SNV	missense	4	p.Ile157Thr	rs17879961
	CHEK2	PN033; PN223	c.1100delC	INDEL	rėmlio tipo delecija	11	p.Trp367Metfs	rs55607708
	NBN	PN132	c.657_661delACAAA	INDEL	rėmlio tipo delecija	6	p.Lys219fs	rs587776650
		PN029; PN175	c.8122G>A	SNV	missense	55	p.Asp2708Asn	rs587782719
	PN044	c.1339C>T	SNV	nonsense	10	p.Arg447Ter	rs587779815	
ATM	PN090	c.5932G>T	SNV	nonsense	40	p.Glu1978Ter	rs587779852	
	PN025	c.3663G>A	SNV	nonsense	25	p.Trp1221Ter	rs864622490	
	PN072	c.6006+1G>C	SNV	nežinomas	40	p.?	rs786202016	

Santrumpos: SNV – vieno nukleotido pakaita, angl. *single nucleotide variant*; INDEL – iškrita-intarpas, angl. *INDEL*; dbSNP – genų variantų duomenų bazė, angl. *Database of single nucleotide polymorphisms (SNPs) and multiple small-scale variations*; rs – vieno nukleotido varianto numeris pagal referentinę genomą seką; kPGR – realaus laiko kiekybinė polimerazės grandininė reakcija; NKS – naujos kartos sekoskaita.



5 pav. Atrinktos patogeninės mutacijos, nustatytos kraujo ir šlapimo mėginiuose. Pavaizduoti tik mėginiai su bent viena aptikta mutacija. Procentai koreliuoja su mutacijų skaičiumi visiems 149 pacientams, tirtiems leukocituose ir 139 – šlapimo mėginiuose.

4.1.4. Pacientų grupės pagal mutacijos tipą

Dėl šlapimo mėginiuose rastų ne tik germinacinių, bet ir somatinių mutacijų, nuspręsta tolimesnę pažengusio PV tiriamųjų analizę atlikti naudojant ne kraujo mėginiuose, o šlapime rastus genetinius pakitimus.

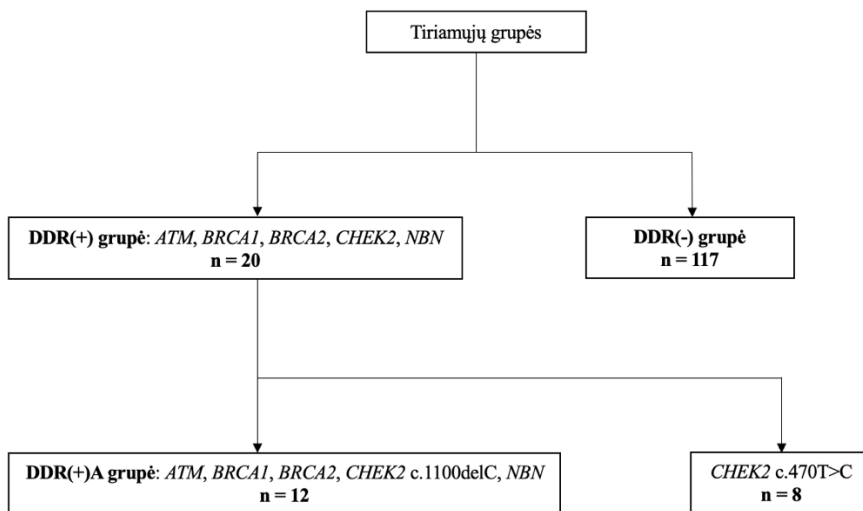
Kaip minėta metodų skylyje, pacientai, kuriems nustatyta bent viena patogeninė mutacija buvo priskirti DDR(+) grupei (angl. *DNA damage response*), kur (+) reiškia, kad mutacija rasta, o genuose mutacijų neturintys – DDR(-) grupei, kur (-) reiškia, kad genuose mutacija neidentifikuota.

Nors buvo 23 pacientai, kurių šlapime buvo aptikta bent 1 mutacija – 2 atvejai (PN029, PN038) buvo klasifikuoti kaip išskirtys (žr. skyrių statistinės analizės metodai) ir neįtraukti į analizę. Be to, 1 pacientas (PN072) buvo nevertintas kaip turintis patogeninę mutaciją dėl nežinomos reikšmės *ATM* mutacijos varianto (5 lentelė) ir priskirtas DDR(-) grupei. Taigi, DDR(+) grupėje, pašalinus 2 išskirtis ir 1 nežinomos reikšmės *ATM* mutacijos variantą buvo analizuota 20 atvejų (23 – 3 = 20), o DDR(-) grupėje – 117 atvejų (116 atvejų su nenustatytais mutacijomis + 1 su *ATM* nežinomos reikšmės mutacija = 117).

Galiausiai, DDR(+) grupės pacientai, kuriems nustatytos *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* (tik c.1100delC) ir *NBN* genų mutacijos, buvo atrinkti į DDR(+)_A grupę (12 pacientų), pastarojoje grupėje įtraukiant tik daugiau

piktybinio potencialo (127,137,138) turinčią *CHEK2* c1100delC mutaciją ir atmetant atvejus su *CHEK2* c.470T>C mutacija (8 pacientai).

Analizė atlikta lyginant DDR(+) su DDR(-) grupe, taip pat DDR(+)- su DDR(-) grupe. Detalus tirtų grupių pasiskirstymas pateiktas 6 pav. Pagrindinės klinikinės, pataloginės ir demografinės DDR(+) ir DDR(-) kohortų charakteristikos pateiktos 6 lentelėje.



6 pav. Paveiksle pavaizduotos DDR(+) ir DDR(+)-A grupės su nustatytais mutacijomis ir DDR(-) grupė – pacientams mutacijos nenustatytos. Santrumpos: DDR – DNR pažeidimų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*.

6 lentelė. Klinikinės, pataloginės ir demografinės abiejų grupių charakteristikos.

Kintamasis	DDR(+), n = 20	DDR(-), n = 117	p reikšmė
Amžius PV diagnozės metu, metai; Mediana (IQR)	63,5 (57,7–71,5)	66,4 (61,5–71,1)	0,27
PSA PV diagnozės metu, ng/ml			
<10; n	3	36	0,09
10–20; n	3	25	
>20; n	14	53	
cISUP balas			
1; n	7	48	0,71
2; n	4	18	
3; n	2	14	

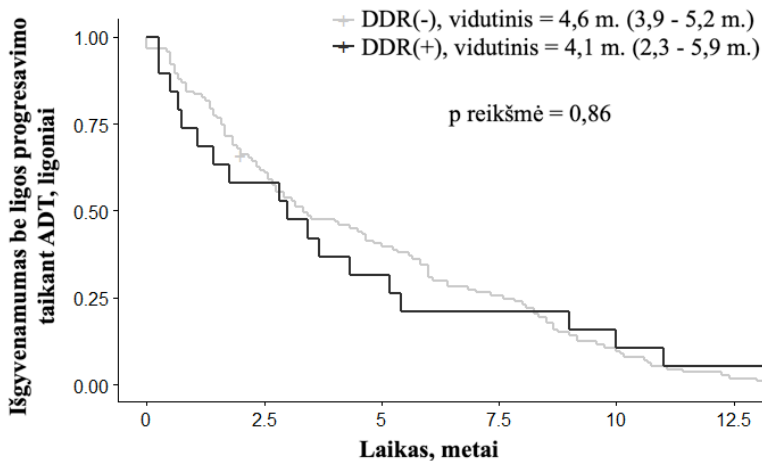
Kintamasis	DDR(+), n = 20	DDR(-), n = 117	p reikšmė
4; n	5	16	
5; n	1	12	
cT stadija			
≤ T2; n	6	43	0,62
≥ T3; n	14	67	
Radikalus gydymas			
Radikali prostatektomija; n	3	9	0,27
Radioterapija; n	9	42	
Netaikyta; n	8	66	
Sisteminis gydymas AA mKAPV pacientams			
Pirmos eilės; n	11	88	0,07
Antros eilės; n	8	26	
Kita; n	1	3	
Chemoterapija docetakseliu mKAPV pacientams			
Pirmos eilės; n	9	28	0,77
Antros eilės; n	3	13	
Kita; n	3	11	
Mirtis			
Taip; n	15	73	0,32
Ne; n	5	44	

Santrumpos: DDR – DNR pažeidimų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*; PV – prostatos vėžys; IQR – tarpkvartilinis plotis, angl. *interquartile range*; PSA – prostatos specifinis antigenas; ISUP – Tarptautinė urologinės patologijos draugija, angl. *International Society of Urological Pathology*; cISUP – klinikinis ISUP balas; cT – klinikinė T stadija (pagal TNM klasifikaciją); AA – abiraterono acetatas; mKAPV – metastatinis kastracijai atsparus prostatos vėžys.

4.1.5. Atsakas į ilgalaikę androgenų deprivacijos terapiją

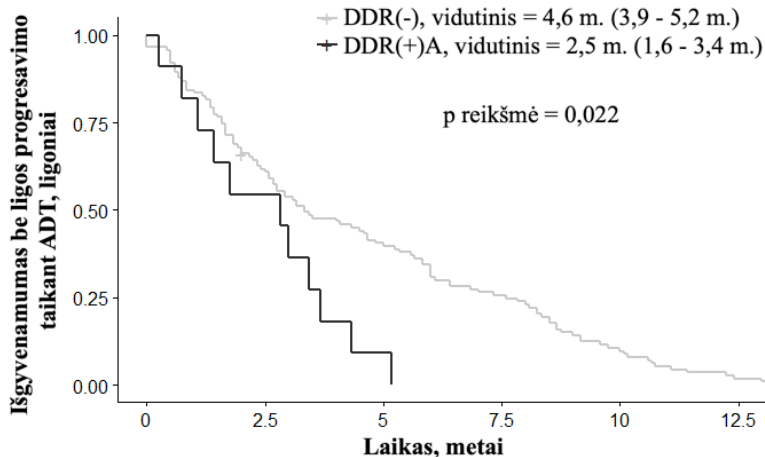
Bendras analizuotų pacientų vidutinis atsako laikas į ilgalaikę ADT hormonams jautrioje PV fazėje, prieš išsivystant hormonorezistentiškumui, buvo 4,5 (95 % CI: 3,9–5,1) metų.

Taikant ADT vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo mutacijas turinčių pacientų – DDR(+) grupėje buvo trumpesnis: 4,1 m. lyginant su 4,6 m. mutacijų neturinčių pacientų – DDR(-) grupėje, nors statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nebuvo stebėta (7 pav.).



7 pav. Išgyvenamumas be ligos progresavimo taikant androgenų deprivacijos terapiją hormonams jautrioje prostatos vėžio fazėje – lyginant DDR(+) ir DDR(-) grupes. Juoda kreivė žymi DDR(+) grupės tiriamuosius, pilka kreivė – DDR(-) grupės tiriamuosius. Santrumpos: ADT – androgenų deprivacijos terapija; DDR – DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*.

Tuo tarpu, DDR(+)_A pacientų atsakas į ADT buvo reikšmingai ženkliai, beveik 2 kartus, trumpesnis. DDR(+)_A grupės vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo, taikant ADT, buvo 2,5 m. lyginant su 4,6 m. mutacijų neturinčioje DDR(-) grupėje, $p = 0,022$ (8 pav.).



8 pav. Išgyvenamumas be ligos progresavimo taikant androgenų deprivacijos terapiją hormonams jautrioje prostatos vėžio fazėje – lyginant DDR(+)_A ir DDR(-) grupes. Juoda kreivė žymi DDR(+)_A grupės tiriamuosius, pilka kreivė – DDR(-) grupės tiriamuosius. Santrumpos: ADT – androgenų deprivacijos terapija; DDR – DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*.

Svarbu pabrėžti, kad vienalypėje ir daugialypėje Cox regresijos analizėje (7 lentelė) DDR(+)*A* kohortos mutacijos ir aukštesnis cISUP balas buvo pagrindiniai trumpesnio atsako į ADT prognostiniai rodikliai. Taigi, taikant ilgalaikę ADT, DDR(+)*A* grupės mutacijos turėjo reikšmingą įtaką išgyvenamumui be ligos progresavimo tiek kaip nepriklausomas kintamasis (HR = 2,11; 95 % CI: 1,12–4,01; $p = 0,022$), tiek būdamas visų kintamųjų sudėtyje (HR = 2,17; 95 % CI: 1,14–4,13; $p = 0,019$).

7 lentelė. Vienalypė ir daugialypė Cox regresijos analizė parodanti reikšmingus rodiklius, susijusius su gydymo ir išgyvenamumo rezultatais.

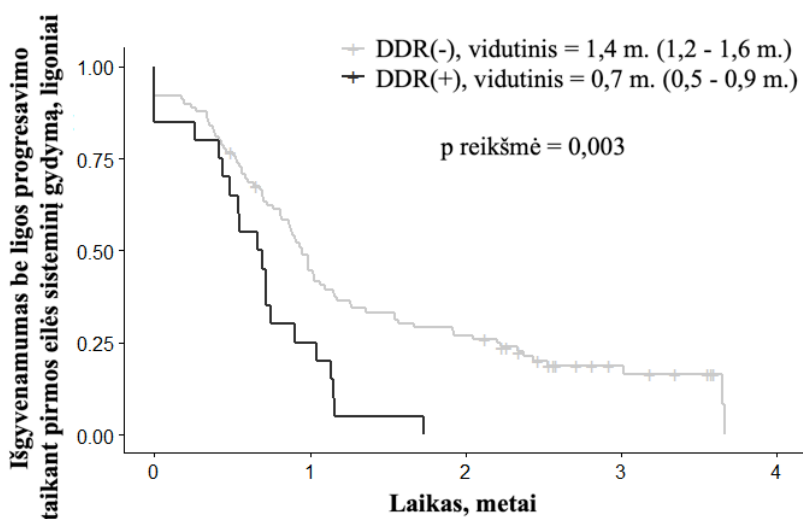
	Analizuota pagal DDR(+) <i>A</i> grupę				Analizuota pagal DDR(+) <i>A</i> grupę			
	Vienalypė		Daugialypė		Vienalypė		Daugialypė	
	HR su 95 % CI	p reikšmė	HR su 95 % CI	p reikšmė	HR su 95 % CI	p reikšmė	HR su 95 % CI	p reikšmė
	Vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo taikant ADT							
DDR genetinė mutacija	1,04 (0,64–1,71)	0,86	1,18 (0,71–1,96)	0,53	2,11 (1,12–4,01)	0,022	2,17 (1,14–4,13)	0,019
Amžius	1,01 (0,98–1,04)	0,34	-	-	0,99 (0,97–1,03)	0,94	-	-
cISUP	2,07 (1,43–3,00)	<0,001	2,09 (1,44–3,04)	<0,001	1,87 (1,28–2,74)	0,001	1,88 (1,28–2,75)	0,001
Radikalus gydymas	1,00 (0,71–1,43)	0,97	-	-	1,23 (0,86–1,76)	0,26	-	-
PSA ₀	0,95 (0,58–1,56)	0,85	-	-	0,99 (0,60–1,64)	0,99	-	-
V prieš Ž	1,11 (0,74–1,66)	0,62	-	-	1,14 (0,76–1,73)	0,53	-	-
A prieš Ž								
	Vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo taikant pirmos eilės sisteminį gydymą (mKAPV)							
DDR genetinė mutacija	2,17 (1,31–3,59)	0,003	2,22 (1,34–3,69)	0,002	2,47 (1,32–4,62)	0,005	2,53 (1,34–4,77)	0,004
Amžius	1,02 (0,99–1,05)	0,17	1,01 (0,98–1,04)	0,38	1,02 (0,99–1,05)	0,19	1,01 (0,99–1,04)	0,34
cISUP	1,26 (0,83–1,92)	0,27	-	-	1,22 (0,79–1,89)	0,37	-	-
Radikalus gydymas	0,77 (0,52–1,15)	0,19	0,84 (0,55–1,29)	0,43	0,77 (0,51–1,17)	0,22	-	-
PSA ₁	1,001 (1,000–1,002)	0,004	1,001 (1,000–1,002)	0,011	1,001 (1,000–1,002)	0,005	1,001 (1,000–1,002)	0,004
	Vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo taikant pirmos eilės sisteminį gydymą AA (mKAPV)							
DDR genetinė mutacija	2,72 (1,39–5,33)	0,003	2,43 (1,23–4,83)	0,011	2,72 (1,14–6,50)	0,025	2,25 (0,92–5,49)	0,076
Amžius	1,03 (0,99–1,06)	0,08	1,02 (0,99–1,06)	0,24	1,03 (0,99–1,07)	0,06	1,03 (0,99–1,07)	0,18
cISUP	1,13 (0,64–2,02)	0,67	-	-	1,05 (0,57–1,93)	0,88	-	-
Radikalus gydymas	0,67 (0,41–1,10)	0,11	0,84 (0,48–1,46)	0,53	0,65 (0,39–1,10)	0,11	0,85 (0,48–1,49)	0,57
PSA ₁	1,001 (1,001–1,002)	0,011	1,001 (1,000–1,002)	0,007	1,001 (1,001–1,002)	0,001	1,001 (1,000–1,002)	0,002
	Vidutinis bendrasis išgyvenamumas							
DDR genetinė mutacija	1,07 (0,60–1,90)	0,82	1,62 (0,87–3,02)	0,126	1,47 (0,73–2,95)	0,28	2,02 (0,98–4,17)	0,058
Amžius	1,06 (1,03–1,09)	<0,001	1,03 (0,99–1,06)	0,128	1,05 (1,02–1,09)	0,004	1,02 (0,99–1,06)	0,22
cISUP	3,15 (1,97–5,02)	<0,001	3,16 (1,93–5,15)	<0,001	2,83 (1,76–4,55)	<0,001	3,01 (1,83–4,94)	<0,001
Radikalus gydymas	0,34 (0,21–0,54)	<0,001	0,39 (0,23–0,67)	0,001	0,39 (0,24–0,63)	<0,001	0,40 (0,23–0,69)	<0,001
PSA ₁	1,001 (1,000–1,002)	0,022	1,000 (0,999–1,001)	0,614	1,001 (1,000–1,002)	0,047	1,000 (0,99–1,001)	0,70

Santrumpos: CI – pasikliautinėjį intervalai, angl. *confidence interval*; HR – rizikos santykis, angl. *hazard ratio*; mKAPV – metastatinis kastracija atsparus prostatos vėžys; DDR – DNR pažeidimų atsako kelių mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*; ISUP – Tarpiautinis urologinės patologijos draugija, angl. *International Society of Urological Pathology*; cISUP – klinikinis ISUP balas; ADT – androgenų deprivacijos terapija; AA – abiraterono acetatas; PSA – prostatos specifinis antigenas; PSA₀ – PSA prostatos vėžio diagnozės metu, ng/ml; Ž (žemas) – < 10 ng/ml, V (vidutinis) – 10 – 20 ng/ml, A (aukštas) – > 20 ng/ml; PSA₁ – PSA prieš pirmos eilės sisteminį gydymą sergant metastatiniu kastracija atspariu prostatos vėžiu.

4.1.6. Atsakas į pirmos eilės sisteminį gydymą

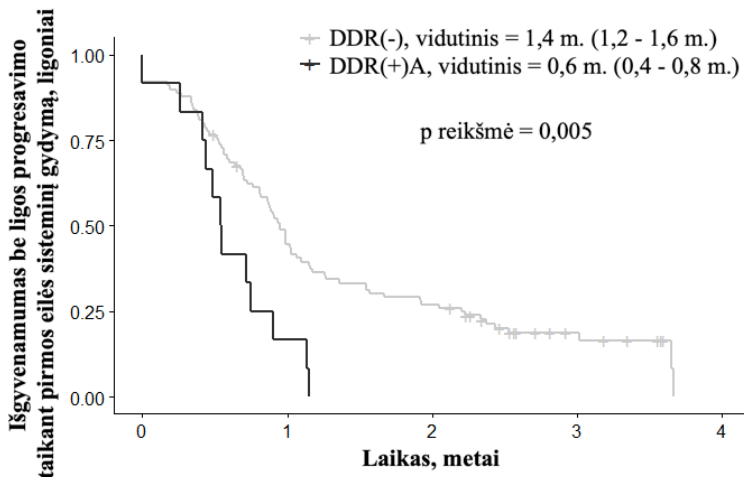
Pirmos eilės sisteminis gydymas pažengusio PV grupėje buvo taikytas AA arba chemoterapija docetakseliu. Ligai progresavus ir atsiradus metastazėms (mKAPV), bendras analizuotų pacientų vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo, taikant pirmos eilės sisteminį gydymą buvo 1,3 (95 % CI: 1,1–1,5) metų.

DDR(+) kohorta buvo susijusi su reikšmingai dvigubai trumpesniu vidutiniu išgyvenamumu be ligos progresavimo, lyginant su DDR(-) grupe (0,7 m. prieš 1,4 m., $p = 0,003$, 9 pav.).



9 pav. Išgyvenamumas be ligos progresavimo taikant pirmos eilės sisteminį gydymą ligoniams, sergantiems metastatiniu kastracijai atspariu prostatos vėžiu. Juoda kreivė žymi DDR(+) grupės tiriamuosius, pilka kreivė – DDR(-) grupės tiriamuosius. Santrumpos: DDR – DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*.

Taip pat, statistiškai reikšmingai blogesni rezultatai buvo rasti DDR(+)/A grupėje, palyginus ją su mutacijų neturinčia DDR(-) grupe: 0,6 m. prieš 1,4 m., $p = 0,005$, 10 pav.

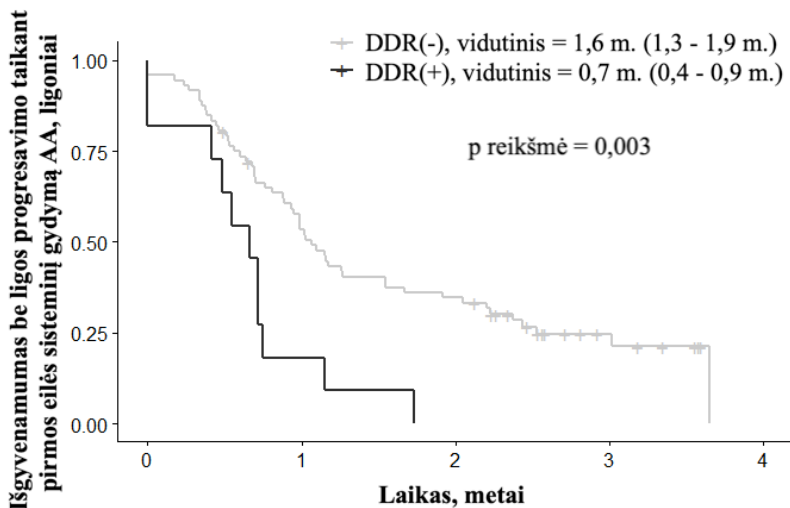


10 pav. Išgyvenamumas be ligos progresavimo taikant pirmos eilės sisteminį gydymą ligoniams, sergantiems metastatiniu kastracijai atspariu prostatos vėžiu. Juoda kreivė žymi DDR(+A) grupės tiriamuosius, pilka kreivė – DDR(-) grupės tiriamuosius. Santrumpos: DDR – DNR pažeidimų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*.

Vienalypėje ir daugialypėje Cox regresijos analizėje (7 lentelė) trumpesnio atsako į pirmos eilės sisteminį gydymą pagrindiniai rodikliai tiek DDR(+), tiek DDR(+A) grupėse buvo mutacijos ir PSA reikšmė prieš gydymą. DDR(+) ir DDR(+A) grupės mutacijos turėjo reikšmingą įtaką išgyvenamumui be ligos progresavimo tiek kaip nepriklausomi kintamieji (HR = 2,17; 95 % CI: 1,31–3,59, p = 0,003; HR = 2,47; 95 % CI: 1,32–4,62, p = 0,005, atitinkamai), tiek būdamos visų kintamųjų sudėtyje (HR = 2,22; 95 % CI: 1,34–3,69, p = 0,002; HR = 2,53; 95 % CI: 1,34–4,77, p = 0,004, atitinkamai).

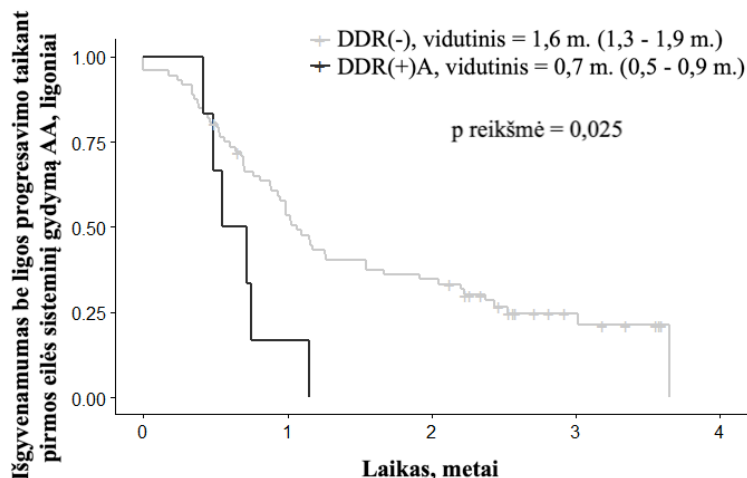
4.1.7. Atsakas į gydymą abiraterono acetatu bei docetakseliu

Atsižvelgiant į AA kaip pirmos eilės sisteminį gydymą, taikytą sergant mKAPV, DDR(+) kohorta buvo reikšmingai susijusi su žymiai, daugiau negu 2 kartus, trumpesniu vidutiniu išgyvenamumu be ligos progresavimo, lyginant su DDR(-) kohorta (0,7 m. prieš 1,6 m., p = 0,003, 11 pav.).



11 pav. Išgyvenamumas be ligos progresavimo taikant pirmos eilės sisteminį gydymą abiraterono acetatu lignoniams, sergantiems metastatiniu kastracijai atspariu prostatos vėžiu. Juoda kreivė žymi DDR(+) grupės tiriamuosius, pilka kreivė – DDR(-) grupės tiriamuosius. Santrumpos: DDR – DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*; AA – abiraterono acetatas.

DDR(+)A grupė taip pat buvo susijusi su reikšmingai trumpesniu atsako laiku be ligos progresavimo, palyginti su DDR(-) pacientais (0,7 m. prieš 1,6 m., $p = 0,025$, 12 pav.).



12 pav. Išgyvenamumas be ligos progresavimo taikant pirmos eilės sisteminį gydymą abiraterono acetatu lignoniams, sergantiems metastatiniu kastracijai atspariu prostatos vėžiu. Juoda kreivė žymi DDR(+)+A grupės tiriamuosius, pilka kreivė – DDR(-) grupės tiriamuosius. Santrumpos: DDR – DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*; AA – abiraterono acetatas.

Šiuo atveju, vienalypėje ir daugialypėje Cox regresijos analizėje trumpesnio atsako į pirmos eilės sisteminį gydymą AA pagrindiniai rodikliai abiejų grupių atvejais buvo mutacijos ir PSA koncentracija prieš gydymą (7 lentelė). DDR(+) ir DDR(+)*A* grupės mutacijos turėjo reikšmingą įtaką išgyvenamumui be ligos progresavimo kaip nepriklausomi kintamieji (HR = 2,72; 95 % CI: 1,39–5,33, p = 0,003; HR = 2,72; 95 % CI: 1,14–6,50, p = 0,025, atitinkamai), o DDR(+) grupės mutacijos – ir visų kintamųjų sudėtyje (HR = 2,43; 95 % CI: 1,23–4,83, p = 0,011), stebint tendenciją DDR(+)*A* grupėje (HR = 2,25; 95 % CI: 0,92–5,49, p = 0,076).

Visos imties vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo, taikant AA kaip antros eilės sisteminį gydymą, buvo 1,5 m. (95 % CI: 0,9–2,1 m.), o vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo DDR(+) ir DDR(-) grupėse buvo 1,7 m. (95 % CI: 0,8–2,6 m.) ir 1,4 m. (95 % CI: 0,8–2,1 m.) atitinkamai, p > 0,05. Priešingai negu taikant pirmos eilės gydymą AA, šiuo atveju mutacijos nebuvo reikšmingas veiksnys prastam atsakui į antros eilės sisteminį gydymą AA (HR = 0,9; 95 % CI: 0,4–2,0, p = 0,78).

Taikant chemoterapiją docetakseliu, kaip pirmos ir antros eilės sisteminį gydymą, statistiškai reikšmingų skirtumų tarp DDR(+) ir DDR(-) grupių nestebėta (p > 0,05).

