

**Universidad CEU San Pablo
CEINDO – CEU Escuela Internacional De
Doctorado**

PROGRAMA en MEDICINA TRASLACIONAL



**Valor pronóstico y significado
clínico de las alteraciones
genómicas en el Fibroblast Growth
Factor Receptor en pacientes con
cáncer de vejiga y del tracto urinario
superior metastásico**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Elena Sevillano Fernández

Dirigida por: Dr. Jesús García-Donas , Dr. Juan Francisco
Rodríguez Moreno

MADRID
2022

TESIS DOCTORAL
ELENA SEVILLANO
FERNÁNDEZ
2022

“Cuando emprendas tu viaje a Itaca
pide que el camino sea largo,
lleno de aventuras, lleno de experiencias.
No temas a los lestrigones ni a los cíclopes
ni al colérico Poseidón,
seres tales jamás hallarás en tu camino,
si tu pensar es elevado, si selecta
es la emoción que toca tu espíritu y tu cuerpo.
Ni a los lestrigones ni a los cíclopes
ni al salvaje Poseidón encontrarás,
si no los llevas dentro de tu alma,
si no los yergue tu alma ante ti.

Pide que el camino sea largo.
Que muchas sean las mañanas de verano
en que llegues -¡con qué placer y alegría!-
a puertos nunca vistos antes.
Detente en los emporios de Fenicia
y hazte con hermosas mercancías,
nácar y coral, ámbar y ébano
y toda suerte de perfumes sensuales,
cuantos más abundantes perfumes sensuales puedas.
Ve a muchas ciudades egipcias
a aprender, a aprender de sus sabios.

Ten siempre a Itaca en tu mente.
Llegar allí es tu destino.
Mas no apresures nunca el viaje.
Mejor que dure muchos años
y atracar, viejo ya, en la isla,
enriquecido de cuanto ganaste en el camino
sin aguantar a que Itaca te enriquezca.

Itaca te brindó tan hermoso viaje.
Sin ella no habrías emprendido el camino.
Pero no tiene ya nada que darte.

Aunque la halles pobre, Itaca no te ha engañado.
Así, sabio como te has vuelto, con tanta experiencia,
entenderás ya qué significan las Itacas.”

Konstantino Kavafis

A mis padres y a Julio

A Eduardo y Nicolás

A mi abuela

A Charo, Sara y Angelines

A Marc y Maribel

A mis amigas

AGRADECIMIENTOS:

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento por la ayuda prestada a todas las personas que de un modo u otro han contribuido a la realización de este trabajo

Al Dr. Jesús García-Donas, por ser un gran mentor, que nos contagia de ilusión y creatividad día a día. Agradezco tu infinita paciencia, dedicación y tutela demostrada en el desarrollo de este trabajo. Gracias por la confianza puesta en mí.

Al Dr. Juan Francisco Rodríguez Moreno, por ser lo más parecido a un hermano mayor científico. Por saber que siempre se puede contar contigo. Tu conocimiento, capacidad crítica y analítica es admirable. Gracias por tus consejos.

A Rodrigo Madurga, por ayudarme a desenmarañar datos estadísticos complejos de forma sencilla. Sin tu ayuda, este trabajo no hubiera llegado a puerto.

A la Universidad CEU-San Pablo y a la Fundación HM por la beca concedida para la realización de la presente Tesis Doctoral.

A todos mis compañeros del CIOCC, en especial a Arancha, por hacerlo todo tan fácil. A Paloma, Sergio, Mónica, María, Miguel y Alejandra por su disposición y ayuda en el desarrollo de este trabajo. A Lolin mi compañera durante este proceso.

Al Dr. Joaquim Bellmunt. No podía haberme introducido en el mundo del cáncer de vejiga con mejor profesor. Rotar contigo fue un “eye-opening”.

A mis compañeros del Hospital Son Espases. En especial a la Dra. Arancha González del Alba. Contigo descubrí mi pasión por los tumores genitourinarios.

A mis pacientes, ellos me han enseñado las mejores lecciones de mi vida. Espero poder recompensaros.

A mi familia, a mis compañeros y amigos que han contribuido directa o indirectamente a la realización de este trabajo.

A quien pueda sentirse inspirado con esta Tesis, a todo aquel que tenga la inquietud de querer impactar en el campo de la ciencia, de la investigación, de la medicina, de la oncología le digo: “Ve a por ello, necesitamos más como tú”

ÍNDICE:

1.INTRODUCCIÓN:	20
1.1 Epidemiología del cáncer urotelial:	20
1.1.1 Cáncer de vejiga en el Mundo:	20
1.1.2 Cáncer de vejiga en España	23
1.1.3 Factores de riesgo de cáncer de vejiga	23
1.1.4 Prevención	30
1.2 Cáncer de vejiga no músculo-invasivo (NMIBC)	30
1.2.1 Clasificación clínico-patológica y técnicas diagnósticas en el cáncer de vejiga no músculo invasivo (NMIBC):.....	30
1.2.2 Clasificación molecular del cáncer de vejiga no músculo-invasivo (NMIBC):	32
1.2.2 Tratamiento del cáncer de vejiga no músculo invasivo	36
(NIMBC):	36
1.3 Carcinoma de vejiga músculo invasivo (MIBC)	53
1.3.1 Clasificación molecular del MIBC.....	53
1.3.2 Epidemiología del MIBC.....	57
1.3.3 Tratamiento del MIBC:	57
1.4 Carcinoma vesical metastásico (Cvm)	86
1.4.1 Situación actual del Cvm	86
1.4.2 Caracterización molecular de los tumores del tracto urinario superior (UTUC) con respecto al carcinoma de vejiga (CV):.....	87
1.4.3 Clasificación pronóstica del cáncer vesical metastásico (Cvm)	91
1.4.4 Tratamiento del cáncer de vejiga metastásico	93
1.5 Perspectivas futuras en el tratamiento del cáncer de vejiga.....	129
1.6 Características moleculares del gen FGFR	132
1.6.1 Gen FGFR	132
1.6.2 Mecanismos de resistencia a los inhibidores de FGFR:	137
1.6.3 Carcinoma urotelial con alteraciones moleculares de FGFR	140
1.7 Biomarcadores en cáncer de vejiga:.....	141
1.7.1 Biomarcadores de respuesta a la quimioterapia:.....	141
1.7.2 Biomarcadores de respuesta a la inmunoterapia:.....	143
2. JUSTIFICACIÓN:	146
3.HIPÓTESIS:	147
3.1 Primaria.....	147
3.2. Secundarias	147
4. OBJETIVOS:.....	148
4.1 Objetivos Primarios	148
4.2 Objetivos Secundarios	148
5. MATERIAL Y MÉTODOS:.....	149
5.1 Diseño del estudio	149
5.2 Aprobación por parte del Comité de Ética de Investigación con medicamentos (CEim) y por la Comisión Ejecutiva I+D+I	150
5.3 Selección de Pacientes.....	151
5.3.1. Variables clínicas, anatomopatológicas y moleculares recogidas:	151
Las siguientes variables fueron recogidas de forma retrospectiva en nuestro estudio: .	151

5.4 Criterios para la revisión del estatus molecular de FGFR:	153
5.4.1. Análisis molecular de las muestras:	153
5.5 Análisis estadístico:	156
6. RESULTADOS:	158
6.1. Criterios de Inclusión	158
6.2. Características basales de la población global:	158
6.3. Características basales de la población de estudio :	161
6.4 Caracterización de las alteraciones moleculares en FGFR:.....	164
6.5 Supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG) de la población de estudio y en función del estatus FGFR	165
6.6 Supervivencia global de la población de estudio en función la localización del tumor primario y por estatus de FGFR	167
6.7 Supervivencia global de la población de estudio en función del patrón de diseminación metastásica y por estatus de FGFR:	168
6.7.1. Metástasis hepáticas:	168
6.7.2. Metástasis óseas:	168
6.7.3. Metástasis viscerales:	169
6.7.4. Metástasis ganglionares:	169
6.8 Supervivencia global de la población de estudio en función de las variantes histológicas:	171
6.9 Tasas de respuesta a la primera línea de tratamiento en la población de estudio y por estatus de FGFR.....	171
6.10 Factores pronósticos relacionados con la supervivencia:.....	173
6.10.1. Criterios de Bajorin:	173
6.10.2. Análisis univariable y multivariable en primera línea para la supervivencia global:	175
6.10.3. Criterios de Bellmunt:	176
6.11 Estudio de biomarcadores en la población con alteraciones genómicas en FGFR:...	178
6.11.1 Parámetros de eficacia por subtipo de alteración molecular:.....	178
6.11.2 Respuesta a tratamiento por subtipo de alteración molecular:.....	178
6.11.3 Correlación de FGFR AG con otros biomarcadores:	182
7. DISCUSIÓN:	186
7.1 Introducción	186
7.2. Características de la población de estudio	186
7.3 Determinación de FGFR	188
7.4 Principales limitaciones del estudio	190
7.5 Supervivencia libre de progresión y supervivencia global de la población de estudio y en función del estatus de FGFR:.....	192
7.6 Supervivencia libre de progresión y supervivencia global en base a la localización del tumor primario y por estatus de FGFR	195
7.7 Supervivencia global en base a la diseminación metastásica y por estatus de FGFR .	197
7.8 Validación de escalas pronósticas clásicas en primera y segunda línea y de acuerdo al estatus de FGFR:.....	197
7.9 Correlación de las alteraciones de FGFR con respuesta al tratamiento:	202
7.10 Estudio individual por tipo alteraciones genómica en FGFR y su relación con la respuesta terapéutica y los parámetros de eficacia	206
7.11 Biomarcadores en la cohorte con alteraciones genómicas en FGFR	209
8. CONCLUSIONES:	217
9. BIBLIOGRAFÍA:.....	220

LISTADO DE TABLAS:

Tabla 1. Clasificación de riesgo de NMIBC de acuerdo a las guías de la AUA y de la EAU.

Tabla 2. Ensayos clínicos de terapias basadas en cisplatino neoadyuvante en el MIBC

Tabla 3. Ensayos con inmunoterapia aprobados en segunda línea en el carcinoma urotelial metastásico

Tabla 4. Ensayos clínicos Fase II en segunda línea o posterior en desarrollo

Tabla 5. Características clínicas y anatomopatológicas de la población del estudio

Tabla 6. Datos demográficos de la población de estudio

Tabla 7. Tipo de alteraciones moleculares en FGFR caracterizadas en la población de estudio

Tabla 8. Localización metastásica en la población FGFR mut/fus y FGFR WT

Tabla 9. Respuesta al tratamiento por terapia específica de primera línea y por estatus de FGFR

Tabla 10. Análisis univariable y multivariable de los distintos factores pronósticos y su relación con la supervivencia global

Tabla 11. Tasas de respuestas objetivas por tipo de alteración genómica de FGFR

LISTADO DE FIGURAS:

Figura 1. Incidencia mundial del cáncer de vejiga en Diciembre 2020

Figura 2. Mortalidad a nivel mundial por cáncer de vejiga en Diciembre

Figura 3. Incidencia mundial por regiones del cáncer de vejiga en 2020

Figura 4. Mortalidad mundial por regiones del cáncer de vejiga en 2020.

Figura 5. Características genómicas del NMIBC

Figura 6. Clases moleculares y vías potenciales de progresión del tumor vesical

Figura 7. Panorama genómico del NMIBC según grado y estadio y su comparación con el MIBC

Figura 8. Evolución de la clasificación molecular del cáncer urotelial de vejiga

Figura 9. Principales estudios en neoadyuvancia en el MIBC

Figura 10. Subtipos moleculares de UTUC para guiar las decisiones terapéuticas

Figura 11. Factores pronóstico en primera línea de carcinoma urotelial avanzado

Figura 12. Factores pronóstico en segunda línea de carcinoma urotelial avanzad

Figura 13. Combinaciones de inmunoterapia y quimioterapia en primera línea en el CUM

Figura 14. Mecanismos oncogénicos de FGFR

Figura 15. Estructura del FGFR y ubicación y frecuencia de las mutaciones somáticas

Figura 16. Mecanismos de secuestro de FGFR-TKI mediado por lisosomas

Figura 17. Diagrama de flujo de la población de estudio

Figura 18. Supervivencia libre de progresión de la población de estudio y en función del estatus de FGFR

Figura 19. Supervivencia global de la población de estudio y por estatus de FGFR

Figura 20. Supervivencia global de la población con carcinoma del tracto urinario superior y por estatus de FGFR

Figura 21. Supervivencia global de acuerdo a la localización metastásica por estatus de FGFR

Figura 22. Supervivencia global por histología

Figura 23. Supervivencia global de la población de estudio de acuerdo a los criterios de Bajorin

Figura 24. Supervivencia global de la población de estudio de acuerdo a los criterios de Bellmunt

Figura 25. Supervivencia libre de progresión y supervivencia global por tipo de alteración genómica en FGFR

Figura 26. Tasas de respuestas por tipo de alteración genómica de FGFR

Figura 27. Supervivencia global por biomarcadores adicionales

Figura 28. Coeficiente de Phi de acuerdo a la correlación entre distintos biomarcadores en la población FGFR AG

Figura 29. Diagrama de Venn que representa la superposición entre la expresión de diferentes biomarcadores

LISTADO DE ABREVIATURAS:

ADC	Antibody Drug Conjugate
AUC	Area Under Curve
BCG	Bacillus Calmette-Guerin
BSC	Best Supportive Care
CaG	Carboplatino - Gemcitabina
CG	Cisplatino - Gemcitabina
CDKN2A/B	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A
CIS	Carcinoma In Situ
CPI	Checkpoint Inhibitor
CPS	Combined Positive Score
CrCl	Creatinine Clearance
CRI	Comité de Revisión Independiente
CR	Cistectomía Radical
CSS	Cancer Specific Survival
CU	Carcinoma Urotelial
CVm	Carcinoma Vesical Metastásico
DCR	Disease Control Rate
DDR	DNA Damage Response
DM	Diabetes Mellitus
DOR	Duration Of Response
EA	Eventos adversos
ECOG PS	Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status
EE	Enfermedad Estable
EMA	Agencia Europea del Medicamento
EV	Enfortumab Vedotin
FDA	Food and Drug Administration
FGFR	Fibriblast Growth Factor Receptor
HRD	Homologous Recombination Deficiency
HNPCC	Cáncer del Colon No-Poliposis Hereditario
IC	Immune Cells
IDO1	IDO1 indoleamine 2,3-dioxygenase 1
ITT	Intention To Treat
NMIBC	Progresión Enfermedad
MIBC	Respuesta Completa
NK	Respuesta Parcial
ORR	Overall Response Rate
PD-L1	Programmed Death – Ligand 1
PE	Progresión Enfermedad
QT	Quimioterapia
RC	Respuesta Completa
RP	Respuesta Parcial
RR	Riesgo Relativo
RT	Radioterapia
RTU	Resección Transuretral
SLE	Supervivencia Libre de Enfermedad

SLM	Supervivencia Libre de Metástasis
SLP	Supervivencia Libre de Progresión
SLR	Supervivencia Libre de Recaída
SG	Supervivencia Global
TERT	Telomerasa Transcriptasa Inversa
TMB	Tumor Mutational Burden
TMT	Trimodal Therapy
UTUC	Upper Tract Urothelial Cancer ó Tumor del Tracto Urinario Superior

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN: Las alteraciones genómicas (AG) del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) juegan un papel determinante en la patogénesis de algunos cánceres uroteliales (CU) y actualmente representan una diana terapéutica en esta patología.

Aunque las FGFR AG son comunes en los tumores no musculo-invasivos (NMIBC), su papel pronóstico y la respuesta a las distintas terapias en el entorno metastásico es desconocido.

OBJETIVOS: El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de las alteraciones genómicas de FGFR en la supervivencia y testar las escalas pronósticas de Bajorin y Bellmunt en los pacientes con carcinoma de vejiga (CV) del tracto urinario superior (UTUC) según el estatus de FGFR. Así como, analizar la sensibilidad a los tratamientos sistémicos en los pacientes que albergaban esta alteración molecular.

MATERIAL Y MÉTODOS: Analizamos retrospectivamente los datos de pacientes con CV y UTUC metastásicos que recibieron tratamiento entre enero de 2010 y diciembre de 2020, y revisamos la información molecular del estatus de FGFR, que había sido realizada previamente mediante técnicas de próxima generación (NGS) o RT-PCR.

RESULTADOS: Seleccionamos 98 pacientes cuyo estatus de FGFR estaba disponible, de los cuales 77 desarrollaron una enfermedad metastásica y se consideraron la población de estudio. De ellos, 26 tenían FGFR AG y 51 eran FGFR WT.

Se sugirió una tendencia hacia una mejor respuesta al cisplatino y a la inmunoterapia en los tumores FGFR GA. Los pacientes con FGFR GA que recibieron un inhibidor de FGFR en primera línea para la enfermedad metastásica tuvieron peores respuestas en comparación con otras opciones de tratamiento (20 % frente a 68,4 %, $p = 0.0065$).

La mediana de supervivencia libre de progresión (SLP) fue de 6 en la cohorte FGFR AG frente a 5 meses en la FGFR WT ($p = 0.71$). La mediana de SG fue significativamente inferior en la cohorte FGFR AG frente a FGFR WT (16.2 frente a 31.9 meses, $p = 0.045$).

En el análisis multivariable, se objetivó las alteraciones genómicas de FGFR (mutaciones/ fusiones) son un factor pronóstico independiente asociado a una peor supervivencia global (HR 2.59 (IC del 95 %: 1.21–5.55)). El modelo de Bajorin predijo correctamente los resultados clínicos en la población FGFR WT, pero perdía su significación en la población FGFR AG.

CONCLUSIONES: Las alteraciones genómicas en FGFR son un biomarcador relevante en el CU metastásico que podría condicionar la respuesta a la terapia sistémica. Deben diseñarse y validarse nuevos modelos pronósticos, que incluyan la determinación molecular de FGFR.

1.INTRODUCCIÓN:

1.1 Epidemiología del cáncer urotelial:

El cáncer urotelial (CU) de vejiga y del tracto urinario superior es una de las enfermedades urológicas más importantes. (1)

El urotelio es el epitelio que reviste las superficies mucosas del riñón, de los túbulos colectores, los cálices y la pelvis renal, los uréteres, la vejiga y la uretra. El cáncer de la vejiga urinaria es el neoplasia maligna más frecuente del sistema urinario. El carcinoma del tracto urinario superior es una entidad embriológica diferente.

