

A homológ rekombinációs hibajavító rendszer szomatikus génmutációinak vizsgálata prosztatata-adenokarcinómában, újgenerációs szekvenálással

MELEGH ZSOMBOR¹, CSERNÁK ERZSÉBET¹, KOHÁNKA ANDREA¹, RUBOVSKYKYNÉ GALLAI MÓNICA¹, BENCZE ESZTER¹, SZŐKE MELINDA¹, PAP LUCA¹, SIMON ANDREA¹, KÜRONYA ZSÓFIA³, BIRÓ KRISZTINA³, GÉCZI LAJOS^{2,3}, TÓTH ERIKA^{1,2}

Országos Onkológiai Intézet, ¹Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, ²Nemzeti Tumorbiológiai Laboratórium, ³Gyógyszerterápiás Központ, Urogenitális Tumorok és Klinikai Farmakológiai Osztály, Budapest

Támogatás: A Projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatallal létrejött Támogatási Szerződés alapján valósult meg (Nemzeti Laboratóriumok Program – Nemzeti Tumorbiológiai Laboratórium [2022-2.1.1-NL-2022-00010]).

Levelezési cím:

Dr. Tóth Erika, Országos Onkológiai Intézet, Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, 1122 Budapest, Ráth Gy. u. 7–9., e-mail: dr.toth.erika@oncol.hu

Közlésre érkezett:

2024. április 29.

Elfogadva:

2024. június 4.

A PARP-inhibitor-terápia várható hatékonyságának legjobb prediktív markerei prosztatata-adenokarcinómák esetén a *BRCA1/2* vagy egyéb homológ rekombinációs hibajavító gének mutációi. Ezek vizsgálata a rutin molekuláris patológiai diagnosztika részét képezi. 281 prosztatata-adenokarcinómás beteg vizsgálata során az esetek 21,4%-ában azonosítottunk a fenti gének valamelyikében szomatikus patogén mutációt. Az esetek 28,5%-ában volt sikertelen a vizsgálat, a sikeres vizsgálat legfőbb korlátja a paraffinos blokkok kora, illetve az alacsony DNS-koncentráció volt. A *BRCA1/2* vizsgálata esetén az 5 évesnél régebbi, míg a szélesebb, több homológ rekombinációs hibajavító gént érintő vizsgálat esetén a 2 évesnél régebbi minták esetében a vizsgálat sikeressége jelentősen romlott. Ezért nagyon fontos, hogy magas rizikójú prosztatarák esetén a vizsgálat a primer diagnózis időpontjában megtörténjen, illetve várhatóan a jövőben a folyadékbiopsziás, keringő tumor-DNS-ből történő vizsgálatoknak is egyre nagyobb szerepük lesz. *Magy Onkol* 68:137-141, 2024

Kulcsszavak: prosztatata-adenokarcinóma, homológ rekombinációs hibajavító rendszer, PARP-inhibitor-terápia

*The best predictive marker for the expected efficacy of PARP inhibitor therapy is mutations in *BRCA1/2* or other homologous recombination repair genes. These tests are part of routine molecular pathology diagnostics. Among 281 patients with prostate adenocarcinoma, somatic pathogenic mutations in one of these genes were identified in 21.4% of patients. In 28.5% of the patients, the test was unsuccessful; the main limitation of successful testing was the age of the paraffin blocks and low DNA concentration. In the case of *BRCA1/2* testing, the success rate was significantly reduced for samples older than 5 years, while in tests involving a broader set of homologous recombination repair genes, the success rate was significantly reduced for samples older than 2 years. Therefore, it is very important to test high-risk prostate cancers at the time of primary diagnosis, and probably also liquid biopsy testing of circulating tumor DNA will play an important role in safe diagnosis in the near future.*

*Meleg Z, Csernák E, Kohánka A, Rubovszkyné Gallai M, Bencze E, Szőke M, Pap L, Simon A, Küronya Z, Biró K, Géczi L, Tóth E. Mutation frequency of homologous recombination repair genes in prostate adenocarcinomas. *Magy Onkol* 68:137-141, 2024*