4.1.8. Gydymas radžio-223 dichlorido terapija

Radžio-223 dichlorido sisteminė terapija buvo skirta 7 pacientams DDR(+) grupėje (iš jų – 5 DDR(+)*A* grupėje) ir 16 pacientų DDR(-) grupėje. Vertinant pagal konkrečias mutacijas: 2 pacientams su *CHEK2* geno mutacijomis ir 5 pacientams su *BRCA1* arba *BRCA2* geno mutacijomis. Pacientų klinikinės charakteristikos ir vertintas gydymo atsakas pavaizduoti 8 lentelėje.

Po trijų arba šešių kaulų specifinio gydymo ciklų, vidutinės ŠF reikšmės (naudotos sisteminės terapijos efektui įvertinti) buvo panašios tiek DDR(+), tiek DDR(+)*A* grupėse. Vis dėlto, specifinio gydymo pabaigoje tarp grupių stebėta tendencija – DDR(+)*A* grupė atskleidė prastesnį atsaką vertinant radiologinį progresavimą kaulų scintigrafijoje, lyginant su mutacijų neturinčia grupe (DDR(-), p = 0,11). Analizuojant detaliau, gydymo atsakas buvo vertintas teigiamai tik 40 % (2 iš 5) DDR(+)*A* grupės pacientų, kai tuo tarpu ši procentinė išraiška siekė 57 % DDR(+) grupėje (4 iš 7) ir net 81 % DDR(-) grupėje (13 iš 16).

8 lentelė. Pacientų charakteristikos ir gydymo atsakas, kuriems buvo skirta Ra-223 dichlorido terapija: DDR(-) palyginus su DDR(+) grupe ir DDR(-) su DDR(+)A grupe.

Kintamasis	DDR(-) n = 16	DDR(+) n = 7	p ¹ reikšmė	DDR(+) n = 5	p ² reikšmė
Amžius Ra-223 terapijos metu, metai (mediana, IQR)	73 (68–80)	71 (67–78)	0,413	71 (68–75)	0,660
PSA koncentracija, ng/ml (mediana, IQR)	115 (29–428)	46 (18–85)	0,198	46 (62–80)	0,445
Pradinė ŠF koncentracija, U/L (mediana, IQR)	121 (92–246)	108 (78–179)	0,579	137 (90–257)	> 0,999
Metastazės kaulų scintigrafijoje					
prieš Ra-223 terapiją					
< 6; n (%)	1 (6)	0 (0)		0 (0)	
6–20; n (%)	6 (38)	5 (71)	0,448	4 (80)	0,558
>21; n (%)	5 (21)	2 (29)		1 (20)	
Superscan ⁺ ; n (%)	4 (25)	0 (0)		0 (0)	
PSA koncentracija po trijų Ra-223 gydymo ciklų, ng/ml					
Mediana (IQR)	70 (44–465)	25 (20–123)	0,173	70 (23–128)	0,412
Nežinomas; n (%)	3 (19)	2 (29)		1 (20)	
PSA atsakas po trijų Ra-223 gydymo ciklų					
Padidėjimas ≤ 10 %; n (%)	3 (19)	2 (29)	0,580	1 (20)	> 0,999
Padidėjimas > 10 %; n (%)	10 (63)	3 (43)		3 (60)	
Nežinomas; n (%)	3 (19)	2 (29)		1 (20)	
PSA koncentracija po šešių Ra-223 gydymo ciklų, ng/ml					
Mediana (IQR)	167 (75–735)	161 (21–182)	0,267	161 (16–200)	0,555
Nežinomas; n (%)	5 (31)	2 (29)		2 (40)	
PSA atsakas po šešių Ra-223 gydymo ciklų					
Padidėjimas > 10 %; n (%)	1 (6)	2 (29)	0,222	1 (20)	0,427
Padidėjimas ≤ 10 %; n (%)	12 (75)	4 (57)		3 (60)	
Nežinomas; n (%)	3 (19)	1 (14)		1 (20)	

Kintamasis	DDR(-) n = 16	DDR(+) n = 7	p ¹ reikšmė	DDR(+) n = 5	p ² reikšmė
ŠF koncentracija po trijų Ra-223 gydymo ciklų, U/L					
Mediana (IQR)	83 (69–126)	95 (60–125)	0,671	111 (52–206)	0,842
ŠF atsakas po trijų Ra-223 gydymo ciklų					
Sumažėjimas ≥ 30 %; n (%)	10 (62)	3 (43)	0,650	3 (60)	> 0,999
Sumažėjimas < 30 %; n (%)	6 (38)	4 (57)		2 (40)	
ŠF koncentracija po šešių Ra-223 gydymo ciklų, U/L					
Mediana (IQR)	70 (51–96)	52 (46–88)	0,703	49 (42–91)	0,611
Nežinomas; n (%)	3 (19)	2 (29)		2 (40)	
ŠF atsakas po šešių Ra-223 gydymo ciklų					
Sumažėjimas ≥ 30 %; n (%)	8 (50)	4 (43)	> 0,999	3 (60)	> 0,999
Sumažėjimas < 10 %; n (%)	8 (50)	3 (57)		2 (40)	
Atsakas į Ra-223 terapiją remiantis kaulų scintigrafija					
Teigiamas; n (%)	13 (81)	4 (57)	0,319	2 (40)	0,115
Neigiamas; n (%)	3 (19)	3 (43)		3 (60)	

*„superscan“ – kaulų scintigrafijoje matomi dauginiai difuziniai radioaktyvaus žymens telkimosi židiniai visuose kauluose.

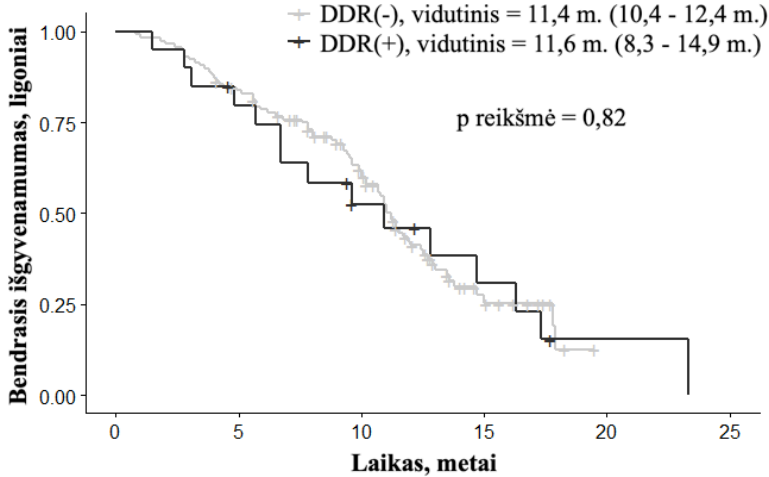
p¹ reikšmė – apskaičiuota DDR(-) grupę palyginus su DDR(+) grupe.

p² reikšmė – apskaičiuota DDR(-) grupę palyginus su DDR(+)_A grupe.

Santrumpos: DDR – DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*; IQR – tarpkvartilinis plotis, angl. *interquartile range*; PSA – prostatos specifinis antigenas; ŠF – šarminė fosfatazė.

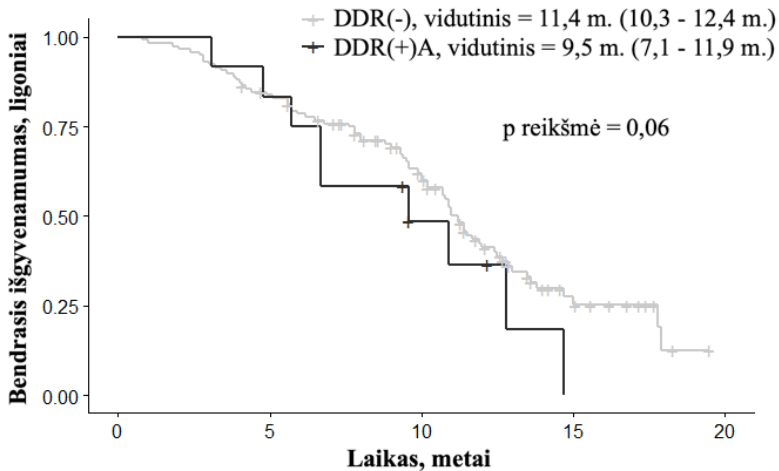
4.1.9. Bendrasis išgyvenamumas

Galiausiai, atliekant išeičių analizę, vertinta mutacijų įtaka bendrajam sergančiųjų išgyvenamumui – laikui nuo PV diagnozės pradžios iki mirties dėl bet kokios priežasties. Vidutinis bendrasis pacientų išgyvenamumas buvo 11,2 (95 % CI: 10,2–12,2) metų. Lyginant DDR(+) ir DDR(-) grupes, vidutinis bendrasis išgyvenamumas buvo panašus, statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nestebėta: 11,6 m. (95 % CI: 10,4–12,4) prieš 11,4 m. (95 % CI: 8,3–14,9 m.), $p = 0,82$ (13 pav.).



13 pav. Bendrasis išgyvenamumas – laikas nuo prostatos vėžio diagnozės pradžios iki mirties dėl bet kokios priežasties. Juoda kreivė žymi DDR(+) grupės tiriamuosius, pilka kreivė – DDR(-) grupės tiriamuosius. Santrumpos: DDR – DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*.

Tuo tarpu DDR(+)^A grupės pacientams buvo stebėta tendencija dėl blogesnio vidutinio bendrojo išgyvenamumo: 9,5 m. (95 % CI: 7,1–11,9) palyginti su 11,4 m. (95 % CI: 10,3–12,4) DDR(-) grupėje, $p = 0,06$ (14 pav.). Nors vienalypės ir daugialypės Cox regresijos analizės modeliai atskleidė, kad tiek DDR(+), tiek DDR(+)^A grupėse cISUP balas ir anksčiau taikytas radikalus gydymas yra nepriklausomi bendrojo išgyvenamumo prognostiniai veiksniai, DDR(+)^A grupės genų mutacijos taip pat parodė žalingą įtaką bendrajam pacientų išgyvenamumui (HR = 2,0, 95 % CI: 1,0–4,2, $p = 0,058$) esant visų kintamųjų sudėtyje (7 lentelė).



14 pav. Bendrasis išgyvenamumas – laikas nuo prostatos vėžio diagnozės pradžios iki mirties dėl bet kokios priežasties. Juoda kreivė žymi DDR(+)/A grupės tiriamuosius, pilka kreivė – DDR(-) grupės tiriamuosius. Santrumpos: DDR – DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*.

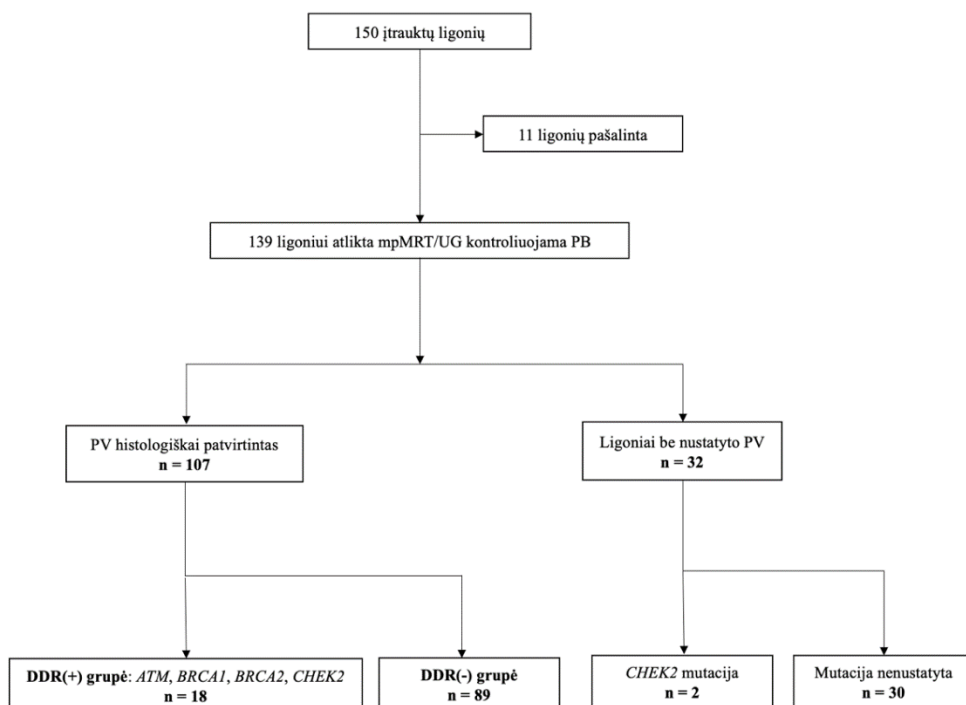
4.2. Lokalaus prostatos vėžio tyrimai

4.2.1. Imtis ir analizuoti tiriamieji

Į mokslinio tyrimo antrąją dalį NVI buvo įtraukta iš viso 150 pacientų, kuriems dėl prostatos mpMRT radinių (balas ≥ 3 pagal PI-RADS v2.1 vertinimo sistemą) bei remiantis kitais duomenimis (klinikiniai duomenys ir / ar PSA > 3 ng/ml) numatoma atlikti PB.

Jiems buvo surinkti kraujo mėginiai. Dėl klinikinių priežasčių ar kraujo mėginių kiekybinių trūkumų ($n = 11$) toliau buvo analizuoti 139 ligoniai, kuriems atlikta mpMRT / UG kontroliuojama PB. Iš 139 pacientų, didžiąjai daliai PV patvirtintas histologiškai ($n = 107$), o likusieji, kuriems vėžys nenustatytas ($n = 32$) – pasitelkti kaip kontrolinė grupė.

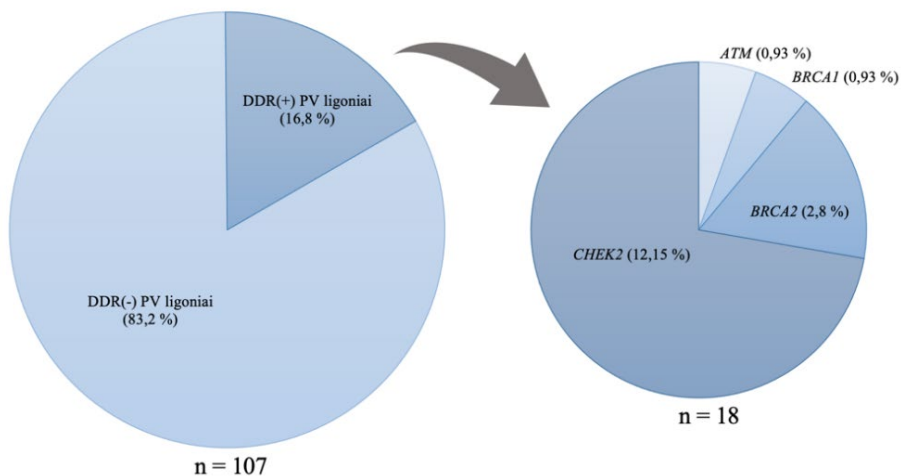
Pacientai, analogiškai kaip ir pažengusio PV imtyje, buvo priskirti DDR(+)/A grupei ir DDR(-) grupei. Tyrimo schema vaizduojama 15 pav.



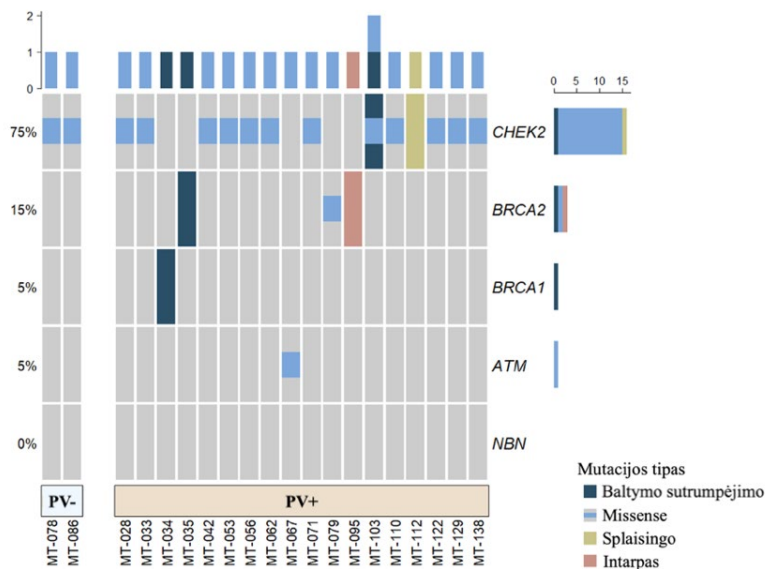
15 pav. Schema vaizduojanti į lokalaus PV tyrimą įtrauktų ligonių grupės. Santrumpos: mpMRT – multiparametrinio magnetinio rezonanso tomografija; UG – ultragarsas; PB – prostatos biopsija; PV – prostatos vėžys; DDR – DNR pažeidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*.

4.2.2. Mutacijų dažnis lokalaus prostatos vėžio grupėje

Panaudojus NKS, buvo ištirtos specifiskai pasirinktų DPA kelio genų (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ir *NBN*) mutacijos. Iš visų 139 atvejų, 14,4 % (n = 20) tiriamųjų kraujyje buvo nustatytos mutacijos (15 pav.). *NBN* geno mutacija nebuvo nustatyta nei viename iš tirtų atvejų. PV sergančių ligonių su mutacijomis bendras procentas siekė 16,8 % (18 / 107), o viso buvo rasta 19 DPA kelio genų mutacijų, kadangi 1 PV sergančiam pacientui buvo rasti 2 *CHEK2* geno pakitimai: *CHEK2* c.470T>C ir *CHEK2* c.1100delC. Bendrai, tarp PV sergančių ligonių, *ATM* mutacija nustatyta 1 PV pacientui (0,93 %), *BRCA1* – taip pat 1 (0,93 %), *BRCA2* – 3 (2,8 %), *CHEK2* – 13 (12,15 %). *CHEK2* mutacija rasta ir 2 pacientams, kuriems nebuvo histologiškai verifikuotas PV (2 / 32, 6,2 %). PV sergančių pacientų (mutacijas turinčių ir be genetinių mutacijų) bendra, ir pagal kiekvieną tirtą geną, procentinė išraiška pavaizduota 16 pav. Visų tiriamųjų mėginiai tik su mutacijomis pavaizduoti 17 pav.



16 pav. Prostatos vėžiui sergančių pacientų, su DNR pažeidų atsako kelio genų mutacijomis ir be jų, procentinė išraiška: bendra ir pagal kiekvieną specifiškai tirtą geną. Santrumpos: DDR – DNR pažeidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*; PV – prostatos vėžys.



17 pav. Genetinės mutacijos aptiktos leukocitų mėginiuose ligoniams su nustatytu (PV+) ir nenustatytu (PV-) prostatos vėžiu. Paveiksle parodyti tik pacientų su mutacijomis mėginiai (18 iš 107 pacientų PV+ grupėje ir 2 iš 32 PV- grupėje). Santrumpos: PV+ – prostatos vėžys histologiškai verifikuotas; PV- – prostatos vėžys nenustatytas.

4.2.3. Mutacijų sąsaja su klinikiniais, radiologiniais ir pataloginiais rodikliais

Pacientams, sergantiems PV ($n = 107$), mpMRT nustatyti PI-RADS balai nuo 3 iki 5, vyraujant PI-RADS 4 balui ($67 / 107$, 62,62 %). Taip pat buvo stebėtos skirtingos cISUP balo grupės: labiausiai paplitusi cISUP balo grupė buvo – 1 ($68 / 107$, 63,55 %), po jos sekė – 2 ($24 / 107$, 22,43 %), 3 ($11 / 107$, 10,28 %) ir 4 ($4 / 107$, 3,74 %) grupės. Pagal EAU rizikos grupes (46), pacientams, sergantiems PV, dažniausiai nustatyta žemos rizikos liga: 58 / 107, 54,20 %. Vidutinės ir aukštos rizikos ligos nustatytos atitinkamai 44 (41,12 %) ir 5 (4,68 %) pacientams. Bendrosios tiriamųjų su nustatytu PV ($n = 107$) klinikinės, radiologinės ir pataloginės charakteristikos nurodytos 9 lentelėje, kurioje pacientai suskirstyti į turinčius DPA kelio genų mutacijas ($n = 18$) – DDR(+) ir neturinčius šių mutacijų ($n = 89$) – DDR(-).

9 lentelė. Lokalaus PV tiriamųjų klinikinės, pataloginės ir prostatos mpMRT charakteristikos.

Rodiklis	DDR(+), n = 18	DDR(-), n = 89	p reikšmė
Amžius PV diagnozės metu, metais	61,56 (\pm 5,66)	63,69 (\pm 7,70)	0,268
Vidurkis (\pm SD)			
PSA PV diagnozės metu, ng/ml	5,79 (4,31)	5,90 (3,73)	0,739
Mediana (IQR)			
PT, ml	55,77 (50,57)	44,16 (20,63)	0,057
Mediana (IQR)			
PSAT	0,11 (0,07)	0,14 (0,12)	0,170
Mediana (IQR)			
cISUP balas			
< 3, n (%)	15 (83,33 %)	77 (86,62 %)	0,714
\geq 3, n (%)	3 (16,67 %)	12 (13,48 %)	
Prostatos mpMRT nustatytas balas pagal PI-RADS v2.1 vertinimo sistemą			
PI-RADS 3; n (%)	0 (0,00 %)	4 (4,50 %)	1,000
PI-RADS 4; n (%)	12 (66,66 %)	55 (61,79 %)	
PI-RADS 5; n (%)	6 (33,34 %)	30 (33,70 %)	

Rodiklis	DDR(+), n = 18	DDR(-), n = 89	p reikšmė
Rizikos grupės pagal EAU			
Žemos rizikos PV, n (%)	9 (50,00 %)	49 (55,06 %)	
Vidutinės ar aukštos rizikos PV, n (%)	9 (50,00 %)	40 (44,94 %)	0,694

Santrumpos: DDR – DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*; PV – prostatos vėžys; SD – standartinis nuokrypis, angl. *standard deviation*; PSA – prostatos specifinis antigenas; IQR – tarpkvartilinis plotis, angl. *interquartile range*; PT – prostatos tūris; PSAT – PSA tankis; ISUP – Tarptautinė urologinės patologijos draugija, angl. *International Society of Urological Pathology*; cISUP – klinikinis ISUP balas; mpMRT – multiparametrinio magnetinio rezonanso tomografija; PI-RADS – prostatos magnetinio rezonanso vaizdų ir pokyčių interpretavimo sistema, angl. *Prostate Imaging Reporting and Data System*; EAU – Europos urologų asociacija, angl. *European Association of Urology*.

Vertinant amžių, PSA, PSAT bei PT statistiškai reikšmingų skirtumų tarp DDR(+) ir DDR(-) grupių nestebėta. PV sergančių pacientų su DPA kelio genų mutacijomis (n = 18) amžiaus vidurkis buvo 61,56 m., lyginant su PV sergančių ligonių vidurkiu (63,69 m.) be nustatytų mutacijų (n = 89), p = 0,286 (8 lentelė). Taip pat vertinta PSA koncentracija PV diagnozės metu: 5,79 ng/ml ir 5,90 ng/ml, atitinkamai, p = 0,739, bei PSA tankis 0,11 ir 0,14, atitinkamai, p = 0,170 (8 lentelė). PV DDR(+) tiriamųjų grupėje PT buvo 55,77 ml prieš 44,16 ml DDR(-) grupėje, p = 0,057 (8 lentelė).

Vertinant histologinius rezultatus, bet kurios tirtų DPA kelio genų mutacijos paplitimas skirtinguose cISUP balų grupėse svyravo nuo 12,50 % iki 25,00 %, o didžiausias procentas stebėtas cISUP 4 grupėje, nors ir nei vienam iš tirtų pacientų nebuvo nustatytas cISUP 5 balas – detalus cISUP balų pasiskirstymas tarp sergančiųjų PV pavaizduotas 10 lentelėje. Mutacijas turinčių tiriamųjų grupėje cISUP balo ≥ 3 PV atvejų kiekis siekė 16,67 % palyginti su 13,48 % mutacijų neturinčia grupe, tačiau statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nenustatyta, p = 0,714 (8 lentelė).

10 lentelė. PV pacientų su DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijomis paplitimas pagal cISUP balą.

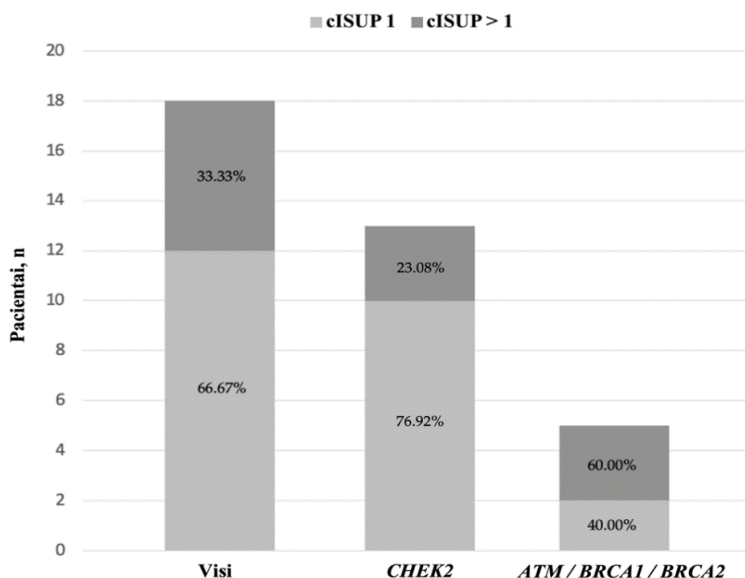
cISUP balas	Bet kuri rasta DNR pažaidų atsako kelio genų mutacija		
	Dažnis (%)	95 % CI	n / Viso
1	17,64 %	0,09–0,29	12 / 68
2	12,50 %	0,03–0,32	3 / 24
3	18,18 %	0,02–0,52	2 / 11

cISUP balas	Bet kuri rasta DNR pažaidų atsako kelio genų mutacija		
	Dažnis (%)	95 % CI	n / Viso
4	25,00 %	0,01–0,81	1 / 4
5	0,00 %	0,00–1,00	0 / 0

p reikšmė = 0,781

Santrumpos: ISUP – Tarptautinė urologinės patologijos draugija, angl. *International Society of Urological Pathology*; cISUP – klinikinis ISUP balas; CI – pasikliautinis intervalas, angl. *confidence interval*.

Atlikus cISUP balų palyginimą tarp *ATM / BRCA1 / BRCA2* mutacijų nešiotojų bei *CHEK2* mutacijų nešiotojų ir visų mutacijas turinčių pacientų, statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nestebėta. Lyginant *ATM / BRCA1 / BRCA2* mutacijų nešiotojus (n = 5) su *CHEK2* mutacijų nešiotojais (n = 13), cISUP > 1 ligos atžvilgiu, procentinė išraiška buvo 60,00 % prieš 23,08 %, p = 0,27, atitinkamai, o lyginant *ATM / BRCA1 / BRCA2* nešiotojus su visais mutacijas turinčiais PV ligoniais (n = 18) – 60,00 % prieš 33,33 %, p = 0,34. PV sergančių ir mutacijas turinčių tiriamųjų dažnis pagal skirtingas cISUP balo grupes pavaizduotas stulpelinėse diagramose 18 pav.



18 pav. Stulpelinės diagramos, rodančios dažnį procentais tarp visų mutacijas turinčių prostatos vėžio sergančių pacientų, atskirai *CHEK2* nešiotojų ir *ATM / BRCA1 / BRCA2* nešiotojų pagal cISUP balo grupes (cISUP > 1 prieš cISUP = 1). Santrumpos: ISUP – Tarptautinė urologinės patologijos draugija, angl. *International Society of Urological Pathology*; cISUP – klinikinis ISUP balas.

Suskirsčius ligonius į mažos ir vidutinės / aukštos rizikos PV pagal *EAU* biocheminio atkryčio rizikos grupes (46), statistiškai reikšmingų skirtumų tarp tirtų lokalaus PV DDR(+) ir DDR(-) grupių nestebėta, bendras procentas tiriamųjų su mutacijomis žemos PV rizikos grupėje beveik nesiskyrė: 50,00 % prieš 55,06 %, o vidutinės ar aukštos rizikos grupėje – 50,00 % prieš 44,95 %, $p = 0,69$ (8 lentelė).