1.1.1 Cáncer de vejiga en el Mundo:

El cáncer de vejiga es el undécimo cáncer más común en todo el mundo, con una incidencia de 573.278 nuevos casos diagnosticados en 2020 en ambos sexos y en todas las edades a nivel mundial. **(Figura 1)**

El riesgo de desarrollar cáncer de vejiga aumenta con la edad, produciéndose un importante incremento en mayores de 50 años (2) y siendo la mediana de edad al diagnóstico de 69 años en hombres y 71 años en mujeres.(3)

La mortalidad por cáncer de vejiga a nivel mundial en 2020 fue de 212.536 casos en todos los sexos y edades. (4) **(Figura 2)**

Es más común en hombres que en mujeres, con tasas de incidencia y mortalidad en hombres de 9.5 y 3.3 por 100.000 habitantes respectivamente, siendo 4 veces superiores a las de las mujeres a nivel global. (4)

Por lo tanto, la enfermedad es más prevalente entre los hombres, para quienes es el sexto cáncer más común y la novena causa principal de muerte por cáncer. (4)

Las tasas de incidencia más altas se encuentran en zonas de Asia occidental, en el Sur de Europa, Europa Occidental y América del Norte. Sin embargo, las tasas de mortalidad son mayores en los países en desarrollo. (4) **(Figura 3)**

Las tasas de mortalidad han disminuido principalmente en los entornos más desarrollados debido a en parte a mejoras en el tratamiento (p. ej., resección endoscópica, instilación adyuvante de quimioterapia e inmunoterapia intravesical). (5)

Los patrones geográficos observados de la incidencia del cáncer de vejiga en todo el mundo son en parte debidas al tabaquismo, aunque la infección por *Schistosoma haematobium* (partes de África septentrional y subsahariana) y otros factores de riesgo (exposiciones ocupacionales a aminas aromáticas y otras sustancias químicas que afectan a los trabajadores en las industrias de la pintura, el caucho o el aluminio y la contaminación por arsénico en el agua potable) pueden ser causas importantes en algunas poblaciones. (6)

Es esperable que la incidencia y la prevalencia absoluta del CU aumenten en las próximas décadas a causa del aumento y envejecimiento de la población.(7)

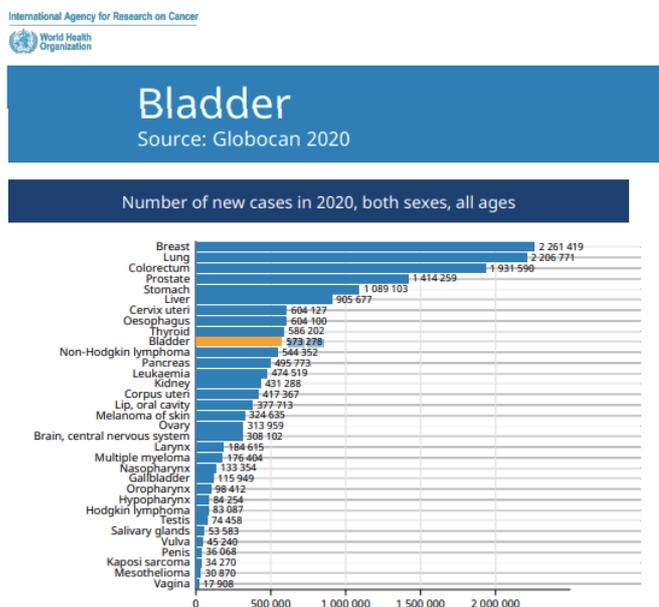


Figura 1. Incidencia mundial del cáncer de vejiga en Diciembre 2020. Fuente: Globocan 2020

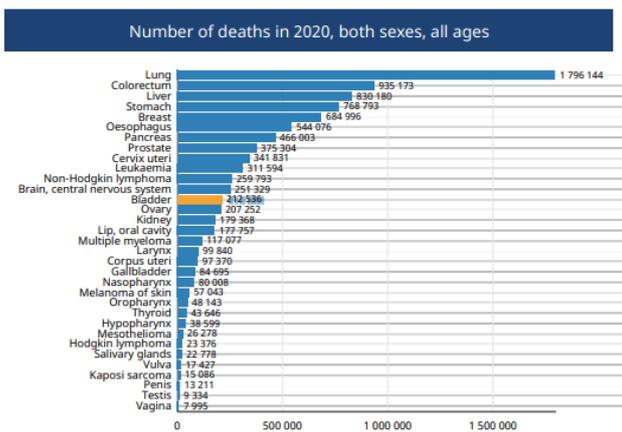


Figura 2. Mortalidad a nivel mundial por cáncer de vejiga en Diciembre 2020. Fuente: Globocan 2020

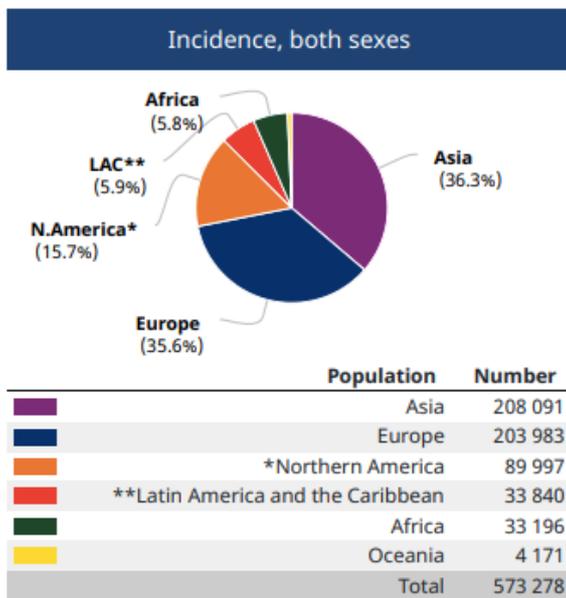


Figura 3. Incidencia mundial por regiones del cáncer de vejiga en 2020. Fuente: Globocan 2020

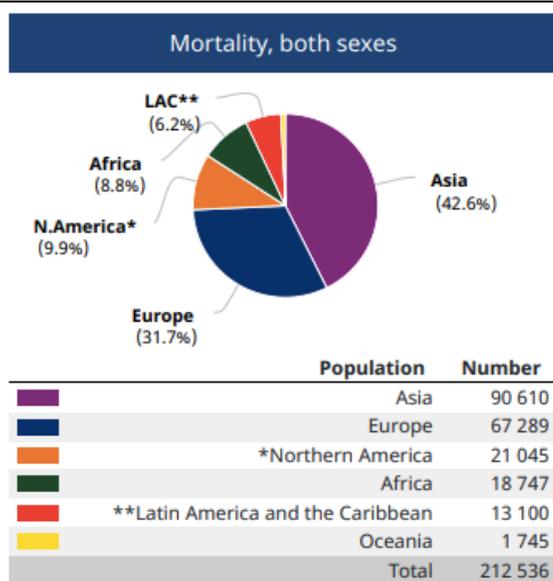


Figura 4. Mortalidad mundial por regiones del cáncer de vejiga en 2020. Fuente: Globocan 2020

1.1.2 Cáncer de vejiga en España

El cáncer de vejiga, es uno de los tumores más frecuentemente diagnosticados en España.

Se estima que el número de nuevos diagnósticos de cáncer de vejiga en España para el año 2021 sea de 20.613.(8) Con una previsión de 16.578 en varones y de 4.035 en mujeres y una mortalidad por cáncer de vejiga anual de 6.606, suponiendo el 5.8% de la mortalidad por cáncer en España en 2021. (4) En varones, se estima que el cáncer de vejiga será el responsable del 6.5% de las muertes por cáncer (4.433; 6.5%). (4)

1.1.3 Factores de riesgo de cáncer de vejiga

El tabaco y la exposición a carcinógenos ocupacionales son los principales factores de riesgo para el desarrollo del cáncer del tracto urinario.

Además, el estudio de otros factores y su asociación con el CU también han sido analizados y descritos en la literatura como veremos a continuación:

1. Tabaco:

El tabaquismo es el factor de riesgo más importante para el desarrollo del CU y está asociado con el aumento de la incidencia, la mortalidad y la progresión del CU. (1)

Asimismo, se ha producido una variación en la prevalencia del tabaquismo. Se ha observado una estabilización en la incidencia del cáncer de vejiga en los varones, mientras que en las mujeres se ha observado un incremento global, debido al aumento del hábito tabáquico en las mujeres, que condiciona un aumento de tumores relacionados con el tabaco.

El riesgo atribuible para la población de desarrollar un cáncer de vejiga secundario al tabaquismo es de entre un 50%- 65% en los hombres y de entre el 20%-30% en las mujeres. Además, fumar triplica el riesgo de cáncer urotelial en comparación con no haber fumado nunca, lo que implica un aumento de riesgo en exfumadores (HR: 2.22; 95% CI, 2.03–2.44) y en fumadores activos (HR: 4.1; 95% CI, 3.7–4.5).(9) (10)

El riesgo de desarrollar un cáncer de vejiga aumenta gradualmente con la duración del tabaquismo y con el consumo de más de 15 cigarrillos al día y/o 50 paquetes-año. Incluso, puede persistir un tiempo prolongado después del abandono tabáquico.(11) Este riesgo es acumulativo, con un retraso entre la exposición al tabaco y el diagnóstico de un CU de más de 20 años de diferencia. (10)

El tabaco contiene compuestos cancerígenos conocidos como aminas aromáticas, como la b-naftilamina, hidrocarburos aromáticos policíclicos y compuestos N-nitrosos. (9)

Estos compuestos se excretan por vía renal y ejercen su efecto cancerígeno en el sistema urinario, produciendo roturas de doble cadena en el ADN, cambio de bases y formación de aductos. (10)

En un metaanálisis de 83 estudios, se demostró un riesgo relativo (RR) de desarrollar CU para los fumadores frente a los no fumadores (RR 3.47, IC 95%: 3.07–3.91) y para los exfumadores (RR 2.04 IC del 95%: 1.85-2.25). (9) La tasa más baja para los exfumadores sugiere que dejar de fumar puede reducir el riesgo de desarrollar un CU. Este metaanálisis también reportó que la mortalidad específica por enfermedad es mayor en los fumadores frente a los

exfumadores (RR 1.53 [IC del 95%: 1.12–2.09]) y HR 1.44 [IC 95% 0.99-2.11] respectivamente).

2. Exposición a carcinógenos ocupacionales:

La exposición ocupacional es el segundo factor de riesgo más importante para el desarrollo de un CU y representa un 10% de los casos. (5)

El riesgo atribuible relacionado a la exposición a carcinógenos ocupacionales asciende al 5-6% en áreas industriales que procesan tintes, pinturas, petróleo y productos de metal fundamentalmente .(12)

Los agentes ocupacionales que han demostrado un riesgo potencial o establecido para el desarrollo de un CU incluyen: las aminas aromáticas (2-naftilamina, 4-aminobifenilo, tolueno, 4,40-metilenbis (2-cloroanilina)),fluidos para el trabajo con metales, hidrocarburos aromáticos policíclicos , percloroetileno y diésel.(9) (13)

El estudio más grande realizado por Cumberbatch et al en el que se revisaron 263 publicaciones demostró que el RR más alto se encontraba en los trabajadores del metal (RR 10.2 [IC 95% 6.89-15.09]), en los trabajadores de la industria del tabaco (RR 1.72 [IC 95% 1,37–2.15]) y en los trabajadores que manipulan tintes (RR 13.4 [IC 95% 1.5-48.2]).(9)

3. Factores ambientales:

En África Oriental y Oriente Medio la infección por *Schistosoma haematobium* es la responsable de la alta incidencia de cáncer de vejiga, especialmente en pacientes en la década de los 40 años.

La infección por *Schistosoma Haematobium* genera una inflamación crónica que puede dar lugar a un carcinoma de células escamosas.(14)

En Egipto, las medidas de salud pública han logrado una disminución drástica de la prevalencia de esquistosomiasis, con la subsiguiente disminución de la incidencia del cáncer de vejiga. (15)

La infecciones del tracto urinario e infecciones virales, específicamente el virus del papiloma humano, también son factores reconocidos que aumentan el riesgo de desarrollar un CU. (16)

4. Alcohol:

A pesar de haberse reportado una relación entre el consumo de alcohol y el riesgo de desarrollar un CU (17), un estudio epidemiológico multicéntrico que incluyó a 476.160 pacientes con un seguimiento de 13.9 años no mostró una clara asociación.(18) Aunque se observó que aquellos pacientes que tenían un alto consumo de alcohol presentaban un mayor riesgo de CU, no se encontró una asociación con la dosis consumida, considerándose como un posible factor de confusión relacionado con el estilo de vida.

5. Vitaminas / antioxidantes:

Varios estudios han evaluado el papel protector del consumo de vitaminas y antioxidantes (como flavonol, lignanos y carotenoides) para prevenir el CU.(19) (20). Se cree que estos agentes podrían tener propiedades anticancerígenas al excretarse en la orina. Sin embargo dos metaanálisis han demostrado resultados contradictorios, no demostrando ningún efecto protector entre los suplementos de vitaminas y antioxidantes y el CU ((RR] = 1.04; 95% IC , 0.92–1.17; $I^2 = 39.7\%$). (21) (22) Un metaanálisis de cinco estudios demostró un efecto protector entre los niveles de vitamina D elevados y la prevención del CU (RR 0.75; IC del 95%: 0.65 a 087).(23)

6. Toma de analgésicos:

Varios estudios han analizado el posible efecto protector del uso regular de cualquier antiinflamatorio no esteroideo y la disminución del riesgo de cáncer de vejiga, por inhibición de la respuesta inflamatoria y proliferativa, aunque existen resultados contradictorios. (15)

7. Ingesta de líquidos : El consumo de café y el riesgo de desarrollar un CU se ha analizado en 10 estudios de cohortes y varios estudios de casos-control no encontrándose una relación evidente. Tampoco se ha visto una asociación entre la incidencia del CU y el consumo de té (RR= 1.09, IC 95%: 0.85-1.40) (24), coca cola, bebidas descafeinadas o energéticas. (25)

Se ha postulado que a mayores niveles de hidratación la incidencia de CU se podría reducir al minimizar el contacto de los carcinógenos con el urotelio al favorecer una mayor eliminación de orina, aunque esta relación no es clara.

(26) Sí que se ha reportado un mayor riesgo de desarrollar un CU por la presencia de trihalometanos secundaria a la cloración de las aguas [RR 1.44 (1.20-1.73)] y al consumo de agua del grifo.(27)

Otra causa conocida para desarrollar un CU es la exposición al arsénico en el agua potable. (28) Un metaanálisis de 17 estudios demostró un RR 2.7 (IC del 95%: 1.2–4.1) cuando se encontraba en una cantidad de 10 mg /litro de agua.(29)

8. Consumo de frutas y verduras:

No existe consenso acerca del riesgo atribuible entre los componentes de la dieta y la relación con el CU, habiéndose publicado datos contradictorios. En un metaanálisis realizado en 15 estudios de cohortes prospectivos, se observó un RR de 0.97 (IC 95% 0.95-0.99) con la toma de una porción diaria de frutas o verduras. En particular, las verduras crucíferas y las frutas cítricas. (30)

9. Consumo de carne:

La relación entre el consumo de carnes procesadas o la proteína animal y el CU ha sido evidenciada en varios estudios de casos-control debido a la presencia de compuestos nitrosos. Sin embargo, se requiere más estudios que demuestren una mayor evidencia.(31)

10. Plantas de energía nuclear:

También se ha observado un incremento del riesgo estadísticamente significativo de desarrollar un CU en personas que viven a menos de 20 km de una central nuclear (RR hombres 1.08 [IC 95% 1.00-1.17], RR mujeres 1.19 (IC 95% 1.02–1.39]). (32)

11. Uso de tintes de pelo:

La relación entre el uso de tintes de pelo y el desarrollo de CU ha sido valorado en un metaanálisis de 15 estudios de casos-control y dos de cohortes en los cuales se observó un RR de 0.93 (0.82–1.05) con el uso de tintes permanentes y de un 1.29 (0.98–1.71) para uso de tintes de color oscuro. (33)

12. Género:

Se han observado diferencias en la incidencia y la supervivencia por CU por sexos. El cáncer urotelial de tracto urinario superior es más común en hombres que en mujeres, con una proporción hombre-mujer de 2: 1. (15)

Varios estudios han reportado una mayor supervivencia en los varones, debido al retraso en el diagnóstico que se produce con relativa frecuencia en las mujeres ante la atribución de los síntomas miccional o la hematuria a una posible cistitis. Una posible explicación de porqué las mujeres presentan una enfermedad más letal no ha sido contrastada y probablemente sea debido a una causa multifactorial, ya que las mujeres suelen presentar un mayor grado y estadio de la enfermedad al diagnóstico o tumores multifocales, así como una mayor proporción de variantes histológicas, lo que en su conjunto implica un peor pronóstico. (7)

Además existen diferencias entre ambos sexos en relación a la exposición ocupacional y los distintos patrones de tabaquismo.(34) También se han descrito diferencias moleculares en relación a la metabolización de carcinógenos y en el metabolismo de las hormonas esteroideas sexuales.(35) Un estudio de cohortes demostró que las mujeres que habían tenido hijos tenían una menor incidencia de CU en comparación con las mujeres nulíparas (RR 0.80, IC del 95% 0.72– 0.89).(36)

13. Diabetes mellitus (DM): Un metaanálisis de 36 estudios reportó un aumento de riesgo para el CU en pacientes con diabetes mellitus (RR 1.35; IC del 95%: 1.17-1.56).

El RR de CU se correlacionó negativamente con la duración de DM, con mayor riesgo entre los pacientes diagnosticados hacía menos de 5 años.(37) Sin embargo, en este metaanálisis se observó una gran heterogeneidad en el diseño del estudio y en el ajuste por factores de confusión.

Otro dos metaanálisis han reportado un mayor riesgo en el desarrollo de CU con el uso del antidiabético oral pioglitazona. (38) Un estudio de cohortes, ha analizado la relación entre el CU y el uso de antidiabéticos orales como la metformina y sulfonilurea demostrando un riesgo reducido de CU.(39)

14. Lupus eritematoso sistémico:

Un metaanálisis de siete estudios reportó un RR agrupado de 2.11 (IC 95%: 1.12-3.99) para el desarrollo de CU.(40) Sin embargo, hubo factores de confusión como el uso de fármacos citotóxicos y la coexistencia de otros síndromes. Hallazgos similares han sido reportados con la esclerosis sistémica (41) y la enfermedad inflamatoria intestinal.(42)

15. Medidas antropométricas / actividad física:

Sun y col. informaron de un RR 1.07 (IC del 95%: 1,01–1.14) para el sobrepeso y RR 1.10 (1.06-1.14) para la obesidad en el desarrollo del CU. (43) El índice de masa corporal se asoció con el riesgo del desarrollo de CU de forma lineal, y el riesgo aumentó en un 4.2% para cada aumento de 5 kg / m². Es probable que los índices de masa corporal más altos están asociados con otros comportamientos no saludables como bajos niveles de actividad física y una dieta menos saludable. Sin embargo, los datos reportados en los distintos estudios son contradictorios. (44)

16. Predisposición genética:

El riesgo de desarrollar un CU es discretamente superior en los familiares de primer grado de pacientes con CU, especialmente en familiares diagnosticados antes de los 60 años.(45) Factores genéticos como los genotipos de acetilación lenta de N-acetiltransferasa 1 y 2 (NAT1, NAT2) y glutatión S-transferasa mu 1 (GSTM1), involucrados en la bioactivación y desintoxicación de los carcinógenos se han establecido como factores de riesgo al aumentar la exposición de carcinógenos.(46) (47)

También se ha observado una asociación genética entre la alteraciones del gen transportador de solutos 14 (SLC14A) , que funciona como un transportador de urea, que influye en la concentración renal de la orina y que su alteración incrementa el contacto de carcinógenos con el urotelio aumentando el riesgo de CU (HR: 1.17; IC 95%, 1.11-1.22).(48)

Ocho polimorfismos (SNP) ubicados en los loci 8q24.21, 3q28, 8q24.3, 4p16.3, 22q13.1, 19q12, 2q37.1 y 5p15.33 se asociaron con un aumento de riesgo de CU (HR 1.15, IC 95%, 1,10–1,20) y el alelo T de rs798766 en 4p16,3 (HR 1.24 ,IC del 95%, 1,17-1,32).(49)

Existe una relación entre el síndrome de Lynch o HNPCC (cáncer colorrectal hereditario no polipósico) y los tumores del tracto urinario superior (UTUC). (50) Los pacientes con síndrome de Lynch tienen un riesgo relativo 14 veces mayor de desarrollar un UTUC y un riesgo a lo largo de su vida de cáncer urológico del 8% a la edad de 70 años. (50) (51)

1.1.4 Prevención

El conocimiento de la epidemiología, de los factores de riesgo y de las estrategias diagnósticas son cruciales para promocionar la prevención y mejorar la detección precoz.

El tabaquismo sigue siendo el principal factor de riesgo y es el responsable del 50% de los casos de CU, por lo que la principal recomendación en términos de prevención es el abandono del hábito tabáquico, ya que contribuye a su disminución en un 40% los 5 años posteriores al cese.(7)

A día de hoy, no está recomendado el cribado del CU en la población general.(7) No existen recomendaciones sobre la dieta, el peso corporal y la actividad física con respecto a la reducción del riesgo del CU con base científica en la actualidad. (7)

Aunque el diagnóstico del CU se apoya fundamentalmente en la cistoscopia, el desarrollo de nuevas técnicas moleculares y de imagen podrían ayudarnos a optimizar su diagnóstico precoz.

1.2 Cáncer de vejiga no músculo-invasivo (NMIBC)

1.2.1 Clasificación clínico-patológica y técnicas diagnósticas en el cáncer de vejiga no músculo invasivo (NMIBC):

Aproximadamente el 75% de los diagnósticos de cáncer de vejiga se presentan como una enfermedad no músculo-invasiva (NMIBC), confinada a la mucosa (Ta y/o Carcinoma in situ: CIS) o submucosa (T1).

Por orden de frecuencia, los más comunes son los tumores Ta (70%) seguido de los T1 (20%) y CIS (10%). Los tumores pueden ser de alto (G3) y bajo grado (G1). (52)

La profundidad de invasión de la lámina propia (T1) ha demostrado ser pronóstica en estudios retrospectivos. (53)

El CIS es un carcinoma urotelial plano, no invasivo pero de alto grado. Frecuentemente es multifocal y puede localizarse en la vejiga, en el tracto urinario superior, en los conductos prostáticos y/o en la uretra prostática. (5) Puede presentarse como un CIS primario, secundario o concurrente a otro tumor urotelial. Sin tratamiento, el 54% de los CIS progresarán a enfermedad músculo-invasiva.(54)

El pronóstico para los pacientes con NMIBC es relativamente favorable en comparación con los tumores músculo-invasivos (MIBC),(55) (34) con una supervivencia específica (CSS) en la enfermedad de alto grado del 70-85% a los 10 años y superior en la enfermedad de bajo grado. (56) Sin embargo, los NMIBC son clínicamente heterogéneos y la probabilidad de recurrencia y progresión depende de varios factores clínicos y patológicos.

Los NMIBC Ta de bajo grado tienen una tasa de recurrencia local de aproximadamente el 55%, y un 6% progresan a un MIBC.(57)

Los NMIBC T1 de alto grado tienen un riesgo de recurrencia del 45% pero una probabilidad de progresión a MIBC del 17%. (58) Por lo tanto, de acuerdo a las características clínicas, la estratificación del riesgo de recurrencia y progresión en el NMIBC tiene importancia pronóstica.

La hematuria macroscópica o microscópica es el síntoma más común en el diagnóstico del NMIBC. El síndrome miccional irritativo en ausencia de una infección de orina, puede observarse en el CIS.

Para realizar un correcto diagnóstico en los NMIBC es preciso realizar una cistoscopia con una resección endoscópica mediante la resección transuretral (RTU) para una posterior evaluación histológica del tejido, que se va a obtener mediante biopsia única en los tumores papilares o mediante biopsias vesicales múltiples en caso de CIS.