Keywords: prostate adenocarcinoma, homologous recombination repair system, PARP inhibitor therapy

BEVEZETÉS

A DNS károsodásainak javításáért a sejtekben több mechanizmus felelős. Ezek közül a homológ rekombináció és a mismatch repair rendszer hibáinak terápiás jelentősége a legismertebb (1). A kettőszálú DNS egyik hibajavító rendszere, a homológ rekombinációs repair (HRR) rendszer génjeinek csírasedés és szomatikus mutációja 10-15%, illetve 20-25% gyakorisággal fordul elő metasztatikus prosztatákarcinómákban. Leggyakrabban a HRR rendszerben végrehajtott szerepet játszó *BRCA1/2* gének károsodása okozza a hibát, kisebb arányban a *PALB2*, *RAD51*, *BARD1*, *CHEK2*, *CDK12*, *ATM/ATR* gének mutációi. Ezen gének által kódolt fehérjéknek különböző feladatuk van a HRR rendszerben, ami magyarázza, hogy különböző lehet a hatásuk a genetikai eltérések kialakulására.

A poli-ADP-ribóz-polimeráz (PARP) enzim az egyszálú DNS-törések javításában részt vevő bázisexcíziós repair rendszer tagja. Amikor a PARP enzim működését gátoljuk, az egyszálú DNS-törések, majd következményesen a kétszálú törések is halmozódnak. Megtartott HRR esetén ezek a hibák kijavítódnak, a sejt túlél. Amikor a HRR rendszerben valamelyik fehérje működésében a kódoló gén mutációja vagy epigenetikus eltérése miatt zavar van, ezek a törések halmozódnak, ami végül a sejt halálához vezet. Ezt nevezzük az ún. kettős letalítás elvének (2, 3).

Napjainkra számos klinikai vizsgálat bizonyította a metasztatikus kasztrációrezisztens prosztatákarcinómákban (mCRPC) a PARP-inhibitor-terápia hatékonyságát; 2020-ban az FDA jóváhagyta mCRPC-ben (4). Azon betegek esetén, akiknél 14 HRR-rel kapcsolatos gén (*BRCA1/2*, *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1/2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L*) közül valamelyik mutációja azonosítható, Magyarországon is elérhetővé vált a PARP-inhibitor-terápia.

Az Országos Onkológiai Intézet Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztályának molekuláris patológiai laboratóriumában prostata-adenokarcinómák esetén 2021 óta történik a szomatikus *BRCA1/2* mutáció analízise, illetve 2022 óta ezzel párhuzamosan egyéb HRR-ben részt vevő gének szomatikus mutációinak vizsgálata újgenerációs szekvenálással (NGS). A prostata-adenokarcinómák formalinban fixált, paraffinba ágyazott blokkjaiból történő molekuláris patológiai vizsgálat során számos kihívással nézünk szembe. Az ezzel kapcsolatos tapasztalatainkról és a mutációanalízisek eredményéről számolunk be jelen munkánkban. Eredményeinket elemezzük a rendelkezésre álló irodalmi adatok tükrében is.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Munkánk során 281 prostata-adenokarcinómás beteg mintáját vizsgáltuk újgenerációs szekvenálással (NGS). A *BRCA1/2* gének teljes kódoló régiójában található mutációk és kópia-szám-eltérések (exondeléciók, duplikációk) kimutatására az esetek egy részében az Oncomine BRCA Research Assay-t (BRCA RA, Thermo Fisher Scientific, USA), illetve a *BRCA1/2* és további HRR-ben részt vevő gének mutációinak azonosítására a 161 gént tartalmazó Oncomine Comprehensive Assay v3 (OCAv3) (Thermo Fisher Scientific, USA) tesztet használtuk.