Nei vienam iš pacientų su DPA kelio genų mutacijomis prieš biopsiją prostatos mpMRT nebuvo nustatytas PI-RADS 3 balas (palyginti su 4,5 % DDR(-) grupėje). Dažniausias PI-RADS balas tarp mutacijas turinčių pacientų buvo – 4 (12 / 18; 66,66 %, 8 lentelė). Detalus PI-RADS v2.1 balų pasiskirstymas tarp PV pacientų su mutacijomis pavaizduotas 11 lentelėje.

11 lentelė. Prostatos vėžiu sergančių pacientų su DNR pažaidų atsako kelio genų mutacijomis paplitimas pagal PI-RADS v2.1 balą.

PI-RADS v2.1	Bet kuri rasta DNR pažaidų atsako kelio geno mutacija		
	Dažnis (%)	95 % CI	n / Viso
3	0,0 %	0,00–0,60	0 / 4
4	17,91 %	0,10–0,29	12 / 67
5	16,67 %	0,06–0,33	6 / 36

p reikšmė = 0,649

Santrumpos: PI-RADS – prostatos magnetinio rezonanso vaizdų ir pokyčių interpretavimo sistema, angl. *Prostate Imaging Reporting and Data System*; CI – pasikliautinis intervalas, angl. *confidence interval*.

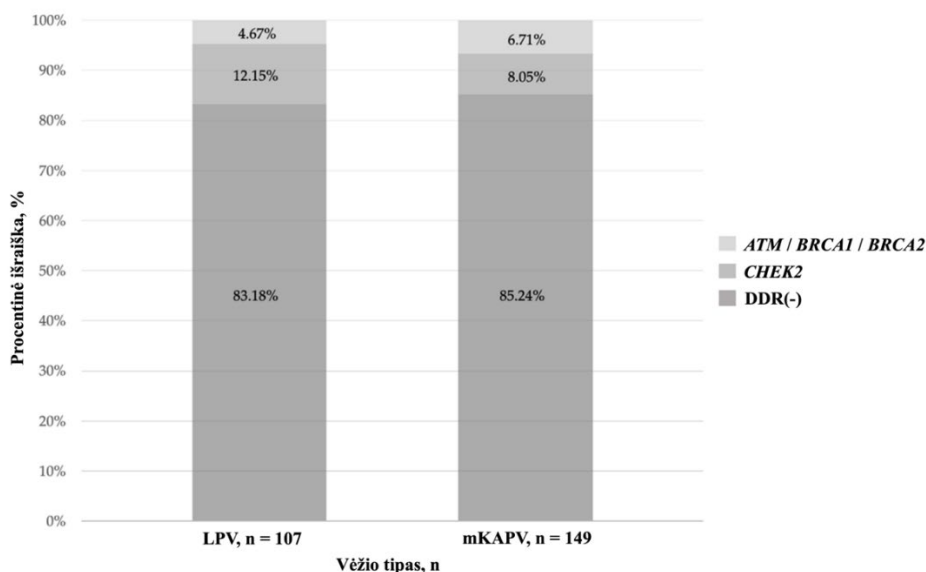
4.2.4. Mutacijos ir rizika susirgti prostatos vėžiu

Palyginus lokalaus PV tiriamųjų grupę su kontroline grupe, nustatyta, kad DPA kelio genų mutacijų nešiotojams buvo beveik 3 kartus didesnė PV rizika, palyginti su sveikais pacientais, kuriems mutacijos nenustatytos (OR 2,84; 95 % CI: 0,75–20,23; $p = 0,16$). Įvertinus *CHEK2* mutaciją atskirai – identifikuota PV rizika taip pat buvo didesnė (OR 1,95; 95 % CI: 0,49–14,18; $p = 0,51$). Dėl nedidelio DPA kelio genų mutacijų skaičiaus palyginimas nesiekė statistinio reikšmingumo.

4.3. Bendra pažengusio ir lokalaus prostatos vėžio analizė

4.3.1. Mutacijų dažnis kraujo mėginiuose

Mutacijų dažnių pasiskirstymo palyginimas pažengusio ir lokalaus PV imtyse vertintas tik kraujo mėginiuose, kadangi lokalaus PV grupėje dėl finansavimo stokos šlapimo DNR nebuvo tiriama. Į palyginimą neįtraukta *NRN* mutacija, kuri nebuvo rasta nei vienam iš pacientų lokalaus PV grupėje. Taigi, 22 iš 149 mKAPV pacientų (14,8 %) buvo nustatyta *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2* arba *CHEK2* DPA kelio genų mutacija ir tai buvo šiek tiek mažiau nei lokalaus PV grupėje (16,8 %, 18 / 107). Detalus palyginimas pateiktas 19 pav.

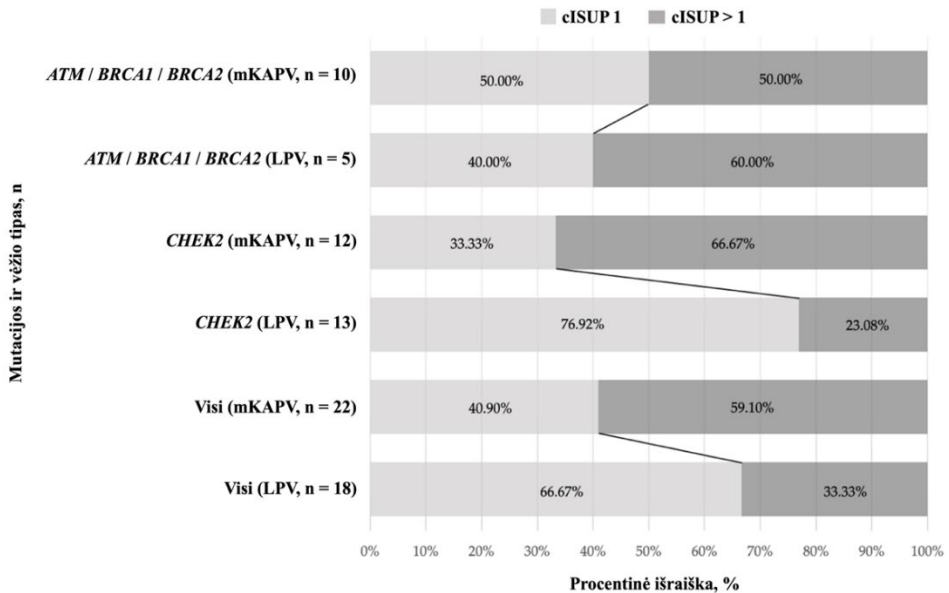


19 pav. Stulpelinės diagramos (išraiška procentais), rodančios DDR(-) ir DDR(+) grupių pacientų (*ATM / BRCA1 / BRCA2* ir *CHEK2* nešiotųjų) paplitimą pagal vėžio tipą ir tiriamųjų skaičių. Santrumpos: LPV – lokalus prostatos vėžys; mKAPV – metastatinis kastracijai atsparus prostatos vėžys; DDR – DNR pažeidimų atsako kelio genų mutacijos, angl. *DNA damage response pathway gene mutations*.

4.3.2. Mutacijų sąsajos su amžiumi ir histologiniais rodikliais

ATM / BRCA1 / BRCA2 mutacijų nešiotųjų amžius lyginant tarp lokalaus PV ir pažengusio PV kohortų buvo 61,20 prieš 68,30 m., atitinkamai, $p = 0,06$. Bendras mutacijų kiekis procentais sergant cISUP > 1 liga tarp mKAPV tiriamųjų buvo 59,10 %, palyginus su lokalaus PV 33,33 %, nors statistškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nestebėta ($p = 0,13$). *ATM / BRCA1 / BRCA2*

mutacijų nešiotojai buvo beveik vienodai pasiskirstę tarp cISUP 1 ir cISUP > 1 ligų abiejose grupėse ($p > 0,05$). cISUP > 1 balo grupės pacientų, turinčių *CHEK2* mutaciją, skaičius buvo statistiškai reikšmingai didesnis pažengusio PV ligonių grupėje, palyginti su lokaliu PV: atitinkamai 66,67 % ir 23,08 %, $p = 0,047$. Detalus abiejų grupių histologinių rezultatų palyginimas pavaizduotas 20 pav.



20 pav. Stulpelinės diagramos (išraiška procentais), rodančios mutacijų paplitimą tarp *ATM / BRCA1 / BRCA2* nešiotojų, *CHEK2* nešiotojų ir bendrai – visų mutacijas genuose turinčių pacientų, pagal cISUP balą (sergant skirtingais vėžio tipais, n). Santrumpos: LPV – lokalus prostatos vėžys; mKAPV – metastatinis kastracijai atsparus prostatos vėžys; ISUP – Tarptautinė urologinės patologijos draugija, angl. *International Society of Urological Pathology*; cISUP – klinikinis ISUP balas.

5. REZULTATŲ APTARIMAS

5.1. Pažengusio prostatos vėžio grupė

Pažengęs PV yra kliniškai įvairiapusė liga, turinti įvairių terapinių gydymo galimybių. Vis dėlto, parinkti tinkamiausią gydymą skirtingose klinikinėse situacijose yra didelis iššūkis, ypač esant didžiausią mirtingumą turinčiai ligos formai – mKAPV. Pasitelkus naujos kartos technologijas, tokias kaip NKS, galima identifikuoti pacientų genetinį mutacijų profilį skysčių biopsijose, taip randant agresyvesnės ligos formas ir siekiant parinkti tinkamesnę ir labiau pritaikytą gydymą pacientams.

Remiantis literatūra, pacientų, turinčių DPA kelio genų germinacines mutacijas, dažnis siekia iki 11,8 % tarp sergančiųjų metastatine (74,155) liga, tačiau jis gali būti ir ženkliai didesnis – 15,4 % (23 / 149), kaip buvo nustatyta mūsų tyrime, ištyrus pažengusio PV kraujo mėginius. Palyginimui, somatinių mutacijų paplitimas gali siekti iki 13,2 % sergant mKAPV (74,177). Šlapimas, kaip neinvazinė skysčių biopsijos forma, yra idealus biologinis mėginys, kurį galima rinkti dažnai, dideliais kiekiais, nesukeliant pacientui diskomforto. Mūsų tyrime, naudojant šlapimo mėginius, germinacinės arba somatinės DPA kelio genų mutacijos buvo nustatytos 16,6 % (23 / 139) mKAPV atvejų. Nors mutacijų analizė šlapime jau buvo pasiūlyta kaip diagnostinis PV tyrimas (178), trūksta išsamių duomenų apie germinacinių ir / ar somatinių mutacijų skaičių šlapimo mėginiuose mKAPV atvejais. Mūsų tyrime, naudojant NKS, mKAPV pacientams be germinacinių mutacijų, šlapime buvo papildomai nustatytos 7 somatinės mutacijos. Lyginant rastas mutacijas atskirai, šlapime iš viso buvo nustatytos 26 mutacijos (1 pacientas su *BRCA1* ir *ATM* mutacija, 2 ligoniams *BRCA2* ir *CHEK2* mutacijų derinys) 23 pacientams – iš kurių *CHEK2* geno mutacijos buvo dažniausios ir sudarė 7,9 %. Pastarojo geno mutacijų paplitimas, rastas mūsų tyrime, yra ženkliai didesnis, lyginant su kitų studijų rezultatais – 1,9–4,1 % (87,127,138). Antra pagal dažnį rasta mutacija tyrime buvo *ATM*, kuri sudarė 4,3 %, o tai buvo taip pat daugiau, nei kitų autorių duomenimis: 1,6–4,0 % (87,179). Tuo tarpu *BRCA1* ir *BRCA2* mutacijos mūsų tyrime sudarė po 2,8 %: *BRCA1* paplitimas buvo didesnis, lyginant su kitomis studijomis: 0,9–2,0 % (87,155), o *BRCA2* beveik panašus ar mažesnis: 3,3–5,3 % (87,177). Galiausiai, *NBN* geno mutacija mūsų tyrime buvo aptikta rečiausiai, ji identifikuota 1 pacientui (0,7 %) ir tai buvo šiek tiek daugiau, nei E. Hansen ir bendraautorių duomenimis – 0,5 % (180).

PV pacientų, turinčių DPA kelio genų mutacijų, liga yra agresyvesnės eigos ir prastesnės prognozės (75,76,88,90,107,109–111,138,149,181). Mokslinės studijos taip pat nurodo, kad remiantis sintetinio letalumo

mechanizmu, jiems gali būti labiau tinkamas gydymas PARP inhibitoriais (155–166). Remiantis šiuo mechanizmu, pacientai, turintys DPA kelio genų mutacijų, taip pat gali gauti didesnę klinikinę naudą taikant ir kitą sisteminį gydymą, kuris tiesiogiai veikia DNR, pavyzdžiui, chemoterapiją platinos (o ne taksanų) pagrindu (182–184) arba į kaulus nukreiptą radžio-223 dichlorido terapiją (185,186). Tai patvirtina idėją, kad taikymasis į skirtingus ląstelės atsako kelius (ląstelės ciklą, apoptozę, DNR taisymą) gali būti naudingas gerinant gydymo atsaką PV pacientams su mutacijomis.

Disertacijoje aprašytame tyrime pateikiamas išsamus klinikinis atsakas į įvairius pažengusio PV gydymo būdus visuose ligos etapuose – nuo ilgalaikės ADT hormonams jautrioje PV fazėje iki specifinės kaulų terapijos esant metastazėms, taip pateikiant išsamią, pacientų su DPA kelio genų mutacijomis, ligos progresijos eigą. Remiantis mūsų duomenimis, DDR(+)-A mutacijų nešiotojai parodė reikšmingą – 1,8 k. – trumpesnį atsaką be ligos progresavimo į ilgalaikę ADT hormonams jautrioje fazėje. Taip pat, tiek DDR(+), tiek DDR(+)-A grupėse atitinkamai 2,0 ir 2,3 karto, buvo stebėtas reikšmingai trumpesnis atsakas į pirmos eilės sisteminį gydymą (chemoterapija docetakseliu / AA) ir 2,3 karto (abiejose grupėse) į pirmos eilės sisteminį gydymą AA, vertinant išgyvenamumą be ligos progresavimo metastatinės ligos atvejais. Cox regresijos modeliai mūsų tyrime patvirtino, kad mutacijos ir yra kintamieji, kurie turi reikšmingos įtakos trumpesniam atsakui. Mūsų rezultatai atitinka M. Annala ir bendraautorių duomenis (187), kad ADT ir naujos kartos antiandrogenų efektyvumas pacientams su DPA kelio genų mutacijomis yra prastesnis. Be to, mūsų tyrimas parodė geresnį mutacijų nešiotojų atsaką į AA, kai jis buvo skiriamas po chemoterapijos docetakselio pagrindu, nors statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvo stebėta. Radžio-223 dichlorido terapijos efektas mūsų tyrime taip pat buvo prastesnis DDR(+)-A grupėje, vertinant atsaką kaulų scintigrafijoje, o vidutinės ŠF reikšmės beveik nesiskyrė tarp mutacijų nešiotojų ir pacientų be mutacijų, tačiau kituose tyrimuose (186,188) publikuoti duomenys rodo, kad šis, į kaulus nukreiptas specifinis gydymas, gali būti labiau tinkamas pacientams su mutacijomis. DDR(+)-A grupės mutacijos Cox regresijos analizėje parodė žalingą įtaką bendrajam pacientų išgyvenamumui, o tai patvirtina daugelio kitų (90,107,134) studijų duomenis, kad DPA kelio genų mutacijos yra prastos prognozės rodiklis.

Visi mūsų pateikti rezultatai pažengusio PV tyrime, įskaitant santykinai greitą ligos progresavimą tarp mutacijų nešiotojų ir prastesnę prognozę, parodo genetinio testavimo naudą šiems pacientams, siekiant laiku nustatyti agresyvios eigos PV formas.

5.2. Lokalaus prostatos vėžio grupė

Kaip minėta anksčiau, PV pasižymi dideliu heterogeniškumu, nors lokaloje PV stadijoje standartiniai gydymo metodai yra dažnai gerai įsisavinti ir patvirtinti įvairiomis urologinėmis gairėmis visame pasaulyje. Nepaisant to, šioje ligos stadijoje, išlieka didelis žinių trūkumas apie efektyviausius sekimo ar gydymo metodus pacientams su DPA kelio genų mutacijomis. Kol neišsivysto kastracijai atspari ar išplitusi liga su tolimosiomis metastazėmis, stebėjimo ar specifinio gydymo pasirinkimas pacientams, turintiems mutacijas, išlieka ribotas.

Disertacijoje atlikome molekulinę genetinę analizę 139 vyrų kraujo mėginiuose, kuriems buvo atlikta mpMRT / UG kontroliuojama PB. Palyginti su kitų tokio pobūdžio tyrimų mutacijų dažniais (1,44 – 9,5 %) mokslinėje literatūroje (75–77), mes radome reikšmingą DPA kelio genų paplitimą tarp pacientų, sergančių lokaliu PV (16,8 %, 18 / 107). Taip pat atskleidėme, kad *CHEK2* mutacija buvo labiausiai paplitusi (12,15 %): 72,22 % (13 / 18) pažaidų turinčių pacientų turėjo *CHEK2* geno mutacijas, iš jų – 92,30 % (12 / 13) – c.470T>C, o *ATM* ir *BRCA1* / *BRCA2* sudarė 4,66 %. Remiantis mūsų rezultatais, galime teigti, kad patikrinus 1 iš 5 vyrų, sergančių lokaliu PV, greičiausiai būtų nustatyta bent 1 iš 5 tirtų mutacijų, o norint aptikti *ATM*, *BRCA1* arba *BRCA2* mutaciją 1 pacientui, reikėtų ištirti apie 20 vyrų. Mūsų tirtoje lokalaus PV grupėje nustatyta, kad *ATM* / *BRCA1* / *BRCA2* mutacijų paplitimas yra didesnis nei rastas R. Na ir bendraautorių (75) – 1,44 % bei atitinka C. Marshall ir bendraautorių (189) išvadas – 5,4 %. Lyginant šias mutacijas atskirai, su Europiečių populiacija iš didelės imties tyrimo, kurį atliko D. Lee ir bendraautoriai (190), nustatėme didesnę pažaidų dažnį *ATM* (0,93 % prieš 0,51 %), *BRCA1* (0,93 % prieš 0,77 %) bei *BRCA2* (2,8 % prieš 1,0 %) genuose.

Rizika susirgti PV esant DPA kelio genų mutacijų nešiotoju yra didesnė (91,102,103,119,120,130,134,145,148). Mūsų tyrime, rizika susirgti PV nesiekė statistinio reikšmingumo ($p > 0,05$), tačiau išanalizavus rezultatus DDR(+) grupėje rizika buvo beveik 3 kartus, o turintiems *CHEK2* mutaciją – beveik 2 kartus didesnė. Greičiausiai dėl mažų tiriamųjų pacientų skaičių mums nepavyko aptikti statistiškai reikšmingo PV rizikos skirtumo tarp mutacijas turinčių ir šių mutacijų neturinčių vyrų, visgi aukštas PV verifikavimo lygis, stebėtas tarp tirtų DPA kelio genų mutacijų nešiotojų, leidžia iškelti prielaidą, kad šios mutacijos gali ženkliai padidinti riziką susirgti PV. Atsižvelgiant į tai, bei su DPA kelio genų mutacijomis susijusias agresyvesnes ligos formas, sekant mutacijų nešiotojus su neigiamu PB

rezultatu reikėtų svarstyti galimybę ne tik šiems pacientams kartoti PSA, tačiau ir prostatos mpMRT.

Mūsų rezultatai neatskleidė statistiškai reikšmingų skirtumų tarp lokalaus PV mutacijas turinčių ir mutacijų neturinčių pacientų, vertinant amžių, PSA ar PSAT, nors DDR(+) PV grupėje pacientai buvo jaunesni ir su didesniu PT. Analizuojant skirtingas *EAU* vežio rizikos grupes (46) mes radome, kad procentas pacientų su mutacijomis buvo panašus vidutinės-aukštos ir žemos-rizikos grupėse. PV sergančių vyrų su mutacijomis *ATM / BRCA1 / BRCA2* genuose, buvo net 2,6 ir 1,8 karto daugiau su histologiškai agresyvesniu (> 1) cISUP balu, atitinkamai palyginus su *CHEK2* geno mutacijos nešiotojais ir visais mutacijas turinčiais pacientais, tačiau statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nestebėta. Mutacijas turinčių lokalaus PV pacientų grupėje cISUP balai buvo aukštesni, kai juos palyginome su C. H. Marshall ir bendraautorių (189) rezultatais ($p = 0,78$ prieš $p = 0,14$), nors mūsų imtyje cISUP 5 liga nebuvo verifikuota.

Mūsų žiniomis, literatūroje yra ribotas kiekis informacijos, susiejančios lokalaus PV DPA kelio genų mutacijas ir prostatos mpMRT radiologinius rezultatus. Kai patikrinome šią sąsają mūsų tyrime, naudojant PI-RADS v2.1 vertinimo sistemą, atskleidėme, kad pacientams su PI-RADS 4 ir 5 balais bet kokios iš tirtų mutacijų tikimybė siekė 17,47 %. Remiantis šiais duomenimis, galima teigti, kad beveik kas penktam pacientui, turinčiam PI-RADS 4 ar 5 balą būtų nustatyta bent 1 iš 5 tirtų mutacijų. Žinoma, šie rezultatai ginčytini dėl jų klinikinės naudos praktikoje, tačiau jie parodo potencialią naudą ateityje, kuomet skirtingos genetinio ištyrimo taktikos gali būti pritaikytos pacientams, su įtariamu PV.

Aukštas rastų mutacijų dažnis lokalaus PV imtyje parodo, kad šios mutacijos yra ankstyvas įvykis prostatos kancerogenezėje. Šie duomenys patvirtina, kad sėkmingai panaudojant skysčių biopsijas kaip tiriamąją medžiagą, svarbu yra tirti ne tik PV ligočius su sistemiškai išplitusia liga, tačiau ir sergančius lokaliu PV. Kadangi mutacijų turėjimas siejamas su agresyvesne liga, žinojimas ar pacientas turi genetinių DNR pažaidų ar ne, lokalaus PV stadijoje, gali būti itin svarbus ir reikalaujantis tikslesnių sprendimų įvairiose klinikinėse situacijose – pavyzdžiui, renkantis tarp aktyvaus stebėjimo ir radikalaus gydymo žemos-rizikos pacientams arba numatant paliatyvios radioterapijos laiką, kai yra nustatinėjama biocheminio progresavimo riba po radikaliios prostatektomijos ir daugelyje kitų. Mūsų rezultatai parodo genetinio ištyrimo naudą, pacientams, sergantiems lokaliu PV – optimizuoja galimas indikacijas, kurios turi būti geriau pritaikytos klinikinėje praktikoje. Be to, tiriant šiuos pacientus, germinacines mutacijas randame anksti, taip galėdami dalyvauti prevencijoje ir galimu onkologinės

ligos nustatymu tarp giminaičių (168). Literatūros duomenimis ketvirtadaliui mutacijas turinčių PV pacientų nenustatoma šeiminės ligos anamnezė (78), todėl yra naudinga rasti ir kitus kriterijus, rodančius genetinio ištyrimo svarbą.

5.3. Pažengusio ir lokalaus prostatos vėžio grupių palyginimas

Disertacijos tyrime mes palyginome pažengusio ir lokalaus PV mutacijas turinčių pacientų rezultatus. Į palyginimą buvo įtraukti tik kraujo mėginiai, kurie buvo rinkti abiejose grupėse. *NBN* mutacija į palyginimą nebuvo įtraukta, kadangi šio geno mutacijų lokalaus PV imtyje nebuvo identifikuota.

Abiejose grupėse buvo nustatytas aukštas *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2* arba *CHEK2* genų mutacijų procentas kraujo leukocituose (14,8 % mKAPV ir 16,8 % lokaliai PV), o tai rodo, kad rastos genų mutacijos tikriausiai yra ankstyvieji, agresyviai PV eigos, įvykiai.

Pažymėtina, kad *ATM* / *BRCA1* / *BRCA2* genų mutacijų nešiotojai buvo jaunesni lokalaus PV grupėje, palyginus su pažengusiu PV. Reikšmingai mažesniai daliai lokalaus PV pacientų, kuriems buvo nustatytos *CHEK2* geno mutacijos, verifikuotas didesnis (> 1) cISUP balas, palyginti su mKAPV pacientais. Šis rezultatas skatina tolesnius *CHEK2* geno mutacijų tyrimus, susijusius su agresyvia PV histologija įvairiuose ligos etapuose, ir gali suteikti naujų įžvalgų apie galimų aukštos-rizikos pacientų identifikavimą lokalaus PV stadijoje.

Nors tik pažengusio PV tyrime analizavome ir kraujo, ir šlapimo mėginius, tyrimas parodė, kad šlapimas yra patrauklesnė biologinė medžiaga DPA kelio genų mutacijų tyrimams, nes leidžia nustatyti ir paveldimas, ir somatinės mutacijas. Tai – neinvazinis tyrimas, mėginiai yra lengvai prieinami, jų surinkimas nesukelia pacientams diskomforto bei nereikalauja specialių patalpų ar medicinos personalo.

5.4. Biomedicininio tyrimo trūkumai

Tyrimo rezultatai atskleidė, kad mutacijų dažnis tiek pažengusio, tiek lokalaus PV grupėse buvo aukštas, tačiau mutacijas turinčių pacientų imtis išliko santykinai maža ir taip sumažino tyrimo statistinę galią. Į analizę buvo įtraukti 5 genai – keletas kitų DPA kelio genų taip pat yra susiję su PV rizika ir agresyvia PV eiga bei galėtų būti įtraukti į didesnės apimties tyrimą. Į analizę neįtraukėme tiriamųjų pacientų šeiminės vėžio anamnezės, nes daugeliu atvejų šeiminė anamnezė buvo ne iki galo išsami arba netiksli.

6. IŠVADOS

1. Sergančiųjų pažengusiu ir lokaliu PV leukocituose nustatomas aukštas DPA kelio genų (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*) mutacijų dažnis – 14,8 % (22 / 149) ir 16,8 % (18 / 107), atitinkamai, bei pažengusio PV šlapimo mėginiuose *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ir *NBN* mutacijų dažnis siekia 16,6 % (23 / 139).
2. Esant DPA kelio genų mutacijoms, pažengusiam PV būdinga agresyvesnė ligos eiga – vertinant prastesnį atsaką į gydymą ir blogesnius išgyvenamumo rodiklius – lyginant su ligoniais, neturinčiais šių genų mutacijų:
 - Vertinant atsaką į gydymą ADT hormonams jautrioje fazėje tarp *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* c.1100delC, *NBN* mutacijų nešiotojų – 1,8 k. trumpesnis už mutacijų neturinčių pacientų ($p = 0,022$).
 - Vertinant atsaką į pirmos eilės sisteminį gydymą (chemoterapija docetakseliu / AA) tarp *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN* ir *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* c.1100delC, *NBN* mutacijų nešiotojų – 2,0 ir 2,3 karto trumpesnis už mutacijų neturinčių pacientų ($p = 0,003$ ir $p = 0,005$, atitinkamai).
 - Vertinant atsaką į pirmos eilės sisteminį gydymą AA tarp *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN* ir *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* c.1100delC, *NBN* mutacijų nešiotojų – 2,3 karto (abiejose grupėse) trumpesnis už mutacijų neturinčių ligonių ($p = 0,003$ ir $p = 0,025$, atitinkamai).
 - Esant *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* (c.1100delC), *NBN* mutacijoms pacientų bendrasis išgyvenamumas yra 9,5 m. (95 % CI: 7,1–11,9), o neturint šių mutacijų – 11,4 m. (95 % CI: 10,3–12,4; $p = 0,06$).
3. Nors statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatyta, tyrimas rodo, kad esant *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* genų mutacijoms rizika susirgti lokaliu PV yra 3 kartus didesnė nei neturint šių genų mutacijų, be to, liga yra agresyvesnė, vertinant klinikinius, radiologinius ir histopatologinius duomenis.
4. Stebima tendencija, kad lokalaus PV imtyje *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2* mutacijų nešiotojai yra jaunesni, nei pažengusio PV imtyje ($p = 0,06$), o cISUP > 1 liga sergančių *CHEK2* mutacijų nešiotojų reikšmingai, 2,9 karto, daugiau pažengusio PV imtyje ($p = 0,047$).