Se debe de examinar de forma minuciosa la vejiga y la uretra y documentar la localización, el tamaño, el número de lesiones o las anomalías de la mucosa.

La RTU se debe de realizar de forma sistemática siguiendo una serie de pasos:

- 1) palpación bimanual bajo anestesia, 2) Inserción del resectoscopio,
- 3) Inspección de todo el revestimiento urotelial de la vejiga, 4) Biopsia de la uretra prostática (si está indicada), 5) Biopsias de vejiga (si está indicada),

6) Resección del tumor, 7) Registro quirúrgico, 8) Descripción de la muestra para evaluación patológica. (5)

Se recomienda realizar una segunda RTU para descartar tumor residual tras la RTU inicial, ya que en tumores TaT1 de alto grado, hasta en el 51% de los casos puede existir persistencia y un 8% de los tumores T1 subestadificación.

(59) La segunda RTU puede aumentar la supervivencia libre de recurrencia (SLR) y preferiblemente ha de realizarse entre los 14–42 días de la primera RTU. (60)

Además es preciso realizar una evaluación radiológica del tracto urinario superior mediante una urografía por tomografía computarizada (uroTC) para detectar tumores en el tracto urinario superior, cuando hay sospecha de defecto de llenado y / o hidronefrosis. Realizar además una ecografía permite la visualización de masas intraluminales o hidronefrosis. (5)

La citología de orina, tiene una alta sensibilidad en tumores G3 / de alto grado (84%), pero baja sensibilidad en tumores G1 / de bajo grado (16%) . Una citología negativa no excluye la presencia de un carcinoma. (5)

1.2.2 Clasificación molecular del cáncer de vejiga no músculo-invasivo (NMIBC):

La clasificación molecular del NMIBC no está tan establecida como en el MIBC. (61)

La heterogeneidad de los NMIBC se deriva de la presencia de mutaciones, firmas mutacionales, pérdidas cromosómica, y alteración en distintas vías moleculares, así como una diferencia en los perfiles de expresión génica en los tumores recurrentes con respecto a los primarios. **(Figura 5)**

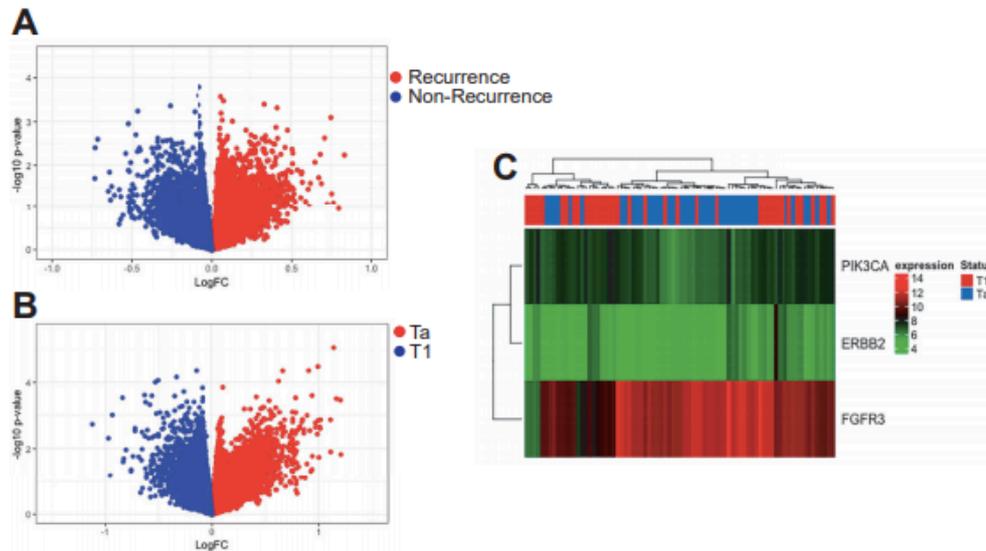


Figura 5. Características genómicas del NMIBC. (A) Comparación de la expresión génica entre tumores recurrentes (rojo) y no recurrentes (azul) en todos los estadios. (B) Comparación diferencial entre tumores Ta (rojo) y T1 (azul). (C) NMIBC (Ta, azul) se asocia con un aumento de la expresión del FGFR3, una expresión de ERBB2 estable y una disminución de la expresión de fosfatidilinositol 3-quinasa (PIK3CA) asociada en comparación con T1 (rojo). A diferencia de los altos niveles de FGFR3, los NMIBC tienen una expresión variable tanto de ERBB2 como de PIK3CA. Fuente: Genomic and Therapeutic Landscape of Non-muscle invasive Bladder Cancer (62)

Hedegaard et al realizaron un análisis transcripcional de 460 pacientes con carcinoma urotelial NMIBC y lograron subdividir en tres clases principales con características basales y luminales y diferentes resultados clínicos (clase 1, clase 2, clase 3). Los tumores de alto estadio y grado, CIS concomitante, puntuaciones de alto riesgo de la EORTC y progresión a MIBC se observaron con mayor frecuencia en las clases 2 y 3 que en la clase 1. (63) Además, las mutaciones en genes de TP53 y ERBB2 se encontraron principalmente en tumores de alto riesgo, junto con firmas mutacionales relacionadas con APOBEC. La identificación de subclases en NMIBC puede ofrecer un mejor pronóstico y selección de tratamiento.

Demostraron la presencia de tumores en estadio Ta y T1 con características de tipo basal (clase 3) tenían una vía de progresión parecida a la enfermedad Ta,

mientras que los tumores de tipo luminal de alto riesgo (clase 2) pueden parecerse a la vía de progresión CIS. **(Figura 6)**

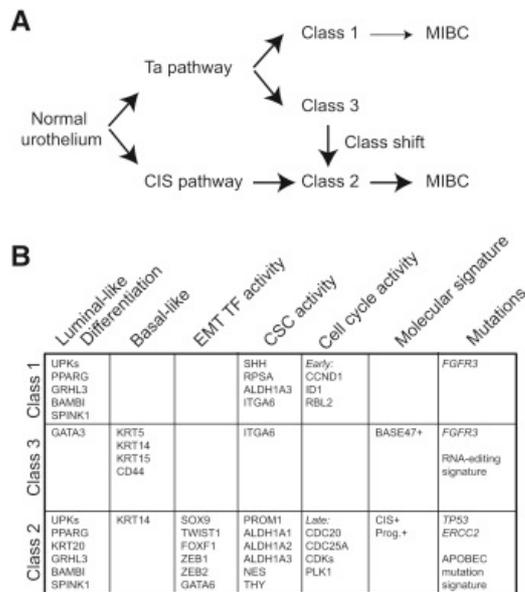


Figura 6: Clases moleculares y vías potenciales de progresión del tumor vesical (63)

El grupo del Dr. Pietzak evaluó el ADN germinal y tumoral de 105 pacientes con NMIBC. Las mutaciones del promotor del gen de la transcriptasa inversa de la telomerasa (TERT) (73%) y las alteraciones en los genes modificadores de la cromatina (69%) fueron muy prevalentes en todos los grados y estadios de NMIBC, lo que sugiere que estos eventos ocurren de forma precoz en la tumorigénesis. (64)

Además, se observaron alteraciones moleculares en ERBB2 o FGFR3 en el 57% de los tumores de NMIBC de alto grado de forma mutuamente excluyente. Las alteraciones del FGFR se encontraban en el 60% de los tumores Ta de alto grado sin CIS y entre un 70-80% de los pacientes con tumores Ta de bajo grado. Dada la presencia de mutaciones accionables en NMIBC, diversos ensayos clínicos están explorando este área terapéutica. **(Figura 7)**

Así mismo, en el trabajo del Dr. Pietzak et al observaron alteraciones en los genes de reparación del DNA en el 30% de los tumores de NMIBC de alto grado, tasa similar a la encontrada en los MIBC, y se asociaron con una carga

mutacional más alta en comparación con los tumores sin alteración en los genes de reparación del DNA ($p < 0,001$). Las mutaciones ARID1A se asociaron con un mayor riesgo de recurrencia tras la BCG (HR 3.14, IC 95 %: 1.51-6.51, $p = 0,002$) (Figura 7)

Gráficamente se describe el panorama genómico del NMIBC según grado y estadio y su comparación con el MIBC:

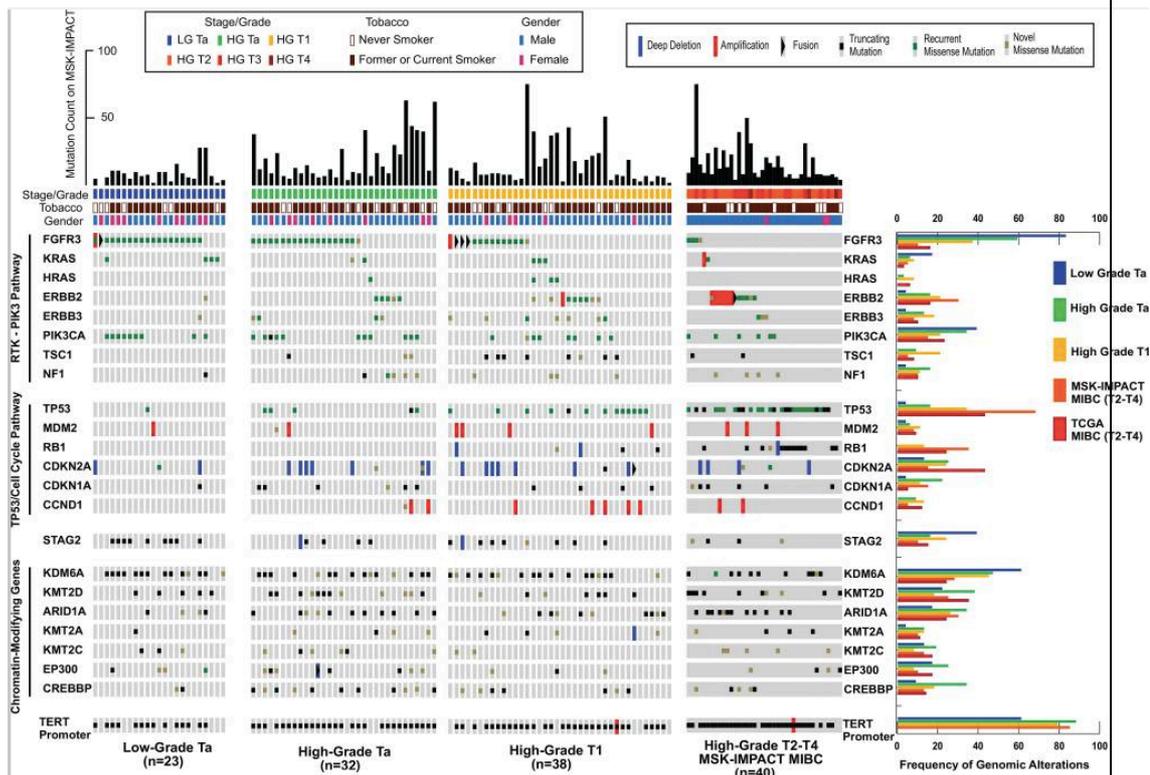


Figura 7: panorama genómico del NMIBC según grado y estadio y su comparación con el MIBC (64)

Bellmunt y col. realizaron la secuenciación del exoma (WES) de 62 tumores NMIBC T1 de alto grado y 15 muestras de tejido normal pareadas, y encontraron que las mutaciones en los genes de reparación del DNA se asociaron con una mayor carga mutacional tumoral ($p < 0,0001$) y mejor pronóstico ($p = 0,003$).

Las mutaciones *ERCC2* y *BRCA2* también se asociaron con mejor pronóstico, mientras que las mutaciones *TP53*, *ATM*, *ARID1A*, *AHR* y *SMARCB1* se asociaron con mayor frecuencia con enfermedad progresiva. (65)

En un estudio retrospectivo de tumores NMIBC T1G3 de alto grado tras la RTU, la abundancia de linfocitos infiltrantes de tumores estromales (TIL) estaban asociados con la profundidad de invasión tumoral , aunque no era pronóstico. (66)

Las mutaciones del promotor TERT representan un evento genético frecuente en la CU. Batista y col. examinaron 125 pacientes de alto riesgo de NMIBC tratados con terapia BCG con mutaciones del promotor de TERT, SNP de TERT rs2853669 y mutaciones de FGFR3. El SNP de TERT rs2853669 se asoció con tumores de grado superior. La mutación específica c.1-146 G> A TERTp fue un predictor independiente de no recurrencia después de la terapia con BCG (HR 0.382; IC 95%: 0.150-0.971, p = 0.048).(67)

1.2.2 Tratamiento del cáncer de vejiga no músculo invasivo (NMIBC):

1.2.2.1 Estratificación del riesgo del NMIBC

El tratamiento adyuvante posterior a la RTU debe adaptarse al riesgo de recurrencia y/o progresión a MIBC. Actualmente la estratificación del riesgo de NMIBC se basa en parámetros clínico-patológicos.

Se han desarrollado distintas clasificaciones para evaluar el riesgo de recurrencia o progresión a MIBC de cara a la toma de decisiones clínicas y el seguimiento de los pacientes. (68) (69) Entre las herramientas más ampliamente utilizadas y validadas se encuentran las desarrolladas por la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer (EORTC) en 2006 (70), la American Urological Association (AUA) (69), la Asociación Europea de Urología (EAU) actualizada en 2021(68) y el Club Urológico Español de Tratamiento Oncológico (CUETO) de 2009. (71)

1. La calculadora EORTC de 2006 (70) : estratifica a los pacientes con NMIBC en riesgo bajo, intermedio y alto de recurrencia o progresión de acuerdo a 6 características clínicas y patológicas (número de tumores, tamaño del tumor, tasa de recurrencia del tumor primario , Categoría T, presencia de CIS y

grado). Hay que tener en cuenta que los factores predictores de progresión de enfermedad son: el estadio tumoral (T), la enfermedad de alto grado y el CIS. Usando este modelo, se pueden calcular las probabilidades individuales de recurrencia y progresión a 1 y 5 años.

2. Las pautas de la AUA: definen la enfermedad de alto riesgo como: T1 de alto grado, cualquier Ta recurrente de alto grado, Ta de alto grado (> 3 cm o multifocal), CIS, cualquier tumor de alto grado tras fallo a la BCG, tumores con variantes histológicas, tumores con invasión linfovascular y la afectación de la uretra prostática de alto grado. (69)

3. El modelo EAU: actualizado en 2021 evaluó 7 parámetros clínicos y patológicos como el estadio tumoral, el grado de la OMS de 1973, el grado de la OMS de 2004/2016, el CIS concomitante, el número de tumores, el tamaño del tumor y la edad fueron predictores independientes de la progresión de la enfermedad. Este modelo se utiliza para definir grupos de riesgo, ya que es el único modelo en el que se incluye el sistema de clasificación de la OMS 2004/2016 como uno de los parámetros

Este modelo determina el riesgo de progresión del tumor, pero no la recurrencia, cualquiera de los modelos mencionados previamente podrían usarse para calcular el riesgo de recurrencia de la enfermedad individual. (68) Además en las guías de la EAU se han descrito otros factores pronósticos en poblaciones seleccionadas de pacientes tales como:

- En tumores T1 G3: el sexo femenino, el CIS en la uretra prostática en hombres tratados con un ciclo de inducción de BCG, la edad, el tamaño del tumor y el CIS concurrente en pacientes tratados con BCG
- Tumores T1 G3 sobre un (pseudo)divertículo vesical
- En pacientes con tumores T1, el hallazgo de enfermedad T1 residual en la segunda RTU es un factor pronóstico desfavorable
- En pacientes con tumores T1 G2 tratados con RTU, la recurrencia a los 3 meses fue el predictor más importante de progresión

EAU [1]			
Low-risk	Intermediate-risk	High-risk	Very high-risk
<ul style="list-style-type: none"> A primary, single, Ta/T1 low-grade (LG) tumour <3 cm in diameter without CIS in a patient ≤ 70 years A primary Ta LG tumour without CIS and ≤1 risk factor 	<ul style="list-style-type: none"> Patients without CIS who are not included in either the low, high or very high-risk groups 	<ul style="list-style-type: none"> All T1 high-grade (HG) without CIS, except those included in the very high-risk group All CIS, except those included in the very high-risk group Ta/T1 LG without CIS and all 3 risk factors Ta HG/T1 LG without CIS and ≥2 risk factors T1 LG without CIS and ≥1 risk factor 	<ul style="list-style-type: none"> Ta HG with CIS and all 3 risk factors T1 LG with CIS and ≥2 risk factors T1 HG with CIS and ≥1 risk factor T1 HG without CIS and all 3 risk factors
AUA [2]			
Low-risk	Intermediate-risk	High-risk	
<ul style="list-style-type: none"> Solitary, Ta LG, ≤3 cm Papillary urothelial neoplasm of low malignant potential 	<ul style="list-style-type: none"> Recurrence within 1 year, Ta LG Solitary Ta LG >3 cm Ta LG, multifocal Ta HG, ≤3 cm T1 LG 	<ul style="list-style-type: none"> T1 HG Any recurrent, Ta HG Ta HG >3 cm or multifocal Any CIS Any BCG failure in HG patients Any variant histology Any lymphovascular invasion (LVI) Any HG prostatic urethral involvement 	

Tabla 1. Clasificación de riesgo de NMIBC de acuerdo a las guías de la AUA y de la EAU (68) (69)

Aunque la clasificación de la AUA y la EAU tienen similitudes, la EAU es más ampliamente utilizada, dado el grado de estratificación de los tumores de alto riesgo y muy alto riesgo. En la AUA los Ta de alto grado se incluyen dentro del riesgo intermedio.

-El modelo **CUETO**: de 2009 predice el riesgo de recurrencia y progresión de los pacientes tratados con 12 dosis de durante un período de 5 a 6 meses después de la RTU . Se basa en la evaluación de siete factores pronósticos : sexo, edad, estado de recurrencia anterior, número de tumores, categoría T, CIS asociado y grado tumoral de 1973 de la OMS.(71)

Utilizando este modelo, el riesgo de recurrencia calculado es inferior que el obtenido mediante el modelo EORTC. Para la progresión, la probabilidad es inferior sobretodo en los pacientes de alto riesgo. Esto es debido al uso de BCG previo.

1.2.2.2 Tratamiento específico según el riesgo del NMIBC

La mayoría de los tumores NMIBC se pueden tratar con intención curativa, y la tasa de SG a los 5 años para los pacientes con NIMBC es aproximadamente del 90%.(2) Sin embargo, el tratamiento y seguimiento prolongado de los NMIBC no solo se asocia a una elevada morbilidad sino también a unos costes considerables.

La mitomicina C y la BCG (Bacilo de Calmette y Guérin) son el tratamiento de elección para los tumores NIMBC.(5)

La BCG es una cepa viva atenuada de *Mycobacterium bovis*, desarrollada originalmente como vacuna para la tuberculosis.(72) Su actividad en los NMIBC fue demostrada por primera vez en 1976 (73). El mecanismo de acción de la BCG aún no se ha dilucidado por completo; sin embargo, se sabe que , el contacto de la BCG con el urotelio y los macrófagos residentes en la vejiga, provoca una respuesta inflamatoria inmunitaria local contra las células tumorales (74)

La activación de las células presentadoras de antígenos y las células uroteliales después de la internalización de BCG induce la liberación de varias citocinas como las interleucinas: (IL)-1b, IL-8, IL-15, IL-18 y quimiocinas como: la CXC 10, el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), el ligando 2 de quimiocina CC (CCL2) y CCL3 que activan la respuesta inmunitaria innata y adaptativa. (74) (75)

De acuerdo a la estratificación del riesgo del NMIBC, las opciones de tratamiento, de acuerdo a las guías de la Asociación Europea de Urología (EAU) de 2021 son las siguientes:

1.9.2.1. NMIBC de bajo riesgo: -primarios, solitarios, TaG1 (de bajo grado), <3 cm y sin CIS-

Los tumores Ta tienen un riesgo significativo de recurrencia y de progresión, especialmente el primer año independientemente del tamaño tumoral o de la multifocalidad. (76)

Este riesgo es mitigado por la instilación intravesical de quimioterapia con (Mitomicina C, Epirubicina, Gemcitabina) las 24 horas siguientes a la cirugía de resección transuretral (RTU).(5) Cuatro metaanálisis han confirmado que, después de la RTU una instilación de quimioterapia es superior a la RTU sola para prevenir la recurrencia. (77)(78)(79)

Estas terapias van dirigidas a las células tumorales liberadas después de la RTU y han demostrado una reducción significativa en el riesgo de recurrencia.(79) (76) Un metaanálisis demostró una reducción absoluta del 13% al 14% del riesgo de recurrencia para los pacientes tratados con RTU e instilaciones de quimioterapia vs RTU sola. (80)

La instilación está contraindicada en pacientes con sospecha de perforación vesical. (76) Los pacientes con NMIBC con recurrencia después de un régimen de quimioterapia intravesical puede beneficiarse de instilaciones de BCG. La quimioterapia intravesical previa no tiene impacto en el efecto de la instilación de BCG. (81)

1.9.2.2. NMIBC de riesgo intermedio: -todos los tumores no definidos en las dos categorías adyacentes (de bajo y alto riesgo)-

Los pacientes de riesgo intermedio se tratan mediante tratamiento de inducción y mantenimiento con BCG. Es preciso realizar una correcta resección tumoral antes de su inducción.