DNS-izolálás

A DNS izolálása formalinfixált, paraffinba ágyazott (FFPE) szövetblokkokból történt. Előzetesen a minták HE-festett metszetein a diagnózist uropatológus ellenőrizte, és meghatározta a tumorsejttartalmat. A minták >10%-os tumorsejttartalom mellett voltak alkalmasak a vizsgálatok elvégzéséhez. Nagyobb műtéti anyagok esetén 1-2 5 µm-es metszetet használtunk fel. A nukleinsav-izolálás a Maxwell RSC DNA FFPE Kittel történt, Maxwell RSC automata rendszeren (Promega, USA), a gyártó utasításai szerint. Kis biopsziás anyagok izolálását manuálisan végeztük, 4-6 5 µm-es metszet felhasználásával a ReliaPrep DNA Clean-Up and Concentration System (Promega, USA) izoláló segítségével. A DNS-minták koncentrációját Qubitfluorométeren mértük meg a Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) segítségével.

Könyvtárkészítés és szekvenálás

A DNS-könyvtárak készítése az Ion Chef automata (Thermo Fisher Scientific) készüléken történt, amelyhez 20 ng nukleinsavat használtunk. A szekvenálást Ion S5 Plus rendszeren (Thermo Fisher Scientific) végeztük. A szekvenálás minőségi értékelésének paraméterei egységesen a következők voltak: átlagos lefedettség >1200x, MAPD (CNV) <0,5, a lefedettség egységessége >90%, a targetregió aránya >90%.

A szekvenanciaadatok automatikus elemzése a gyártó által biztosított Torrent szerveren működő Torrent Suite és Ion Reporter szoftverrel (Thermo Fisher Scientific) történt. A bázishíváshoz és a hg19 referenciagenomra illesztéshez a Torrent Suite szoftver v5.18.1-es verzióját használtuk. A szekvenanciavariánsok azonosítását, annotálását az IonReporter szoftver 5.20-as verziójával végeztük.

Statisztika

Az adatok statisztikai vizsgálatára a párosítatlan t-próbát a GraphPad alkalmazáson végeztük el.

EREDMÉNYEK

A vizsgált időszakban (2022. január 1.–2023. december 31.) összesen 112 OCAv3 és 229 BRCA RA újgenerációs szekvenálási vizsgálatot végeztünk 281 beteg anyagán. Az általunk vizsgált esetek mindegyike acináris típusú adenokarcinóma volt. Duktális adenokarcinómás komponensről nem állt rendelkezésre információ a beküldött szövettani leletekben sem.

A vizsgálatok 28,5%-a volt sikertelen. A 112 OCAv3 vizsgálatból 41 (36,6%), míg a BRCA RA vizsgálatoknál 56 (24,5%) volt a sikertelen vizsgálatok száma. 60 beteg mintáján mind az OCAv3, mind a BRCA RA vizsgálat elvégzésre került, ezek közül 45 esetben adott legalább az egyik vizsgálat értékelhető eredményt, míg 15 esetben mindkét vizsgálat sikertelen volt.

Mindkét módszer esetén megvizsgáltuk, hogy a minta DNS-koncentrációja, a minta kora, illetve a tumorsejtek százalékos aránya milyen mértékben befolyásolta a vizsgálat sikerességét. Az OCAv3 vizsgálat esetén azt találtuk, hogy a sikertelen vizsgálatoknál a DNS koncentrációja szignifi-

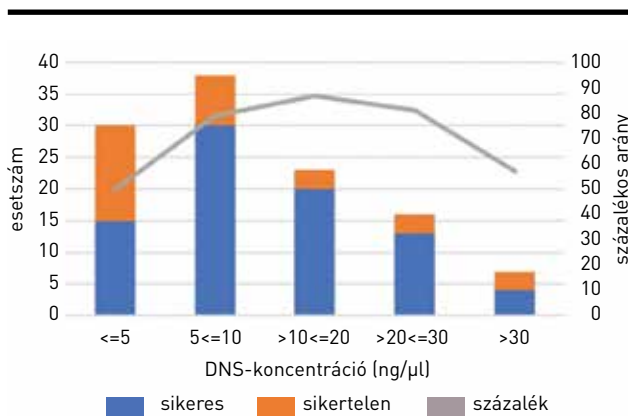
kánsan alacsonyabb volt, mint a sikeres vizsgálatok esetén (8 vs. 12,2 ng/μl, p=0,0255). Hasonló, de nagyobb mértékű szignifikáns különbséget látunk a BRCA RA vizsgálatok során (4,9 vs. 12,3 ng/μl, p<0,0001). Emellett mindkét módszer alkalmazásakor azt találtuk, hogy alacsony, 5 ng/μl alatti DNS-koncentráció mellett a sikertelen vizsgálatok aránya igen magas, 50% körüli volt (1., 2. ábra).