7. REKOMENDACIJOS

- Prognozuojant agresyvią pažengusio PV klinikinę eigą rekomenduojama atlikti *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN* genų mutacijų tyrimus šlapimo nuosėdų DNR.
- Pacientams, sergantiems pažengusiu PV, identifikuotas mutacijas *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* (c.1100delC), *NBN* genuose rekomenduojama vertinti kaip nepriklausomą agresyvios eigos PV prognostinį rodiklį.
- Nustačius aukštos rizikos lokalų PV rekomenduojama tokius pacientus genetiškai ištirti dėl DPA kelio genų mutacijų, tokiu būdu ateityje siekiant optimizuoti šių pacientų gydymą.
- Siekiant nustatyti DPA kelio genų mutacijas PV sergantiems pacientams, kaip biologinę medžiagą rekomenduojama naudoti šlapimą.

8. PUBLIKACIJŲ IR PRANEŠIMŲ SĄRAŠAS

8.1. Straipsniai disertacijos tema

Januskevicius T, Sabaliauskaite R, Dabkeviciene D, Vaicekauskaite I, Kulikiene I, Sestokaite A, Vidrinskaite A, Bakavicius A, Jankevicius F, Ulys A, Jarmalaite S. Urinary DNA as a Tool for Germline and Somatic Mutation Detection in Castration-Resistant Prostate Cancer Patients. *Biomedicines*. 2023; 11(3):761. doi: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030761>.

Januskevicius T, Vaicekauskaite I, Sabaliauskaite R, Matulevicius A, Vezelis A, Ulys A, Jarmalaite S, Jankevicius F. Germline DNA Damage Response Gene Mutations in Localized Prostate Cancer. *Medicina*. 2024; 60(1):73. doi: <https://doi.org/10.3390/medicina60010073>.

8.2. Pranešimai disertacijos tema

Detection of DNA mutations in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. Management of *BRCA*-positive prostate cancer. **Januskevicius T**. EBU training 2021: Annual Interdisciplinary Localized and Advanced Prostate Cancer Conference. 2021 m. vasario 22–25 d. Vilnius, Lietuva.

DNA damage repair gene mutations and liquid biopsy in prostate cancer. **Januskevicius T**. EBU training 2022: Annual Interdisciplinary Localized and Advanced Prostate Cancer Conference. 2022 m. vasario 21–24 d. Vilnius, Lietuva.

Urine as a liquid biopsy for DNA damage repair genes mutation detection in advanced prostate cancer. **Januskevicius T**, Vaicekauskaite I, Dabkeviciene D, Sabaliauskaite R, Kulikiene I, Sestokaite A, Vidrinskaite A, Ulys A, Jarmalaite S, Bakavicius A, Jankevicius F. *Baltic22: 7th Baltic Meeting in conjunction with the EAU*. 2022 m. gegužės 27–28 d. Vilnius, Lietuva.

9. SUMMARY

ABBREVIATIONS

AA – abiraterone acetate

ADT – androgen deprivation therapy

ALP – alkaline phosphatase

ATM – Ataxia-telangiectasia mutated gene

BRCA1 – BReast CAncer 1 gene

BRCA2 – BReast CAncer 2 gene

CI – confidence interval

CHEK2 – Checkpoint kinase 2 gene

cISUP – clinical ISUP grade group

CRPC – castration-resistant prostate cancer

DDR – DNA damage response pathway genes

DNA – deoxyribonucleic acid

EAU – European Association of Urology

HR – hazard ratio

ISUP – International Society of Urological Pathology

IQR – interquartile range

mCRPC – metastatic castration-resistant prostate cancer

mpMRI – multiparametric-magnetic resonance imaging

NBN – Nibrin gene

NGS – next-generation sequencing

NCI – National Cancer Institute

OR – odds ratio

OS – overall survival

PB – prostate biopsy

PFS – progression-free survival

PI-RADS – Prostate Imaging Reporting and Data System

PSA – prostate-specific antigen

PSAD – PSA density

PCa – prostate cancer

PV – prostate volume

qPCR – quantitative polymerase chain reaction

TNM – TNM classification system (Tumor, Node, Metastasis)

US – ultrasound

Aim of the thesis

To evaluate the mutation prevalence in DNA damage response (DDR) pathway genes (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN*) in blood and/or urine samples and to assess the impact of these mutations on the clinical course of prostate cancer (PCa) in the advanced and localized setting.

Objectives of the thesis

1. To evaluate the profile and prevalence of mutations in DDR pathway genes (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN*) in advanced PCa patients' leucocytes along with urinary DNA and localized PCa patients' leucocytes DNA.
2. To determine the correlation between DDR pathway gene mutations and the response to treatment and overall survival (OS) of advanced PCa.
3. To determine the correlation between DDR pathway gene mutations and the clinical, radiological, and histopathological data of the localized PCa and PCa risk.
4. To compare age and histopathological results of advanced and localized PCa mutation-carriers groups.

Novelty and practical significance of the thesis

This study investigated mutations in DDR pathway genes (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN*) in two independent, well-characterized localized and advanced PCa cohorts. The results showed a high prevalence of these mutations in Lithuanian men with PCa in both groups, thus covering part of the Lithuanian PCa population at different stages of the disease. As most international guidelines do not yet explicitly identify specific PCa DDR genes to be included in PCa panels, the high frequency of PCa mutations found in our study confirms the importance of the five genes specifically analysed in PCa pathogenesis, which may help to select the most appropriate molecular PCa biomarker tests in the future.

The study assessed the impact of *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN* gene mutations in advanced – metastatic castration-resistant PCa (mCRPC) liquid biopsy samples. In this group, significant differences were mainly observed between carriers and non-carriers of advanced PCa mutations, in favour of the latter, based on progression-free survival (PFS) with different lines of systemic treatment, ranging from androgen deprivation therapy

(ADT) in the hormone-sensitive phase to radium-223 therapy in the presence of multiple metastases in the bones. Also, a trend towards worse OS was observed in advanced PCa patients with mutations. All these results predict that patients with mutations in the DDR genes are associated with an aggressive course of advanced PCa and poorer survival rates, with mutations being an innovative independent prognostic factor.

The cohort of the localized PCa assessed more aggressive PCa in patients with mutations in the analysed genes, taking into account clinical, radiological, and histopathological characteristics; we also found a higher risk of developing PCa in carriers of these specific mutations. Although significant differences in localized PCa cohort require analysis in more extensive studies, the high prevalence of DDR alterations in localized PCa observed in our study suggests that these mutations are probably an early event in prostate carcinogenesis of aggressive cancer phenotype. This suggests new insights about the potential use of specifically targeted genetic testing in this group, by early identification of carriers of localized PCa mutations with aggressive disease.

The study also assessed a comparison between independent groups of advanced and localized PCa. Carriers of mutations in some genes tended to be younger in the localized PCa cohort, again suggesting mutations as an early event in the course of aggressive PCa.

Our study investigated the mutation profile in the *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN* genes in either blood or urine liquid biopsy samples. This application of molecular testing in clinical practice is a successful example of innovative modern technologies that are safe for the patient.

Statements to be defended

1. Patients with localized and advanced PCa have a high incidence of DDR gene mutations detected using blood and/or urine.
2. Advanced PCa carriers of mutations in the *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN* are associated with aggressive disease according to response to systemic therapy and *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* (c.1100delC), and *NBN* gene mutation carriers are associated with poorer OS outcomes.
3. Carriers of *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, and *CHEK2* gene mutations are associated with more aggressive localized PCa, as assessed by clinical, radiological, and histopathological findings and patients with these mutations are at a higher risk of PCa.

4. *ATM*, *BRCAl*, and *BRCA2* gene mutation carriers in the localized PCa group are younger than in advanced PCa, and *CHEK2* gene mutation carriers' disease is more aggressive in advanced PCa.

MATERIAL AND METHODS

The study was approved by the Vilnius Regional Biomedical Research Ethics Committee: for the advanced PCa cohort (2017-02-07 Nr. 158200-17-874-411; 2019-10-08, Nr. 2019-LP-46) and for the localized PCa cohort (2019-11-05, Nr. 2019/11-1166-654; 2021-01-26, Nr. 2021-LP-7). All patients treated at the National Cancer Institute (NCI) from 2017 to 2023 years, who agreed to participate in the study, who fulfilled the inclusion criteria, and who did not meet the exclusion criteria, were invited to participate. The biological material required for the studies was collected and prepared, and molecular genetic analysis was performed at the Laboratory of Genetic Diagnostic, NCI.

Inclusion criteria

- Advanced PCa cohort
 - mCRPC patients who are starting or have started treatment with ADT in combination with chemotherapy, abiraterone acetate (AA), or other systemic drugs.
- Localized PCa cohort
 - Patients with positive prostate multiparametric-magnetic resonance imaging (mpMRI) findings (score of ≥ 3 according to the PI-RADS v2.1 scoring system) and according to other additional data (clinical findings and/or prostate-specific antigen (PSA) ≥ 3 ng/mL) prostate biopsy (PB) is planned.

Exclusion criteria

- Advanced PCa cohort
 - mCRPC patients who have discontinued ADT in combination with chemotherapy, AA or other systemic drugs due to drug intolerance without evidence of disease progression.

- Localized PCa cohort
 - The patient has not undergone mpMRI of the prostate before PB.
 - The patient had a PI-RADS v2.1 scoring system score of <3 after prostate mpMRI.
 - Active treatment of PCa.

Clinical and pathological characteristics

After the patients consented to participate in the study, the results of the histopathological examination of the prostate were evaluated by a pathologist promptly after the biopsy was performed. The pathological results of the advanced and localized PCa group were assessed at the National Centre of Pathology, Vilnius University Hospital Santaros klinikos. Some histopathological results of advanced PCa were obtained from other Lithuanian medical institutions and were not re-examined at the National Centre of Pathology. If PCa was detected in the histopathological results, the Gleason score was evaluated according to the 2014 and 2019 International Society of Urologic Pathology (ISUP) guidelines (44,45), thus assigning a clinical ISUP grade group (cISUP) instead of the Gleason score in the analysis.

Other patient data was also collected from their medical records. The age, PSA level (ng/mL), prostate volume (PV, ml), PSA density (PSAD), and PI-RADS v2.1 system score on prostate mpMRI were assessed in the localized PCa group. The prostate mpMRI result was considered positive when the PI-RADS v2.1 score was ≥ 3 . The PSAD was calculated by dividing the PSA value (ng/mL) by the estimated PV (ml) from the prostate mpMRI. The risk groups in the localized PCa cohort were divided into low-, intermediate- and high-risk groups according to the European Association of Urology (EAU) guidelines (46).

In the advanced PCa group, age, clinical T (cT) stage according to TNM classification, PSA level (ng/mL) at PCa diagnosis were assessed, also information if radical treatment was applied (radical prostatectomy/radical radiotherapy). Biochemical (dynamics of PSA and alkaline phosphatase (ALP, U/L) levels) and radiological data (bone scintigraphy/computed tomography or MRI) were also assessed. Data were collected on the further treatment therapy, the sequence of treatment administered, and the duration of treatment. The treatment modalities included in the study were long-term ADT, systemic therapy with AA, chemotherapy with docetaxel, and Ra-223 dichloride therapy. The dates when PCa became castration-resistant (CRPC) and progressed and when distant metastases were identified (mCRPC). After

different types of therapy, PFS was defined as the time elapsed between treatment initiation and disease progression. Disease progression was confirmed when at least two of three progression criteria (PSA progression, radiographic progression, and clinical deterioration) were fulfilled. OS was defined as the time from PCa diagnosis to death from any cause.

Patients who participated in the study received standard diagnostics and treatment for PCa, and their consent to participate did not influence or affect the routine diagnosis, follow-up, or treatment of the disease.

Liquid biopsy sample collection and DNA extraction

Liquid biopsy (blood and/or urine) samples were collected from all participants in localized and advanced PCa cohorts. Only blood samples were collected in the localized PCa cohort; in the advanced PCa cohort, blood and urine samples were collected. Blood and first-void urine samples were collected prospectively into EDTA blood collection tubes and urine collection containers according to the standardised procedures. The samples were immediately delivered to the NCI Genetic Diagnostic Laboratory after collection. Urine samples were prepared within 30 minutes according to the following protocol: the cellular content of the urine sample was pelleted by centrifugation at $2000\times g$ for 15 minutes, and the supernatant was removed. The cell pellets were washed with phosphate-buffered saline and repleted. Blood samples were also prepared within 30 minutes of collection and processed by centrifugation, washing, and leucocyte isolation as appropriate. The prepared samples were stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until further use.

The DNA extraction of localized PCa cohort patients was performed using a GeneJET Genomic DNA Purification kit (Thermo Fisher Scientific (TFS), Vilnius, Lithuania) following manufacturer instructions. DNA extraction of the advanced PCa cohort was performed by a fully automated robotic QIAcube system workstation using the QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Urine samples were processed within 30 minutes after the samples were taken, using Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to manufacturer instructions. DNA concentration and purity were determined using the NanoDrop 2000 spectrophotometer (TFS, Wilmington, DE, USA) and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until use.

Quantitative polymerase chain reaction for mutation detection

This method was used only when the advanced PCa cohort was analysed. For the detection of the predominant DNA response pathway gene mutations

in genomic DNA, custom TaqMan™ SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems (AB), TFS, Paisley, UK) were designed: 6 for *BRCA1/2* (rs80359112, rs80356898, rs397507246, rs80357711, rs28897672A_C, rs80359604_GT), three for *CHEK2* (rs555607708, rs17879961, rs121908698) and one for *NBN* (rs587776650) gene. Quantitative polymerase chain reaction (qPCR) reactions were done according to the manufacturer's protocol. All qPCR reactions were performed in duplicates following the manufacturer's protocol and using a 7500 Real-Time PCR System (AB, TFS, Foster City, CA, USA).

Targeted next-generation sequencing for mutation detection

For advanced PCa, both – blood (only those with mutations not detected by qPCR) and all urine samples were used for genomic DNA sequencing. For localized PCa, only blood samples were used for genomic DNA sequencing. Germline DNA from DDR mutation-negative cases in qPCR screening (advanced PCa), germline DNA from localized PCa, and all urine samples (advanced PCa) were sequenced using a targeted five-gene panel. The *BRCA* Germline I Reference Standard gDNA (Horizon Discovery, Cambridge, UK) was used as a positive control. Genomic DNA concentration was determined by using Qubit™ dsDNA BR Assay Kit on a Qubit™ 2.0 Fluorimeter (Invitrogen, TFS, Eugene, OR USA). For library preparation, Ion AmpliSeq™ Library Kit 2.0 and custom On-Demand Panel (from Life Technologies (LT), Carlsbad, CA, USA) were used under conditions provided by the manufacturer's protocol. Library concentrations were determined by using the Ion Library TaqMan™ Quantification Kit (AB, TFS, Vilnius, Lithuania). Sequencing was performed on the Ion Torrent™ Ion S5™ system. The average read length after sequencing was 209 bp: ≥93% on target and ≥98% uniformity. Data analysis was performed with the Ion Reporter 5.10 tool (LT, Carlsbad, CA, USA). According to TFS bioinformaticians' recommendations, sequence data were aligned to the human reference genome – hg19. The frequency of pathogenic and likely pathogenic mutations was estimated for each gene and confirmed according to the ClinVar database using the Integrative Genomics Viewer 2.4.8 tool to eliminate false positive cases and confirm detected mutant reads in both sequence directions.

Statistical analysis

The data was analysed using R 4.0.3, R 4.1.1, and IBM SPSS Statistics 21 software. Associations between categorical variables were evaluated using a

two-sided Chi-square test and Fisher's exact test. Normal distribution was tested using Shapiro-Wilk's *W* test. Two independent samples were analysed using the Mann-Whitney U test or t-test. For survival analysis, Kaplan-Meier curves and Cox regression were used. Outliers were defined as cases exceeding three interquartile ranges for PFS and OS – study patients who discontinued regular follow-up protocol – and were removed from the analysis. The odds ratio (OR) was computed by analysing two-by-two tables. OR were presented together with 95% confidence intervals (CI). The statistical significance of the OR was evaluated using the Fisher exact test. Differences were considered statistically significant when the *p*-value was < 0.050.

Patient groupings and comparisons

PCa patients with at least one pathogenic mutation detected in the *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN* genes were assigned to the DDR(+) group, where (+) means that the mutation was found. Those PCa patients with no detected mutations in the genes were assigned to the DDR(-) group, where (-) means that the mutation was not identified.

In both advanced and localized PCa studies, two groups were planned to be compared: DDR(+) and DDR(-) – PCa patients with mutations in the tested genes vs those without detected mutations. In the advanced PCa study, the DDR(+)A group was additionally distinguished by including only the *CHEK2* c1100delC mutation with higher malignant potential (127,137,138) and by excluding cases with the *CHEK2* c.470T>C mutation (for a more detailed description of these groups, see the Results section).

In the advanced PCa study, the DDR(+) and DDR(-), as the DDR(+)A and DDR(-) groups planned to be compared according to the response to treatment (long-term ADT, first-line systemic therapy, Ra-223 dichloride therapy) and OS.

In the localized PCa study, the DDR(+) and DDR(-) groups planned to be compared according to clinical, radiological, and histopathological parameters. Also, there was intended to determine the risk of PCa in mutation carriers.

The mutation rate, age of the patients, and histopathological results of patients with DDR mutations between advanced and localized PCa were planned to be compared.

Author's contributions

Doctoral student Tomas Januškevičius, with the help of urologists and nurses from the NCI Oncourology Department, participated in enrolling the patients and collecting the liquid biopsy samples under the supervision of Prof. Dr. Feliksas Jankevičius, Prof. Dr. Sonata Jarmalaitė and Dr. Albertas Ulys.

Doctoral student Tomas Januškevičius collected all the clinical, radiological, histopathological, and other data necessary for the research and was the principal author of both scientific publications based on the research data. The results of the doctoral research were presented at three international scientific conferences.

The collected liquid biopsy samples were prepared for analysis and molecular genetic analysis was performed in the NCI Genetic Diagnostic Laboratory by Ilona Kulikienė and Ieva Vaicekauskaitė, under the supervision of Assoc. Prof. Dr. Rasa Sabaliauskaitė. All co-authors were involved in preparing the first publication from the advanced PCa group, but the contributions of Assoc. Prof. Dr. Rasa Sabaliauskaitė, Dr. Arnas Bakavičius, and Dr. Daiva Dabkevičienė were particularly active. Assoc. Prof. Dr. Rasa Sabaliauskaitė and Ieva Vaicekauskaitė also actively contributed to the second publication from the localized PCa group.

Prof. Dr. Sonata Jarmalaitė was the prominent consultant for the research and scientific ideas, not only from the molecular analysis part but also contributed significantly to the design and coordination of the whole study. She helped draft, revise, and critically comment on valuable information while preparing both scientific publications. She actively encouraged participation in international scientific conferences and evaluated the prepared papers and their results.

Prof. Dr. Feliksas Jankevičius was the research supervisor, responsible for the conceptualisation and vision of the study, critically evaluated both scientific publications, made valuable comments, especially on the clinical part of the study, and contributed to the preparation and revision of the two scientific publications as well as the presentations of international scientific conferences.

RESULTS

Advanced PCa cohort

The first part of the study included 149 mCRPC patients who had previously been treated with long-term ADT and who were starting or had already started treatment with chemotherapy or AA at the NCI. Their liquid biopsy samples were analysed: 149 blood samples and 139 urine samples (10 patients' urine samples were not analysed due to missing or needing to be higher in NGS library quantity).

DDR mutations in the blood of mCRPC patients

In a cohort of 149 mCRPC cases, 23 patients (15.4%) were identified with germline mutations of selected DDR genes (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN*) in the blood cells. According to mutation type, six insertion/deletion and 17 missense mutations were detected. *BRCA1* mutation was detected in two (1.3%), *BRCA2* – in three (2.0%), *CHEK2* – in 12 (8.1%), *ATM* – in five, (3.4%), and *NBN* in one (0.7%) in the blood samples from the patients. The most frequently mutated gene was *CHEK2*: 11 patients harbored *CHEK2* mutation c.470T>C and one – c.1100delC mutation. Three variants of unclear clinical significance according to the ClinVar database were detected (Table 1) in leukocytes.

DDR mutations in the urine of mCRPC patients

For the mutation analysis, urine samples from 139 mCRPC patients were available. 26 pathogenic mutations in DDR genes (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN*) were detected in 23 out of 139 cases (16.6%; Figure 1). All germline mutations detected in leukocytes (in total 19) from these patients were also identified in urine samples. However, seven somatic mutations (two – *ATM*, two – *BRCA1*, two – *BRCA2*, and one – *CHEK2*) were additionally identified in the urine of five patients (5/139; 3.6%). Multiple mutations were detected in the urine of three patients (2.2%; 3/139), where concomitant somatic alterations in *BRCA1* and *ATM* genes were detected in one case (0.7%; 1/139) and a combination of *BRCA2* and *CHEK2* mutations was identified in two patients (1.4%; 2/139; somatic-somatic and somatic-germline).

Table 1. Molecular characteristics of pathogenic and unclear clinical significance variants in mutation-positive patients.

Gene	Sample ID	Coding	Pathogenic variant			Amino acid	dbSNP, rs	Method
			Type	Variant	Exon			
<i>BRC41</i>	PN088; PN179	c.4035delA	INDEL	frameshiftdel	11	p.Gln1346Lysfs	rs80357711	qPCR
			INDEL	frameshiftdel	8	p.Val220Ilefs	rs80359604	qPCR
			SNV	missense	17	p.Ile2622Phe	rs80359014	NGS
<i>BRC42</i>	PN050	c.3847_3848delGT	INDEL	frameshiftdel	11	p.Val1293fs	rs80359405	NGS
	PN004; PN022; PN034; PN051; PN055; PN073; PN107; PN108; PN125; PN136; PN143	c.4701>C	SNV	missense	4	p.Ile157Thr	rs17879961	qPCR
<i>CHEK2</i>	PN223	c.1100delC	INDEL	frameshiftdel	11	p.Thr367Metfs	rs555607708	qPCR
	PN132	c.657_661delA	INDEL	frameshiftdel	6	p.Lys219fs	rs587776650	qPCR
	PN029; PN175	c.812G>A	SNV	missense	55	p.Asp2708Asn	rs587782719	qPCR
<i>ATM</i>	PN044	c.1339C>T	SNV	missense	10	p.Arg447Ter	rs587779815	NGS
	PN090; PN025	c.5932G>T	SNV	missense	40	p.Gln1978Ter	rs587779852	NGS
<i>CHEK2</i>	PN072	c.6006+1G>C	SNV	unknown	40	p.?	rs786202016	NGS
	PN034; PN051; PN055; PN073; PN107; PN108; PN125; PN136; PN143	c.4701>C	SNV	missense	4	p.Ile157Thr	rs17879961	NGS
<i>Urine</i>	PN033; PN223	c.1100delC	INDEL	frameshiftdel	11	p.Thr367Metfs	rs555607708	NGS
	PN132	c.657_661delA	INDEL	frameshiftdel	6	p.Lys219fs	rs587776650	NGS
	PN029; PN175	c.812G>A	SNV	missense	55	p.Asp2708Asn	rs587782719	NGS
<i>ATM</i>	PN044	c.1339C>T	SNV	missense	10	p.Arg447Ter	rs587779815	NGS
	PN090	c.5932G>T	SNV	missense	40	p.Gln1978Ter	rs587779852	NGS
	PN025	c.6006+1G>C	SNV	unknown	40	p.?	rs786202016	NGS

Abbreviations: SNV – single nucleotide variant; INDEL – insertion/deletion variant; dbSNP – Database of single nucleotide polymorphisms (SNPs) and multiple small-scale variations; qPCR – quantitative polymerase chain reaction; NGS – next-generation sequencing.

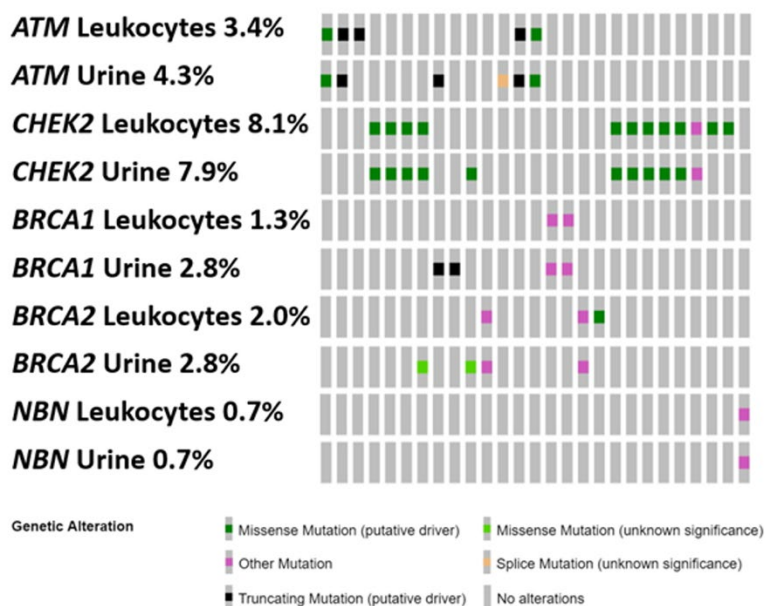


Figure 1. Oncoprint of selected pathogenic alterations detected in urine and leukocyte samples. Only samples with at least one detected mutation are shown. The percentages correlate to the number of mutations found in all 149 patients analysed in leukocytes and 139 in urine samples.

Urinary DDR mutations and clinical response

Due to the more complete presentation of both somatic and germline types of mutations, an oncoprint of urinary samples was used for further analysis. As mentioned in the methods section, the patients with and without detected pathogenic mutation in urine were divided into mutation-positive DDR(+) and mutation-negative DDR(-) groups, respectively. However, there were 23 cases with at least one mutation detected in urine: two cases (PN029, PN038) were classified as outliers and not included in the analysis. Also, one patient (PN072) was evaluated as DDR(-) due to the unknown pathogenic variant of *ATM* mutation (Table 1). Thus, in the DDR(+) group, 20 cases (23–3=20) were analysed after removing two outliers and one *ATM* mutation of unknown significance, and in the DDR(-) group, 117 cases were analysed (116 cases with unidentified mutations+one with *ATM* mutation of unknown significance=117). Finally, the patients with *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* (c.1100delC only), and *NBN* were classified as DDR(+)_A group (12 patients), omitting the cases with less pathogenic (127,137,138) *CHEK2* mutation c.470T>C (eight patients). Therefore, the analysis was performed by comparing DDR(+) with the DDR(-) group and DDR(+)_A with the DDR(-) group. Detailed analysis of the groups is shown in Figure 2. Baseline clinical

and demographic characteristics of DDR(+) and DDR(-) cohorts are provided in Table 2.

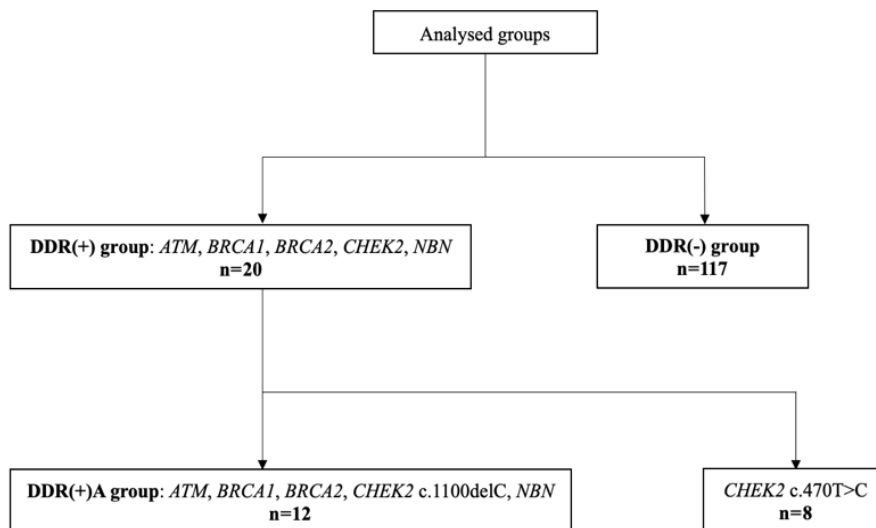


Figure 2. Flowchart of groups included in the study: DDR(+), DDR(+)*A* – mutations identified, DDR(-) – patients without mutations. Abbreviations: DDR – DNA damage response pathway gene mutations.