Varios metaanálisis han confirmado la superioridad del tratamiento con BCG tras la RTU para prevenir recurrencias frente a la RTU sólo y a la RTU con quimioterapia. (82) (83)

En pacientes con bajas tasas de recurrencia previa (≤ 1 recurrencia/año) y una puntuación de recurrencia de la EORTC <5 , el tratamiento consiste en una instilación inmediata de BCG de inducción tras la RTU seguido de dosis de mantenimiento con BCG durante 1 año (instilaciones a los 3, 6 y 12 meses),

aunque la pauta óptima de mantenimiento se desconoce. Este esquema ha demostrado prolongar el tiempo de recaídas y reducir la progresión de la enfermedad (5) (84)

La BCG ha demostrado su superioridad con respecto a la quimioterapia intravesical en tumores de riesgo intermedio en tres ensayos clínicos, que compararon BCG con epirrubicina e interferón (IFN) ,Mitocimicina C o epirrubicina .(85)(86)(87)

El tratamiento con gemcitabina intravesical resultó similar en términos de eficacia a la BCG en tumores de riesgo intermedio en la prevención de recurrencias y progresiones. (82)

1.9.2.3. NMIBC de alto riesgo: -pTa / pT1 de alto grado, CIS-

Al contrario de los tumores de riesgo bajo o intermedio, las tasas de progresión son superiores y representan un grupo con un mayor riesgo de recurrencia (hasta 80%) y progresión (hasta 50%) a los 5 años de acuerdo con la estratificación de riesgo de la EORTC. (76)

El tratamiento de elección es la RTU seguida de instilaciones intravesicales con dosis completas de BCG, con un esquema de inducción una vez a la semana durante 6 semanas, y una reevaluación posterior realizada a las 12 semanas del inicio del tratamiento. El esquema de mantenimiento más ampliamente es el del Southwest Oncology Group (SWOG) 8507 (88) mediante tratamiento cada 3 semanas en los meses 3, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses ("6+3" protocol) durante 3 años como terapia estándar.

Este esquema ha sido validado en un ensayo randomizado de la EORTC, demostrando que el tratamiento de mantenimiento durante 3 años en los pacientes de alto riesgo estaba asociado con una disminución del riesgo de recurrencia a dosis plenas (HR: 1.61; 95% CI, 1.13-2.30; p=0.009). No se observaron diferencias en la progresión o la SG. (89) También ha sido validado por un metaanálisis que confirma que la resección transuretral seguido de BCG intravesical frente la resección sola o la resección más otro tratamiento distinto a la BCG es superior. (84) En los tumores de alto riesgo, un programa de mantenimiento con una instilación cada 3 meses durante 3 años también es una estrategia subóptima. (90)

Aunque más de un 80% de los pacientes con CIS alcanzan una respuesta completa tras el tratamiento con BCG, menos de un 50% tendrán una respuesta mantenida.(76)

En pacientes seleccionados de muy alto riesgo la cistectomía radical se puede considerar como la mejor opción de tratamiento: en tumores T1 con CIS asociados, tumores T1G3 múltiples o de gran tamaño, T1G3 recurrentes, T1G3 con CIS en la uretra prostática, algunas variantes histológicas y la presencia de invasión linfovascular de acuerdo a las guías de la EUA. (5)

El estudio CUETO comparó la administración de un tercio de la dosis de BCG con la dosis completa de BCG y no encontró ninguna diferencia en la eficacia. Sin embargo, si que se sugirió que las dosis completas de BCG es más eficaz en los tumores multifocales. (91)

1.2.2.3 Tratamiento de las recaídas de NMIBC tras BCG:

Las recaídas tras la BCG de los NMIBC se puede clasificar de diversas maneras según la respuesta y tiempo a la recaída como: (1) refractario a BCG, (2) no respondedor a BCG , (3) recidivante a BCG, (4) intolerante a BCG (5)

1. Tumor refractario a BCG:

- T1G3 a los 3 meses del tratamiento con BCG
- TaG3 o CIS a los 3 y 6 meses (después de un segundo ciclo de inducción o el primer ciclo de mantenimiento de BCG); si los pacientes con CIS se presentan a los 3 meses, un ciclo adicional de BCG puede lograr una respuesta completa en > 50% de los casos
- Tumor de alto grado que aparece durante la terapia con BCG

2. Tumor no respondedor a BCG:

Recaída refractaria a BCG o recurrencias de tumores T1/Ta de alto grado dentro de los 6 meses de haber completado una pauta completa BCG o desarrollo de un CIS durante los 12 meses de haber completado una pauta completa de BCG.

3. Tumor recidivante a BCG:

Recurrencia de un tumor de alto grado después de completar el mantenimiento con BCG, a pesar de una respuesta inicial.

4. Intolerante a BCG:

Toxicidad secundaria a la administración de BCG antes de completar el tratamiento

1.2.2.3.1. Cistectomía radical (CR):

Los pacientes de alto riesgo que presentan una recaída temprana tras una terapia adecuada con BCG intravesical, tienen un riesgo significativo de progresión.

Es poco probable que los pacientes que no responden al BCG respondan a más terapia con BCG.

Algunos estudios respaldan que determinados pacientes pueden responder a un segundo régimen de inducción con BCG, especialmente cuando las recurrencias son tardías (> 1 año) tras una respuesta completa previa a la terapia intravesical o si las recaídas son en forma de tumores de bajo grado. (69) (92)

Por lo tanto, el estándar de tratamiento de la enfermedad que no responde al BCG, es la cistectomía radical.

La cistectomía radical se asocia con una tasa de supervivencia cáncer específica del 70% al 80% a los 5 años, pero hay que tener en cuenta de que se trata de una cirugía con alta morbilidad.

Los tumores T1 de alto grado recidivantes a la inducción con BCG tienen un pronóstico desfavorable. (93) Estos pacientes, cuando son tratados con cistectomía radical temprana, tienen una supervivencia específica por cáncer a los cinco años superior en comparación con los pacientes con recurrencia T1 tratados con una segunda RTU y terapia con BCG. (94)

Además, en estos pacientes existe un riesgo de progresión hacia la invasión muscular y la necesidad de realizar una cistectomía tardía. (95) Curiosamente, los pacientes sometidos a una cistectomía radical que progresan a una enfermedad con invasión muscular después del tratamiento inicial de NMIBC tienen una supervivencia específica por cáncer inferior en comparación a los

pacientes con enfermedad con invasión muscular de novo. (96) Existen pocos datos sobre el papel de la quimio-radioterapia en el tratamiento de NMIBC de alto riesgo.(97)

Las guías EAU recomiendan la cistectomía en : (68)

1. Pacientes que no responden a BCG
2. Tumores de alto grado recurrentes
3. Tumor de bajo grado recurrentes proveniente de un tumor de riesgo intermedio o alto tratado con BCG.

Las guías AUA / SUO establecieron las siguientes indicaciones para la realización de una cistectomía radical: (69)

1. Tumores T1 de alto grado inicial: se debe considerar la cistectomía radical para los T1 de alto grado tras una resección repetida o T1 con CIS, invasión linfovascular (LVI).
2. Variantes histológicas:
3. T1 / Ta de alto grado recurrente: se debe considerar la cistectomía radical cuando la recurrencia se produce dentro del primer año tras dos regímenes de inducción de BCG o tras un régimen de inducción y uno de mantenimiento con BCG

Las variantes histológicas se consideran un factor pronóstico importante para considerar la realización de la cistectomía radical. En un estudio realizado por Gofrit et al. se compararon 100 pacientes diagnosticados con CU con variantes histológicas con 140 pacientes con CU de alto grado . Entre los 100 pacientes con variantes histológicas , 41 tenían Ta / T1 y se sometieron a BCG, mientras que 59 fueron tratados mediante cistectomía radical. Los pacientes con variantes histológicas tuvieron un pronóstico significativamente peor en comparación con los pacientes con carcinoma urotelial de alto grado convencional: con una supervivencia libre de recidiva a los 5 años (63.5% frente al 71.5%, $p = 0,05$), supervivencia libre de progresión (**SLP**) a enfermedad musculo invasiva ($\geq T2$) a 5 años (60% vs 82.5%, $p = 0.002$), supervivencia específica de la enfermedad a 5 años (73% frente a 92.5%, $p = 0.0004$) y supervivencia global (**SG**) (66% frente a 89.5%, $p = 0.05$). (98)

1.2.2.3.2. Nuevas alternativas terapéuticas a la cistectomía radical en desarrollo en el NMIBC tras recaída o fallo a BCG:

Dado que las tasas de fallo a BCG sobrepasan las tasas de la CR siendo éstas del 6% en los EEUU (76), se han desarrollado nuevas opciones terapéuticas que intentan vencer los mecanismos de resistencia a la BCG.

En la actualidad, el único fármaco intravesical aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) para el CIS tras fallo a BCG es la valrubicina que en 2009, recibió la aprobación para la reintroducción del fármaco después de modificar su formulación y que ha demostrado tasas de respuestas completas a los 2 años del 4%. (99)

Recientemente, la FDA ha aprobado el uso de pembrolizumab intravenoso, de acuerdo a los resultados preliminares del estudio KEYNOTE-057 en Enero 2020 ([NCT02625961](#)). Varios ensayos clínicos con distintos checkpoint inhibitors (CPI) están en desarrollo. A pesar de que los datos clínicos disponibles están limitados en su mayoría a ensayos en fase I / II.

Otras opciones de tratamiento con antibody drug conjugates, inhibidores de FGFR, combinaciones con taxanos y la gemcitabina, moduladores inmunes o virus recombinantes.

Otras alternativas terapéuticas son la quimiohipertermia intravesical asistida por dispositivos: cuyo mecanismo consisten en aumentar la permeabilidad de la quimioterapia dentro de la pared de la vejiga mediante a administración intravesical de quimioterapia calentada a más de 40° mediante un sistema de calentamiento extracorpóreo o un aplicador de microondas intravesical. Ya existen datos prometedores sobre la eficacia de la Mitomicina en pacientes con tumores de alto riesgo, demostrando una disminución de la SLR a los 24 meses (100) y la EMDA-MMC (*Electromotive Drug Administration*) que aprovecha el fenómeno llamado "iontoforesis", creado por electrodos intravesicales, para mejorar la absorción de Mitomicina. . En un ensayo en fase II que incluyó a pacientes con NIMBC no respondedores a BCG la EMDA-MMC

demonstró tener solo una actividad modesta en pacientes con CIS, mientras que este sistema pareció ser efectivo para prevenir la recurrencia de tumores papilares (Ta o T1). (101)

Dado que la eficacia entre estos agentes es bastante comparable entre sí, hay que tener en cuenta otros factores como: la vía de administración, la ausencia de contraindicaciones, la seguridad y el coste para una mejor selección del tratamiento.

1.2.2.3.3. Quimioterapia intravesical:

La valrubicina era la única opción de quimioterapia intravesical.

Desafortunadamente, las tasas de respuestas no eran duraderas, ya que menos del 10% de los pacientes estaban libres de la enfermedad después de dos años.(99)

La eficacia de la quimioterapia intravesical ha sido evaluada en distintos ensayos. En el ensayo en fase II SWOG S0353, el uso gemcitabina de mantenimiento intravesical en el NMIBC recurrente tras fallo a dos ciclos de BCG demostró una supervivencia libre de recaída (SLR) al año del 28%, que disminuyó al 21% a los 2 años. (102) En 2020 Steinberg et al, evaluaron los resultados retrospectivos de una serie de 276 pacientes con tumores NMIBC recurrentes tras la terapia con BCG tratados con terapia intravesical con gemcitabina / docetaxel de forma secuencial, encontrando que las tasas de SLR al 1 y 2 años fueron del 60% y 46%, y las tasas de SLR de alto grado del 65% y 52%.(103) Aunque se trata de datos retrospectivos, son interesantes y probablemente justifiquen un ensayo clínico.

1.2.2.3.4 Checkpoint inhibitors:

Pembrolizumab: En enero de 2020, la FDA aprobó el tratamiento con pembrolizumab para el NMIBC de alto riesgo con carcinoma in situ (CIS) con o sin tumores papilares asociados, que no respondía a la BCG, en pacientes no elegibles o que rechazaron la cistectomía radical.(104)

El ensayo KEYNOTE-057, fase 2, abierto, dio lugar a su aprobación. El objetivo primario de este ensayo fue la tasa de respuesta completa (RC), y los objetivos secundarios la duración de la respuesta y la seguridad / tolerabilidad. (105)

El estudio cuenta con 2 cohortes.

En la cohorte A del estudio, se administró pembrolizumab intravenoso durante un máximo de 24 meses en pacientes con CIS que no respondieron a BCG, que resultaron no elegibles o rechazaron la CR. Tras una mediana de seguimiento de 36,4 meses, el 41 % de los pacientes (IC 95 % 30,7-51,1 %) lograron una RC evaluada mediante cistoscopia y citología de orina. Once de los 39 pacientes con RC (28 %) estaban libres de enfermedad en el análisis de corte de datos. Entre los 39 respondedores, 13 (33,3%) permanecieron con una respuesta completa ≥ 18 meses y 9 (23,1%) mantuvieron una respuesta completa ≥ 24 meses. Los eventos adversos graves e irreversibles relacionados con el sistema inmunológico fueron poco comunes. Además, el pembrolizumab retrasó la cistectomía y, no aumentó el riesgo de progresión de la enfermedad. Hubo 40 pacientes (41,7%) que se sometieron a una cistectomía radical después de la interrupción del pembrolizumab: 35 pacientes (88%) presentaron NMIBC, 2 (5%) no tenían datos patológicos disponibles y 3 (8%) tenían MIBC (todos no respondedores). (104).

Aún no se han publicado los resultados de la cohorte B del estudio, en la que se incluyeron pacientes con NMIBC no respondedores a BCG y sin CIS.

Atezolizumab: El ensayo fase 2 SWOG 1605 (NCT02844816) evaluó el tratamiento con atezolizumab en pacientes con NMIBC recurrente o refractario a BCG. Se incluyeron 135 pacientes con NIMBC que no respondieron a BCG, 70 de ellos habían sido diagnosticados con CIS, y se les administró atezolizumab cada 3 semanas hasta completar un año de tratamiento. Treinta pacientes tuvieron RC a los 3 meses (41,1 %; IC 95 % 29,7–53,2 %) y 19 RC a los 6 meses (26,0 %; IC 95 % 16,5–37,6 %) (106) En la población total, 29 pacientes (29 %; IC 90 % 22–36 %) estaban libres de recurrencia o progresión a los 18 meses, el porcentaje de supervivencia libre de eventos fue mayor en pacientes sin CIS que en pacientes con CIS. El tratamiento fue globalmente bien tolerado. Se produjeron eventos adversos grave en el 17% de los pacientes y hubo dos muertes relacionadas con el tratamiento.

Avelumab se está testando en el ensayo en fase II PREVERT (NCT03950362) que explora la SLR al año en los NMIBC de alto riesgo no respondedores a BCG con la combinación concomitante de Avelumab 10 mg / kg Infusión IV durante 30 minutos: 1 ciclo 5 días antes de la Radioterapia y cada 21 días x 8 ciclos (6 meses) y radioterapia (60-66 Gy) en 30-33 fracciones.

Nivolumab: El ensayo en fase 2 CheckMate 9UT (NCT03519256) está evaluando Nivolumab en monoterapia frente a Nivolumab + Linrodostat mesilato (inhibidor de IDO-1) con o sin BCG en pacientes con NMIBC de alto riesgo no respondedores a BCG. El uso de moléculas específicas como linrodostat permiten la activación del microambiente inmunológico y el aumento de la sensibilidad a las terapias existentes con el objetivo de prevenir el escape inmunológico. Los resultados se encuentran pendientes. (107)

Durvalumab se está estudiando en el entorno de tumores NMIBC resistentes a BCG con radioterapia en el ensayo ADAPT-BLADDER (NCT03317158). El ensayo fase 1/2 analiza la supervivencia libre de recurrencia de alto riesgo al año. En la Fase I de este estudio se analizará el durvalumab en monoterapia (Cohorte 1) y el durvalumab combinado con BCG (Cohorte 2a) o radioterapia (Cohorte 2b). La fase I determinará la seguridad y la dosis recomendada en la fase II de los pacientes tratados con durvalumab más BCG o durvalumab más radiación.

La Fase II determinará la supervivencia libre de recaídas para cada brazo experimental.

1.2.2.3.6 Checkpoint inhibitors en combinación con BCG o quimioterapia:

La hipótesis de que la BCG podría potenciar la expresión de PD-1 y PD-L1 y que la propia resistencia a BCG podría estar relacionada con un estado inmunosupresor inducido por la expresión de un checkpoint ha sentado las bases de distintos ensayos clínicos de combinación de un anti-PD1/PD-L1 con la BCG como tratamiento de primera línea en NMIBC en pacientes que no ha

recibido tratamiento previo con BCG o en pacientes que no alcanzan una RC tras la inducción con BCG.

Pembrolizumab + BCG: El ensayo KEYNOTE-676 (NCT03711032) es un ensayo en fase III que evalúa la actividad de pembrolizumab en combinación con BCG en pacientes con NMIBC persistente de alto riesgo después de la inducción con BCG.

Nivolumab y Durvalumab + BCG: Los ensayos CheckMate 7G8 (NCT04149574) y POTOMAC (NCT03528694) que están testando nivolumab y durvalumab respectivamente tienen un diseño similar.

Avelumab + BCG: El ensayo NCT03892642 es un ensayo en fase I/II planificado para evaluar BCG en asociación con avelumab como tratamiento de inducción. El objetivo del ensayo en fase I fue la realización de un curso de inducción completo. Se alcanzó el objetivo principal de valoración, se informó que la combinación de BCG con un checkpoint inhibitor era segura y bien tolerada, y la fase II aún está en curso

Tislelizumab + nab-paclitaxel: El ensayo en fase 2 TRUCE-02 (NCT04730232) combinó tislelizumab en asociación con quimioterapia nab-paclitaxel. El criterio principal fue la respuesta completa. 42 pacientes completaron 3 o 4 ciclos de tratamiento completos. 23 pacientes alcanzaron una RC (56%). La ORR fue del 60% (N=25/42). 33 pacientes permanecieron libres de cistectomía (78,6%)

[1.2.2.3.7: Moduladores inmunes emergentes:](#)

Oportuzumab monatox : Oportuzumab monatox una proteína de fusión recombinante formada por la unión del anticuerpo anti-EpCAM humanizado y la exotoxina A de las Pseudomonas. Oportuzumab monatox se une específicamente a los receptores EpCAM expresados en las células de cáncer de vejiga, donde libera la exotoxina A de la Pseudomonas citotóxica, lo que interrumpe la síntesis de proteínas y conduce a la muerte celular.

El ensayo en fase II VISTA (NCT02449239) evaluó la eficacia de oportuzumab monatox en pacientes con NMIBC con CIS y / o enfermedad Ta o T1 de alto grado, que no habían respondido al tratamiento con BCG +/- interferón. Su administración se realizó mediante una fase de inducción de tratamiento dos veces por semana las semanas 1-6, seguida de un tratamiento semanal las semanas 7-12. En los pacientes respondedores, se llevó a cabo una fase de mantenimiento cada dos semanas hasta la semana 104. El 40 % de los pacientes con CIS que no respondieron a BCG previo tuvieron una RC, el 16 % de los pacientes tuvieron una RC que se mantuvo en la evaluación de 1 año(108). En el ensayo en fase III la tasa de RC en pacientes con CIS fue del 40 % con una duración media de la respuesta de 9,4 meses (IC del 95 %: 5,1 meses: no alcanzado). En el subgrupo de pacientes respondedores después de 3 meses, el 52% estaban libres de recurrencia a los 12 meses (109). El tratamiento con oportuzumab monatox fue bien tolerado, los eventos adversos más frecuentes fueron síntomas locales vesicales.

Catumaxomab es un anticuerpo biespecífico dirigido a EpCAM y al antígeno de células T CD3. Por su mecanismo de acción dual, las células inmunitarias eliminan de manera muy eficiente las células tumorales con expresión de EpCAM. Los primeros datos sobre el uso clínico de catumaxomab intravesical en NMBIC no respondedores a BCG sugieren que es factible, seguro y eficaz. Actualmente, está en curso un ensayo en fase I/II (NCT04799847).

Nadofaragene firadenovec (rAd-IFNa/Syn3) es una terapia génica intravesical basada en un vector de adenovirus que lleva el gen IFN- α 2b recombinante humano al epitelio de la vejiga, lo que permite una concentración intravesical constante de IFN- α 2b.