A minta (FFPE blokk) kora jelentősen befolyásolja a vizsgálat sikerességét. Az OCAv3 panel alkalmazásakor a sikertelen eredményt adó minták átlagos kora 4,4 év, míg a sikeres mintáknál 2 év volt (p=0,0003). BRCA RA vizsgálatoknál a sikertelen minták átlagos kora 3,75 év, míg a sikereseké 2,83 év volt, azonban itt a különbség nem bizonyult szignifikánsnak (p=0,1712). Az OCAv3 vizsgálatok esetén a vizsgálat eredményessége jelentősen romlani kezdett, ha a vizsgált minta több mint 2 éves volt (80%-ról 62%-ra), míg további, kifejezett romlás mutatkozott az 5 évnél régebbi minták esetén (sikeres vizsgálatok

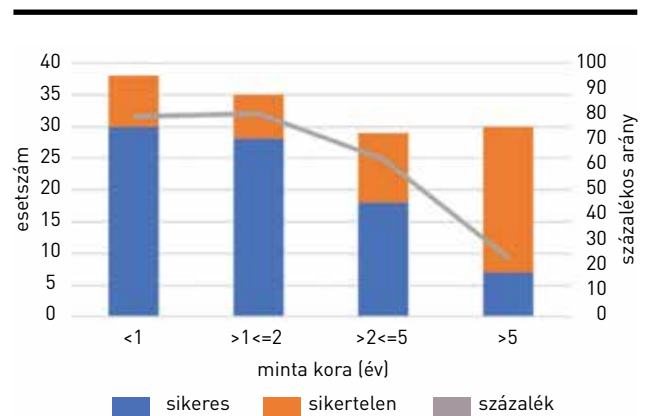
aránya 23,4%) (3. ábra). A BRCA RA vizsgálat sikerességének romlása az 5 évnél régebbi minták esetén következett be, itt a sikeres vizsgálatok aránya 81,5%-ról 51%-ra esett (4. ábra).

A tumorsejtek átlagos százalékos arányában (az élő tumorsejtek aránya a mintában található összes sejthez viszonyítva) nem találtunk különbséget a sikertelen és sikeres vizsgálatok között. Az OCAv3 vizsgálatok esetében az átlagos tumorsejttartalom 46,4% (sikeres: 46,2%; sikertelen: 46,7%), míg a BRCA1/2 vizsgálatok esetén az átlagos tumorsejttartalom 40% volt (sikeres: 39,5%, sikertelen: 41,2%). A minták tumorsejttartalom szerinti összesített százalékos megoszlása az 5. ábrán látható.

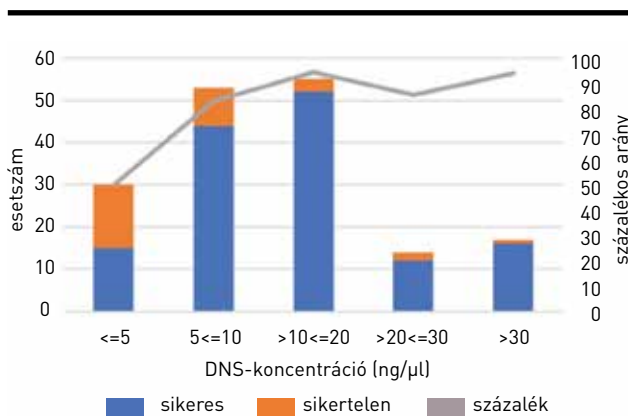
A BRCA1/2 mutáció tekintetében 199 beteg mintájában kaptunk legalább az egyik módszerrel sikeres eredményt. BRCA1/2 gént érintő patogén mutáció 21 betegnél volt detekálható (10,6%); 19 esetben BRCA2-, 2 esetben BRCA1-mutáció volt jelen. A leggyakrabban érintett exonok a BRCA2 gén mutációi közül a 11-es és a 15-ös exonok voltak 5, illetve 4