Table 2. Clinico-pathological and demographical characteristics of study cohort

Variable	DDR(+) (n=20)	DDR(-) (n=117)	p value
Age at PCa diagnosis, years Median (IQR)	63.5 (57.7-71.5)	66.4 (61.5-71.1)	0.27
PSA level at PCa diagnosis, ng/mL			
<10; n	3	36	0.09
10-20; n	3	25	
>20; n	14	53	
cISUP grade group			
1; n	7	48	0.71
2; n	4	18	
3; n	2	14	
4; n	5	16	
5; n	1	12	
cT stage			
≤T2; n	6	43	0.62
≥T3; n	14	67	
Radical treatment			
Radical prostatectomy; n	3	9	0.27
Radiation therapy; n	9	42	
None; n	8	66	
AA therapy for mCRPC			
First-line; n	11	88	0.07
Second-line; n	8	26	
Other; n	1	3	

Variable	DDR(+) (n=20)	DDR(-) (n=117)	p value
Docetaxel therapy for mCRPC			
First-line; n	9	28	0.77
Second-line; n	3	13	
Other; n	3	11	
Deceased			
Yes; n	15	73	0.32
No; n	5	44	

Abbreviations: DDR – DNA damage response pathway gene mutations; PCa – prostate cancer; IQR – interquartile range; PSA – prostate-specific antigen; ISUP – International Society of Urological Pathology; cISUP – clinical ISUP grade group; cT – clinical T stage (according to TNM classification); AA – abiraterone acetate; mCRPC – metastatic castration-resistant prostate cancer.

The mean response time of analysed patients to long-term ADT in a hormone-sensitive setting (HSPC) was 4.5 (95% CI: 3.9-5.1) years. For the DDR(+) group, the mean response time was 4.1 years compared to 4.6 years for the DDR(-) group, although there were no statistically significant differences between groups (Figure 3). For the DDR(+)A group mean response time was markedly shorter: 2.5 years compared to 4.6 years in the DDR(-) group (Figure 4). In multivariate Cox regression analysis, mutations of the DDR(+)A cohort ($p=0.019$) and higher cISUP grade group ($p=0.001$) were the main predictors for the shorter response to conventional ADT (Table 3).

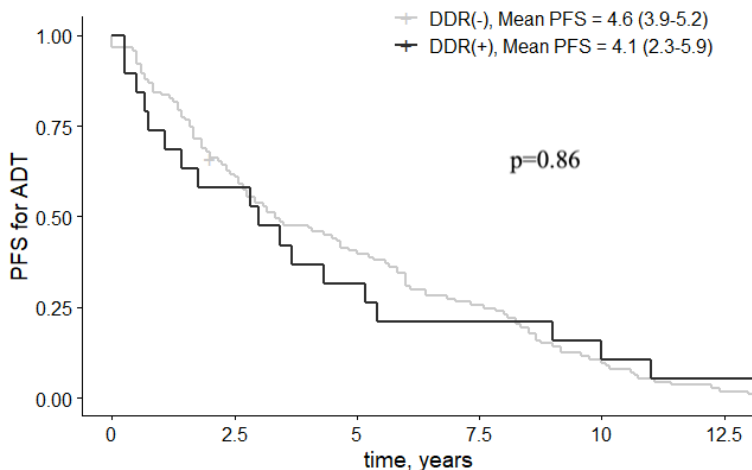


Figure 3. Progression-free survival for androgen deprivation therapy in a hormone-sensitive setting (HSPC) comparing DDR(+) and DDR(-) groups. The black curve indicates patients in the DDR(+) group, and the grey curve indicates patients in the DDR(-) group. Abbreviations: PFS – progression-free survival; ADT – androgen deprivation therapy; DDR – DNA damage response pathway gene mutations.

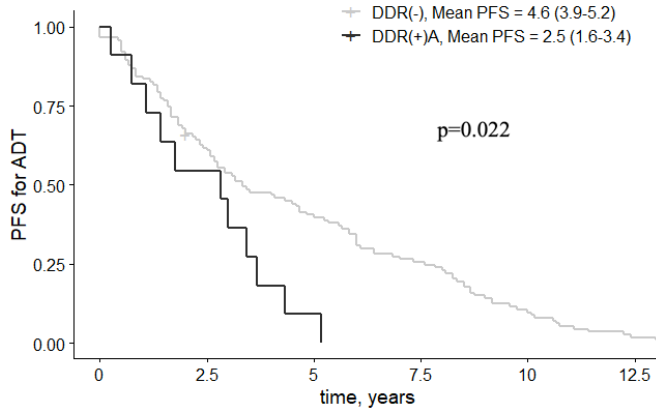


Figure 4. Progression-free survival for androgen deprivation therapy in a hormone-sensitive setting (HSPC) comparing DDR(+A) and DDR(-) groups. The black curve indicates patients in the DDR(+A) group, and the grey curve indicates patients in the DDR(-) group. Abbreviations: PFS – progression-free survival; ADT – androgen deprivation therapy; DDR – DNA damage response pathway gene mutations.

Table 3. Univariate and multivariate Cox regression analysis to assess significant factors associated with treatment and survival outcomes.

	Analysed by DDR(+)				Analysed by DDR(+A)			
	Univariate		Multivariate		Univariate		Multivariate	
	HR with 95% CI	p value	HR with 95% CI	p value	HR with 95% CI	p value	HR with 95% CI	p value
	PFS for ADT							
DDR genetic alteration	1.04 (0.64-1.71)	0.86	1.18 (0.71-1.96)	0.53	2.11 (1.12-4.01)	0.022	2.17 (1.14-4.13)	0.019
Age	1.01 (0.98-1.04)	0.34	-	-	0.99 (0.97-1.03)	0.94	-	-
cISUP	2.07 (1.43-3.00)	<0.001	2.09 (1.44-3.04)	<0.001	1.87 (1.28-2.74)	0.001	1.88 (1.28-2.75)	0.001
RT	1.00 (0.71-1.43)	0.97	-	-	1.23 (0.86-1.76)	0.26	-	-
PSA ₀								
M vs L	0.95 (0.58-1.56)	0.85	-	-	0.99 (0.60-1.64)	0.99	-	-
H vs L	1.11 (0.74-1.66)	0.62	-	-	1.14 (0.76-1.73)	0.53	-	-
	PFS for mCRPC first-line treatment							
DDR genetic alteration	2.17 (1.31-3.59)	0.003	2.22 (1.34-3.69)	0.002	2.47 (1.32-4.62)	0.005	2.53 (1.34-4.77)	0.004
Age	1.02 (0.99-1.05)	0.17	1.01 (0.98-1.04)	0.38	1.02 (0.99-1.05)	0.19	1.01 (0.99-1.04)	0.34
cISUP	1.26 (0.83-1.92)	0.27	-	-	1.22 (0.79-1.89)	0.37	-	-
RT	0.77 (0.52-1.15)	0.19	0.84 (0.55-1.29)	0.43	0.77 (0.51-1.17)	0.22	-	-
PSA ₁	1.001 (1.000-1.002)	0.004	1.001 (1.000-1.002)	0.011	1.001 (1.000-1.002)	0.005	1.001 (1.000-1.002)	0.004
	PFS for mCRPC first-line AA treatment							
DDR genetic alteration	2.72 (1.39-5.33)	0.003	2.43 (1.23-4.83)	0.011	2.72 (1.14-6.50)	0.025	2.25 (0.92-5.49)	0.076
Age	1.03 (0.99-1.06)	0.08	1.02 (0.99-1.06)	0.24	1.03 (0.99-1.07)	0.06	1.03 (0.99-1.07)	0.18
cISUP	1.13 (0.64-2.02)	0.67	-	-	1.05 (0.57-1.93)	0.88	-	-
RT	0.67 (0.41-1.10)	0.11	0.84 (0.48-1.46)	0.53	0.65 (0.39-1.10)	0.11	0.85 (0.48-1.49)	0.57
PSA ₁	1.001 (1.001-1.002)	0.011	1.001 (1.000-1.002)	0.007	1.001 (1.001-1.002)	0.001	1.001 (1.000-1.002)	0.002
	Overall survival							
DDR genetic alteration	1.07 (0.60-1.90)	0.82	1.62 (0.87-3.02)	0.126	1.47 (0.73-2.95)	0.28	2.02 (0.98-4.17)	0.058
Age	1.06 (1.03-1.09)	<0.001	1.03 (0.99-1.06)	0.128	1.05 (1.02-1.09)	0.004	1.02 (0.99-1.06)	0.22
cISUP	3.15 (1.97-5.02)	<0.001	3.16 (1.93-5.15)	<0.001	2.83 (1.76-4.55)	<0.001	3.01 (1.83-4.94)	<0.001
RT	0.34 (0.21-0.54)	<0.001	0.39 (0.23-0.67)	0.001	0.39 (0.24-0.63)	<0.001	0.40 (0.23-0.69)	<0.001
PSA ₁	1.001 (1.000-1.002)	0.022	1.000 (0.999-1.001)	0.614	1.001 (1.000-1.002)	0.047	1.000 (0.999-1.001)	0.70

Abbreviations: DDR – DNA damage response; ADT – androgen deprivation therapy; mCRPC – metastatic castration-resistant prostate cancer; CI – confidence interval; ISUP – International Society of Urological Pathology; cISUP – clinical ISUP grade groups 3-5 vs 1-2; mCRPC – metastatic castration-resistant prostate cancer; HR – hazard ratio; PFS – progression-free survival; RT – radical treatment; PSA₀ – PSA at PCa diagnosis, ng/mL; L (low) – <10, M (medium) – 10-20, H (high) – >20; PSA₁ – PSA before first-line mCRPC treatment.

After disease progression to mCRPC, the mean PFS for the first-line therapy (AA/docetaxel chemotherapy) was 1.3 (95% CI: 1.1-1.5) years. DDR(+) was associated with significantly shorter PFS (Figure 5) vs DDR(-). Also, significantly worse outcomes were registered in DDR(+A) group vs DDR(-) (Figure 6). The same response was evaluated in Cox regression analysis (Table 3).

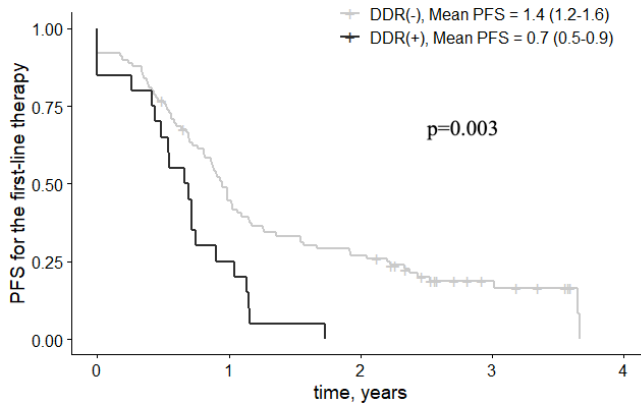


Figure 5. Progression-free survival for first-line therapy in a metastatic setting comparing DDR(+) and DDR(-) groups. The black curve indicates patients in the DDR(+) group, and the grey curve indicates patients in the DDR(-) group. Abbreviations: PFS – progression-free survival; DDR – DNA damage response pathway gene mutations.

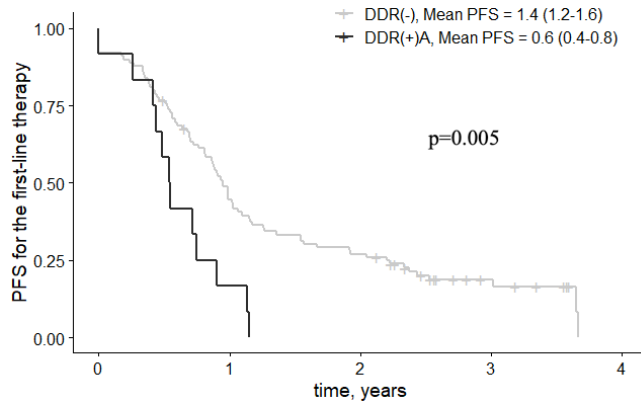


Figure 6. Progression-free survival for first-line therapy in a metastatic setting comparing DDR(+A) and DDR(-) groups. The black curve indicates patients in the DDR(+A) group, and the grey curve indicates patients in the DDR(-) group. Abbreviations: PFS – progression-free survival; DDR – DNA damage response pathway gene mutations.

Regarding AA as the first-line drug for mCRPC, DDR(+) and DDR(+A) groups were associated with significantly shorter response times, as compared to DDR(-) patients (Figure 7 and Figure 8, respectively). Likewise, adjusted HR was significantly higher for DDR(+) vs DDR(-) (Table 3, $p=0.011$), when

a tendency was demonstrated by the DDR(+)/A mutation group (Table 3, $p=0.076$).

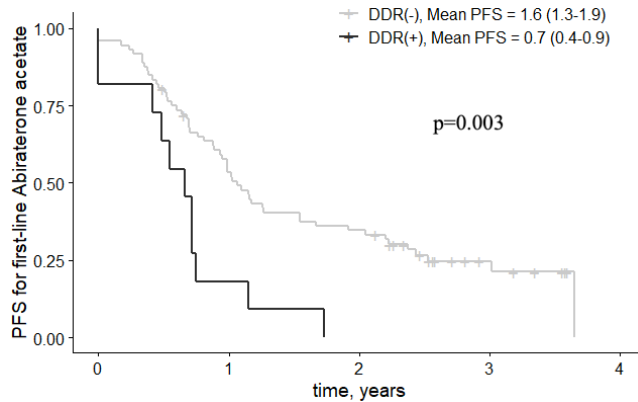


Figure 7. Progression-free survival for first-line therapy with abiraterone acetate in a metastatic setting comparing DDR(+)/A and DDR(-) groups. The black curve indicates patients in the DDR(+)/A group, and the grey curve indicates patients in the DDR(-) group. Abbreviations: PFS – progression-free survival; DDR – DNA damage response pathway gene mutations.

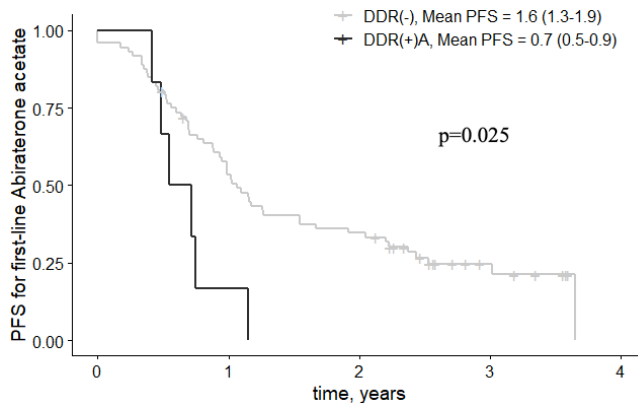


Figure 8. Progression-free survival for first-line therapy with abiraterone acetate in a metastatic setting comparing DDR(+)/A and DDR(-) groups. The black curve indicates patients in the DDR(+)/A group, and the grey curve indicates patients in the DDR(-) group. Abbreviations: PFS – progression-free survival; DDR – DNA damage response pathway gene mutations.

The mean PFS for the AA as the second-line drug was 1.5 (95% CI: 0.9-2.1) years, while the mean PFS for DDR(+)/A and DDR(-) patients was 1.7 (95% CI: 0.8-2.6) and 1.4 (95% CI: 0.8-2.1) years, respectively ($p>0.05$). Contrary to the first-line treatment with AA, DDR(+)/A status was not a significant predictor for poor response to the second-line therapy with AA (HR=0.9 95% CI: 0.4-2.0, $p=0.78$). No statistically significant differences in PFS were observed between the DDR(+)/A and DDR(-) groups when docetaxel

chemotherapy was used as first- and second-line systemic treatment ($p > 0.05$).

Radium-223 dichloride therapy was administered to 16 patients in the DDR(-) group and seven patients in the DDR(+) group (Table 4). Regarding DDR(+) status, two patients with two *CHEK2* mutations and five with *BRCA1/2* mutations underwent radium-223 dichloride therapy. After three or six cycles of bone-specific treatment, the median levels of ALP were comparable in all groups with particular DDR status. However, the DDR(+)A group showed a tendency to a worse response on bone scintigraphy at the end of radium-223 therapy than the DDR(-) group ($p=0.11$). In more detail, only two of five DDR(+)A patients showed a positive response, while 81% (13 of 16) of DDR(-) and 57% (four of seven) of DDR(+) patients had a positive response.

Table 4. Characteristics of patients undergoing Radium-223 dichloride therapy and bearing DDR(-) relative to DDR(+) or DDR(+)/A.

Variable	DDR(-) n=16	DDR(+) n=7	p¹ value	DDR(+)/A n=5	p² value
Age at time of Ra-223 therapy, years (median, IQR)	73 (68-80)	71 (67-78)	0.413	71 (68-75)	0.660
Baseline PSA level, ng/mL (median, IQR)	115 (29-428)	46 (18-85)	0.198	46 (62-80)	0.445
Baseline ALP level, U/L (median, IQR)	121 (92-246)	108 (78-179)	0.579	137 (90-257)	> 0.999
Metastases on bone-scan before Ra-223 therapy					
<6; n (%)	1 (6)	0 (0)		0 (0)	
6-20; n (%)	6 (38)	5 (71)	0.448	4 (80)	0.558
>21; n (%)	5 (21)	2 (29)		1 (20)	
Superscan; n (%)	4 (25)	0 (0)		0 (0)	
PSA level after 3 cycles of Ra-223, ng/mL					
Median (IQR)	70 (44-465)	25 (20-123)	0.173	70 (23-128)	0.412
Unknown; n (%)	3 (19)	2 (29)		1 (20)	
PSA response after 3 cycles of Ra-223					
Increased ≤10%; n (%)	3 (19)	2 (29)		1 (20)	
Increased >10%; n (%)	10 (63)	3 (43)	0.580	3 (60)	> 0.999
Unknown; n (%)	3 (19)	2 (29)		1 (20)	
PSA level after 6 cycles of Ra-223, ng/mL					
Median (IQR)	167 (75-735)	161 (21-182)	0.267	161 (16-200)	0.555
Unknown; n (%)	5 (31)	2 (29)		2 (40)	
PSA response after 6 cycles of Ra-223					
Increased >10%; n (%)	1 (6)	2 (29)		1 (20)	
Increased ≤10%; n (%)	12 (75)	4 (57)	0.222	3 (60)	0.427
Unknown; n (%)	3 (19)	1 (14)		1 (20)	
ALP level after 3 cycles of Ra-223, U/L					

Variable	DDR(-) n=16	DDR(+) n=7	p ¹ value	DDR(+) n=5	p ² value
Median (IQR)	83 (69-126)	95 (60-125)	0.671	111 (52-206)	0.842
ALP response after 3 cycles of Ra-223					
Declined ≥30%; n (%)	10 (62)	3 (43)	0.650	3 (60)	> 0.999
Declined <30%; n (%)	6 (38)	4 (57)		2 (40)	
ALP level after 6 cycles of Ra-223, U/L					
Median (IQR)	70 (51-96)	52 (46-88)	0.703	49 (42-91)	0.611
Unknown; n (%)	3 (19)	2 (29)		2 (40)	
ALP response after 6 cycles of Ra-223					
Declined ≥30%; n (%)	8 (50)	4 (43)	> 0.999	3 (60)	> 0.999
Declined <30%; n (%)	8 (50)	3 (57)		2 (40)	
Response to Ra-223 therapy on bone-scan					
Positive; n (%)	13 (81)	4 (57)	0.319	2 (40)	0.115
Negative; n (%)	3 (19)	3 (43)		3 (60)	

p¹ value – calculated for comparison of DDR(-) group vs DDR(+) group.

p² value – calculated for comparison of DDR(-) group vs DDR(+)_A group.

Abbreviations: DDR – DNA damage response pathway gene mutations; PSA – prostate-specific antigen; ALP – alkaline phosphatase; IQR – interquartile range.

Survival and urinary DDR mutations

OS was defined as the time from PCa diagnosis to death from any cause. The mean OS for analysed patients was 11.2 (95% CI: 10.2-12.2) years. Statistically significant differences between DDR(+) and DDR(-) were not observed (Figure 9). Whereas the DDR(+)_A group was characterised by reduced survival rates, as the mean survival was 9.5 (95% CI: 7.1-11.9) vs 11.4 (95% CI: 10.3-12.4) in the DDR(-) group (Figure 10, $p=0.06$). Although multivariate analysis identified the cISUP grade group and previous radical therapy as independent prognostic factors for OS ($p<0.001$ and $p=0.001$, respectively), gene alterations of the DDR(+)_A group (HR=2.0, 95% CI: 1.0-4.2, $p=0.058$) also demonstrated a harmful impact on OS in patients (Table 3).

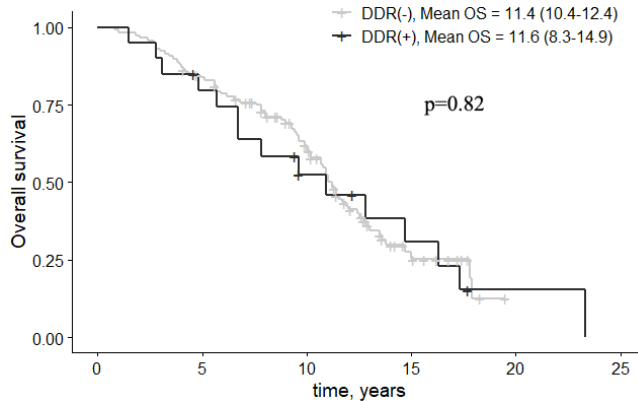


Figure 9. Overall survival comparing DDR(+) and DDR(-) groups. The black curve indicates patients in the DDR(+) group, and the grey curve indicates patients in the DDR(-) group. Abbreviations: DDR – DNA damage response pathway gene mutations; OS – overall survival.

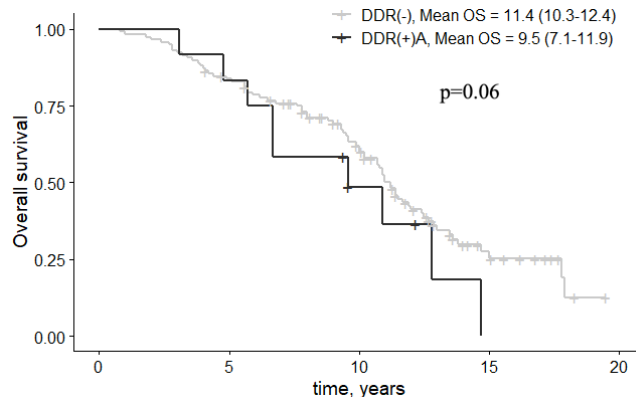


Figure 10. Overall survival: comparing DDR(+)_A and DDR(-) groups. The black curve indicates patients in the DDR(+)_A group, and the grey curve indicates patients in the DDR(-) group. Abbreviations: DDR – DNA damage response pathway gene mutations; OS – overall survival.

Localized PCa analysis

The second part of the study included a total of 150 patients with a positive mpMRI (PI-RADS value ≥ 3), and based on other data (clinical findings and/or elevated PSA), PB was planned at NCI. Liquid biopsy (blood) samples were collected. Due to clinical or sample quantity reasons (n=11), 139 patients were analysed further. They underwent mpMRI/US fusion-guided PB. Of the 139 patients, the majority had histopathological confirmation of PCa (n=107), and the remaining patients without verified cancer (n=32) were assigned to the control group. Based on the presence or absence of pathogenic mutation in the analysed genes, the patients were divided into mutation-positive – DDR(+) and mutation-negative – DDR(-) groups. Detailed analysis of the groups is shown in Figure 11.

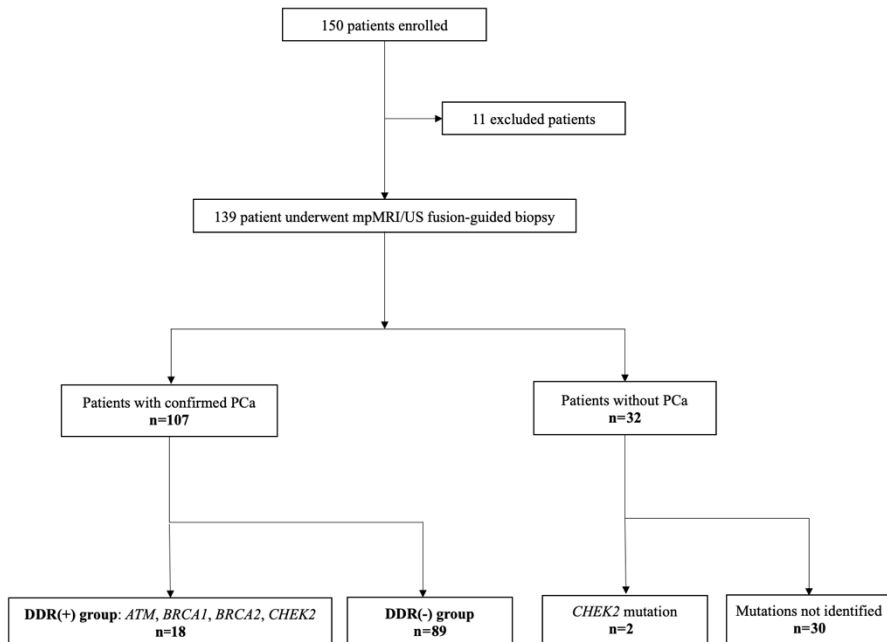


Figure 11. Flowchart of the patient cohort included in the study. Abbreviations: mpMRI – multiparametric magnetic resonance imaging; US – ultrasound; PCa – prostate cancer; DDR – DNA damage response pathway gene mutations.

DDR mutations in the blood of localized PCa patients

Mutations in specifically selected DDR genes (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN*) were analysed using NGS. Of the 139 cases, mutations were detected in 14.4% (n=20) of the patients' liquid biopsy (blood) samples

(Figure 11). The *NBN* mutation was not detected in any of the cases. The overall percentage of localized PCa patients with mutations was 16.8% (18/107) and a total of 19 DDR gene mutations were found, as two *CHEK2* gene alterations were found in one PCa patient: *CHEK2* c.470T>C and *CHEK2* c.1100delC. Overall, among localized PCa patients, one *ATM* mutation was found in one PCa patient (0.93%), *BRCA1* was also found in one patient (0.93%), *BRCA2* in three (2.8%), and *CHEK2* in 13 (12.15%) patients. The *CHEK2* mutation was also found in two patients without histopathologically verified PCa (2/32, 6.2%). The percentage of patients with PCa (with and without mutations) overall, and for each gene tested, is shown in Figure 12. Samples of men with mutations only are shown in Figure 13.

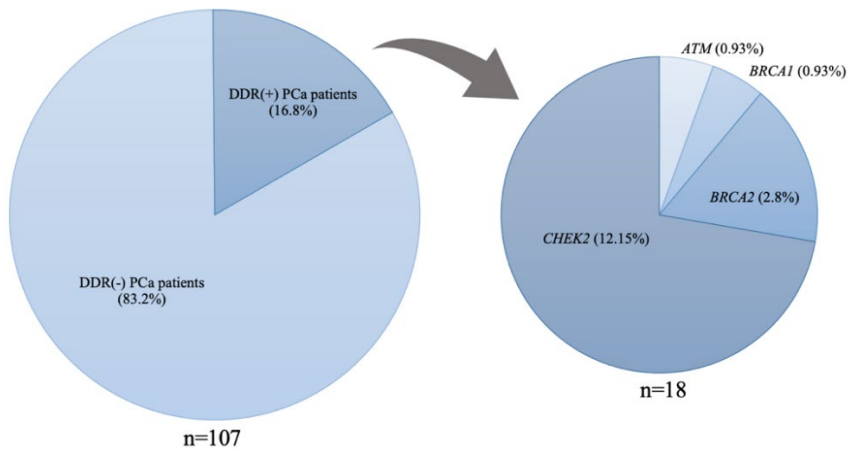


Figure 12. The percentage of prostate cancer patients with and without DNA damage response pathway gene mutations: overall and according to each selected gene. Abbreviations: DDR – DNA damage response pathway gene mutations; PCa – prostate cancer.

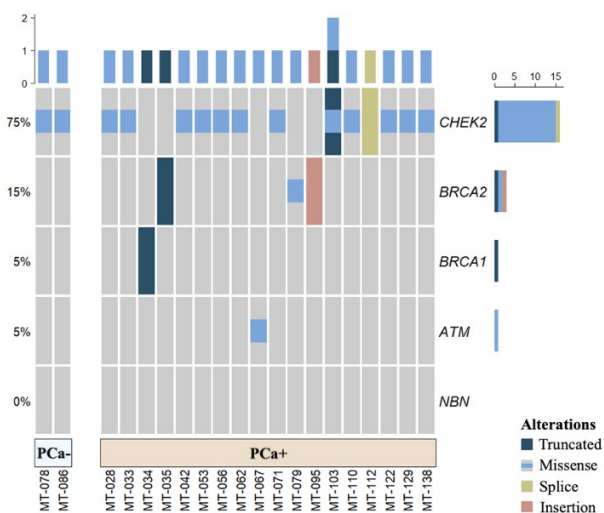


Figure 13. Genetic mutations detected in leucocyte samples from patients with confirmed (PCa+) and undetected (PCa-) prostate cancer. Only samples from patients with mutations are shown in the figure (18 out of 107 patients in the PCa+ group and 2 out of 32 in the PCa- group). Abbreviations: PCa+ – prostate cancer histopathologically confirmed; PCa- – prostate cancer not verified.