El ensayo fase III multicéntrico de nadofaragene firadenovec fue llevado a cabo en 157 pacientes con NMIBC de alto grado no respondedores a BCG para evaluar la seguridad y eficacia de una dosis única 75 ml de nadofaragene firadenovec intravesical, con dosis repetidas cada 3 meses. Se realizaron citologías y cistoscopias (con biopsia si estaba clínicamente indicado) a los 3, 6 y 9 meses para evaluar la recurrencia de la enfermedad de alto grado. A los 12 meses, todos los pacientes fueron sometidos a citología urinaria, cistoscopia y

biopsia obligatoria. Los pacientes sin recurrencia de alto grado fueron elegibles para retratamiento cada 3 meses. El estudio alcanzó su objetivo primario con el 53.4% de RC en los pacientes con CIS ± TaG3 / T1G3 a los 3 meses de la primera dosis de tratamiento, permaneciendo libres de recurrencia de enfermedad de alto grado a los 12 meses el 45.5% de estos pacientes.(110) En el análisis de seguimiento extendido, con una media de 23,5 meses, 30 de los 55 pacientes que lograron una RC permanecieron libres de recurrencia; la supervivencia libre de cistectomía notificada fue del 69,8 % (IC del 95 %: 54,3–80,9 %). (110) La revisión prioritaria por la FDA para nadofaragene firadenovec está en curso.

Enfortumab vedotin: Se está iniciando un estudio de viabilidad en fase I que incluye a NMIBC que no responden a BCG (NCT05014139).

CG0070: es un adenovirus oncolítico con replicación condicionada selectivamente en las células del cáncer vejiga con defectos en la vía del retinoblastoma (Rb), y que tienen integrado un ADN codificante para el GM-CSF humano. Su mecanismo de acción es mediante una actividad antineoplásica directa, matando a las células donde se hospeda mediante su replicación y por una actividad indirecta, induciendo una respuesta inmune antitumoral específica a través de GM-CSF.(111) En el ensayo en fase II, 45 de 66 pacientes con NMIBC no respondedores a BCG tratados con CG0070 alcanzaron RC a los 6 meses el 47 % (95 % IC 32–62 %), el 58 % en el grupo CIS y 33 % en el grupo Ta/T1. El tratamiento demostró ser seguro y los eventos adversos relacionados con el tratamiento estuvieron más comúnmente relacionados con la vejiga.(112) CG0070 se encuentra actualmente en investigación como monoterapia en el ensayo en fase III (BOND-003, NCT04452591) y en asociación con pembrolizumab en un ensayo en fase II (CORE-001, NCT04387461). Ambos ensayos están reclutando NMIBC que no responden a BCG.

BMS-986205 (Mesilato de linrodostato) La indoleamina-2,3-dioxigenasa 1 (IDO1) es la enzima responsable de la conversión de triptófano a quinurenina y tiene un papel inmunorregulador clave. La inanición de triptófano, reduce la capacidad de síntesis de proteínas, induciendo anergia de las células T, mientras que la producción de quinurenina, a través de la activación del receptor de aril-hidrocarburo, provoca un estado inmunosupresor regulado por IL-10 y células T reguladores . Actualmente se están investigando varios inhibidores de IDO1 en diferentes entornos de BC. El mesilato de linrodostato (BMS-986205), un inhibidor oral selectivo de IDO1, se está estudiando en combinación con nivolumab con o sin BCG en NMIBC no respondedores a BCG en el ensayo CheckMate 9UT (NCT03519256). (113)

ALT-803: El receptor α de la interleukina (IL)-15 es crucial para el reclutamiento y la activación de las células natural killers (NK) efectoras y las células T CD8+ (114). El agonista del receptor de IL-15, ALT-803, demostró actividad antitumoral en modelos de cáncer de vejiga estimulando tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa. En el ensayo en fase I, 9 pacientes con NMIBC que no habían recibido BCG fueron tratados con BCG en asociación con ALT-803. 24 meses después del inicio del tratamiento, todos los pacientes estaban libres de enfermedad y no se informaron eventos adversos graves . La segunda parte en la fase II de este ensayo está actualmente en curso (NCT02138734). QUILT-3.032 (NCT03022825) es un ensayo en fase II/III que está testando la combinación de BCG y ALT-803 en NMIBC no respondedores a BCG. Los resultados preliminares parecen confirmar la actividad de esta combinación, con nueve de once pacientes (82%) con CIS que demostraron una RC.

S-488210 y S-488211: Finalmente, actualmente se está investigando una vacuna contra el cáncer en el ensayo DURANCE (NCT04106115) compuesta por una combinación de las formulaciones inyectables de S-488210 y S-488211 en asociación con durvalumab. S-488210/S-488211, es capaz de estimular la respuesta de las células T citotóxicas contra las células de cáncer urotelial.

1.2.2.3.8 Inhibidores de FGFR:

Las alteraciones genómica de FGFR son muy comunes en los NMIBC y pueden llegar hasta el 75% en tumores papilares de bajo grado.

Erdafitinib: La eficacia de erdafitinib en comparación con la quimioterapia intravesical también se está evaluando actualmente en el cáncer de vejiga no musculo invasivo, refractario a BCG y de alto riesgo con alteraciones del gen *FGFR* en el ensayo en fase 2 (NCT04172675).

Pemigatinib: Otro ensayo en fase 2 WOO están actualmente en curso en 43 pacientes con NMIBC recurrentes con pemigatinib, un inhibidor de FGFR1-3 (NCT03914794).

1.3 Carcinoma de vejiga músculo invasivo (MIBC)

1.3.1 Clasificación molecular del MIBC

Los resultados del Atlas del Genoma del Cáncer (TCGA) identificaron al MIBC como uno de los subtipos tumorales con mayor nivel de alteraciones genómicas por megabase.(115) Los 131 MIBC analizados, presentaban múltiples alteraciones somáticas del ADN, con 302 mutaciones exónicas , 22 reordenamientos y 204 alteraciones en el número de copias. (115)

Las mutaciones somáticas más recurrentes con niveles estadísticamente significativos se observaron en 64 genes : TP53 (48%), KTM2D (28%), KDM6A (26%), ARID1A (25%), PI3KCA (22%), RB1 (17%), EP300 (15%), FGFR3 (14%) y TSC1.(116)

Además se identificaron cinco firmas mutacionales, entre ellas la firma APOBEC. Un 30% de los tumores presentaban defectos en los genes de reparación del DNA. También se describieron 2529 reordenamientos cromosómicos y alteraciones estructurales siendo la translocación más frecuente la producida entre FGFR3-TACC3 (2%).

Las vías moleculares que más frecuentemente estaban alteradas fueron las relacionadas con el ciclo celular (93 %), los genes modificadores de histonas y la remodelación de la cromatina (89 %), la del receptor tirosina quinasa (72 %) y los componentes del complejo de remodelación del nucleosoma SWI/SNF (64 %). (115)

El CU es una enfermedad heterogénea que históricamente se ha categorizado dentro de dos entidades distintas según las características histológicas y las alteraciones genéticas: tumores papilares no músculo-invasivos (que surgen de la hiperplasia epitelial) y tumores músculo-invasivos (que surgen de una displasia / carcinoma in situ). Los tumores papilares de bajo grado contienen mutaciones activadoras de FGFR3, mientras que los de alto grado a menudo contienen mutaciones que inactivan genes oncosupresores como TP53 y/o CDKN2A. (117)

Sin embargo, la clasificación molecular del CU ha sido evolutiva y el estudio de perfiles de expresión de ARN ha identificado al menos cinco subtipos moleculares.

Los subtipos más reconocidos son: luminal con mayor sobreexpresión de FGFR3, basal con características escamosas y sobreexpresión frecuente de EGFR y marcadores de puntos de control inmunológico y el subtipo neuroendocrino.

Se han propuesto varias clasificaciones moleculares después de la publicación de la Universidad de Lund en 2010 mediante la cual la combinación de la expresión génica y el perfil genómico definieron dos subtipos moleculares intrínsecos MS1 y MS2 en los que las mutaciones activadoras de FGFR3 / PIK3CA fueron altamente significativas para los tumores MS1, mientras que TP53 / Alteraciones de MDM2 y pérdidas de RB1 para MS2.

La clasificación del TCGA de 2014 (118) permitió clasificar a 5 subtipos moleculares de acuerdo a la expresión del RNA mensajero en: a) luminal-papilar enriquecido caracterizado por la presencia de alteraciones en FGFR3; b) luminal-infiltrado caracterizado por la infiltración de linfocitos y la quimiorresistencia con una alta expresión de marcadores inmunitarios como CD274 (PD-L1) y PDCD1 (PD-1); c) luminal-enriquecido con uroplaquinas

como UPK1A, UPK2 y genes asociados con las células paraguas uroteliales diferenciadas (KRT20, SNX31); d) escamoso basal caracterizado por la expresión de marcadores basales y “stem” (CD44, KRT5, KRT6, KRT14) y marcadores de diferenciación escamosa (TGM1, DSC3, PI3) y e) el subtipo neuronal que se caracterizaba por la presencia de la mutación de TP53 y RB1, o TP53 mutación y amplificación de E2F3.

Una clasificación más reciente de 2019, intentó lograr un consenso internacional . Los autores emplearon 1.750 perfiles transcriptómicos de MIBC de 16 conjuntos de datos publicados, identificando seis subtipos moleculares: luminal papilar (24%), luminal no especificado (8%), luminal inestable (15%), estroma-enriched (15%), basal / escamosa (35%) y de tipo neuroendocrino (3%). (65) Los tumores papilares luminales se caracterizaron principalmente por mutaciones de FGFR3 y KDM6A y deleciones de CDKN2A y estuvieron sobrerrepresentados en pacientes más jóvenes (<60 años), mientras que los luminal no especificados se presentaron en pacientes mayores (> 80 años). Las amplificaciones de ERBB2 estaban sobreexpresadas en tumores luminales inestables y también mutaciones en TP53 y ERCC2.

Los tumores basales / escamosos presentan con frecuencia mutaciones en TP53 y RB1 y deleciones genómicas de 3p14.2 y están sobreexpresados en mujeres y en estadios clínicos mayores. La inactivación concurrente de TP53 y RB1 estaba presente en los tumores de tipo neuroendocrino.

Los tumores luminales papilares, ricos en estroma y luminales no especificados tenían el mejor pronóstico. Los tumores luminal inestable y basal / escamoso se asociaron con un mal pronóstico y los tumores de tipo neurocrino se asociaron con el peor pronóstico.

Los pacientes con tumores basales / escamosos o luminales no especificados pueden beneficiarse de la quimioterapia neoadyuvante y los los pacientes luminal no especificado, luminal inestable y de tipo neuroendocrino pueden responder a atezolizumab. (61)

Existen otras clasificaciones de los tumores MIBC como las clasificaciones de : Baylor (119), University of North Carolina (UNC) (120), MD Anderson Cancer Center (MDA)(121) y Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT) -Curie (122) que

muestran superposición entre algunos subtipos moleculares pero su diversidad impide la aplicación clínica. **(Figura 8)**

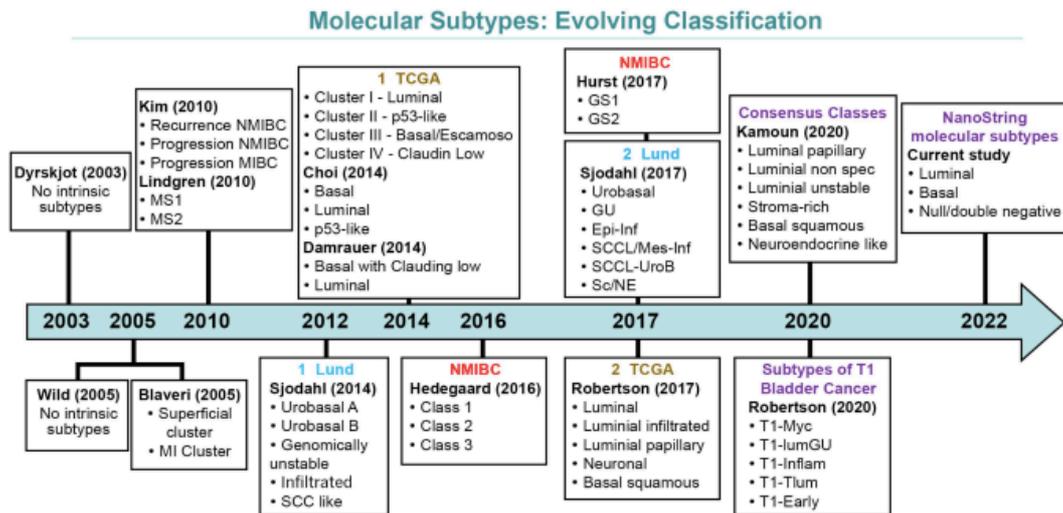


Figura 8: Evolución de la clasificación molecular del cáncer urotelial de vejiga (123)

Recientemente, un equipo internacional ha creado un algoritmo de subclasificación molecular con datos de transcriptomas completos que clasifica al CU dentro de seis subtipos. (61)

Los cánceres basales están enriquecidos con características histopatológicas escamosas y marcadores de células madre, tienen alta tasa de proliferación celular y altos niveles de ciclinas y se suelen debutar con estadios avanzados o enfermedad metastásica. (121)

Además suelen responder mejor a la quimioterapia neoadyuvante basada en cisplatino, este hallazgo que se ha replicado en diversos estudios retrospectivo. (121) (124) (125)

Los cánceres luminales parecen ser más heterogéneos y pueden subdividirse en hasta cuatro subtipos.

Los luminales papilares están enriquecidos con mutaciones y fusiones de *FGFR3*, se asocian con tasas bajas de progresión a tumores más avanzados (126) y se asocian con el mejor pronóstico.

Sin embargo, los tumores luminales inestables y luminales infiltrados son más agresivos, pero pueden ser más sensibles a la inmunoterapia. (192) (128)

Los tumores neuroendocrinos se caracterizan por la inactivación combinada de *TP53* y *RB1* y la expresión de marcadores de diferenciación neuronal.(61) Aunque clínicamente son muy agresivos, pueden ser muy sensibles a la inmunoterapia. (194)

La relación entre la subclasificación molecular y las respuestas a las distintas terapias deben validarse de forma prospectiva para confirmar una adecuada manejo en las decisiones clínicas.

1.3.2 Epidemiología del MIBC

El cáncer de vejiga con invasión de la capa muscular representa el 20-30% de los diagnósticos de cáncer de vejiga con enfermedad localizada. (130)

1.3.3 Tratamiento del MIBC:

El tratamiento de los pacientes con MIBC consiste en la terapia neoadyuvante seguida de la cistectomía radical, con linfadenectomía pélvica y derivación urinaria, o un protocolo de conservación de la vejiga con quimiorradiación o la cistectomía parcial, en pacientes seleccionados.

A pesar de la cistectomía radical (CR) y la disección de los ganglios linfáticos pélvicos, aproximadamente el 50% de los pacientes acabarán desarrollando una enfermedad a distancia. (131)

Por este motivo, el tratamiento con quimioterapia perioperatoria juega un papel fundamental para disminuir las tasas de recurrencia.

La quimioterapia neoadyuvante basada en cisplatino se asocia con respuestas patológicas completa (RCp) en una proporción de pacientes con MIBC objetivadas tras la cistectomía. Los pacientes con RCp tienen una mejor supervivencia global con respecto a los pacientes sin RCp. (132)

Desafortunadamente, incluso con quimioterapia y cirugía, las recidivas son frecuentes, con una tasa de supervivencia a 5 años del 50-60%.

Un desafío en el tratamiento de los pacientes con MIBC es identificar qué pacientes podrían ser tratados únicamente con RTU y quimioterapia

neoadyuvante y prescindir de la cistectomía radical evitando así la morbilidad asociada de la cirugía.

1.3.3.1 Tratamiento con quimioterapia neoadyuvante con cisplatino:

La prueba inicial de que el cisplatino era eficaz en el entorno perioperatorio del MIBC se basó en los trabajos pioneros de los años setenta y ochenta que establecieron su actividad en el CU metastásico. (133) (134) (135) (136) Scher et al trataron a 50 pacientes con MIBC utilizando de 1 a 5 ciclos de metotrexato, vinblastina, doxorrubicina y cisplatino (MVAC), de los cuales a 30 les practicó una cistectomía (CR) posteriormente. Entre los pacientes tratados mediante CR, el 33% lograron una RCp, y un 17% adicional tuvo una reducción patológica del estadio de la enfermedad. (137) La reducción patológica del estadio tumoral de los MIBC con quimioterapia neoadyuvante se ha considerado predictivo de supervivencia global ($p < 0,0001$). (138)(139)

El Nordic Cooperative Bladder Cancer Study Group realizó el primer ensayo fase 3 aleatorizado con quimioterapia basada en cisplatino en MIBC. En el Nordic Cystectomy Trial I, 325 pacientes se asignaron al azar para recibir cisplatino neoadyuvante más doxorrubicina y radioterapia o ningún tratamiento neoadyuvante antes de la CR. El tratamiento con quimioterapia y radioterapia mejoró la supervivencia tras la cistectomía en pacientes con carcinomas de vejiga T3-T4a. (92)

En el el Nordic Cystectomy Trial II, se compararon 3 ciclos de cisplatino más metotrexato neoadyuvante frente a la CR sin neoadyuvancia. El objetivo de este estudio fue investigar si únicamente la quimioterapia neoadyuvante podría influir en la supervivencia de 317 pacientes con cáncer de vejiga urotelial sometidos a cistectomía.

A pesar de una disminución sustancial del estadio, no se pudo observar un beneficio de supervivencia estadísticamente significativo con la terapia neoadyuvante. (141)

Ambos ensayos establecieron la tolerabilidad y factibilidad de administrar quimioterapia neoadyuvante antes de la cirugía.

El ensayo clínico fase III BA06 30894, estudio de la MRC / EORTC, fue el mayor estudio de quimioterapia neoadyuvante completado hasta la fecha. Este ensayo evaluó el papel de la quimioterapia neoadyuvante en el MIBC T2G3, T3 y T4a, N0-X, M0. 976 pacientes recibieron cisplatino, metotrexato y vinblastina (CMV) neoadyuvante o ningún tratamiento neoadyuvante antes de CR y / o RT. Con una mediana de seguimiento de ocho años, el uso de CMV neoadyuvante aumentó la supervivencia a diez años del 30% al 36% (HR: 0.84; 95% CI, 0.72-0.99; $P = .037$). (142) Sin embargo, este esquema terapéutico, no se emplea de forma extendida en el momento actual.

El estudio pivotal del Southwest Oncology Group (SWOG) / Intergroup 8710 (SWOG 8710) evaluó el papel de la CR versus la quimioterapia neoadyuvante con 3 ciclos de M-VAC seguida de cistectomía en 317 pacientes con cáncer de vejiga localmente avanzado.(143)

La supervivencia específica de enfermedad mejoró con el uso de quimioterapia neoadyuvante y CR en comparación con la CR (HR, 0.60; 95% CI, 0.41-0.82; $P = .002$) y hubo una tendencia hacia una mejoría en la SG a 5 años (57% frente a 45%; HR, 0,75; IC del 95%, 0,57 a 1,00; $P = 0,06$) con un aumento de la SG de 31 meses con la adición de la quimioterapia neoadyuvante a la CR.

La tasa de RCp mejoró con la adición de quimioterapia neoadyuvante (38% vs 15%; $P < 0,0001$), y la RCp se correlacionó con una tasa de SG a 5 años del 85%, similar a estudios previos. (65)

Un metaanálisis actualizado de 15 ensayos clínicos que incluyeron > 3000 pacientes demostró un beneficio en la SG a 5 años del 8% en un análisis de subgrupos en los que recibieron terapia con cisplatino y una reducción del 13% del riesgo de muerte (HR, 0.87; 95% CI, 0.79-0.96; $P = 0.003$) con la adición de la quimioterapia neoadyuvante basada en cisplatino. (144)

No hubo diferencias significativas en las respuestas patológicas completas entre MVAC y Cisplatino-Gemcitabina (CG). Aunque CG se asoció con una SG inferior a MVAC no estadísticamente significativa (HR 1,31; IC del 95%, 0,99-1,74).

Por este motivo, la quimioterapia neoadyuvante basada en cisplatino se ha convertido en el estándar de tratamiento para los pacientes con MIBC elegibles a cisplatino.

Debido a los eventos adversos (EA) relacionado con el régimen MVAC en dosis estándar como la mielosupresión y mucositis, la mejor la tolerabilidad del esquema CG y la una eficacia similar demostrada en el entorno metastásico, CG se ha convertido en el régimen más comúnmente utilizado en el entorno neoadyuvante, incluso en ausencia de ensayos prospectivos.(70) (146)

La mayoría, pero no todos, los estudios retrospectivos que comparan CG versus MVAC neoadyuvante han demostrado tasas de RCp y resultados de supervivencia similares con estos regímenes.(73)

Los resultados iniciales del ensayo en fase III randomizado GETUG / AFU V05 VESPER (NCT01812369), compararon la eficacia de dosis densas (dd)-MVAC o GC en el entorno perioperatorio de MIBC (neoadyuvante o adyuvante). En este ensayo 500 pacientes con MIBC cT2 -cT4N0M0 fueron randomizados para recibir 4 ciclos de CG cada 3 semanas o 6 ciclos dd-MVAC cada 2 semanas antes de la cirugía (grupo neoadyuvante) o después de la cirugía (grupo adyuvante). La SLP a tres años fue el objetivo principal. La SG, la respuesta patológica en el momento de la cirugía y la toxicidad fueron los objetivos secundarios.