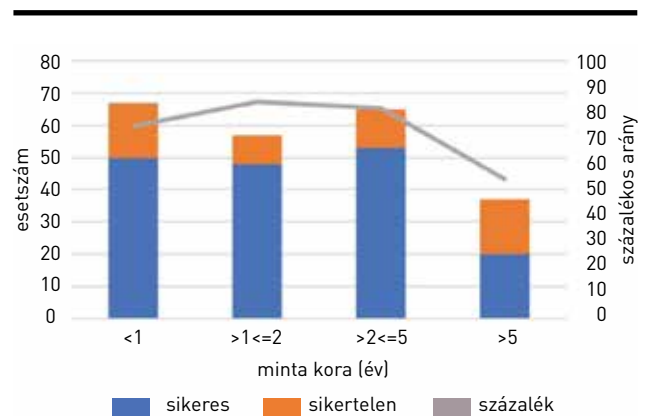
1. ÁBRA. Sikertelen és sikeres vizsgálatok aránya, illetve a sikeres vizsgálatok százalékos aránya a DNS-koncentráció függvényében OCAv3 NGS módszerrel



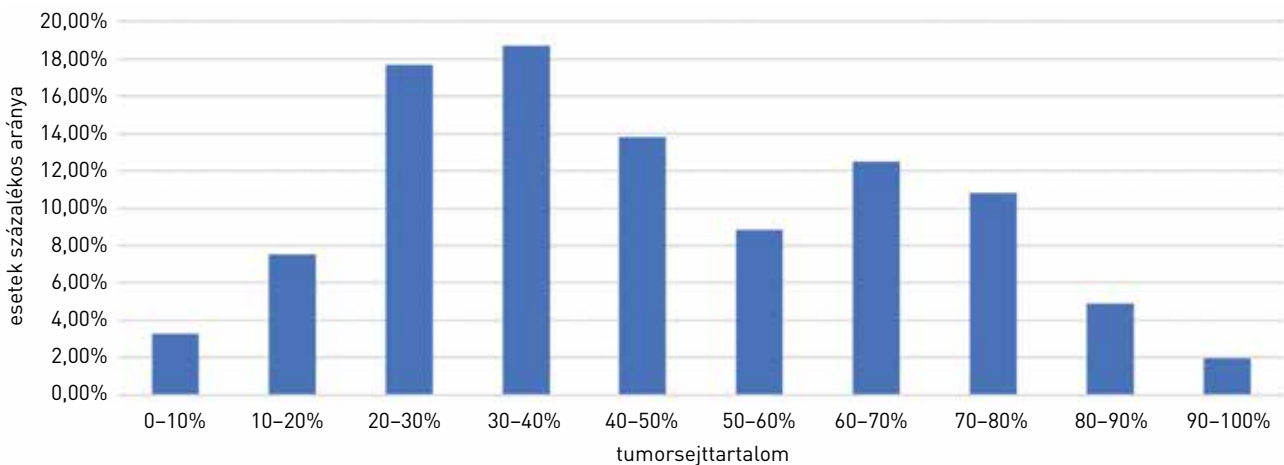
3. ÁBRA. Sikertelen és sikeres vizsgálatok aránya, illetve a sikeres vizsgálatok százalékos aránya a minta korának függvényében OCAv3 NGS módszerrel



2. ÁBRA. Sikertelen és sikeres vizsgálatok aránya, illetve a sikeres vizsgálatok százalékos aránya a DNS-koncentráció függvényében BRCA RA NGS módszerrel