Characteristics of localized PCa group

PCa patients (n=107) revealed PI-RADS lesions ranging from 3 to 5, with a dominance of PI-RADS 4 lesions (67/107, 62.62%). Also, different cISUP grade groups were observed: the most prevalent cISUP grade group was 1 (68/107, 63.55%), followed by grade group 2 (24/107, 22.43%), grade group 3 (11/107, 10.28%) and grade group 4 (4/107, 3.74%). According to EAU risk groups (46), patients with PCa revealed low-risk disease as the most common: 58/107, 54.20%. Intermediate- and high-risk diseases were detected in 44 (41.12%) and 5 (4.68%) patients, respectively. The main clinico-pathological characteristics and mpMRI features of PCa patients are shown in Table 5.

Table 5. Clinico-pathological characteristics and mpMRI features of localized PCa patients.

Variable	DDR(+), n=18	DDR(-), n=89	p value
Age at PCa diagnosis, years Mean (\pm SD)	61.56 (\pm 5.66)	63.69 (\pm 7.70)	0.268
PSA at PCa diagnosis, ng/mL Median (IQR)	5.79 (4.31)	5.90 (3.73)	0.739
PV, ml Median (IQR)	55.77 (50.57)	44.16 (20.63)	0.057
PSA density Median (IQR)	0.11 (0.07)	0.14 (0.12)	0.170

Variable	DDR(+), n=18	DDR(-), n=89	p value
cISUP			
<3, n (%)	15 (83.33%)	77 (86.62%)	0.714
≥3, n (%)	3 (16.67%)	12 (13.48%)	
PI-RADS v2.1 score based on prostate mpMRI			
PI-RADS 3; n (%)	0 (0.00%)	4 (4.50%)	1.000
PI-RADS 4; n (%)	12 (66.66%)	55 (61.79%)	
PI-RADS 5; n (%)	6 (33.34%)	30 (33.70%)	
EAU risk groups			
Low-risk PCa, n (%)	9 (50.00%)	49 (55.06%)	0.694
Intermediate- or high-risk PCa, n (%)	9 (50.00%)	40 (44.94%)	

Abbreviations: DDR – DNA damage response pathway gene mutations; PCa – prostate cancer; SD – standard deviation; PSA – prostate-specific antigen; PV – prostate volume; IQR – interquartile range; ISUP – International Society of Urological Pathology; cISUP – clinical ISUP grade group; mpMRI – multiparametric magnetic resonance imaging; PI-RADS – Prostate Imaging Reporting & Data System; EAU – European Association of Urology.

There were no statistically significant differences in age, PSA, PSAD, and PV between the DDR(+) and DDR(-) groups. The mean age of PCa patients with mutations in the DDR genes (n=18) was 61.56 years, compared to the mean age (63.69 years) of PCa patients without mutations (n=89), p=0.286 (Table 5). PSA levels at the time of PCa diagnosis were also evaluated: 5.79 ng/mL and 5.90 ng/mL, respectively, p=0.739, and PSAD 0.11 and 0.14, respectively, p=0.170 (table 8). The PV in the DDR(+) group was 55.77 ml vs 44.16 ml in the DDR(-) group, p=0.06 (table 8).

Analysing histopathological results, the prevalence of any of the mutations in the DDR genes ranged from 12.50% to 25.00% in the different cISUP grade groups, with the highest percentage observed in the cISUP 4 group, even though none of the patients had a cISUP grade group of 5. The detailed distribution of the cISUP grade groups in the patients with PCa is shown in Table 6. The percentage of patients with a cISUP grade group ≥3 was 16.67% in the mutation-positive group vs 13.48% in the mutation-negative group, p=0.71 (Table 5).

Table 6. Prevalence of DDR mutations according to cISUP grade group.

cISUP	Any identified DDR gene mutation		
	Prevalence (%)	95% CI	n/Total
1	17.64%	0.09-0.29	12/68
2	12.50%	0.03-0.32	3/24
3	18.18%	0.02-0.52	2/11
4	25.00%	0.01-0.81	1/4
5	0.00%	0.00-1.00	0/0

p=0.781

Abbreviations: DDR – DNA damage response pathway gene mutations; ISUP – International Society of Urological Pathology; cISUP – clinical ISUP grade group; CI – confidence interval.

Comparison of cISUP grade groups between *ATM/BRCA1/BRCA2* mutation carriers and *CHEK2* mutation carriers, and all mutation carriers showed no statistically significant differences between groups. When comparing *ATM/BRCA1/BRCA2* mutation carriers (n=5) with *CHEK2* mutation carriers (n=13), the percentages of higher grade (cISUP>1) disease were 60.00% vs 23.08%, p=0.27, respectively, and when comparing *ATM/BRCA1/BRCA2* carriers with all mutation carriers (n=18) – 60.00% vs 33.33%, p=0.34. The frequency of PCa patients and mutation carriers according to the different cISUP grade groups is shown in bar graphs in Figure 14.

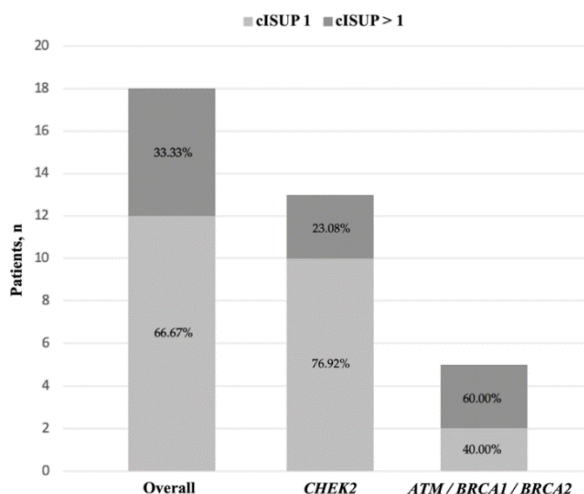


Figure 14. Bar graphs showing a prevalence of DDR gene mutations in overall, *CHEK2* carriers, *ATM/BRCA1/BRCA2* carriers by cISUP grade group. Abbreviations: ISUP – International Society of Urological Pathology; cISUP – clinical ISUP grade group.

When patients were divided into low- and intermediate-/high-risk PCa according to the EAU biochemical recurrence risk groups (46), no statistically significant differences were observed between the DDR(+) and the DDR(-) groups; the overall percentage of patients with mutations in the low-risk group was 50.00% vs 55.06%, and in the intermediate- or high-risk group: 50.00% vs 44.95%, $p=0.69$ (Table 5).

The localized PCa cases with DDR gene mutations most frequently were identified with PI-RADS 4 (12/18, 66.66%) lesions (Table 1) and the combined occurrence of any DDR gene mutation in PI-RADS 4/5 lesions reached 17.47%. The highest mutation rate was detected in cISUP grade group 4, accounting for 25.00%. None of the DDR(+) cases were identified with lower – PI-RADS 3 lesions. PCa patients with any DDR gene mutation by PI-RADS lesions are shown in Table 7.

Table 7. Prevalence of DDR mutations according to PI-RADS lesions.

PI-RADS v2.1	Any identified DDR gene mutation		
	Prevalence (%)	95% CI	n/Total
3	0.0%	0.00-0.60	0/4
4	17.91%	0.10-0.29	12/67
5	16.67%	0.06-0.33	6/36
$p=0.648$			

Abbreviations: DDR – DNA damage response pathway gene mutations; PI-RADS – Prostate Imaging Reporting & Data System; CI – confidence interval.

Prostate cancer risk and mutations

In the control group of 32 cases without confirmed PCa diagnosis, only two *CHEK2* gene mutations were detected (2/32; 6.2%). Comparison of localized PCa to control group revealed an almost 3-fold higher risk of localized PCa among DDR gene mutation carriers as compared to non-carriers (OR 2.84 and 95% CI: 0.75-20.23, $p=0.16$), and *CHEK2* mutation was responsible for the doubling in risk of localized PCa (OR 1.95, 95% CI: 0.49-14.18, $p=0.51$). Due to the small number of cases with DDR gene mutations, the OR comparison did not reach statistical significance.

Comparison of advanced and localized PCa cohorts

A comparison of mutation frequency distribution in the advanced and localized PCa cohorts was assessed using blood samples, as only blood samples due to financial aspects were analysed in the localized PCa group.

The *NBN* mutation, which was not found in any patients in the localized PCa group, was excluded from the comparison. Thus, 22 out of 149 mCRPC patients (14.8%) were found to have a mutation in the *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, or *CHEK2* DDR genes, which was slightly lower than in the localized PCa group (16.8%, 18/107) (Figure 15).

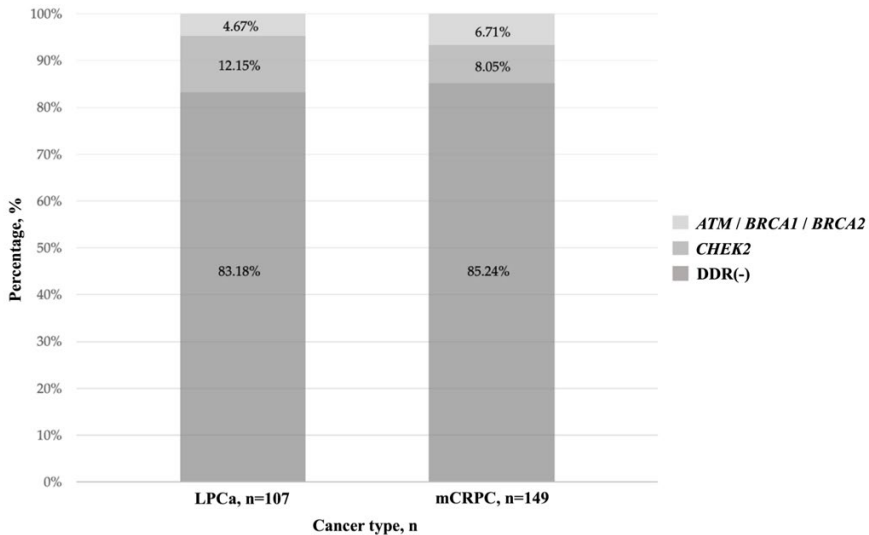


Figure 15. Bar graphs showing the prevalence of various DNA damage response pathway gene mutations by different prostate cancer type, n. Abbreviations: LPCa – localized PCa; mCRPC – metastatic castration-resistant prostate cancer; DDR – DNA damage response pathway gene mutations.

Analysing age, *ATM/BRCA1/BRCA2* mutation carriers tended to be younger in the localized PCa group compared to the advanced PCa cohort: 61.20 and 68.30 years, respectively, $p=0.06$. The overall mutation rate was higher in cISUP>1 disease among mCRPC patients (59.10%) compared to localized PCa (33.33%, $p=0.13$). *ATM/BRCA1/BRCA2* mutation carriers were almost equally distributed between cISUP 1 and cISUP>1 disease in both groups. The number of cISUP>1 grade group patients with *CHEK2* mutation was significantly higher in mCRPC compared to localized PCa: 66.67% vs 23.08% ($p=0.047$). A detailed comparison of the histopathological results in both groups is shown in Figure 16.

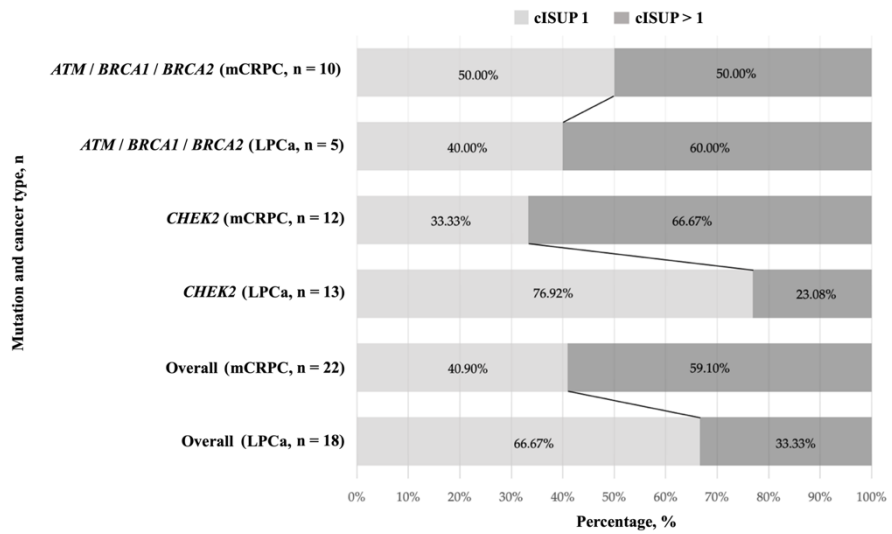


Figure 16. Bar graphs showing a prevalence of various DDR gene mutations by cISUP grade group in localized and advanced prostate cancer groups, n. Abbreviations: ISUP – International Society of Urological Pathology; cISUP – clinical ISUP grade group; mCRPC – metastatic castration-resistant prostate cancer; LPCa – localized prostate cancer.

DISCUSSION

Advanced PCa cohort

Advanced PCa is a clinically heterogeneous disease with a variety of treatment options. However, selecting the most appropriate treatment in different clinical situations is a significant challenge, especially in the most lethal form of the disease – mCRPC. New-generation technologies such as NGS can help identify patients' genetic mutation profiles using liquid biopsies, thus detecting more aggressive forms of the disease and allowing for a more targeted treatment for patients.

According to the recent literature, the prevalence of patients with germline mutations in DDR genes is up to 11.8% in patients with metastatic disease (74,155). In comparison, it could be as high as 15.4% (23/149) in mCRPC patients, as detected in our study from liquid biopsy (blood) samples. The prevalence of somatic mutations can be up to 13.2% in mCRPC (74,177). As a non-invasive form of liquid biopsy, urine is an ideal biological sample that can be collected frequently, in large volumes, without causing discomfort to the patient. In our study, 16.6% (23/139) cases were identified with germline or somatic DDR gene mutations using urine samples as a liquid biopsy. Although mutation analysis in urine has already been proposed as a diagnostic test for PCa (178), more detailed data on the number of germline and/or somatic mutations in urine in mCRPC patients is needed. In our study, seven additional somatic mutations were detected in the urine of mCRPC patients using NGS besides germline mutations. Comparing the mutations found individually, a total of 26 mutations were detected in the urine (one patient with *BRCA1* and *ATM* mutation, two patients with a combination of *BRCA2* and *CHEK2* mutations) in 23 patients, of which *CHEK2* mutations were the most frequent and accounted for 7.9%. The prevalence of mutations in the latter gene found in our study is significantly higher than in other studies, ranging from 1.9% to 4.1% (87,127,138). The second most frequent mutation found in our research was *ATM*, which accounted for 4.3%, also higher than the 1.6-4.0% reported by other authors (87,179). Meanwhile, *BRCA1* and *BRCA2* mutations accounted for 2.8% each in our study, with a higher prevalence of *BRCA1* than in other studies: 0.9-2.0% (87,155), and a similar or lower prevalence of *BRCA2*: 3.3-5.3% (87,177). Finally, the *NBN* gene mutation was the least frequent in our study, identified in one patient (0.7%), slightly higher than the 0.5% reported by Hansen, E.; et al. (180).

PCa patients with mutations in DDR genes are associated with a more aggressive disease course and a poorer prognosis (75,76,88,90,107,109–

111,138,149,181). Studies also indicate that, based on the synthetic lethality phenomenon, they may benefit from PARP inhibitors (155–166). From this point of view, patients with DDR mutations may also obtain a more significant clinical benefit from DNA-damaging therapies, like platinum-based (rather than taxane-based) chemotherapy (182–184) or bone-targeted radium-223 dichloride therapy (185,186). This supports the idea that targeting different cellular "pathways" (cell cycle, apoptosis, DNA repair) may help improve treatment response in PCa patients with mutations.

Our study provides a comprehensive analysis of clinical responses to various PCa therapies in all stages of the disease, from long-term ADT in HSPC to bone-targeted therapy in mCRPC, and represents a complete natural history of disease progression for DDR mutation carriers. Our data revealed that DDR(+)^A mutation carriers showed a significant – 1.8-fold – shorter response without disease progression to ADT in the hormone-sensitive setting. Also, in both DDR(+) and DDR(+)^A groups, a significantly shorter response to first-line systemic therapy (chemotherapy with docetaxel or AA) – 2.0- and 2.3-fold, respectively, was observed. Also, when AA was administered as first-line treatment – 2.3-fold shorter PFS was observed in both mutation-positive groups. Cox regression models in our study confirmed that mutations are variables that significantly influence shorter response times. Our results align with Annala; et al. (187) findings that ADT and next-generation antiandrogens have poorer efficacy in patients with DDR gene mutations. In addition, our study showed a better response of mutation carriers to AA when it was administered after docetaxel-based chemotherapy, although no statistically significant differences were observed. The radium-223 dichloride therapy effect in our study also revealed a tendency towards the negative response on bone scintigraphy in DDR(+)^A group, while mean ALP values were similar between mutation carriers and non-carriers; however, data published in other studies (186,188) suggest that this specific bone-targeted treatment may be more appropriate for patients with mutations. Mutations in the DDR(+)^A group affected poorer OS in Cox regression analysis, confirming the findings of many other studies (82,99,126) that mutations in DDR genes predict poor prognosis.

All these findings, including relatively rapid disease progression in DDR mutated cases, provide a clinical value of non-invasive urine-based genetic testing for the timely identification of germline and somatic mutations in the most aggressive forms of PCa.

Localized PCa cohort

Currently, PCa in the localized setting is characterised by its heterogeneous nature, whereas standard treatment options are generally well-established and approved by various guidelines worldwide. Nonetheless, in this PCa stage, there remains a significant knowledge gap regarding the significance of germline DDR pathway mutations in managing localized disease. Only after the development of castration-resistance or diagnosis of distant-spread disease, the range of follow-up means or specific treatment possibilities for patients with the alterations remains limited, and the weight of various mutations on the disease aggressiveness remains obscure.

This study performed prospective five DDR gene mutation testing in 139 men who underwent mpMRI/US fusion-guided targeted PB. Compared to mutation rates (1.44-9.5%) in other localized PCa studies (75–77), we found a significant prevalence of DDR gene mutations in patients with localized PCa (16.8%, 18/107). In our cohort, *CHEK2* alteration was found to be the most prevalent (12.15%), and missense alteration c.470T>C was the predominant type of the mutation, while *ATM/BRCA1/BRCA2* accounted for 4.66%. Based on our results and the cohort analysed in this study, one in five men with localized PCa is likely to have at least one of the five mutations tested, while about 20 men would need to be tested to detect an *ATM*, *BRCA1*, or *BRCA2* mutation in one patient. The prevalence of *ATM/BRCA1/BRCA2* mutations was found to be greater than the reported rates of low-risk localized PCa patients by Na, R.; et al. (75) – 1.44% and consistent with the findings of Marshall, C.H.; et al. (189) analysed cohort – 5.4%. When comparing these alterations individually, with the European ancestry patients from the extensive study by Lee D.J.; et al. (190), we identified higher mutation rates in *ATM* (0.93% vs 0.51%), *BRCA1* (0.93% vs 0.77%), and *BRCA2* (2.8% vs 1.0%) genes.

The risk of PCa is higher in carriers of mutations in DDR genes (91,102,103,119,120,130,134,145,148). In our study, the OR did not reach statistical significance ($p>0.05$), but the risk was almost 3-fold higher in the DDR(+) group and nearly 2-fold higher in the *CHEK2* mutation group. Probably due to the small number of patients analysed, we could not detect a statistically significant difference in the risk of PCa between men with and without these mutations. Still, the high level of verified PCa observed in the DDR mutation carriers suggests that these mutations may significantly increase the risk of PCa. In the perspective of this, and the more aggressive forms of the disease associated with mutations in the DDR pathway genes, the

possibility of repeating not only PSA but also prostate mpMRI should be considered during mutation carriers' follow-up with a negative PB result.

Our results showed no statistically significant differences between patients with and without localized PCa mutations in variables such as age, PSA, or PSA density. However, patients in the DDR(+) PCa group were younger and had higher PV. In our study, the DDR pathway alterations were less common in low-risk PCa patients than in intermediate- or high-risk diseases compared to non-carriers. DDR gene mutation carriers with *ATM/BRCA1/BRCA2* alterations were 2.6 and 1.8 times more likely to have a higher (>1) cISUP grade group than those with *CHEK2* mutation and all mutated cases, respectively. Also, in the DDR(+) PCa group, there were 1.35 times more patients with a cISUP grade group ≥ 3 than PCa patients without mutations. The cISUP grade groups were higher in the mutation carriers when compared with the results of Marshall, C.H.; et al. (189) ($p=0.78$ vs $p=0.14$), although no cISUP grade group of 5 was found in our study.

To our knowledge, limited data exist on the association of mpMRI lesions and DDR gene mutations in localized PCa patients. When analysing the prevalence of the DDR gene mutations based on the PI-RADSv2.1 scoring system, we found that the combined occurrence of any DDR gene mutation in PI-RADS 4/5 lesions reached 17.47%. Meanwhile, no DDR gene mutations were detected in cases with lower-category (PI-RADS ≤ 3) lesions. These data suggest that almost one in five patients with PI-RADS lesions of 4 or 5 would have at least one of the five mutations tested. Although these results are arguable because of their clinical application, the potential benefit might be seen when different germline testing strategies can be adopted in patients with suspicious PCa.

Our study's high prevalence of DDR alterations in localized PCa suggests that these mutations are an early event in prostate carcinogenesis. Since DDR deficiency may be associated with aggressive cancer phenotype, knowledge of DDR gene status in localized stage disease may be critical, requiring more accurate decision-making in various clinical settings such as choosing active surveillance over radical therapy, or surgery over radiation, assessing the optimal timing of salvage radiotherapy after radical prostatectomy and many other. Besides, DDR gene mutation testing in early-stage localized PCa can provide a better understanding of the molecular biology of PCa and optimise genetic testing strategies for familial cancer control (168). The literature suggests that a quarter of PCa patients with mutations lack a family history of the disease (78). It is helpful to find other criteria investigated in our localized PCa cohort to identify additional possible indications for genetic testing. The impact on clinico-pathological data and correlation between mpMRI findings

and mutation status revealed in our study provides further arguments for more comprehensive DDR gene mutation testing in localized PCa.

Advanced and localized PCa groups comparison

We compared the outcomes of mutation-positive patients in advanced and localized PCa cohorts. Only blood samples collected in both groups were included in the comparison. The *NBN* mutation was not included because no mutations in this gene were identified in the localized PCa cohort.

In both groups, a high percentage of *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, or *CHEK2* gene alterations were detected in blood leucocytes (14.8% for mCRPC and 16.8% for localized PCa), suggesting that the gene mutations found are probably early events in the aggressive course of PCa.

Notably, patients with *ATM/BRCA1/BRCA2* lesions tended to be younger in the localized PCa group compared to advanced PCa. Also, the comparison revealed a significant predominance of *CHEK2* mutations in high (>1) cISUP grade mCRPC but not in localized PCa. This result encourages further investigation of *CHEK2* gene mutations associated with aggressive PCa histology at different stages of the disease. It may provide new insights into identifying potential high-risk patients in localized PCa.

Although we only analysed blood and urine samples in the advanced PCa study, the study showed that urine is a more attractive biomaterial for the detection of mutations in the DDR pathway genes, as it allows us to find both inherited and somatic mutations. It is a noninvasive test, the samples are easily accessible, and, the collection of the samples does not cause discomfort to the patients and does not require special facilities or medical staff.

Limitations of the study

There are several limitations of this study. Although our findings revealed a high percentage of DDR gene mutation carriers among advanced and localized PCa patients, the sample size with DDR mutations remains relatively small. It reduces the statistical power of the study. Also, only five genes were included in the analysis; several other DDR pathway genes are associated with the genetic risk of PCa and the aggressive course of the disease. In our analysis, we did not include the family cancer history of the study patients because family histories were often incomplete or inaccurate.

CONCLUSIONS

1. Analysing leukocytes from patients with advanced and localized PCa, a high rate of mutations in DDR pathway genes (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*) was found – 14.8% (22/149) and 16.8% (18/107), respectively, and analysing urine samples from patients with advanced PCa – a 16.6% mutation rate was found for *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN* (23/139).
2. Advanced PCa patients with mutations in the DDR pathway genes are characterised by a more aggressive disease course, according to poorer response to treatment and survival rates – compared to patients without these gene mutations:
 - Patients with gene (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* c.1100delC, and *NBN*) mutations in the hormone-sensitive setting have a 1.8-fold shorter PFS to ADT treatment (p=0.022);
 - 2-fold shorter (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN* gene mutations) and 2.3-fold shorter (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* c.1100delC, and *NBN* gene mutations) PFS to first-line systemic therapy (chemotherapy with docetaxel/AA) (p=0.003 and p=0.005, respectively);
 - 2.3-fold shorter PFS to first-line systemic treatment with AA in both mutation-positive groups (p=0.003 and p=0.025, respectively);
 - Poorer OS – 9.5 years (95% CI: 7.1-11.9) with *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* c.1100delC, and *NBN* gene mutations and 11.4 years without these mutations (95% CI: 10.3-12.4; p=0.06).
3. Although no statistically significant differences were found, the study shows that the risk of localized PCa is three times higher in patients with mutations in the *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, and *CHEK2* genes than in mutation-negative patients, and the disease is more aggressive according to clinical, radiological, and histopathological data.
4. In the localized PCa, *ATM*, *BRCA1*, and *BRCA2* mutation carriers tended to be younger than in the advanced PCa (p=0.06), and there were significantly, 2.9 times more, *CHEK2* mutation carriers in the advanced PCa with cISUP>1 disease (p=0.047).

RECOMMENDATIONS

- Mutation testing of the *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *NBN* genes in urinary DNA is recommended to predict the aggressive clinical course of advanced PCa.
- In patients with advanced PCa, mutations in the *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* (c.1100delC), and *NBN* genes should be considered as an independent prognostic factor of aggressive disease.
- If high-risk localized PCa is identified, it is recommended to genetically test such patients for mutations in DDR pathway genes, thereby aiming to optimise treatment for these patients in the future.
- Urine is recommended as the biosample for identifying mutations in DDR pathway genes in patients with PCa.

10. FINANSINĖ PARAMA

Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo taryba (Nr. SEN-09/2016),
Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas ir Ateities biomedicinos fondas.