437 pacientes (88%) recibieron quimioterapia neoadyuvante. El 60 % recibieron los 6 ciclos planificados de dd-MVAC y el 84 % recibieron 4 ciclos de CG. Tras la quimioterapia, el 91 % y el 90 % de los pacientes se sometieron a cirugía en los brazos dd-MVAC y CG, respectivamente. La respuesta patológica alcanzada tras la quimioterapia neoadyuvante (< ypT3N0) se observó con mayor frecuencia entre los pacientes que recibieron dd-MVAC neoadyuvante en comparación con los que recibieron CG (77 % frente a 63 %, p = 0,001). En el grupo adyuvante, el 40 % de los pacientes recibió 6 ciclos en el brazo dd-MVAC mientras que el 81 % recibió 4 ciclos en el brazo de CG.

Teniendo en cuenta la totalidad del entorno perioperatorio, la SLP a los tres años mejoró en el brazo de dd-MVAC en comparación con los que recibieron CG (64 % frente a 56 %, HR = 0,77 (IC del 95 %, 0,57- 1,02), p=0,066).

En el grupo neoadyuvante, la SLP a tres años fue significativamente mayor para el brazo dd-MVAC que para el brazo GC (66 % frente a 56 %, HR = 0,70 (IC del 95 %, 0,51-0,96) , p=0,025). Sin embargo, en el grupo adyuvante, los resultados no fueron concluyentes debido al número limitado de pacientes(n=56).

En la cohorte general del estudio, la SG no logró la significación estadística (HR 0,74, IC del 95 %: 0,55-1,00), mientras que entre los que recibieron quimioterapia neoadyuvante, dd-MVAC mejoró la SG (HR 0,66, 95 % IC 0,47-0,92). (148) Sin embargo, este estudió mezcló pacientes tratados de forma neoadyuvante y adyuvante y emplearon hasta 6 ciclos de tratamiento con MVAC, por lo que sus conclusiones tienen que ser validadas.

Para optimizar las toxicidades relacionadas con MVAC en dosis estándar, se han empleado esquemas ajustados en forma de dosis densa (dd-MVAC) , consistentes en la administración de MVAC con factores estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) en ciclos cada 2 semanas. El dd-MVAC ha demostrado una eficacia clínica similar y menos toxicidades en comparación con el MVAC clásico en los ensayos de CUm. (149) (150)

Dada la eficacia clínica en 2014, dos ensayos clínicos prospectivos de un solo brazo investigaron la quimioterapia con esquema dd-MVAC en el entorno neoadyuvante con factores estimulante de colonias de granulocitos en pacientes con MIBC. (76) (77)

Choueiri et al incluyeron 39 pacientes en un ensayo fase 2 con 4 ciclos de ddMVAC neoadyuvante, alcanzando tasas de reducción del estadio patológico a enfermedad no músculo-invasiva <pT2N0 y RCp del 49% y 26%, respectivamente. (151)

Plimack et al incluyeron 40 pacientes en un ensayo fase 2 con 3 ciclos de ddMVAC reportando tasas de reducción del estadio patológico a enfermedad no músculo-invasiva <pT2N0 y RCp del 53% y 38%, respectivamente. (152) Además, debido al esquema terapéutico modificado, la mediana de tiempo desde el inicio de la quimioterapia hasta la cirugía fue de 9,7 semanas, en comparación con las 16 a 19 semanas de mediana con el esquema de MVAC en dosis estándar. Por este motivo, el dd-MVAC se ha convertido en la estrategia de dosificación preferida sobre el MVAC clásico.

La combinación de CG neoadyuvante también se ha probado en una forma de dosis densa. En un estudio en fase 2 de 49 pacientes con CU con estadiaje clínico T2 (cT2) a cT4aN0M0, CG produjo la reducción del estadio patológico a enfermedad no músculo-invasiva <pT2N0 en el 57% de los pacientes, lo que se correlacionó con una mejor SLR y SG.(153) Es importante destacar que ningún paciente dejó de someterse a CR como resultado de toxicidades relacionadas con la quimioterapia. Aunque este régimen demostró una eficacia similar a la de dd-MVAC y fue bien tolerado, dd-MVAC y GC se han adoptado ampliamente en la práctica clínica.

Recientemente se han informado ensayos aleatorios que comparan ddMVAC versus GC en dosis estándar en el ensayo SWOG 1314 ,un estudio en fase II aleatorizado de quimioterapia neoadyuvante en 167 pacientes que tenían CU cT2- cT4N0M0. Las tasas de RCp (pT0) fueron 32% para ddMVAC y 35% para GC, mientras que las tasas de ≤ pT1 fueron 55% y 49%, respectivamente. (154) Es de destacar que este estudio se diseñó para explorar la utilidad de los biomarcadores basados en la expresión génica para predecir la RCp en pacientes que recibieron quimioterapia neoadyuvante y no compararon directamente estos 2 regímenes.

STUDY	YEAR	ELIGIBILITY	NO.	PHASE	INTERVENTION	PATHOLOGIC CR RATE ^a	OS
Malmstrom 1996 ¹⁷ (Nordic Trial I)	1996	cT2-cT4aNx	325	3	CA + RT + surgery vs RT + surgery	—	5-y OS: 59% vs 51% (P = .1)
Sherif 2002 ¹⁸ (Nordic Trial II)	2002	cT2-cT4aNx	317	3	CM + surgery vs surgery	26.4% vs 11.5% (P = .001)	5-y OS: 53% vs 46% (P = .24)
BA06 30894 trial: International Collaboration of Trialists 1999, 2011 ^{19,20}	1999, 2011	cT2-cT4aN0	976	3	CMV + surgery vs surgery	32.5% vs 12.3%	10-y OS: 36% vs 30% (P = .037)
Grossman 2003 ²¹ (SWOG-8710)	2003	cT2-cT4aN0	317	3	MVAC + surgery vs surgery	38% vs 15% (P < .001)	5-y OS: 57% vs 43% (P = .06)
Choueiri 2014 ²²	2014	cT2-cT4aN0-N1	39	2	ddMVAC + surgery	26%	2-y OS: 79%
Plimack 2014 ²³	2014	cT2-cT4aN0-N1	40	22	ddMVAC + surgery	38%	1.8-y OS: 83%

Tabla 2: Ensayos clínicos de terapias basadas en cisplatino neoadyuvante en el MIBC.
(155)

1.3.3.2 Tratamiento con quimioterapia neoadyuvante con carboplatino:

Los estudios previos han demostrado que se logra una respuesta patológica completa en ~30-40% de los pacientes con quimioterapia neoadyuvante basada en cisplatino para el cáncer de vejiga con invasión muscular. .

Aunque la quimioterapia neoadyuvante basada en cisplatino es el tratamiento perioperatorio estándar, el 50% de los pacientes con MIBC no serán elegibles debido a comorbilidades relacionadas. (156) Galsky et al estableció unos criterios de inelegibilidad al cisplatino, de acuerdo a los siguientes factores: un estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) ≥ 2 , una función renal alterada con aclaramiento de creatinina (CrCl) ≤ 60 mg por minuto por 1.73 m^2 , la insuficiencia cardíaca clase III de la New York Heart Association, la pérdida auditiva grado ≥ 2 de acuerdo a los Common Terminology Criteria for Adverse Events (version 4), y I neuropatía de grado ≥ 2 de acuerdo a los criterios de la Common Terminology Criteria for Adverse Events (version 4).

El carboplatino más gemcitabina (CaG), es una alternativa menos eficaz al CG en el CUm con ORR del 39% (IC del 95%, 20-62%) para M-CAVI y 52% (IC del 95%, 30-73%) para M-VAC ($p= 0,3$),(107) (158)(159) con tasas de RCp del 20% al 30% en varios análisis retrospectivos.(160)(161)(162)

Varios ensayos fases 2 de un solo brazo con paclitaxel, carboplatino y gemcitabina o nab-paclitaxel, carboplatino y gemcitabina objetivaron tasas de RCp inferiores y mayores tasas de toxicidad hematológica en comparación con los regímenes basados en cisplatino. Por esta razón, las guías de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) no recomiendan la quimioterapia perioperatoria sin cisplatino.(163) Para pacientes seleccionados con CrCl ≥ 40 mg por minuto por $1,73 \text{ m}^2$, cisplatino en régimen de *split dose* (35 mg / m^2 los días 1 y 8) con gemcitabina , puede ser una alternativa con buena tolerabilidad y actividad clínica a pesar de que no se han realizado estudios aleatorizados.(164)(165)

1.3.3.3 Tratamiento con quimioterapia neoadyuvante en tumores del tracto urinario superior (UTUC):

Los resultados de un ensayo clínico fase 2 prospectivo presentado en ASCO GU 2022 evaluaron la factibilidad del tratamiento con 4 ciclos de cisplatino-gemcitabina seguidos de nefroureterectomía radical o uterectomía con linfadenectomía en pacientes con UTUC de alto riesgo (no musculo invasivos y musculo invasivos) en el entorno neoadyuvante, objetivando tasas de respuesta patológicas (ypT<2) en el 63% de los pacientes con tasas de RCp (ypT0) en el 19% de los pacientes. La respuesta patológica se asoció con una mejor SLP y SG a los 2 años ($p < 0,001$ para ambos). (166)

Aunque las tasas de respuesta patológica completa son inferiores con respecto a las objetivadas con esquemas clásicos en el cáncer de vejiga (38%), la elegibilidad del cisplatino en el entorno neoadyuvante (58%) es superior con respecto al entorno adyuvante (15%).(167)(168)

1.3.3.4 Tratamiento con Inmunoterapia neoadyuvante:

Actualmente, el uso de la inmunoterapia es una estrategia de tratamiento emergente que podría abordar las dificultades de la administración de una terapia sistémica neoadyuvante.

El racional biológico de la inmunoterapia sistémica temprana, es que siguiendo la trayectoria evolutiva de los tumores uroteliales primarios y metastásicos de un mismo pacientes sabemos que los clones micrometastásicos pueden haberse extendido en el momento de la presentación inicia de la enfermedad, siendo poco probable que se cure el paciente únicamente con la cirugía. La razón fundamental para combinar la quimioterapia con la inmunoterapia es que la quimioterapia modula la inmunidad tumoral mediante mecanismos distintos de la muerte celular inmunogénica.

Actualmente, existen distintos ensayos fase II-III que evalúan distintas combinaciones de quimioterapia-inmunoterapia, inmunoterapia-inmunoterapia e inmunoterapia-conjugados anticuerpo-fármacos.

Pembrolizumab: El ensayo PURE - 01 (NCT02736266) es un ensayo en fase 2 de un solo brazo prospectivo. Este fue uno de los primeros ensayos de CPI en monoterapia en el que 50 pacientes con MIBC recibieron pembrolizumab en el entorno neoadyuvante. El ensayo incluyó pacientes independientemente de la elegibilidad para cisplatino, y se administraron 3 ciclos de pembrolizumab antes de la CR. En aquellos pacientes que tenían una progresión precoz de la enfermedad previa a la cirugía se incluyó la opción de dd MVAC. 46 pacientes (92%) se consideraron elegibles para cisplatino y 4 pacientes recibieron quimioterapia secuencial con MVAC como resultado de la progresión temprana de la enfermedad a pembrolizumab. En toda la cohorte, 21 pacientes (42%) lograron un RCp, y se produjo una disminución del estadio tumoral (<pT2N0) en 27 pacientes (54%). (169) Es de destacar que la tasa de RCp en pacientes que tenían una score combinado positivo (CPS) ≥ 10 , medido como el porcentaje de células inmunitarias infiltrante y células tumorales PD - L1 positivas, fue mayor en comparación con aquellos que tenían un CPS < 10 (54,3% vs 13,3%). Además, se observó una asociación no lineal entre la tasa de mutaciones tumorales (TMB) y el estadio pT0 con un límite de 15 mutaciones por megabase. (169)

Una actualización de los resultados realizados en 114 pacientes, con variantes histológicas (concretamente carcinomas escamosos y de tipo linfoepitelioma-like) que se han considerado que tradicionalmente no responden a la quimioterapia neoadyuvante, demostró respuestas, probablemente relacionadas con una alta carga mutacional tumoral y una alta expresión de PD-L1. (170)

Atezolizumab: El ensayo ABACUS (NCT02662309) valoró dos ciclos de atezolizumab antes de la cistectomía en 95 pacientes con MIBC (pT2 - pT4a) inelegibles para cisplatino. En una cohorte de 88 pacientes evaluables, 27 (31%) lograron un RCp (IC 95%: 21–41%) alcanzado su objetivo principal. A diferencia del ensayo PURE - 01, las tasas de RCp se asociaron con la expresión de PD-L1.(171) Además, la inmunidad preexistente de células T se correlacionó con la respuesta. Una alta presencia de células CD8 +

intraepiteliales se asoció con una tasa de RCp del 40% (IC 95%: 26-57%) en comparación con una tasa del 20% (IC 95%: 9-35%) en ausencia de CD8+ ($p < 0.05$). Además la calidad del infiltrado inmune estaba relacionado con la respuestas. Aquellas células con expresión dual para CD8 y granzima B (GZMB +) se expresaron en tumores respondedores con un fenotipo inflamado (14 de 16, 87%), a diferencia de los tumores inflamados recidivantes, que mostraron niveles bajos de CD8 + y GZMB + (3 de 10, 30%; $p < 0,05$). La tasa de RCp no se incrementó en tumores con TMB alto (≥ 10 mutaciones por Mb; 31% RCp) tumores. Tampoco se pudo correlacionar la expresión de genes encargados de la regulación del ciclo celular o las mutaciones en genes relacionados con la reparación del DNA (DDR) con la respuesta.

Durvalumab + Tremelimumab: Actualmente, existe una amplia investigación sobre el uso de distintas combinaciones de inmunoterapia en el entorno neoadyuvante. Entre ellas el bloqueo dual mediante la inhibición combinada de PD - 1 / PD - L1 y CTLA - 4, que puede suponer un mecanismo de acción complementario sobre la activación de las células T y la respuesta de las células T efectoras.(172) Se ha evaluado la combinación de durvalumab y tremelimumab en pacientes con MIBC (cT2 - cT4aN0M0) inelegibles a cisplatino (NCT02812420). De los 21 pacientes intervenidos mediante cistectomía, 9 (43%) alcanzaron una RCp y 2 pacientes consiguieron un estadio de enfermedad no músculo invasiva.(173)

Nivolumab + Ipilimumab: El ensayo clínico NABUCCO (NCT03387761), valoró la combinación de nivolumab e ipilimumab neoadyuvante en pacientes con MIBC estadio III (cT3-4aN0M0 o \geq cT1N + M0) ineligibles para cisplatino o que lo rechazaron. Se incluyeron 24 pacientes. El objetivo principal fue la viabilidad de la cistectomía a las 12 semanas del inicio del tratamiento. Entre los 23 pacientes (96%) que se sometieron a cistectomía 11 pacientes (46%) tuvieron una RCp y 14 pacientes (58%) no tenían enfermedad músculo invasiva residual (RCp o pTisN0 / pTaN0). Los eventos adversos de grado 3-4 relacionados con la inmunidad ocurrieron en el 55% de los pacientes. La respuesta completa a nivolumab e ipilimumab fue independiente de la presencia basal de CD8 o de las firmas T-efectoras. (174)

Nivolumab + lirilumab : El ensayo PrE0807 (NCT03532451), es un ensayo multicéntrico fase Ib en 43 pacientes con MIBC cT2-4aN0-1M0, con un contenido de ≥ 20 % tumoral en la RTU ineligibles para cisplatino tratados con dos ciclos de nivolumab 480 mg neoadyuvante en la cohorte 1 y secuencialmente nivolumab 480 mg + lirilumab 240 mg (anticuerpo humano dirigido a KIR2DL) en la cohorte 2.

El endpoint principal fue la seguridad definida como la tasa de eventos adversos relacionados con el tratamiento de \geq grado 3 evaluados en cada cohorte.

Los objetivos secundarios clave incluyeron el porcentaje de pacientes sometidos a cistectomía radical > 6 semanas después de la última dosis de tratamiento neoadyuvante debido a eventos adversos relacionados con el tratamiento, la densidad de células T CD8+ en la cistectomía radical, tasas de ypT0N0 y $<$ ypT2N0, cambio de densidad de células T CD8+ entre la RTU y cistectomía radical, supervivencia libre de recurrencia y biomarcadores en tejido tumoral, sangre y orina.

El nivolumab neoadyuvante solo y la combinación de nivolumab + lirilumab antes de la cistectomía radical fueron seguros, factibles y bien tolerados. Se produjeron eventos adversos de grado 3 relacionados con el tratamiento en el 0 % con nivolumab y en el 6,7 % (IC del 90 %: 1,2-19,5 %) con nivolumab + lirilumab que se resolvieron y no hubo eventos adversos de grado 4/5. No hubo retrasos en la cistectomía radical de > 6 semanas.

Las tasas de ypT0N0 para nivolumab y nivolumab + lirilumab fueron del 8 % y el 18 %, mientras que las tasas de $<$ ypT2N0 fueron del 17 % y el 29 %, respectivamente.

Un ensayo en fase 3 (NCT03661320) están evaluando el papel perioperatorio de nivolumab + quimioterapia +/- linrodostat en pacientes aptos para cisplatino

Durvalumab + Olaparib: El ensayo clínico NEODURVARIB (NCT03534492 SOGUG-2017-A-IEC(VEJ)-2), es un ensayo clínico en fase II para evaluar el impacto del tratamiento neoadyuvante con la combinación de 2 ciclos durvalumab más olaparib en MIBC y la realización de un estudio molecular completo.

En una población 29 pacientes , en 26 se pudo practicar una cistectomía, y se alcanzó una tasa de respuesta patológica completa del 50%. Se detectaron eventos adversos de grado 3-4 en solo el 3.4 % de los casos. El prurito de grado 1 fue el único evento adverso de la inmunoterapia descrito en un paciente. Los eventos adversos relacionados con los inhibidores de PARP fueron náuseas y vómitos de grado 1 (25 %). La caracterización molecular y el estudio de biomarcadores destacó la presencia de mutaciones en genes comúnmente alterados en MIBC (*TP53* , *MLL2*, *ARID1A*, *FGFR3*, entre otros). El déficit en la recombinación homóloga (HRD) y el TMB fueron similares a reportes previos en MIBC y no difirieron entre respondedores y no respondedores. Las alteraciones genéticas se mantuvieron sin cambios en los cánceres de vejiga tratados con durvalumab + olaparib. Sin embargo, se observó un enriquecimiento de las firmas de transición epitelio-mesénquima y un cambio hacia fenotipos basales/escamosos en tumores resistentes.

Los ensayos de neoadyuvancia con CPI (PURE-01 y ABACUS) se realizaron exclusivamente en pacientes con tumores uroteliales de vejiga.(169) En el momento actual, hay varios ensayos en marcha como el PURE-02 (177), ABACUS-02 (NCT04624399) que están explorando la actividad de los CPI en el entorno neoadyuvante en la cohorte de pacientes con UTUC.

1.3.3.5 Tratamiento con Inmunoterapia y quimioterapia neoadyuvante:

Pembrolizumab + gemcitabina: El ensayo HCRN GU14-188 (NCT02365766) es un ensayo fase 1b/2 con 2 cohortes: cis-elegible (cohorte 1) y cis-inelegible(cohorte 2). Este ensayo reemplaza el cisplatino con pembrolizumab en combinación con gemcitabina en la cohorte cis-inelegible como terapia neoadyuvante para pacientes con cáncer de vejiga con invasión muscular cT2-4aN0M0. Los paciente recibieron 5 dosis de pembrolizumab neoadyuvante comenzando con C1D8 de gemcitabina, que se administró los días 1, 8 y 15 de un ciclo de 28 días (x 3 ciclos). El objetivo principal del estudio era la tasa de respuesta patológica definida como \leq pT1N0.

Los resultados preliminares de la cohorte cis-inelegible, alcanzó su objetivo primario con una tasas de respuesta músculo-invasiva patológica definida

como \leq pT1N0 en el 52% de los pacientes y se logró una respuesta patológica completa en el 45.2% de los pacientes. La SLP a los 12 meses fue del 67 % y la supervivencia específica de enfermedad a los 12 meses fue del 94 %, con una SG del 88.4 % a los 12 meses.