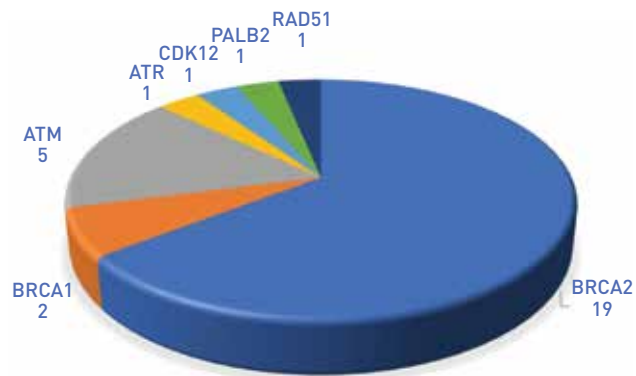


4. ÁBRA. Sikertelen és sikeres vizsgálatok aránya, illetve a sikeres vizsgálatok százalékos aránya a minta korának függvényében BRCA RA NGS módszerrel

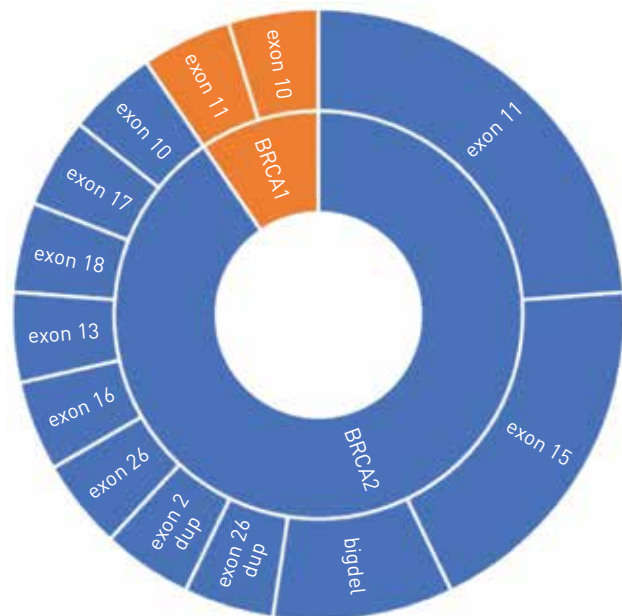


5. ÁBRA. A minták tumorsejtartalom szerinti eloszlása

betegnél (6. ábra). A 83 sikeres OCAv3 vizsgálat során 9 esetben találtunk egyéb, HRR géneket érintő patogén mutációt (10,8%): 5 esetben *ATM*-, 1-1 esetben *RAD51*-, *CDK12*-, *ATR*- és *PALB2*-mutációt (7. ábra). A két vizsgálómódszerrel összesen a sikeres vizsgálatok 21,4%-ában azonosítottunk a *BRCA1/2* vagy más HRR génben terápiás jelentőségű patogén mutációt. Egy esetben találtunk ismeretlen jelentőségű *BRCA2*-variánst (VUS) (*BRCA 2*, p.? c.632-55_632-55delinsAAA). 50% mutáns-allél-arányt meghaladó patogén *BRCA2*-mutációt 5 esetben



7. ÁBRA. A HRR géneket érintő patogén mutációk eloszlása



6. ÁBRA. A *BRCA1/2* géneket érintő patogén variánsok eloszlása az eltérések típusa szerint

detektáltunk. Emellett az 5 patogén *ATM*-mutációt mutató esetből 3 mintában találtunk 50%-ot meghaladó allélarányt.

A leletátfutás a minta molekuláris laboratóriumba való beérkezésétől a lelet leadásáig eltelt munkanapok száma, eseteink 20%-ában 10 vagy kevesebb, 44%-ban 11–15, 22,8%-ban 16–20, 22,5%-ban több mint 20 munkanap volt.