11. CURRICULUM VITAE

Asmeniniai duomenys

Vardas	Tomas
Pavardė	Januškevičius
Gimimo data	1990-07-04
Lytis	Vyras
Pilietybė	Lietuvis
Adresas	M. K. Čiurlionio 15-9, Vilnius LT-03104, Lietuva
Telefono nr.	+370 682 82 519
El. paštas	jnk.tomas@gmail.com tomas.januskevicius@santa.lt

Išsilavinimas

2019–2023	Doktorantūros studijos; Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas
2016–2021	Urologijos rezidentūra; Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas
2010–2016	Aukštasis išsilavinimas; Medicinos studijų programa, Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas
1997–2009	Vidurinis išsilavinimas; Vilniaus Vytauto Didžiojo gimnazija, Vilniaus Jono Basanavičiaus mokykla, Vilniaus Sausio 13-osios mokykla

Darbo patirtis

2022–dabar	Gydytojas urologas; „UAB InMedica“
2021–dabar	Gydytojas urologas; Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos, Urologijos centras
2016–2021	Gydytojas rezidentas; Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos, Nacionalinis vėžio institutas, Respublikinė Vilniaus universitetinė ligoninė, Vilniaus miesto klinikinė ligoninė
2019–2021	Medicinos gydytojas; Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos, Urologijos centras
2020–2021	Koordinatorius, medicinos gydytojas; Nacionalinis vėžio institutas, Onkourologijos skyrius
2018–2020	Gydytojas echoskopuotojas; Respublikinė Vilniaus universitetinė ligoninė, Chirurginių instrumentinių tyrimų skyrius
2017–2019	Medicinos gydytojas; Molėtų ligoninė, Priėmimo-skubios pagalbos skyrius

Kvalifikacijos kėlimas

2023 m. gegužės 23–28 d.	CMR Surgical Versius Surgical Robotic System Device Team Training programme as a Console Surgeon; Liublinas, Lenkija
2022 m. lapkričio 10–13 d.	14 th European Multidisciplinary Congress on Urological Cancer (EMUC22); Budapeštas, Vengrija
2022 m. gegužės 27–28 d.	7 th Baltic Meeting in conjunction with EAU 2022 (BALTIC22); Vilnius, Lietuva
2022 m. vasario 21–24 d.	EBU training 2022: Annual Interdisciplinary Localized and Advanced Prostate Cancer Conference. Vilnius, Lietuva
2022 m. vasario 4–8 d.	19 th European Urology Residents Education Programme (EUREP21); Praha, Čekija
2022 m. vasario 6 d.	EUREP 21: EUREP, ESU and HOT courses Olympus Hands-on-Training dry lab course on transurethral resection (TUR); Praha, Čekija
2022 m. vasario 5 d.	EUREP21: EUREP, ESU and HOT courses courses Olympus Hands-on-Training dry lab course on laparoscopy; Praha, Čekija
2021 m. birželio 3 d.	ESU Online: Renal, Baldder and prostate cancer guidelines 2021: From guidelines to real world
2021 m. vasario 23 d.	ESU Online: Future roles for liquid biopsies in clinical decision making in uro-oncology
2021 m. vasario 22–25 d.	EBU training 2021: Annual Interdisciplinary Localized and Advanced Prostate Cancer Conference. Vilnius, Lietuva
2021 m. vasario 4 d.	ESU Online: CVD in prostate cancer patients – increased risks and comorbidities
2021 m. sausio 28 d.	ESU Online: UROmotion – Update on robotic reconstructive surgery
2021 m. sausio 21 d.	ESU Online: Metastatic hormone sensitive prostate cancer
2019 m. kovo 15–19 d.	34 th Annual EAU Congress (EAU19); Barselona, Ispanija
2019 m. kovo 17 d.	EAU19: EUREP, ESU and HOT courses ESU/ESUT Hands-on-Training Course in Basic laparoscopy; Barselona, Ispanija
2019 m. kovo 16 d.	EAU19: EUREP, ESU and HOT courses ESU/ESUT/EULIS Hands-on-Training Course in Endoscopic stone treatment; Barselona, Ispanija
2018 m.	Pilvo organų echoskopijos įvadinis kursas (216 val.). Radiologijos, branduolinės medicinos ir

	medicinos fizikos katedra, Biomedicinos mokslų institutas, Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas; Vilnius, Lietuva
2018 m. gegužės 25–26 d.	5 th Baltic Meeting in conjunction with the EAU (BAL TIC18)
2018 m. kovo 16–20 d.	33 rd Annual EAU Congress (EAU18); Kopenhaga, Danija
2018 m. kovo 18 d.	EAU18: EUREP, ESU and HOT courses ESU/ESFFU Hands-on Training Course in Urodynamics; Kopenhaga, Danija
2018 m. kovo 17 d.	EAU18: EUREP, ESU and HOT courses ESU/ESFFU Hands-on Training Course in OnabotulinumtoxinA administration for OAB; Kopenhaga, Danija

**Geros klinikinės
praktikos mokymai**

2022 m. spalio 27 d.	Geros klinikinės praktikos pagrindų mokymai, Biomedicininių tyrimų skyrius, Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos; Vilnius, Lietuva
2018 m. lapkričio 29 d.	Geros klinikinės praktikos ir mokslinio publikavimo standartai, FORUM, Institut für Management GmbH; Vilnius, Lietuva

Narystė profesinėse organizacijose

2018–dabar	Europos Urologų Asociacijos (EAU) narys
2018–dabar	Lietuvos Urologų Draugijos (LUD) narys
2019–2020	EFSUMB narys
2018–2020	Lietuvos Ultragarso Asociacijos (LUA) narys

12. PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju savo moksliniam vadovui ir mokytojui – prof. dr. Feliksui Jankevičiui už suteiktą galimybę atrasti mokslininko kelią doktorantūros studijose, už vertingus patarimus, palaikymą ir pasitikėjimą.

Nuoširdžiai dėkoju savo disertacijos tyrimo konsultantei – prof. dr. Sonatai Jarmalaitei už visokeriopą pagalbą, Jos skirtą laiką, idėjas, nuolatinės konsultacijas, kantrybę ir empatiją.

Ačiū dr. Albertui Uliui ir visiems NVI Onkourologijos skyriaus gydytojams bei slaugytojoms už pagalbą ir indėlį doktorantūros studijų metu.

Ačiū doc. dr. Rasai Sabaliauskaitei už galimybę pažinti laboratoriją ir vertingas diskusijas, kurių metu buvo rastas ne vienas teisingas sprendimas. Doc. dr. Rasai Sabaliauskaitei ir jos komandos narėms Ievai Vaicekauskaitei ir Ilonai Kulikienei norėčiau padėkoti už atliktus molekulinis genetinius tyrimus.

Ačiū dr. Daivai Dabkevičienei už konsultacijas ir nuolatinį optimizmą.

Už pagalbą taip pat norėjau padėkoti savo kolegoms – gyd. urologams Genadijui Kučinskiui, dr. Arnui Bakavičiui, dr. Augustinui Matulevičiui, Mariui Snicoriui ir Gediminui Platkevičiui.

Esu dėkingas Lietuvos mokslo tarybai, Vilniaus universiteto Medicinos fakultetui ir Ateities biomedicinos fondui už tyrimams skirtą finansavimą ir paramą.

Ačiū gerb. recenzentams prof. dr. Gilvydui Verkauskui, doc. dr. Arūnui Želviui ir dr. Mariui Kinčiui už skirtą laiką disertacijos taisymui.

Ačiū pacientams, sutikusiems dalyvauti tyrime ir Jų šeimos nariams.

Labiausiai norėjau padėkoti savo žmonai Minijai Januškevičienei ir dukrai Godai Januškevičiūtei. Labai atsiprašau už prarastą laiką su Jumis ir begalinį supratingumą.

13. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May 4;71(3):209–49.
2. Leaning D, Kaur G, Morgans AK, Ghouse R, Mirante O, Chowdhury S. Treatment landscape and burden of disease in metastatic castration-resistant prostate cancer: systematic and structured literature reviews. *Front Oncol*. 2023 Sep 27;13.
3. Gandaglia G, Karakiewicz PI, Briganti A, Passoni NM, Schiffmann J, Trudeau V, et al. Impact of the Site of Metastases on Survival in Patients with Metastatic Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2015 Aug;68(2):325–34.
4. Freedland SJ, Davis MR, Epstein AJ, Arondekar B, Ivanova JI. Healthcare Costs in Men with Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: An Analysis of US Medicare Fee-For-Service Claims. *Adv Ther*. 2023 Oct 2;40(10):4480–92.
5. Lozano R, Castro E, Aragón IM, Cendón Y, Cattrini C, López-Casas PP, et al. Genetic aberrations in DNA repair pathways: a cornerstone of precision oncology in prostate cancer. *Br J Cancer*. 2021 Feb 2;124(3):552–63.
6. Roy R, Chun J, Powell SN. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. *Nat Rev Cancer*. 2012 Jan 23;12(1):68–78.
7. Huang R, Zhou PK. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther*. 2021 Jul 9;6(1):254.
8. Wu X, Zhou X, Wang S, Mao G. DNA damage response(DDR): a link between cellular senescence and human cytomegalovirus. *Virology*. 2023 Nov 1;20(1):250.
9. Roos WP, Kaina B. DNA damage-induced cell death: From specific DNA lesions to the DNA damage response and apoptosis. *Cancer Lett*. 2013 May;332(2):237–48.
10. Li H, Zimmerman SE, Weyemi U. Genomic instability and metabolism in cancer. In 2021. p. 241–65.
11. Shen Z. Genomic instability and cancer: an introduction. *J Mol Cell Biol*. 2011 Feb 1;3(1):1–3.
12. Zhou CK, Check DP, Lortet-Tieulent J, Laversanne M, Jemal A, Ferlay J, et al. Prostate cancer incidence in 43 populations worldwide:

- An analysis of time trends overall and by age group. *Int J Cancer*. 2016 Mar 15;138(6):1388–400.
13. Badal S, Aiken W, Morrison B, Valentine H, Bryan S, Gachii A, et al. Disparities in prostate cancer incidence and mortality rates: Solvable or not? *Prostate*. 2020 Jan 8;80(1):3–16.
 14. Leitzmann M, Rohrmann S. Risk factors for the onset of prostatic cancer: age, location, and behavioural correlates. *Clin Epidemiol*. 2012 Jan;1.
 15. Smith ZL, Eggener SE, Murphy AB. African-American Prostate Cancer Disparities. *Curr Urol Rep*. 2017 Oct 14;18(10):81.
 16. Chowdhury-Paulino IM, Ericsson C, Vince R, Spratt DE, George DJ, Mucci LA. Racial disparities in prostate cancer among black men: epidemiology and outcomes. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2022 Sep 2;25(3):397–402.
 17. Seibert TM, Garraway IP, Plym A, Mahal BA, Giri V, Jacobs MF, et al. Genetic Risk Prediction for Prostate Cancer: Implications for Early Detection and Prevention. *Eur Urol*. 2023 Mar;83(3):241–8.
 18. Beebe-Dimmer JL, Kapron AL, Fraser AM, Smith KR, Cooney KA. Risk of Prostate Cancer Associated With Familial and Hereditary Cancer Syndromes. *Journal of Clinical Oncology*. 2020 Jun 1;38(16):1807–13.
 19. Ni Raghallaigh H, Eeles R. Genetic predisposition to prostate cancer: an update. *Fam Cancer*. 2022 Jan 24;21(1):101–14.
 20. Hemminki K. Familial risk and familial survival in prostate cancer. *World J Urol*. 2012 Apr 25;30(2):143–8.
 21. Randazzo M, Müller A, Carlsson S, Eberli D, Huber A, Grobholz R, et al. A positive family history as a risk factor for prostate cancer in a population-based study with organised prostate-specific antigen screening: results of the Swiss European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC, Aarau). *BJU Int*. 2016 Apr 6;117(4):576–83.
 22. Nyame YA, Cooperberg MR, Cumberbatch MG, Eggener SE, Etzioni R, Gomez SL, et al. Deconstructing, Addressing, and Eliminating Racial and Ethnic Inequities in Prostate Cancer Care. *Eur Urol*. 2022 Oct;82(4):341–51.
 23. DeSantis CE, Siegel RL, Sauer AG, Miller KD, Fedewa SA, Alcaraz KI, et al. Cancer statistics for African Americans, 2016: Progress and opportunities in reducing racial disparities. *CA Cancer J Clin*. 2016 Jul 22;66(4):290–308.

24. Dess RT, Hartman HE, Mahal BA, Soni PD, Jackson WC, Cooperberg MR, et al. Association of Black Race With Prostate Cancer–Specific and Other-Cause Mortality. *JAMA Oncol.* 2019 Jul 1;5(7):975.
25. Riviere P, Luterstein E, Kumar A, Vitzthum LK, Deka R, Sarkar RR, et al. Survival of African American and non-Hispanic white men with prostate cancer in an equal-access health care system. *Cancer.* 2020 Apr 15;126(8):1683–90.
26. Rayford W, Beksac AT, Alger J, Alshalalfa M, Ahmed M, Khan I, et al. Comparative analysis of 1152 African-American and European-American men with prostate cancer identifies distinct genomic and immunological differences. *Commun Biol.* 2021 Jun 3;4(1):670.
27. Awasthi S, Berglund A, Abraham-Miranda J, Rounbehler RJ, Kensler K, Serna A, et al. Comparative Genomics Reveals Distinct Immune-oncologic Pathways in African American Men with Prostate Cancer. *Clinical Cancer Research.* 2021 Jan 1;27(1):320–9.
28. Weiner AB, Vidotto T, Liu Y, Mendes AA, Salles DC, Faisal FA, et al. Plasma cells are enriched in localized prostate cancer in Black men and are associated with improved outcomes. *Nat Commun.* 2021 Feb 10;12(1):935.
29. Darst BF, Wan P, Sheng X, Bensen JT, Ingles SA, Rybicki BA, et al. A Germline Variant at 8q24 Contributes to Familial Clustering of Prostate Cancer in Men of African Ancestry. *Eur Urol.* 2020 Sep;78(3):316–20.
30. Chen P, Zhang W, Wang X, Zhao K, Negi DS, Zhuo L, et al. Lycopene and Risk of Prostate Cancer. *Medicine.* 2015 Aug;94(33):e1260.
31. Kristal AR, Till C, Song X, Tangen CM, Goodman PJ, Neuhauser ML, et al. Plasma Vitamin D and Prostate Cancer Risk: Results from the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* 2014 Aug 1;23(8):1494–504.
32. Chen X, Zhao Y, Tao Z, Wang K. Coffee consumption and risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2021 Jan;11(2):e038902.
33. Applegate C, Rowles J, Ranard K, Jeon S, Erdman J. Soy Consumption and the Risk of Prostate Cancer: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 2018 Jan 4;10(1):40.
34. Hayashi T, Fujita K, Matsushita M, Nonomura N. Main Inflammatory Cells and Potentials of Anti-Inflammatory Agents in Prostate Cancer. *Cancers (Basel).* 2019 Aug 12;11(8):1153.

35. Sfanos KS, Yegnasubramanian S, Nelson WG, De Marzo AM. The inflammatory microenvironment and microbiome in prostate cancer development. *Nat Rev Urol*. 2018 Jan 31;15(1):11–24.
36. Berlin A, Brierley J, Cornford P, Chung P, Giannopoulos E, Mason M, et al. TNM Staging of Prostate Cancer: Challenges in Securing a Globally Applicable Classification. *Eur Urol*. 2022 Aug;82(2):e52–3.
37. Choy B, Tretiakova M, Zynger DL. What’s new in genitourinary pathology 2023: WHO 5th edition updates for urinary tract, prostate, testis, and penis. *J Pathol Transl Med*. 2024 Jan 15;58(1):45–8.
38. Inamura K. Prostatic cancers: understanding their molecular pathology and the 2016 WHO classification. *Oncotarget*. 2018 Mar 6;9(18):14723–37.
39. Humphrey PA. *Histopathology of Prostate Cancer*. Cold Spring Harb Perspect Med. 2017 Oct;7(10):a030411.
40. Morgan TM, Welty CJ, Vakar-Lopez F, Lin DW, Wright JL. Ductal Adenocarcinoma of the Prostate: Increased Mortality Risk and Decreased Serum Prostate Specific Antigen. *Journal of Urology*. 2010 Dec;184(6):2303–7.
41. Wei Y, Kobayashi T, Lu Y, Vogel M, Zhang R, Wu J, et al. Comparison of Survival Outcomes and Risk Factors Between Ductal Carcinoma of the Prostate and Acinar Adenocarcinoma of the Prostate: A Population-based Propensity Score-matching Study. *Eur Urol Open Sci*. 2022 Dec;46:88–95.
42. Chow K, Bedó J, Ryan A, Agarwal D, Bolton D, Chan Y, et al. Ductal variant prostate carcinoma is associated with a significantly shorter metastasis-free survival. *Eur J Cancer*. 2021 May;148:440–50.
43. Gleason DF, Mellinger GT. Prediction of Prognosis for Prostatic Adenocarcinoma by Combined Histological Grading and Clinical Staging. *Journal of Urology*. 1974 Jan;111(1):58–64.
44. Epstein JI, Egevad L, Amin MB, Delahunt B, Srigley JR, Humphrey PA. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *American Journal of Surgical Pathology*. 2016 Feb;40(2):244–52.
45. van Leenders GJLH, van der Kwast TH, Grignon DJ, Evans AJ, Kristiansen G, Kweldam CF, et al. The 2019 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Grading of Prostatic Carcinoma. *American Journal of Surgical Pathology*. 2020 Aug;44(8):e87–99.
46. 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. *Eur Urol*. 2021 Feb;79(2):243–62.
47. Bell KJL, Del Mar C, Wright G, Dickinson J, Glasziou P. Prevalence of incidental prostate cancer: A systematic review of autopsy studies. *Int J Cancer*. 2015 Oct 21;137(7):1749–57.
 48. Renard-Penna R, Rouvière O, Puech P, Borgogno C, Abbas L, Roy C, et al. Current practice and access to prostate MR imaging in France. *Diagn Interv Imaging*. 2016 Nov;97(11):1125–9.
 49. Oberlin DT, Casalino DD, Miller FH, Meeks JJ. Dramatic increase in the utilization of multiparametric magnetic resonance imaging for detection and management of prostate cancer. *Abdominal Radiology*. 2017 Apr 17;42(4):1255–8.
 50. Weinreb JC, Barentsz JO, Choyke PL, Cornud F, Haider MA, Macura KJ, et al. PI-RADS Prostate Imaging – Reporting and Data System: 2015, Version 2. *Eur Urol*. 2016 Jan;69(1):16–40.
 51. Turkbey B, Rosenkrantz AB, Haider MA, Padhani AR, Villeirs G, Macura KJ, et al. Prostate Imaging Reporting and Data System Version 2.1: 2019 Update of Prostate Imaging Reporting and Data System Version 2. *Eur Urol*. 2019 Sep;76(3):340–51.
 52. Fagery M, Khorshidi HA, Wong SQ, Vu M, IJzerman M. Health Economic Evidence and Modeling Challenges for Liquid Biopsy Assays in Cancer Management: A Systematic Literature Review. *Pharmacoeconomics*. 2023 Oct 23;41(10):1229–48.
 53. Zou D, Ye W, Hess LM, Bhandari NR, Ale-Ali A, Foster J, et al. Diagnostic Value and Cost-Effectiveness of Next-Generation Sequencing–Based Testing for Treatment of Patients with Advanced/Metastatic Non-Squamous Non–Small-Cell Lung Cancer in the United States. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2022 Aug;24(8):901–14.
 54. Mattox AK, Bettgowda C, Zhou S, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B. Applications of liquid biopsies for cancer. *Sci Transl Med*. 2019 Aug 28;11(507).
 55. Catalano M, Generali D, Gatti M, Riboli B, Paganini L, Nesi G, et al. DNA repair deficiency as circulating biomarker in prostate cancer. *Front Oncol*. 2023 Jan 30;13.
 56. Huang WL, Chen YL, Yang SC, Ho CL, Wei F, Wong DT, et al. Liquid biopsy genotyping in lung cancer: ready for clinical utility? *Oncotarget*. 2017 Mar 14;8(11):18590–608.

57. Liu H, Gao Y, Vafaie S, Gu X, Zhong X. The Prognostic Value of Plasma Cell-Free DNA Concentration in the Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol.* 2021 Mar 11;11.
58. Mehra N, Dolling D, Sumanasuriya S, Christova R, Pope L, Carreira S, et al. Plasma Cell-free DNA Concentration and Outcomes from Taxane Therapy in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer from Two Phase III Trials (FIRSTANA and PROSELICA). *Eur Urol.* 2018 Sep;74(3):283–91.
59. Jayaram A, Wingate A, Wetterskog D, Wheeler G, Sternberg CN, Jones R, et al. Plasma tumor gene conversions after one cycle abiraterone acetate for metastatic castration-resistant prostate cancer: a biomarker analysis of a multicenter international trial. *Annals of Oncology.* 2021 Jun;32(6):726–35.
60. Chen E, Cario CL, Leong L, Lopez K, Márquez CP, Chu C, et al. Cell-free DNA concentration and fragment size as a biomarker for prostate cancer. *Sci Rep.* 2021 Mar 3;11(1):5040.
61. Lorente D, Olmos D, Mateo J, Bianchini D, Seed G, Fleisher M, et al. Decline in Circulating Tumor Cell Count and Treatment Outcome in Advanced Prostate Cancer. *Eur Urol.* 2016 Dec;70(6):985–92.
62. Lorente D, Olmos D, Mateo J, Dolling D, Bianchini D, Seed G, et al. Circulating tumour cell increase as a biomarker of disease progression in metastatic castration-resistant prostate cancer patients with low baseline CTC counts. *Annals of Oncology.* 2018 Jul;29(7):1554–60.
63. De Laere B, Oeyen S, Van Oyen P, Ghysel C, Ampe J, Ost P, et al. Circulating tumor cells and survival in abiraterone- and enzalutamide-treated patients with castration-resistant prostate cancer. *Prostate.* 2018 May 12;78(6):435–45.
64. Endzeliņš E, Berger A, Melne V, Bajo-Santos C, Soboļevska K, Ābols A, et al. Detection of circulating miRNAs: comparative analysis of extracellular vesicle-incorporated miRNAs and cell-free miRNAs in whole plasma of prostate cancer patients. *BMC Cancer.* 2017 Dec 9;17(1):730.
65. Zedan AH, Hansen TF, Assenholt J, Madsen JS, Osther PJS. Circulating miRNAs in localized/locally advanced prostate cancer patients after radical prostatectomy and radiotherapy. *Prostate.* 2019 Mar 9;79(4):425–32.
66. Hatano K, Fujita K. Extracellular vesicles in prostate cancer: a narrative review. *Transl Androl Urol.* 2021 Apr;10(4):1890–907.
67. Nakad R, Schumacher B. DNA Damage Response and Immune Defense: Links and Mechanisms. *Front Genet.* 2016 Aug 9;7.

68. Hoeijmakers JHJ. DNA Damage, Aging, and Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2009 Oct 8;361(15):1475–85.
69. Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*. 2009 Oct 22;461(7267):1071–8.
70. Kusakabe M, Onishi Y, Tada H, Kurihara F, Kusao K, Furukawa M, et al. Mechanism and regulation of DNA damage recognition in nucleotide excision repair. *Genes and Environment*. 2019 Dec 25;41(1):2.
71. Li S, Wang L, Wang Y, Zhang C, Hong Z, Han Z. The synthetic lethality of targeting cell cycle checkpoints and PARPs in cancer treatment. *J Hematol Oncol*. 2022 Oct 17;15(1):147.
72. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2017 Jun 9;58(5):235–63.
73. 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;161(5):1215–28.
74. Lang S, Swift S, White H, Misso K, Kleijnen J, Quek R. A systematic review of the prevalence of DNA damage response gene mutations in prostate cancer. *Int J Oncol*. 2019 Jul 16;
75. Na R, Zheng SL, Han M, Yu H, Jiang D, Shah S, et al. Germline Mutations in ATM and BRCA1/2 Distinguish Risk for Lethal and Indolent Prostate Cancer and are Associated with Early Age at Death. *Eur Urol*. 2017 May;71(5):740–7.
76. Wu Y, Yu H, Li S, Wiley K, Zheng SL, LaDuca H, et al. Rare Germline Pathogenic Mutations of DNA Repair Genes Are Most Strongly Associated with Grade Group 5 Prostate Cancer. *Eur Urol Oncol*. 2020 Apr;3(2):224–30.
77. Berchuck JE, Zhang Z, Silver R, Kwak L, Xie W, Lee GSM, et al. Impact of Pathogenic Germline DNA Damage Repair alterations on Response to Intense Neoadjuvant Androgen Deprivation Therapy in High-risk Localized Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2021 Sep;80(3):295–303.
78. Nombela P, Lozano R, Aytes A, Mateo J, Olmos D, Castro E. BRCA2 and Other DDR Genes in Prostate Cancer. *Cancers (Basel)*. 2019 Mar 12;11(3):352.
79. Cline MS, Liao RG, Parsons MT, Paten B, Alquaddoomi F, Antoniou A, et al. BRCA Challenge: BRCA Exchange as a global resource for variants in BRCA1 and BRCA2. *PLoS Genet*. 2018 Dec 26;14(12):e1007752.

80. Findlay GM, Daza RM, Martin B, Zhang MD, Leith AP, Gasperini M, et al. Accurate classification of BRCA1 variants with saturation genome editing. *Nature*. 2018 Oct 12;562(7726):217–22.
81. Venkitaraman AR. Cancer Susceptibility and the Functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell*. 2002 Jan;108(2):171–82.
82. Narod SA. BRCA mutations in the management of breast cancer: the state of the art. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010 Dec 19;7(12):702–7.
83. Welch PL, Owens KN, King MC. Insights into the functions of BRCA1 and BRCA2. *Trends in Genetics*. 2000 Feb;16(2):69–74.
84. Venkitaraman AR. Cancer Suppression by the Chromosome Custodians, BRCA1 and BRCA2. *Science* (1979). 2014 Mar 28;343(6178):1470–5.
85. Goldgar DE, Fields P, Lewis CM, Tran TD, Cannon-Albright LA, Ward JH, et al. A Large Kindred With 17q-Linked Breast and Ovarian Cancer: Genetic, Phenotypic, and Genealogical Analysis. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 1994 Feb 2;86(3):200–9.
86. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N, et al. Localization of a Breast Cancer Susceptibility Gene, *BRCA2*, to Chromosome 13q12-13. *Science* (1979). 1994 Sep 30;265(5181):2088–90.
87. 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.
88. Gallagher DJ, Gaudet MM, Pal P, Kirchoff T, Balistreri L, Vora K, et al. Germline *BRCA* Mutations Denote a Clinicopathologic Subset of Prostate Cancer. *Clinical Cancer Research*. 2010 Apr 1;16(7):2115–21.
89. Cybulski C, Górski B, Gronwald J, Huzarski T, Byrski T, Dębniak T, et al. BRCA1 mutations and prostate cancer in Poland. *European Journal of Cancer Prevention*. 2008 Feb;17(1):62–6.
90. Castro E, Goh C, Olmos D, Saunders E, Leongamornlert D, Tymrakiewicz M, et al. Germline *BRCA* Mutations Are Associated With Higher Risk of Nodal Involvement, Distant Metastasis, and Poor Survival Outcomes in Prostate Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2013 May 10;31(14):1748–57.
91. Kote-Jarai Z, Leongamornlert D, Saunders E, Tymrakiewicz M, Castro E, Mahmud N, et al. BRCA2 is a moderate penetrance gene contributing to young-onset prostate cancer: implications for genetic

- testing in prostate cancer patients. *Br J Cancer*. 2011 Oct 27;105(8):1230–4.
92. Agalliu I, Gern R, Leanza S, Burk RD. Associations of High-Grade Prostate Cancer with *BRCA1* and *BRCA2* Founder Mutations. *Clinical Cancer Research*. 2009 Feb 1;15(3):1112–20.
 93. Edwards SM, Kote-Jarai Z, Meitz J, Hamoudi R, Hope Q, Osin P, et al. Two Percent of Men with Early-Onset Prostate Cancer Harbor Germline Mutations in the *BRCA2* Gene. *The American Journal of Human Genetics*. 2003 Jan;72(1):1–12.
 94. Kirchoff T, Kauff ND, Mitra N, Nafa K, Huang H, Palmer C, et al. *BRCA* Mutations and Risk of Prostate Cancer in Ashkenazi Jews. *Clinical Cancer Research*. 2004 May 1;10(9):2918–21.
 95. Hartge P, Struewing JP, Wacholder S, Brody LC, Tucker MA. The Prevalence of Common *BRCA1* and *BRCA2* Mutations among Ashkenazi Jews. *The American Journal of Human Genetics*. 1999 Apr;64(4):963–70.
 96. Finch A. Salpingo-oophorectomy and the Risk of Ovarian, Fallopian Tube, and Peritoneal Cancers in Women With a *BRCA1* or *BRCA2* Mutation. *JAMA*. 2006 Jul 12;296(2):185.
 97. Brose MS. Cancer Risk Estimates for *BRCA1* Mutation Carriers Identified in a Risk Evaluation Program. *CancerSpectrum Knowledge Environment*. 2002 Sep 18;94(18):1365–72.
 98. Levine DA, Argenta PA, Yee CJ, Marshall DS, Olvera N, Bogomolny F, et al. Fallopian Tube and Primary Peritoneal Carcinomas Associated With *BRCA* Mutations. *Journal of Clinical Oncology*. 2003 Nov 15;21(22):4222–7.
 99. Hu C, Hart SN, Polley EC, Gnamaolivu R, Shimelis H, Lee KY, et al. Association Between Inherited Germline Mutations in Cancer Predisposition Genes and Risk of Pancreatic Cancer. *JAMA*. 2018 Jun 19;319(23):2401.
 100. Cavanagh H, Rogers KMA. The role of *BRCA1* and *BRCA2* mutations in prostate, pancreatic and stomach cancers. *Hered Cancer Clin Pract*. 2015 Dec 1;13(1):16.
 101. Pilarski R. The Role of *BRCA* Testing in Hereditary Pancreatic and Prostate Cancer Families. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. 2019 May;(39):79–86.
 102. Leongamornlert D, Mahmud N, Tymrakiewicz M, Saunders E, Dadaev T, Castro E, et al. Germline *BRCA1* mutations increase prostate cancer risk. *Br J Cancer*. 2012 May 19;106(10):1697–701.