Nivolumab + cisplatino + gemcitabina: El ensayo en fase 2 HCRN GU 16-257 (NCT03558087) evaluó el tratamiento con cisplatino-gemcitabina y nivolumab con conservación selectiva de la vejiga en 76 pacientes con cáncer de vejiga urotelial cT2-T4aN0M0 elegibles para cisplatino. Los pacientes recibieron 4 ciclos de cisplatino- gemcitabina y nivolumab. Los pacientes que alcanzaron una respuesta clínica completa (por citología, imágenes y cT0/Ta normales) fueron tributarios de evitar la cistectomía y recibir nivolumab cada 2 semanas x 8 ciclos; de lo contrario, los pacientes se sometieron a una cistectomía radical. Los objetivos coprimarios incluyeron: (1) la tasa de respuesta clínica completa que se definió como ausencia de alteraciones en las pruebas de imagen tras 4 ciclos, ausencia de alteraciones en la citología de orina tras 4 ciclos o \leq TaG1 en biopsias de vejiga tras el ciclo 4. (2) La capacidad de la respuesta clínica completa para predecir la supervivencia libre de metástasis (SLM) a los 2 años. El objetivo secundario fue el impacto de las alteraciones genómicas en la RTU inicial (TMB, ERCC2, FANCC, RB1, ATM) en la respuesta clínica completa para predecir la SLM.48% (n=31) de los pacientes alcanzaron una respuesta clínica completa tras una mediana de seguimiento de 13,7 meses (rango: 2,5-24 meses). 8/31 pacientes con respuesta clínica completa presentaron una recurrencia local y 6 se sometieron a una cistectomía. Una TMB \geq 10 mut/Mb (p=0,02) o la mutación de ERCC2 (p=0,02) se asociaron con una respuesta clínica completa o parcial. Sin embargo, las alteraciones de ATM, FANCC o RB1 no se asociaron con la respuesta. La supervivencia de la vejiga intacta al año es posible, aunque la durabilidad de las respuestas requiere un seguimiento más prolongado. (176)

Nivolumab + cisplatino+ gemcitabina: El ensayo BLASST(NCT03294304), es un ensayo fase 2 multicéntrico que evaluó la combinación de 4 ciclos de cisplatino-gemcitabina con nivolumab neoadyuvante en 45 pacientes con MIBC

previo a la CR. El objetivo principal fue la reducción del estadio patológico ($\leq pT1N0$). Los objetivos secundarios fueron la seguridad, la SLR, la SLP y el análisis de biomarcadores. En ASCO GU 2020, se reportó una tasa de reducción del estadio patológico del 65,8 % y una tasa de respuesta patológica completa RCp del 49 %. No hubo retrasos en la cirugía. Tras una mediana de seguimiento de 15,8 meses, la tasa de SLR a los 12 meses fue del 85,4 % y la SLP, incluida la muerte por cualquier causa, fue del 83 %. No hubo problemas de seguridad a largo plazo. (177)

En ASCO GU 2022, se correlacionó la reducción del estadio patológico con diversos biomarcadores (TMB, PD-L1 y subtipos moleculares). Los pacientes con un tumor de tipo basal (Basal o Claudin-low) tenían una respuesta patológica más favorable (73 %), con disminución patológica del 60% en los tumores basales (69 %) y un 80% en los claudin-low en comparación con la respuesta patológica general del 58 % para los tumores de tipo luminal (luminal o luminal infiltrado). (178)

Durvalumab+ cisplatino + gemcitabina: El ensayo en fase 2, SAKK 06/17 (NCT03406650), abierto, de un solo brazo en 58 pacientes con MIBC cT2-T4a/cN0-1 valoró la administración de 4 ciclos de cisplatino/gemcitabina neoadyuvante cada 3 semanas en combinación con cuatro ciclos de durvalumab 1500 mg cada 3 semanas seguido de resección. Durvalumab se continuó después de la cirugía cada 4 semanas durante 10 ciclos. El objetivo principal fue la supervivencia libre de eventos a los 2 años y los objetivos secundarios fueron la tasa de respuesta patológica ($<ypT2$), la respuesta patológica completa ($ypT0 N0$) y la seguridad. Hubo un 69 % de pacientes en estadio cT2, 21 % en cT3 y 10 % en estadio cT4 en el momento del diagnóstico; 17% eran cN1. El 95 % de los pacientes recibió las cuatro dosis de durvalumab neoadyuvante, el 81 % recibió los cuatro ciclos de cisplatino/gemcitabina y el 17 % cambió a carboplatino. La resección se realizó en el 91% de los pacientes. La SLP a los 2 años para los pacientes tratados con gemcitabina, cisplatino y durvalumab en el ensayo SAKK 06/17 fue del 76%. La tasa de RCp del 34 % y la tasa de respuesta patológica del 60 % para durvalumab neoadyuvante más cisplatino/gemcitabina. (179)

Atezolizumab + cisplatino + gemcitabina :El ensayo fase 2 MSKCC (NCT02989584) valoró en 44 pacientes cisplatino elegibles cT2-T4aN0M0 que recibieron tratamiento con un ciclo de atezolizumab (1200 mg IV) y, dos semanas más tarde, iniciaron 4 ciclos de tratamiento con cisplatino (70 mg/m² IV en D1 o 35 mg/m² en D1, D8) , gemcitabina (1000 mg/m² en D1, D8) y atezolizumab (1200 mg IV en D8) cada 21 días previo a la CR. El objetivo principal fue la proporción de pacientes con < pT2N0. Los pacientes se consideraron no evaluables si habían recibido menos de 2 ciclos. Los criterios de valoración secundarios incluyeron la proporción de pacientes con pT0N0, la supervivencia libre de recurrencia (SLR) y la seguridad. El 69 % de los paciente, alcanzaron respuesta < pT2N0 en la cistectomía radical y un 44 % pT0N0. La mediana de SLR no se alcanzó con una mediana de seguimiento de 16,7 meses (rango: 7,7-33,2). La combinación se asoció con eventos adversos manejables relacionados con el tratamiento, que no comprometieron la resección quirúrgica. (180)

Durvalumab +cisplatino+gemcitabina: NIAGARA (NCT03732677), es un ensayo internacional en fase III, aleatorizado, abierto, multicéntrico, que reclutará ~1050 pacientes con MIBC que, antes de la CR, serán aleatorizados (1:1) para recibir durvalumab y gemcitabina + cisplatino (brazo 1) o gemcitabina + cisplatino (brazo 2). Después de la CR, los pacientes del Grupo 1 recibirán durvalumab durante 8 ciclos mientras que los pacientes del Grupo 2 no recibían tratamiento adyuvante. Los objetivos primarios son RCp y SLE en pacientes con función renal adecuada. Los objetivos secundarios y exploratorios incluyen la proporción de pacientes que logran una respuesta patológica < estadio II (estadios Ta, T1 y carcinoma in situ) en el momento de la cistectomía, SLE a los 24 meses, SLM, eficacia del Grupo 1 vs. Brazo 2 en cistectomía radical y proporción de pacientes que se sometieron a cistectomía, tasa de SG a los 5 años, seguridad. Los resultados están pendientes.

Pembrolizumab + cisplatino+ gemcitabina: KEYNOTE 866 (NCT03924856): Actualmente en reclutamiento, es un ensayo en fase III, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo en el que los pacientes se randomizarán a recibir a tratamiento con 4 ciclos quimioterapia neoadyuvante con cisplatino-

gemcitabina y pembrolizumab perioperatorio o placebo en pacientes con MIBC elegibles para cisplatino seguido de CR y linfadenectomía y posterior 13 ciclos de pembrolizumab adyuvante o placebo. Los objetivos primarios son la RCp y la supervivencia libre de eventos evaluadas en pacientes cuyos tumores expresan PD-L1 (CPS ≥ 10) y en todos los pacientes independientemente de la puntuación de CPS. Los objetivos secundarios son la SG, la supervivencia libre de enfermedad y la reducción del estadio patológico en las poblaciones descritas para RCp y supervivencia libre de enfermedad, así como la seguridad.

Nivolumab +/- linrodostato + cisplatino+ gemcitabina: ENERGIZE (NCT03661320), es un ensayo en fase III que investiga la eficacia de la quimioterapia neoadyuvante en combinación con nivolumab con o sin linrodostato seguido de nivolumab posquirúrgico o nivolumab con linrodostato en pacientes con MIBC elegibles para cisplatino. Actualmente en reclutamiento. Los objetivos coprimarios son la tasa de RCp, en todos los participantes aleatorizados y la supervivencia libre de eventos (SLE), en todos los pacientes aleatorizados. Los objetivos secundarios son la SG en todos los pacientes aleatorizados, la incidencia de EA en pacientes que reciben al menos una dosis de tratamiento, la incidencia de eventos adversos graves (SAE) en pacientes que reciben al menos una dosis de tratamiento, la incidencia de muertes en pacientes que reciben al menos una dosis de tratamiento, la incidencia de anomalías de laboratorio en pacientes que reciben al menos una dosis de tratamiento, la tasa de RCp, descriptivamente en todos los pacientes aleatorizados simultáneamente. La SLE, descriptivamente en todos los pacientes aleatorizados simultáneamente y la SG, descriptivamente en todos los pacientes aleatorizados simultáneamente.

Avelumab+ cisplatino+ gemcitabina: El ensayo AURA (NCT03674424) es un ensayo en fase II prospectivo, multicéntrico, aleatorizado para pacientes con MIBC cT2-4aN0-2M0. El objetivo principal fue la RCp (ypT0/isN0) en cada brazo, con el objetivo de alcanzar una tasa de RCp > 25 % (90 % de potencia alcanzada en caso de tasa de RCp > 45 %). Los criterios de valoración secundarios fueron la tasa de reducción del estadio patológico (<ypT2N0) y la

seguridad. El ensayo incluía dos cohortes: cohorte 1 en pacientes elegibles a cisplatino y cohorte 2 en cisplatino inelegibles. La primera cohorte de este ensayo, que incluye pacientes elegibles para cisplatino, se presentó en ESMO 2021. Los pacientes elegibles para cisplatino recibieron cisplatino-gemcitabina más avelumab o dosis densa de MVAC más avelumab (1:1). Esta cohorte tuvo una tasa de RCp del 64 % en pacientes tratados con dosis densas de MVAC y avelumab y del 57 % en pacientes tratados con cisplatino, gemcitabina y avelumab. Los efectos adversos fueron manejables y no comprometieron la resección quirúrgica. En ASCO 2022 se presentaron los resultados de la cohorte 2 entre pacientes que no eran elegibles para cisplatino fundamentalmente por insuficiencia renal. Los pacientes fueron aleatorizados para recibir paclitaxel-gemcitabina (PG) más avelumab o avelumab en monoterapia. Se logró una respuesta patológica completa en 5 pacientes (18%; IC95% 6%-37%) tratados con PG + avelumab y 10 pacientes (36%; IC95% 19%-56%) tratados con avelumab. La reducción a estadio < ypT2N0 se logró en 6 pacientes (21 %; 95 % IC 8 %-41 %) tratados con PG + avelumab y en 11 pacientes (39 %; 95 % IC 22 %-59 %) tratados con avelumab en monoterapia. En la cohorte 2, la tasa de RCp estaba en consonancia con los ensayos previos, aunque la tasa de reducción del estadio patológico fue algo más baja. (181)

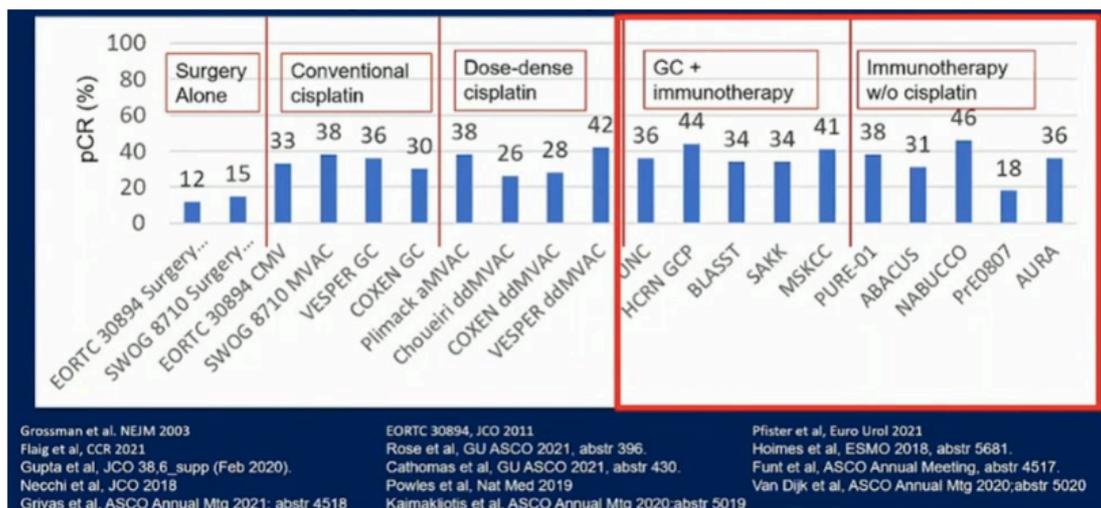


Figura 9: Principales estudios en neoadyuvancia en el MIBC. ASCO meeting 2022

1.3.3.6 Tratamiento con Inmunoterapia y antibody drug conjugates (ADC) neoadyuvante:

Pembrolizumab + enfortumab vedotin (EV): KEYNOTE-905/EV-303

(NCT03924895) es un ensayo en fase III aleatorizado, controlado, multicéntrico, de 3 brazos con pembrolizumab perioperatorio en monoterapia o pembrolizumab en combinación con EV perioperatorio seguido de CR con linfadenectomía o CR con linfadenectomía seguido de observación en pacientes con tumores músculo invasivos inelegibles para cisplatino. Los objetivos coprimarios son la RCp y supervivencia libre de eventos en pacientes que expresan PD-L1 [CPS ≥ 10] y en todos los pacientes independientemente de la CPS). Los endpoints secundarios son la SG, la supervivencia libre de enfermedad, la reducción del estadio patológico, la seguridad y los resultados reportados por los pacientes. Actualmente se encuentra en reclutamiento.

Enfortumab Vedotin: La cohorte H del ensayo en fase 1b/2 **EV-103**

(NCT03288545) en pacientes con cáncer de vejiga cT2-T4aN0M0 no elegibles para cisplatino. Los pacientes reciben 3 ciclos de EV neoadyuvante (1,25 mg/kg) los días 1 y 8 de cada ciclo de 3 semanas antes de la cistectomía radical y la disección de los ganglios linfáticos pélvicos. El objetivo principal era la tasa de respuesta patológica completa (ypT0N0) por revisión central. Los objetivos secundarios eran la tasa de reducción del estadio patológico (yp T0,Tis,Ta,T1,N0) y la seguridad. 22 pacientes fueron tratados, de los cuales 19 pacientes completaron 3 ciclos de enfortumab vedotin y 21 se sometieron a cistectomía radical y linfadenectomía pélvica. El 36,4 % (IC del 95 %: 17,2 a 59,3) de los pacientes lograron una respuesta patológica completa y se observó un descenso patológico en el 50,0 % (IC 95 %: 28,2 a 71,8) de los pacientes.

1.3.3.7 Cistectomía radical:

La cistectomía radical, con linfadenectomía de ganglios linfáticos pélvicos y derivación urinaria es la base del tratamiento en el cáncer urotelial con invasión de la capa muscular. La cistectomía radical comprende la extracción de la

vejiga, próstata, y vesículas seminales en el varón y de los ovarios, útero , trompas de Falopio y la cara anterior de la vagina en mujeres. La disección de los ganglios linfáticos es esencial ya que no solo aumenta la supervivencia a largo plazo en un 20% de los pacientes con una linfadenectomía meticulosa sino que además proporciona información pronóstica clave, ayudándonos a establecer la necesidad del tratamiento adyuvante posterior. (182)

La extensión de la linfadenectomía durante la cistectomía sigue siendo controvertida, no encontrándose por el momento un beneficio en la linfadenectomía extendida frente a la estándar en un ensayo clínico prospectivo, con una SLR a los 5 años (65% vs 59%; CRI, 0,84; p = 0,36), supervivencia específica por cáncer (76% frente al 65%; HR, 0,70; p = 0,10), o SG (59% frente al 50%; HR, 0,78; p = 0.12) .(183). En este estudio habría que tener en cuenta que se excluyeron de pacientes que reciben quimioterapia neoadyuvante, e incluyeron pacientes con NMIBC de alto grado.

Una revisión sistemática informó del impacto que tenía la linfadenectomía en la SG en 7 estudios con más de 13.000 pacientes mostrando un beneficio en supervivencia a los 5 años del 25%- 50% con la cistectomía al 64%- 68% añadiendo la disección ganglionar. (184)

El ensayo SWOG 1011 (NCT01224665) está valorando el potencial de la linfadenectomía estándar vs extendida en la supervivencia o control locorregional , en pacientes que pueden haber recibido quimioterapia neoadyuvante o que reciben una linfadenectomía extendida menos agresiva, excluyendo a aquellos pacientes con menor riesgo de metástasis como los NMIBC.

La derivación urinaria en el momento de la cistectomía puede adoptar varias formas: bien mediante un conducto ileal incontinente, una neovejiga ortotópica o una derivación cutánea continente.(168)

1. Conducto ileal (derivación urinaria incontinente): Los uréteres se anastomosan a una sección corta (15cm) del intestino delgado (conducto ileal). La orina pasa a través del conducto y se une el estoma a la bolsa urinaria.

Reconstrucción de Bricker: Anastomosis de uréteres al conducto ileal independiente. Reconstrucción de Wallace: Anastomosis de ambos uréteres al extremo proximal del conducto ileal. Las posibles complicaciones del conducto ileal pueden ser : la hernia paraestomal, la estenosis del estoma o las estenosis anastomóticas ureteroileales.

2. Neovejiga ortotópica (derivación urinaria continente) La neovejiga almacena orina de forma similar a una vejiga normal; sin embargo, la capacidad del paciente para orinar es diferente, pudiendo ser necesario el Valsalva abdominal para expulsar la orina. La orina pasa a través de la uretra nativa. La potenciales complicaciones puede ser: incontinencia, retención urinaria, estenosis anastomóticas ureteroileales, contracturas del cuello de la vejiga, trastornos metabólicos (acidosis metabólica hiperclorémica, hipopotasemia)

3. Indiana pouch (derivación cutánea continente). La continencia se logra mediante la preservación de la válvula ileocecal. Se realizan drenaje mediante catéter a través de la válvula ileocecal sobre la base de la bolsa (aproximadamente 10-15 cm).Hernia paraestomal, incontinencia (fuga de un estoma cateterizable), estenosis anastomóticas ureteroileales, trastornos metabólicos (acidosis metabólica hiperclorémica, hipopotasemia)

En la práctica clínica, más del 80% de los pacientes se someten a una derivación urinaria del conducto ileal, dada la tasa reducida de complicaciones postoperatorias. (186) La mortalidad a los 30 días del postoperatorio tras la cistectomía radical varía entre el 1.5% al 2.0% .(187) Las complicaciones posoperatorias más frecuentes son infecciosas (25%) gastrointestinales (29%), de la herida quirúrgica (15%) y genitourinarias (11%). Las derivaciones pueden provocar hidroureteronefrosis , insuficiencia renal e infecciones urinarias recurrentes. (188)

1.3.3.8 Tratamiento con quimioterapia adyuvante:

Un correcto estadiaje patológico postquirúrgico de la enfermedad, nos permite realizar una mejor selección de aquellos pacientes que se beneficiarían de una quimioterapia adyuvante y así mitigar el uso de tratamientos innecesarios. (189)

En la práctica clínica, la quimioterapia adyuvante presenta mayores dificultades para su implementación debido a las potenciales complicaciones que se pueden producir hasta en un 30% de los pacientes durante los 3 meses posteriores a la cistectomía, lo que puede retrasar o evitar el uso de esta estrategia. (190)

Además debido a la edad media del diagnóstico o a las comorbilidades concurrentes, la recuperación postoperatoria puede verse comprometida.

El papel de la quimioterapia adyuvante en pacientes con características patológicas adversas como la extensión extravesical o la afectación ganglionar tras la cistectomía siguen siendo controvertido ya que los datos prospectivos no apoyan su uso. En ausencia de una alta evidencia, las guías recomiendan considerar el tratamiento con quimioterapia adyuvante basada en cisplatino en aquellos pacientes con características patológicas de alto riesgo y que no hayan recibido quimioterapia neoadyuvante previamente.(163)

Varios ensayos aleatorizados que exploraron el papel de la quimioterapia adyuvante se cerraron prematuramente debido al escaso reclutamiento. (191) (192) (193)(194).