MEGBESZÉLÉS

Napjainkra az előrehaladott, kasztrációrezisztens prosztata-adenokarcinómák kezelésében jelentős szerepe van a PARP-inhibitor-terápiáknak (5). Ezek várható hatékonyságának legjobb prediktív markere a *BRCA1/2* vagy más HRR gének mutációinak azonosítása (6). 2022 óta az Országos Onkológiai Intézet Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztályának laboratóriumában NGS-alapú módszerekkel rutinszerűen vizsgáljuk ezen eltéréseket. Az irodalmi adatokhoz hasonlóan az általunk vizsgált esetekben is viszonylag magas, 30% körüli

volt a sikertelen vizsgálatok aránya (7). Ennek elsődleges oka a rendelkezésre álló formalinfixált minták paraffinblokkjainak kora. A vizsgálatok sikertelensége egyértelmű összefüggést mutatott a blokkok életkorával. 5 évnél idősebb blokkok esetén 51% volt a sikertelen vizsgálatok aránya. Ez is az oka annak, hogy a jelenlegi nemzetközi irányelvek magas rizikójú prosztatacarcinómák esetén a diagnózis időpontjában javasolják a molekuláris patológiai vizsgálatot. Ilyenkor, ha a preanalitika megfelelő, még nagyobb eséllyel optimális minőségű a minta. Ugyanakkor a prosztatacarcinómák esetén gyakori többgócúság miatt, nem csírasejtes HRR-génmutáció esetén nem biztos, hogy a primer biopsziából végzett vizsgálat reprezentálja a metasztatikus daganat genetikai státuszát, mivel a különálló góccok egymástól gyakran eltérő genotípust mutathatnak (8).

HRR gének szomatikus patogén vagy valószínűleg patogén mutációjakor minden esetben javasolt a genetikai konzultáció (9). Eseteink között a tumorsejtarányt és a mutánsallél-frekvenciát figyelembe véve legalább 33%-ban valószínűsíthető örökletes mutáció, de teljes biztonsággal ez a szomatikus mutációk vizsgálata során nem adható meg, mivel nagy deléciók, exonduplikációk esetén az allélfrekvencia meghatározása bizonytalan.

A blokkok kora mellett a másik leggyakoribb limitáló tényező a minták tumorsejtartalma. Általánosságban azt mondhatjuk, hogy 10% alatti tumorsejtarány esetén a minta nem alkalmas NGS-alapú vizsgálatra. Annak ellenére, hogy az újgenerációs szekvenálás DNS-igénye általában kisebb, sokszor az alacsony tumorsejtartalmú, preanalitikai hiba vagy a blokk életkora miatti csökkent minőségű mintákból nem lehet elegendő mennyiségű és minőségű DNS-t kinyerni. Azokban az esetekben, ahol nincs megfelelő patológiai minta szomatikus mutációk vizsgálatára, illetve a klinikai jellemzők alapján felmerül örökletes daganat lehetősége, mindenképpen csírasejtes mutáció vizsgálata, genetikai konzultáció javasolt. Alternatívaként szóba jön még keringő tumor-DNS (ctDNS) vizsgálata. Ennek elsődleges korlátja a vérből kinyert ctDNS kis mennyisége lehet. Kiterjedten metasztatikus, nagy tumortömeeggel rendelkező betegeknél várható elsősorban sikeres véralapú folyadékbiopsziás vizsgálat. Emellett negatív eredmény esetén nem tudjuk biztonsággal

eldönteni, hogy a módszerünk elégtelen érzékenysége miatt volt negatív az eredmény, vagy valóban nincs HRR-génmutáció a daganatban. ctDNS-vizsgálat eredménye csak pozitív esetben fogadható el egyértelműen. Mindezen korlátok ellenére a közeljövőben a folyadékbiopsziás vizsgálatok a jelentős technikai fejlődésnek köszönhetően is egyre nagyobb szerepet töltenek majd be a szolid tumorok, ezeken belül a prosztata daganatok molekuláris diagnosztikájában (10).