103. Oh M, Alkushaym N, Fallatah S, Althagafi A, Aljadeed R, Alsowaida Y, et al. The association of *BRCA1* and *BRCA2* mutations with prostate cancer risk, frequency, and mortality: A meta-analysis. *Prostate*. 2019 Jun 22;79(8):880–95.
104. Gallardo-Rincón D, Álvarez-Gómez RM, Montes-Servín E, Toledo-Leyva A, Montes-Servín E, Michel-Tello D, et al. Clinical Evaluation of BRCA1/2 Mutation in Mexican Ovarian Cancer Patients. *Transl Oncol*. 2020 Feb;13(2):212–20.
105. Cheng HH, Pritchard CC, Montgomery B, Lin DW, Nelson PS. Prostate Cancer Screening in a New Era of Genetics. *Clin Genitourin Cancer*. 2017 Dec;15(6):625–8.
106. Marino F, Totaro A, Gandi C, Bientinesi R, Moretto S, Gavi F, et al. Germline mutations in prostate cancer: a systematic review of the evidence for personalized medicine. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2023 Dec 24;26(4):655–64.
107. Edwards SM, Evans DGR, Hope Q, Norman AR, Barbachano Y, Bullock S, et al. Prostate cancer in BRCA2 germline mutation carriers is associated with poorer prognosis. *Br J Cancer*. 2010 Sep 24;103(6):918–24.
108. Thorne H, Willems AJ, Niedermayr E, Hoh IMY, Li J, Clouston D, et al. Decreased Prostate Cancer-Specific Survival of Men with *BRCA 2* Mutations from Multiple Breast Cancer Families. *Cancer Prevention Research*. 2011 Jul 1;4(7):1002–10.
109. Narod SA, Neuhausen S, Vichodez G, Arnel S, Lynch HT, Ghadirian P, et al. Rapid progression of prostate cancer in men with a BRCA2 mutation. *Br J Cancer*. 2008 Jul 24;99(2):371–4.
110. Castro E, Eeles R. The role of BRCA1 and BRCA2 in prostate cancer. *Asian J Androl*. 2012 May 23;14(3):409–14.
111. Maekawa S, Takata R, Sekiguchi K, Kagabu M, Toyoshima M, Tamada S, et al. Prevalence of germline *BRCA1/2* pathogenic variants in Japanese patients treated with castration-resistant prostate cancer and efficacy of CRPC treatment in real-world clinical practice. *Jpn J Clin Oncol*. 2023 Dec 29;
112. Moslemi M, Moradi Y, Dehghanbanadaki H, Afkhami H, Khaledi M, Sedighimehr N, et al. The association between ATM variants and risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2021 Dec 5;21(1):27.
113. Stucci LS, Internò V, Tucci M, Perrone M, Mannavola F, Palmirotta R, et al. The ATM Gene in Breast Cancer: Its Relevance in Clinical Practice. *Genes (Basel)*. 2021 May 13;12(5):727.

114. Lee JH, Paull TT. ATM Activation by DNA Double-Strand Breaks Through the Mre11-Rad50-Nbs1 Complex. *Science* (1979). 2005 Apr 22;308(5721):551–4.
115. Choi M, Kipps T, Kurzrock R. ATM Mutations in Cancer: Therapeutic Implications. *Mol Cancer Ther*. 2016 Aug 1;15(8):1781–91.
116. Jiang X, O’Neill A, Smith KR, Lai Z, Carss K, Wang Q, et al. Uncovering variable neoplasms between *ATM* protein-truncating and common missense variants using 394 694 UK Biobank exomes. *Genes Chromosomes Cancer*. 2022 Sep 16;61(9):523–9.
117. Grochot R, Carreira S, Miranda S, Figueiredo I, Bertan C, Rekowski J, et al. Germline ATM Mutations Detected by Somatic DNA Sequencing in Lethal Prostate Cancer. *Eur Urol Open Sci*. 2023 Jun;52:72–8.
118. Lu C, Xie M, Wendl MC, Wang J, McLellan MD, Leiserson MDM, et al. Patterns and functional implications of rare germline variants across 12 cancer types. *Nat Commun*. 2015 Dec 22;6(1):10086.
119. Karlsson Q, Brook MN, Dadaev T, Wakerell S, Saunders EJ, Muir K, et al. Rare Germline Variants in ATM Predispose to Prostate Cancer: A PRACTICAL Consortium Study. *Eur Urol Oncol*. 2021 Aug;4(4):570–9.
120. Momozawa Y, Iwasaki Y, Hirata M, Liu X, Kamatani Y, Takahashi A, et al. Germline Pathogenic Variants in 7636 Japanese Patients With Prostate Cancer and 12 366 Controls. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2020 Apr 1;112(4):369–76.
121. Kaur H, Salles DC, Murali S, Hicks JL, Nguyen M, Pritchard CC, et al. Genomic and Clinicopathologic Characterization of *ATM*-deficient Prostate Cancer. *Clinical Cancer Research*. 2020 Sep 15;26(18):4869–81.
122. Matejcic M, Patel Y, Lilyquist J, Hu C, Lee KY, Gnanaolivu RD, et al. Pathogenic Variants in Cancer Predisposition Genes and Prostate Cancer Risk in Men of African Ancestry. *JCO Precis Oncol*. 2020 Nov;(4):32–43.
123. Tominaga K, Morisaki H, Kaneko Y, Fujimoto A, Tanaka T, Ohtsubo M, et al. Role of Human Cds1 (Chk2) Kinase in DNA Damage Checkpoint and Its Regulation by p53. *Journal of Biological Chemistry*. 1999 Oct;274(44):31463–7.
124. Bartek J, Lukas J. Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer. *Cancer Cell*. 2003 May;3(5):421–9.

125. Falck J, Mailand N, Syljuåsen RG, Bartek J, Lukas J. The ATM–Chk2–Cdc25A checkpoint pathway guards against radioresistant DNA synthesis. *Nature*. 2001 Apr;410(6830):842–7.
126. Zoppoli G, Solier S, Reinhold WC, Liu H, Connelly JW, Monks A, et al. CHEK2 genomic and proteomic analyses reveal genetic inactivation or endogenous activation across the 60 cell lines of the US National Cancer Institute. *Oncogene*. 2012 Jan 26;31(4):403–18.
127. Wu Y, Yu H, Zheng SL, Na R, Mamawala M, Landis T, et al. A comprehensive evaluation of *CHEK2* germline mutations in men with prostate cancer. *Prostate*. 2018 Jun 9;78(8):607–15.
128. Alorjani M, Aburub M, Trad B, Hamad M, AbuAlarja M, Bashir S, et al. The Prevalence of CHEK1 and CHEK2 Mutations in Prostate Cancer: a Retrospective Cohort Study. *Medical Archives*. 2023;77(1):8.
129. Dong X, Wang L, Taniguchi K, Wang X, Cunningham JM, McDonnell SK, et al. Mutations in CHEK2 Associated with Prostate Cancer Risk. *The American Journal of Human Genetics*. 2003 Feb;72(2):270–80.
130. Cybulski C, Huzarski T, Górski B, Masojć B, Mierzejewski M, Dębniak T, et al. A Novel Founder CHEK2 Mutation is Associated with Increased Prostate Cancer Risk. *Cancer Res*. 2004 Apr 15;64(8):2677–9.
131. Hale V, Weischer M, Park JY. *CHEK2* *1100delC Mutation and Risk of Prostate Cancer. *Prostate Cancer*. 2014;2014:1–9.
132. Stolarova L, Kleiblova P, Janatova M, Soukupova J, Zemankova P, Macurek L, et al. CHEK2 Germline Variants in Cancer Predisposition: Stalemate Rather than Checkmate. *Cells*. 2020 Dec 12;9(12):2675.
133. Wang Y, Dai B, Ye D. CHEK2 mutation and risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(9):15708–15.
134. Cybulski C, Wokołorczyk D, Kluźniak W, Jakubowska A, Górski B, Gronwald J, et al. An inherited NBN mutation is associated with poor prognosis prostate cancer. *Br J Cancer*. 2013 Feb 13;108(2):461–8.
135. Weischer M, Nordestgaard BG, Pharoah P, Bolla MK, Nevanlinna H, van't Veer LJ, et al. *CHEK2* *1100delC Heterozygosity in Women With Breast Cancer Associated With Early Death, Breast Cancer–Specific Death, and Increased Risk of a Second Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2012 Dec 10;30(35):4308–16.
136. Weischer M, Bojesen SE, Ellervik C, Tybjærg-Hansen A, Nordestgaard BG. *CHEK2* *1100delC Genotyping for Clinical Assessment of Breast Cancer Risk: Meta-Analyses of 26,000 Patient

- Cases and 27,000 Controls. *Journal of Clinical Oncology*. 2008 Feb 1;26(4):542–8.
137. Kirchner K, Gamulin M, Kulis T, Sievers B, Kastelan Z, Lessel D. Comprehensive Clinical and Genetic Analysis of CHEK2 in Croatian Men with Prostate Cancer. *Genes (Basel)*. 2022 Oct 27;13(11):1955.
 138. Rantapero T, Wahlfors T, Kähler A, Hultman C, Lindberg J, Tammela TLJ, et al. Inherited DNA Repair Gene Mutations in Men with Lethal Prostate Cancer. *Genes (Basel)*. 2020 Mar 14;11(3):314.
 139. Antoccia A, Kobayashi J, Tauchi H, Matsuura S, Komatsu K. Nijmegen Breakage Syndrome and Functions of the Responsible Protein, NBS1. In: *Genome and Disease*. Basel: KARGER; 2006. p. 191–205.
 140. Alster O, Bielak-Zmijewska A, Mosieniak G, Moreno-Villanueva M, Dudka-Ruszkowska W, Wojtala A, et al. The Role of Nibrin in Doxorubicin-Induced Apoptosis and Cell Senescence in Nijmegen Breakage Syndrome Patients Lymphocytes. *PLoS One*. 2014 Aug 13;9(8):e104964.
 141. Waltes R, Kalb R, Gatei M, Kijas AW, Stumm M, Sobeck A, et al. Human RAD50 Deficiency in a Nijmegen Breakage Syndrome-like Disorder. *The American Journal of Human Genetics*. 2009 May;84(5):605–16.
 142. Petrini JHJ. The Mammalian Mre11-Rad50-Nbs1 Protein Complex: Integration of Functions in the Cellular DNA–Damage Response. *The American Journal of Human Genetics*. 1999 May;64(5):1264–9.
 143. Paull TT, Lee JH. The Mre11/Rad50/Nbs1 Complex and Its Role as a DNA Double-Strand Break Sensor for ATM. *Cell Cycle*. 2005 Jun 5;4(6):737–40.
 144. Lavin MF. ATM and the Mre11 complex combine to recognize and signal DNA double-strand breaks. *Oncogene*. 2007 Dec 10;26(56):7749–58.
 145. Rusak B, Kluźniak W, Wokołorczyk D, Stempa K, Kashyap A, Gronwald J, et al. Inherited NBN Mutations and Prostate Cancer Risk and Survival. *Cancer Res Treat*. 2019 Jul 15;51(3):1180–7.
 146. Varon R, Vissinga C, Platzer M, Cerosaletti KM, Chranowska KH, Saar K, et al. Nibrin, a Novel DNA Double-Strand Break Repair Protein, Is Mutated in Nijmegen Breakage Syndrome. *Cell*. 1998 May;93(3):467–76.
 147. Cybulski C, Górski B, Dębniak T, Gliniewicz B, Mierzejewski M, Masojć B, et al. *NBS1* Is a Prostate Cancer Susceptibility Gene. *Cancer Res*. 2004 Feb 15;64(4):1215–9.

148. 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.
149. Darst BF, Saunders E, Dadaev T, Sheng X, Wan P, Pooler L, et al. Germline Sequencing Analysis to Inform Clinical Gene Panel Testing for Aggressive Prostate Cancer. *JAMA Oncol*. 2023 Nov 1;9(11):1514.
150. Rożnowski K, Januszkiewicz-Lewandowska D, Mosor M, Pernak M, Litwiniuk M, Nowak J. I171V germline mutation in the *NBS1* gene significantly increases risk of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2008 Jul 26;110(2):343–8.
151. Borecka M, Zemankova P, Lhota F, Soukupova J, Kleiblova P, Vocka M, et al. The c.657del5 variant in the *NBN* gene predisposes to pancreatic cancer. *Gene*. 2016 Aug;587(2):169–72.
152. Park SL, Bastani D, Goldstein BY, Chang SC, Cozen W, Cai L, et al. Associations between *NBS1* polymorphisms, haplotypes and smoking-related cancers. *Carcinogenesis*. 2010 Jul;31(7):1264–71.
153. Antonarakis ES, Gomella LG, Petrylak DP. When and How to Use PARP Inhibitors in Prostate Cancer: A Systematic Review of the Literature with an Update on On-Going Trials. *Eur Urol Oncol*. 2020 Oct;3(5):594–611.
154. Antonarakis ES. Abiraterone plus olaparib in prostate cancer: a new form of synthetic lethality? *Lancet Oncol*. 2018 Jul;19(7):860–1.
155. Mateo J, Carreira S, Sandhu S, Miranda S, Mossop H, Perez-Lopez R, et al. DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2015 Oct 29;373(18):1697–708.
156. Mateo J, Porta N, Bianchini D, McGovern U, Elliott T, Jones R, et al. Olaparib in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer with DNA repair gene aberrations (TOPARP-B): a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2020 Jan;21(1):162–74.
157. 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.
158. Abida W, Campbell D, Patnaik A, Bryce AH, Shapiro J, Bambury RM, et al. Rucaparib for the Treatment of Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer Associated with a DNA Damage Repair Gene Alteration: Final Results from the Phase 2 TRITON2 Study. *Eur Urol*. 2023 Sep;84(3):321–30.

159. Bryce AH, Piulats JM, Reaume MN, Ostler PJ, McDermott RS, Gingerich JR, et al. Rucaparib for metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): TRITON3 interim overall survival and efficacy of rucaparib vs docetaxel or second-generation androgen pathway inhibitor therapy. *Journal of Clinical Oncology*. 2023 Feb 20;41(6_suppl):18–18.
160. Smith MR, Scher HI, Sandhu S, Efstathiou E, Lara PN, Yu EY, et al. Niraparib in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer and DNA repair gene defects (GALAHAD): a multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2022 Mar;23(3):362–73.
161. 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;22(9):1250–64.
162. Chi KN, Rathkopf DE, Smith MR, Efstathiou E, Attard G, Olmos D, et al. Phase 3 MAGNITUDE study: First results of niraparib (NIRA) with abiraterone acetate and prednisone (AAP) as first-line therapy in patients (pts) with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) with and without homologous recombination repair (HRR) gene alterations. *Journal of Clinical Oncology*. 2022 Feb 20;40(6_suppl):12–12.
163. Saad F, Armstrong AJ, Thierry-Vuillemin A, Oya M, Loredó E, Procopio G, et al. PROpel: Phase III trial of olaparib (ola) and abiraterone (abi) versus placebo (pbo) and abi as first-line (1L) therapy for patients (pts) with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC). *Journal of Clinical Oncology*. 2022 Feb 20;40(6_suppl):11–11.
164. Agarwal N, Azad AA, Carles J, Fay AP, Matsubara N, Heinrich D, et al. Talazoparib plus enzalutamide in men with first-line metastatic castration-resistant prostate cancer (TALAPRO-2): a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet*. 2023 Jul;402(10398):291–303.
165. Rathkopf DE, Chi KN, Olmos D, Cheng HH, Agarwal N, Graff JN, et al. AMPLITUDE: A study of niraparib in combination with abiraterone acetate plus prednisone (AAP) versus AAP for the treatment of patients with deleterious germline or somatic homologous recombination repair (HRR) gene-altered metastatic castration-sensitive prostate cancer (mCSPC). *Journal of Clinical Oncology*. 2021 Feb 20;39(6_suppl):TPS176–TPS176.

166. Agarwal N, Azad A, Fizazi K, Mateo J, Matsubara N, Shore ND, et al. Talapro-3: A phase 3, double-blind, randomized study of enzalutamide (ENZA) plus talazoparib (TALA) versus placebo plus enza in patients with DDR gene mutated metastatic castration-sensitive prostate cancer (mCSPC). *Journal of Clinical Oncology*. 2022 Feb 20;40(6_suppl):TPS221–TPS221.
167. Schaeffer EM, Srinivas S, Adra N, An Y, Barocas D, Bitting R, et al. Prostate Cancer, Version 4.2023, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2023 Oct;21(10):1067–96.
168. Parker C, Castro E, Fizazi K, Heidenreich A, Ost P, Procopio G, et al. Prostate cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2020 Sep;31(9):1119–34.
169. Lowrance WT, Breau RH, Chou R, Chapin BF, Crispino T, Dreicer R, et al. Advanced Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline PART I. *Journal of Urology*. 2021 Jan;205(1):14–21.
170. Lowrance WT, William T., Breau RH, Chou R, Chapin BF, Crispino T, Dreicer R, et al. Advanced Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline PART II. *Journal of Urology*. 2021 Jan;205(1):22–9.
171. Eastham JA, Auffenberg GB, Barocas DA, Chou R, Crispino T, Davis JW, et al. Clinically Localized Prostate Cancer: AUA/ASTRO Guideline, Part I: Introduction, Risk Assessment, Staging, and Risk-Based Management. *Journal of Urology*. 2022 Jul;208(1):10–8.
172. Gillessen S, Attard G, Beer TM, Beltran H, Bjartell A, Bossi A, et al. Management of Patients with Advanced Prostate Cancer: Report of the Advanced Prostate Cancer Consensus Conference 2019. *Eur Urol*. 2020 Apr;77(4):508–47.
173. Gillessen S, Attard G, Beer TM, Beltran H, Bossi A, Bristow R, et al. Management of Patients with Advanced Prostate Cancer: The Report of the Advanced Prostate Cancer Consensus Conference APCCC 2017. *Eur Urol*. 2018 Feb;73(2):178–211.
174. Saad F, Hotte SJ, Finelli A, Malone S, Niazi T, Noonan K, et al. Canadian consensus forum of key controversial areas in the management of advanced prostate cancer. *Canadian Urological Association Journal*. 2021 Jun 8;15(10).
175. Stoll S, Unger S, Azzarello-Burri S, Chappuis P, Graffeo R, Pichert G, et al. Update Swiss guideline for counselling and testing for predisposition to breast, ovarian, pancreatic and prostate cancer. *Swiss Med Wkly*. 2021 Sep 13;151(3738):w30038.

176. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009 Jan;45(2):228–47.
177. Castro E, Romero-Laorden N, del Pozo A, Lozano R, Medina A, Puente J, et al. PROREPAIR-B: A Prospective Cohort Study of the Impact of Germline DNA Repair Mutations on the Outcomes of Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2019 Feb 20;37(6):490–503.
178. Kavalci E, Onder AU, Brusgaard K, Bostanci A, Selhanoglu MY, Serakinci N. Identification of genetic biomarkers in urine for early detection of prostate cancer. *Curr Probl Cancer*. 2021 Feb;45(1):100616.
179. Mateo J, Seed G, Bertan C, Rescigno P, Dolling D, Figueiredo I, et al. Genomics of lethal prostate cancer at diagnosis and castration resistance. *Journal of Clinical Investigation*. 2020 Feb 24;130(4):1743–51.
180. Hansen EB, Karlsson Q, Merson S, Wakerell S, Rageevakumar R, Jensen JB, et al. Impact of germline DNA repair gene variants on prognosis and treatment of men with advanced prostate cancer. *Sci Rep*. 2023 Nov 6;13(1):19135.
181. Bancroft EK, Page EC, Castro E, Lilja H, Vickers A, Sjoberg D, et al. Targeted Prostate Cancer Screening in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers: Results from the Initial Screening Round of the IMPACT Study. *Eur Urol*. 2014 Sep;66(3):489–99.
182. 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;69(6):992–5.
183. 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.
184. Zafeiriou Z, Bianchini D, Chandler R, Rescigno P, Yuan W, Carreira S, et al. Genomic Analysis of Three Metastatic Prostate Cancer Patients with Exceptional Responses to Carboplatin Indicating Different Types of DNA Repair Deficiency. *Eur Urol*. 2019 Jan;75(1):184–92.
185. Hussain M, Mateo J, Fizazi K, Saad F, Shore N, Sandhu S, et al. Survival with Olaparib in Metastatic Castration-Resistant Prostate

- Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2020 Dec 10;383(24):2345–57.
186. Isaacsson Velho P, Qazi F, Hassan S, Carducci MA, Denmeade SR, Markowski MC, et al. Efficacy of Radium-223 in Bone-metastatic Castration-resistant Prostate Cancer with and Without Homologous Repair Gene Defects. *Eur Urol*. 2019 Aug;76(2):170–6.
 187. Annala M, Struss WJ, Warner EW, Beja K, Vandekerkhove G, Wong A, et al. Treatment Outcomes and Tumor Loss of Heterozygosity in Germline DNA Repair-deficient Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2017 Jul;72(1):34–42.
 188. van der Doelen MJ, Isaacsson Velho P, Slootbeek PHJ, Pamidimarri Naga S, Bormann M, van Helvert S, et al. Impact of DNA damage repair defects on response to radium-223 and overall survival in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Eur J Cancer*. 2020 Sep;136:16–24.
 189. Marshall CH, Fu W, Wang H, Baras AS, Lotan TL, Antonarakis ES. Prevalence of DNA repair gene mutations in localized prostate cancer according to clinical and pathologic features: association of Gleason score and tumor stage. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2019 Mar 31;22(1):59–65.
 190. Lee DJ, Hausler R, Le AN, Kelly G, Powers J, Ding J, et al. Association of Inherited Mutations in DNA Repair Genes with Localized Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2022 Jun;81(6):559–67.

14. PRIEDAI

1 priedas. VRBTEK leidimo kopija



VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETAS

Viešoji įstaiga, Universiteto g. 3, LT-01513 Vilnius, tel. (8 5) 268 7001, faks. (8 5) 272 8646, el. p. infor@cr.vu.lt.
Duomenys kaupiami ir saugomi Juridinių asmenų registre, kodas 211950810.
Fakulteto duomenys: M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101 Vilnius, tel. (8 5) 239 8701, (8 5) 239 7800, faks. (8 5) 239 8705,
el. p. mf@mf.vu.lt

VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS

M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101 Vilnius, tel. (8 5) 268 6998, el. p. rbtek@mf.vu.lt

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2017-02-07 Nr.158200-17-874-411

Tyrimo pavadinimas:

**MOLEKULINIAI ĮRANKIAI PROSTATOS VĖŽIO ILGALAIKĖS STEBĖSENOS IR
GYDYMO INDIVIDUALIZAVIMUI**

Protokolo Nr.:	2016-KAPV
Versija:	2
Data:	2017-01-10
Informuoto asmens sutikimo forma: (retrospektyviai daliai)	---
Informuoto asmens sutikimo forma:	3
Versija:	2017-01-03
Pagrindinis tyrėjas	Feliksas Jankevičius
Įstaigos pavadinimas:	Nacionalinis vėžio institutas Onkourologijos skyrius Santariškių g. 1, Vilnius
Adresas:	Santariškių g. 1, Vilnius
Leidimas galioja iki:	2019-11-14

Leidimas išduotas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto posėdžio (protokolas Nr. 158200-2017/02, vykusio 2017 m. vasario 7 d. sprendimu).

Pirmininkas



Saulius Vosylius

2 priedas. VRBTEK leidimo kopija



VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
sui generis darinys prie VILNIAUS UNIVERSITETO

Biomedicininio tyrimo „Molekuliniai įrankiai prostatos vėžio ilgalaikės stebėsenos ir gydymo individualizavimui“ 2019-10-08 Nr. 2019-LP-46
pagrindiniams tyrėjui Feliksui Jankevičiui

Dėl leidimo Nr. 158200-17-874-411 papildymo Nr. 1

PRITARIMAS

Vilniaus regioninis biomedicininis tyrimų etikos komitetas išnagrinėjo Jūsų prašymą keisti/papildyti biomedicininio tyrimo „Molekuliniai įrankiai prostatos vėžio ilgalaikės stebėsenos ir gydymo individualizavimui“, leidimą Nr. 158200-17-874-411, išduotą 2017-02-07 d. Ekspertai pritaria:

- Tyrimo pratęsimui iki 2020-07-14 d.
- Pagrindinio tyrėjo keitimui – nuo šiol šias pareigas vykdys Albertas Ulys.
- Papildomos laboratorijos įtraukimui - NIPD Genetics Public Company Limited (31 Neas Engomis, 2409 Nikosia, Kipras);
- Naujų tyrėjų įtraukimui - Philippos Patsalis ir Tomo Januškevičiaus;
- Atnaujintam protokolui (versija Nr.3, data 2019-09-11 d.);
- Atnaujintoms informuoto asmens sutikimo formoms:
 - VUL Santaros klinikoms - versija Nr. 4, data 2019-09-11 d.;
 - Nacionaliniam vėžio institutui - versija Nr. 4, data 2019-09-11 d.

Pirmininkas

prof. dr. (HP) Saulius Vosylius

3 priedas. VRBTEK leidimo kopija



VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
sui generis darinys prie VILNIAUS UNIVERSITETO

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2019-11-05 Nr.2019/11-1166-654

Tyrimo pavadinimas:

Radiogenomikos technologijos kliniškai reikšmingo prostatos vėžio nustatymui

Protokolo Nr.:	2
Versija:	2
Data:	2019 10 29
Informuoto asmens sutikimo forma:	2 2019 10 29
Pagrindiniai tyrėjai:	Albertas Ulys
Ištaigos pavadinimas:	Nacionalinis vėžio institutas
Adresas:	Santariškių g. 1, Vilnius
Leidimas galioja iki:	2022 11

Leidimas išduotas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto posėdžio (protokolas Nr. 2019/11), vykusio 2019 m. lapkričio 5 d. sprendimu.

Pirmininkas

prof. dr. (HP) Saulius Vosylius

Viešojoji įstaiga
Universiteto g. 3
01513 Vilnius

Duomenys kaupiami ir saugomi
Juridinių asmenų registre
Kodas 211950810

Komiteto duomenys:
M. K. Čiurlionio g. 21, LT-03101 Vilnius
Tel. (8 5) 268 6998, el. p. rbtek@mf.vu.lt

4 priedas. VRBTEK leidimo kopija



VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
sui generis darinys prie VILNIAUS UNIVERSITETO

Biomedicininio tyrimo „Radiogenomikos technologijos kliniškai reikšmingo prostatos vėžio nustatymui“
pagrindiniam tyrėjui Albertui Uliui 2021-01-26 Nr. 2021-LP-7

PRITARIMAS BIOMEDICININIO TYRIMO DOKUMENTŲ PAKEITIMAMS

Leidimo Nr. 2019/11-1166-654 pakeitimas Nr. 2

Vilniaus regioninis biomedicininių tyrimų etikos komitetas išnagrinėjęs prašymą atlikti su vykdomu biomedicininiu tyrimu „*Radiogenomikos technologijos kliniškai reikšmingo prostatos vėžio nustatymui*“ (leidimas Nr. 2019/11-1166-654, išduotas 2019 11 05 d.) susijusių dokumentų pakeitimus nusprendė, kad pakeitimai **atitinka** LR biomedicininių tyrimų etikos įstatymo II skyriuje nustatytus reikalavimus. Atsižvelgiant į tai **pritariama**, kad būtų:

- vadovaujamosi protokolu (Nr. 4, versija Nr. 4, data 2020 12 17 d.);
- teikiama informuoto asmens sutikimo forma (versija Nr. 3, data 2020 12 17 d.);
- įtraukimas centras UAB „Diagnolita“;
- įtraukiamas tyrėjas Tomas Januškevičius.

Pirmininkas

doc. dr. Alfredas Laurinavičius

Viešoji įstaiga
Universiteto g. 3
01513 Vilnius

Duomenys kaupiami ir saugomi
Juridinių asmenų registre
Kodas 211950810

Komiteto duomenys:
M. K. Čiurlionio g. 21, LT-03101 Vilnius
Tel. (8 5) 268 6998, el. p. rbtek@mf.vu.lt

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

Vilniaus universiteto leidykla
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius
El. p. info@leidykla.vu.lt, www.leidykla.vu.lt
bookshop.vu.lt, journals.vu.lt
Tiražas 25 egz.