Az általunk vizsgált esetekben azonosított *BRCA1/2* és egyéb HRR-génmutációk gyakorisága 21,4% volt. Irodalmi adatok szerint metasztatikus duktális adenocarcinómákban gyakoribb (40%) a *BRCA1/2* vagy egyéb HRR gének mutációja (11). Robinson és munkatársai a metasztatikus kasztrációrezisztens prosztatarákok 23%-ában azonosítottak szomatikus HRR-génmutációt, 20%-ban a *BRCA1/2* és *ATM* gének érintettségét találták. Eredményeink ezzel egybevágunk (12). Leleteink döntő többsége a nemzetközi elvárásoknak megfelelő 10-15 munkanap alatt elkészül (13). A 15 napon túli esetek háttérben általában alacsony tumorsejtartalmú, rossz minőségű minták miatti ismételt mintabekérések állnak.

ÖSSZEFOGLALÁS

A laboratóriumunkban a *BRCA1/2* és további HRR gének szomatikus mutációinak rutinszerűen végzett vizsgálata az irodalomban találhatóéhoz hasonló, 21,4%-os gyakoriságot mutatott. Eredményeink felhívják a figyelmet a gyakori sikertelen vizsgálatokra, amelyek elsődleges oka a vizsgált szövettani minták kora. 5 évesnél idősebb paraffinos blokkokból nem javasolt a vizsgálat. Magas rizikójú betegeknél törekedni kell a diagnózis időpontjában történő molekuláris patológiai vizsgálatra. Sikertelen vizsgálatok esetén alternatív módszer a csírasejtes mutáció vizsgálata, illetve a ctDNS-ből történő szomatikus mutációanalízis. Ez utóbbinak jelenleg legfőbb korlátja a vérből kinyerhető ctDNS mennyisége.

Etikai engedély: Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (ETT TUKEB), engedély száma: BMEÜ/1630-1/2022/EKU

IRODALOM

- Huang R, Zhou PK. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther* 6:254, 2021
- Congregado B, Rivero I, Osman I, et al. PARP inhibitors: A new horizon for patients with prostate cancer. *Biomedicine* 10:1416, 2022
- Teyssonneau D, Margot H, Cabart M, et al. Prostate cancer and PARP inhibitors: progress and challenges. *J Hematol Oncol* 14:51, 2021
- de Bono J, Mateo J, Fizazi K, et al. Olaparib for metastatic castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med* 382:2091–2102, 2020
- Mateo J, de Bono JS, Fizazi K, et al. Olaparib for the treatment of patients with metastatic castration-resistant prostate cancer and alterations in *BRCA1* and/or *BRCA2* in the PROfound trial. *J Clin Oncol* 42:571–583, 2024
- von Werdt A, Brandt L, Schärer OD, et al. PARP inhibition in prostate cancer with homologous recombination repair alterations. *JCO Precis Oncol* 5:PO.21.00152, 2021
- Hussain M, Corcoran C, Sibilla C, et al. Tumor genomic testing for >4,000 men with metastatic castration-resistant prostate cancer in the phase III trial PROfound (Olaparib). *Clin Cancer Res* 28:1518–1530, 2022
- Skotheim RI, Bogaard M, Carm KT, et al. Prostate cancer: Molecular aspects, consequences, and opportunities of the multifocal nature. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 1879:189080, 2024
- Schaeffer EM, Srinivas S, Adra N, et al. Prostate Cancer, Version 3.2024. *J Natl Compr Canc Netw* 22:140–150, 2024
- Mandel P, Hoeh B, Humke C, et al. Feasibility of next-generation sequencing of liquid biopsy (circulating tumor DNA) samples and tumor tissue from patients with metastatic prostate cancer in a real-world clinical setting in Germany. *Eur Urol Focus* 15:S2405-4569(24)00043-9, 2024
- Shah S, Rachmat R, Enyioma S, et al. *BRCA* mutations in prostate cancer: Assessment, implications and treatment considerations. *Int J Mol Sci* 22:12628, 2021
- Robinson D, Van Allen EM, Wu YM, et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. *Cell* 162:454, 2015
- Selvarajah S, Schrader KA, Kolinsky MP, et al. Recommendations for the implementation of genetic testing for metastatic prostate cancer patients in Canada. *Can Urol Assoc J* 16:321–332, 2022