El ensayo fase III más grande, EORTC 30994, que comparó la quimioterapia inmediata versus diferida después de la cistectomía radical en pacientes con MIBC pT3 -pT4 y / o N + M0 de la vejiga, 284 pacientes recibieron quimioterapia en el contexto adyuvante o en el momento de la recaída de la enfermedad. Los regímenes de quimioterapia incluyeron GC, MVAC o ddMVAC. Tras una mediana de seguimiento de siete años, los pacientes que recibieron quimioterapia adyuvante tuvieron una SLP más prolongada (HR 0.54, 95% CI 0.4-0.73, $p < 0.0001$) en comparación con los que recibieron quimioterapia diferida; sin embargo, no hubo diferencias en la SG (HR 0.78, 95% CI 0.56-1.08; $p = 0.13$). (194)

Un estudio observacional retrospectivo de 5653 pacientes comparó la quimioterapia adyuvante versus la observación en pacientes con cáncer de vejiga T3-4 y / o con ganglios positivos patológicos tras la cistectomía

El 23% de los pacientes recibieron quimioterapia adyuvante. Después de ajustar distintos los factores de confusión observados, los autores encontraron un beneficio en la SG con la quimioterapia adyuvante en comparación con la observación (HR: 0.70; 95% CI, 0.64 to 0.76). A pesar de las limitaciones de los análisis retrospectivos, estos datos brindan apoyo adicional para los ensayos prospectivos aleatorizados que exploren la quimioterapia adyuvante. (195)

Un metaanálisis examinó en 945 pacientes incluidos en nueve ensayos clínicos el papel de la quimioterapia adyuvante en el MIBC. Para la SG, el HR en los nueve ensayos fue de 0.77 (IC 95 %, 0.59-0.99; p = 0.049). Para la SLE el HR de siete ensayos fue 0.66 (IC 95 %, 0.45-0.91; p = 0.014). El beneficio en la SLE fue más evidente entre aquellos con afectación ganglionar positiva (p = 0,010).(196)

Otro metaanálisis reciente, realizado en 1183 sobre 10 ensayos clínicos, demostró el beneficio de la quimioterapia adyuvante basada en cisplatino sobre la SG (HR:0.82, IC 95 % = 0.70-0.96, p = 0.02). Esto representa una incremento absoluto en la supervivencia del 6 % a los 5 años, del 50 % al 56 %, y un beneficio absoluto del 9 % cuando se ajusta por edad, sexo, estadio pT y categoría pN (HR = 0,77, IC 95 % = 0.65-0.92, p = 0,004. También se demostró que la quimioterapia adyuvante mejoraba la supervivencia libre de recidiva (HR: 0.71, IC 95 % = 0.60-0.83, p < 0.001), la supervivencia sin recidiva locorregional (HR:0.68, IC 95 % = 0.55-0.85, p < 0.001) y la SLM (HR: 0.79, IC 95 % = 0.65-0.95, p = 0.01), con beneficios absolutos del 11 %, 11 % y 8 %, respectivamente. (197)

1.3.3.9 Tratamiento con quimioterapia adyuvante en tumores del tracto urinario superior (UTUC):

El ensayo clínico POUT (NCT01993979) evaluó el papel de la quimioterapia adyuvante en pacientes con UTUC. Se trata de un ensayo aleatorizado, abierto en fase III que incluyó a 261 pacientes con UTUC con alto riesgo de

recurrencia (pT2-T4 pN0-3 M0 o cualquier pT N1-N3 M0) después de la nefroureterectomía.

Los pacientes fueron aleatorizados (1:1) a vigilancia o a 4 ciclos de quimioterapia adyuvante cada 21 días basada en cisplatino (70 mg / m²) o carboplatino (área bajo la curva [AUC] 4 · 5 / AUC5, para una tasa de filtración glomerular <50 ml / min) y gemcitabina (1000 mg / m²) administrado por vía intravenosa los días 1 y 8; dentro de los 90 días tras la cirugía. El objetivo primario fue la SLE analizada en la población por intención de tratar.

Con una mediana de seguimiento de 30,3 meses, el uso de quimioterapia adyuvante se asoció con una SLE superior (HR 0.45; IC 95%: 0.30 a 0.68). El análisis por subgrupos fue consistente, incluso al considerar diferentes tipos de quimioterapia como el uso de carboplatino.

Además, el uso de quimioterapia adyuvante se asoció con una mejor SLM a los 3 años del 71% (IC del 95%: 61%- 78%) y del 46% (IC 95%: 36% - 56%) para la quimioterapia y la vigilancia, respectivamente (HR 0,48; intervalo de confianza del 95%: 0,31-0,74). Con un seguimiento adicional, el beneficio de la SLE informado anteriormente para la quimioterapia se mantuvo sin toxicidad adicional a largo plazo. (198)

1.3.3.10 Tratamiento con inmunoterapia adyuvante:

El nivolumab adyuvante ha sido el primer fármaco que ha demostrado una mejoría estadística y clínicamente significativa en la SLE en comparación con el placebo en pacientes con carcinoma urotelial músculo invasivo después de una cirugía radical, tanto en pacientes ITT como en pacientes con PD-L1 ≥ 1%, y ha cambiado la estrategia terapéutica en el MIBC, con su aprobación tanto por la FDA como por la EMA recientemente.

Nivolumab: CheckMate274 (NCT02632409), es un ensayo fase 3, aleatorizado, doble ciego, multicéntrico que comparó el tratamiento con nivolumab y placebo de forma aleatorizada 1: 1 en 709 pacientes con MIBC de alto riesgo (pT3, pT4a o pN+) no elegibles o que rechazaran la quimioterapia adyuvante con cisplatino tras la cistectomía radical o nefroureterectomía y/o

(ypT2 a ypT4a o ypN+) en pacientes que recibieron cisplatino neoadyuvante .
(199)

Los pacientes fueron aleatorizados a recibir nivolumab 240 mg adyuvante cada 2 semanas durante un máximo de 1 año. Se permitió que los pacientes recibieran cisplatino neoadyuvante, pero no era obligatorio. También se incluyeron aquellos pacientes inelegibles para quimioterapia basada en cisplatino o que la rechazaron.

El objetivo primario fue la SLE en todos los pacientes aleatorizados (población ITT) y en pacientes con expresión de PD-L1 en células tumorales $\geq 1\%$. La evaluación de la SLE se estratificó según el estado ganglionar, el tratamiento con cisplatino neoadyuvante y el estado de PD-L1. Además se analizó la supervivencia libre de recurrencia del tracto no urotelial (NUTRFS) entre los pacientes con ITT y entre aquellos con PD-L $\geq 1\%$.

El objetivo secundario fue la SG analizada de forma jerárquica.(199)

Los datos de seguimiento a largo plazo presentados en 2022 mostraron que, con un seguimiento mínimo de 11 meses, nivolumab mantuvo su beneficio de SLE sobre el placebo. En la población ITT, el tratamiento con nivolumab alcanzó una mediana de SLE de 22,0 meses (IC del 95 %, 17,7-36,9) en comparación con 10,9 meses (IC del 95 %, 8,3-14,0) con placebo; con una HR de 0,70 (IC del 95 %, 0,57-0,85).

El nivolumab adyuvante también mejoró la SLE en comparación con el placebo en pacientes con una expresión de PD-L1 $\geq 1\%$, con una mediana de SLE no alcanzada (IC del 95 %, 22,1–no estimable) en comparación con 8,4 meses (95 % IC, 5,6-20,0) con placebo; en este subconjunto, la HR fue de 0,53 (IC del 95 %, 0,38-0,75). La probabilidad de SLE a los 12 meses fue del 63,5 % con nivolumab y del 46,9 % con placebo en pacientes ITT, y del 67,6 % frente al 46,3 %, respectivamente, entre los pacientes con una expresión de PD-L1 $\geq 1\%$

En el análisis de subgrupos, se observó una SLE superior con nivolumab, en comparación con placebo, independientemente de edad (<65: HR, 0,73; IC del 95 %, 0,53-1,01), sexo (mujer: HR, 0,77, IC del 95 %, 0,50-1,17), estado funcional ECOG (1: HR, 0,79; IC del 95 %, 0,56-1,12), estado ganglionar (N0/x con <10 ganglios extraídos: HR, 0,85; IC del 95 %, 0,57-1,27), uso de quimioterapia previa basada en cisplatino (No: HR, 0,90; IC del 95 %, 0,68-1,18) y estado de PD-L1 (<1 %: HR, 0,82; IC del 95 %, 0,63-1,05).

A los 12 meses, la supervivencia libre de recurrencia del tracto no urotelial (NUTRFS) también mejoró con nivolumab frente a placebo, tanto en la ITT (65,8 % frente al 50,6 %, respectivamente) como en la expresión de PD-L1 \geq 1 % (69,2 % frente al 47,1 %). La mediana de NUTRFS en el ITT fue de 26,0 meses (IC del 95 %, 19,5-41,1) frente a 13,7 meses (IC del 95 %, 8,4-20,0) (HR, 0,71; IC del 95 %, 0,58-0,88), respectivamente.

Del mismo modo, la supervivencia libre de metástasis a distancia (DMFS) también mejoró con nivolumab, en comparación con placebo, tanto en la ITT (41.1 meses [IC 95 %, 26.0-NA] frente a 29.3 meses [IC 95 %, 15.2-NA], respectivamente; HR 0.73; 95 % IC, 0.58-0.92) y expresión de PD-L1 del 1% o más grupos (NR [IC 95%, 26.0-NE] vs 20.7 meses [IC 95%, 10,8-NE]; HR, 0.60; IC 95%, 0,41 -0,88).

Actualmente la EMA (Agencia Europea de Medicamentos) ha aprobado el nivolumab adyuvante en pacientes carcinoma urotelial músculo-invasivo con expresión de PD-L1 en células tumorales \geq 1% y alto riesgo de recurrencia tras la CR (estadio patológico pT3, pT4a o pN+ en paciente no elegible o que rechazan la quimioterapia combinada adyuvante basada en cisplatino para pacientes que no habían recibido neoadyuvante basada en cisplatino o estadio patológico de ypT2 a ypT4a o ypN+ en pacientes que reciben cisplatino neoadyuvante). Además, un análisis exploratorio de subgrupos mostró una tendencia hacia un beneficio en SLE con nivolumab en pacientes con TPS < 1 % (0,82; IC 95 %, 0,63–1,06).

Atezolizumab: El ensayo fase 3 Imvigor 010 valoró el papel de la inmunoterapia adyuvante con atezolizumab 1200mg cada 3 semanas durante un año, en pacientes con enfermedad de alto riesgo (ypT2–4a o ypN+ después de la quimioterapia neoadyuvante o tumores pT3–4a o pN+ si no habían recibido quimioterapia neoadyuvante). Los pacientes fueron estratificados por: estadio tumoral, tratamiento de quimioterapia previa, el número de ganglios linfáticos resecaados, y el estado de PD-L1. 809 pacientes fueron randomizados a tratamiento con atezolizumab u observación.

El objetivo principal del estudio fue la SLE en la población ITT y no alcanzó la significación. La mediana de SLE fue de 19.4 meses con atezolizumab en

comparación con 16,6 meses con observación (HR 0.89 IC del 95%, 0.74 a 1.08; p = 0.2446.)

El análisis por subgrupos tampoco mostró ningún beneficio del atezolizumab adyuvante en ningún subgrupo.

Los pacientes que tenían una expresión de PD-L1 IC2 / 3 mayor parecían tener mejor SLE en general independientemente del tratamiento con atezolizumab o la observación en comparación con aquellos con PD-L1 IC0 /1. El tratamiento con atezolizumab adyuvante en pacientes con cáncer de vejiga con invasión muscular de alto riesgo no mejoró la supervivencia libre de enfermedad. Estos datos no respaldan el uso de atezolizumab adyuvante. (200)

Pembrolizumab: AMBASSADOR (NCT03244384) es un ensayo clínico aleatorizado en fase 3 en reclutamiento que está evaluando la eficacia de pembrolizumab en pacientes con MIBC frente a la observación.

Los candidatos a ensayo son pacientes con cáncer de vejiga músculo-invasivo de alto riesgo o del tracto superior (ypT2-4aNx o ypTxN+) tratados mediante cistectomía o nefroureterectomía durante las 16 semanas posteriores a la quimioterapia neoadyuvante o pT3-4Nx o pN+ después de la cirugía si no han recibido quimioterapia. Los pacientes se estratifican por status de PDL-1, tratamiento con quimioterapia neoadyuvante previa y estadio patológico pT2/3/4aN0 frente a pT4bNx o enfermedad N1-3. Posteriormente los pacientes son aleatorizados para recibir 200 mg de pembrolizumab cada tres semanas durante 12 meses u observación.

Los objetivos principales de este estudio son determinar la SLE y SG . Los objetivos secundarios incluyen la seguridad y la tolerabilidad de pembrolizumab.

Este ensayo nos ayudará a determinar si el pembrolizumab adyuvante para pacientes con MIBC o UTUC de alto riesgo puede ayudar a reducir el riesgo de progresión de la enfermedad, SLE y OS.

Los ensayos CPI en adyuvancia (Checkmate 274, Imvigor 010), incluyeron pacientes con tumores en UTUC y son especialmente importantes en este

subtipo tumoral debido a la insuficiencia renal secundaria a la nefroureterectomía.

Curiosamente, a pesar de que entre el 20-30% de los tumores se encontraban en el tracto urinario superior en estos estudios, los UTUC no demostraron beneficio en supervivencia libre de recaída tras la adyuvancia con Atezolizumab o Nivolumab en el análisis por subgrupos.(200) (199)

1.3.3.11 Tratamiento con inhibidores de FGFR adyuvante:

El ensayo clínico en fase III PROOF 302 (NCT04197986), en curso, es un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, en el cual 218 pacientes con UTUC de alto riesgo (85 % de los pacientes) o cáncer de vejiga urotelial (15 %), con alteraciones en *FGFR3* (mutaciones activadoras, fusiones o reordenamientos de genes) reciben tratamiento adyuvante con infigratinib oral 125 mg o placebo diariamente en los días 1 a 21 de un ciclo de 28 días ≤ 120 días después de la cirugía radical y no son elegibles o rechazan la quimioterapia (neo)adyuvante basada en cisplatino. El objetivo primario es la SLE determinada centralmente y los objetivos secundarios son : SLE evaluado por el investigador, SLM, SG y seguridad/tolerabilidad; los criterios de valoración exploratorios: análisis de biomarcadores, calidad de vida y farmacocinética de infigratinib. (201)

1.3.3.12 Estrategias de preservación vesical

Debido a que el MIBC es una enfermedad que se desarrolla más frecuentemente en pacientes con comorbilidades asociadas a la edad, donde la CR puede estar contraindicada, la terapias de preservación vesical puede ser una alternativa apropiada para pacientes bien seleccionados que rechazan o no son candidatos a la CR (202)

La terapia trimodal (TMT) en pacientes con MIBC, consiste en la realización de una RTU completa seguida de quimioterapia y radioterapia (RT), administrada de forma concurrente. La intención de la quimioterapia concomitante a la RT es actuar como un radiosensibilizador. Se han objetivado tasas de respuestas completas tras el tratamiento de entre un 69-72%. (203)

En pacientes no susceptibles a tratamiento con quimioterapia, la RT en monoterapia puede representar también una opción para los MIBC y se asocia con una tasa de SG a 5 años del 35% al 40%, comparado con un 48% en la estrategia de combinación. (204)

El ensayo BC2001, un estudio fase III en el que se aleatorizaron 360 pacientes a recibir radioterapia con o sin quimioterapia (QT) sincrónica en el MIBC, demostró mejores resultados el tratamiento de RT con 5-Fluorouracilo (5-FU) más mitomicina frente a la RT sola.(205) Con una mediana de seguimiento de 118 meses, el uso concomitante de 5-FU más mitomicina con RT mejoró la supervivencia específica por cáncer (HR 0.73; IC 95%, 0.54-0.99; $p = 0.043$), el control locorregional (tasa de recaída a 2 años, 18% vs 32%; $p = 0.01$ [HR 0.59; IC 95%, 0.41-0.83; $p = 0.003$]), y mostró tasas más bajas de cistectomía de rescate (tasa a los 2 años, 11 % QT-RT frente al 17% RT; $p = 0,03$)

.(206) Varios estudios internacionales (136) y estudios de la RTOG (203) también han apoyado el uso de la QT-RT frente a la RT con un beneficio de supervivencia global a los 5 y 10 años del 57% y 36%, respectivamente.(203) Es necesario una correcta selección de los pacientes a los que realizar TMT. Los criterios de selección adecuados serían pacientes con enfermedad cT2N0M0, RTU completa, sin hidronefrosis, sin CIS y con un tumor unifocal.(207)

Varios agentes quimioterapéuticos han sido valorados en combinación con RT para la TMT tales como: cisplatino, paclitaxel, 5-FU y mitomicina. Para los pacientes que no son elegibles a cisplatino, la gemcitabina a bajas dosis es una alternativa aceptable con tasas de RC clínicas del 93% y una SG a 5 años y una supervivencia específica por cáncer del 59% y el 89%, respectivamente.(208) En el ensayo de la RTOG 0712, 66 pacientes fueron tratados con gemcitabina y RT a bajas dosis diaria o cisplatino-5-FU con RT dos veces al día. La tasa de supervivencia libre de metástasis a distancia a tres años fue del 84% y 77.8%, respectivamente.(209)

No se han completado ensayos prospectivos aleatorizados que comparen la TMT y la CR en el MIBC. El ensayo SPARE intentó comparar estas estrategias, donde el tratamiento definitivo (CR o RT) se determinó mediante la respuesta a

la quimioterapia neoadyuvante. Sin embargo, la viabilidad del estudio se vio comprometida por problemas de reclutamiento e incumplimiento en el 24% de los pacientes de la estrategia de tratamiento asignada. (210)

La incorporación de la inmunoterapia a la TMT está en investigación basándose en el potencial de la RT de acitvar la respuesta inmune antitumoral a través de la destrucción de las células tumorales y la posterior liberación de neoantígenos tumorales.(95) La RT puede aumentar la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad 1 (MHC-I) en la superficie del tumor permitiendo una mejor presentación de péptidos específicos del tumor y así mejorando la visibilidad del tumor a las células T citotóxicas. (212)

Varios estudios están valorando la potencial sinergia incluyendo el ensayo SWOG / RTG1806, un estudio aleatorizado en fase 3 de TMT convencional con y sin atezolizumab (NCT03775265).

1.3.3.13 Preservación vesical con Radioterapia e inmunoterapia.

Avelumab + Radioterapia: El ensayo en fase 2 (NCT03747419) ,actualmente en reclutamiento, está evaluando el tratamiento con radioterapia e inmunoterapia con avelumab concomitante.

Radioterapia + Durvalumab +Tremelimumab: El ensayo en fase II Immunopreserve (NCT03702179), cuyos resultados iniciales fueron presentados en ASCO 2021 evaluó el papel de la TMT mediante la RTU tumoral, seguida de durvalumab 1.500 mg IV y tremelimumab 75 mg IV, cada 4 semanas durante 3 ciclos concomitante a la radioterapia normofraccionada, a dosis de 46 Gy en la pelvis menor y 64-66 Gy en la vejiga. El objetivo primario fue la RC definida como la ausencia de tumoración con invasión muscular en la biopsia postratamiento. La RC en la biopsia postratamiento se documentó en 26 (81%) pacientes. Durante una mediana de seguimiento de 12,7 meses (IQR 5,3 - 24,5 meses), dos pacientes se sometieron a una cistectomía de rescate debido a la invasión muscular y una recaída T1. La tasa estimada de SLE a los 12 meses fue del 73% (IC del 95%: 59% - 91%). La SG estimada a 12 meses fue del 76% (IC del 95%: 62%- 94%). Los eventos adversos de grado 3 o 4

más frecuentes fueron diarrea (12%), insuficiencia renal aguda (6%) y hepatitis (6%).

Se están explorando combinaciones de quimioterapia, inmunoterapia y radioterapia como el ensayo en fase II de Avelumab en combinación con fluorouracilo y mitomicina o cisplatino y radioterapia (NCT03617913) o el ensayo fase II de Pembrolizumab gemcitabina y radioterapia hipofraccionada concurrente para el MIBC (NCT02621151). Incluso el papel que puede tener la inmunoterapia posterior a un tratamiento con quimioterapia y radioterapia puede tener su papel (NCT03697850). Los resultados de estos estudios, pueden dar lugar a una estrategia más generalizada de la TMT en el MIBC. Dada la morbilidad y el efecto sobre la calidad de vida asociados con la cistectomía radical o la TMT, se están realizando ensayos para adaptar la terapia a los perfiles moleculares, con el objetivo de incrementar la eficacia del tratamiento y la preservación de órganos, como en el RETAIN (NCT02710734) y ALLIANCE (NCT03609216).

1.4 Carcinoma vesical metastásico (CVM)

1.4.1 Situación actual del CVM

El CV avanzado o localmente avanzado se considera una enfermedad incurable. (213) Hasta la fecha, la quimioterapia basada en cisplatino sigue siendo el estándar de tratamiento de primera línea para el CV avanzado. Los regímenes basados en carboplatino, aunque inferiores, son una opción de tratamiento para los pacientes que se consideran inelegibles a cisplatino.(214) Hasta hace poco, las opciones de segunda línea de tratamiento del CV avanzado eran limitadas. Gracias a la mejor comprensión de la biología del CV, se han podido desarrollar nuevas opciones de tratamiento en últimos 6 años, como los CPI, los inhibidores del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) y los antibody drug conjugates (ADC).

1.4.2 Caracterización molecular de los tumores del tracto urinario superior (UTUC) con respecto al carcinoma de vejiga (CV):

El carcinoma urotelial del tracto urinario superior o upper tract urinary cancer (UTUC) engloba a los tumores localizados en el uréter o pelvis renal. Los UTUC y el cáncer de vejiga (CV) comparten algunas características histológicas, pero, considerando las diferencias en términos de precursores embriológicos, epidemiológicas, genéticas , de manejo clínico a las respuestas respuesta a la terapia, podemos considerarlas dos entidades distintas.

Por ejemplo, los UTUC se desarrollan en el epitelio derivado del mesodermo, pueden estar asociados con el síndrome de Lynch, y podrían ser inducidos por el ácido aristolóquico. (215) La inestabilidad de microsatélites son más comunes en UTUC que en el CV (216) (217).

Los UTUC se localizan más frecuentemente en la pelvis renal (56% a 63%) que en el uréter (37% a 44%) (218) (219) y representan entre el 5%-10% de todos los cánceres uroteliales, pero se consideran clínicamente más agresivos. Un 60 % de los pacientes presentan una enfermedad invasiva en comparación con el 15 %-25 % de los pacientes con vejiga y se asocian con un mal pronóstico frecuentemente , que en parte se debe, a la dificultad de su diagnóstico precoz. La citología urinaria es menos sensible para los UTUC (41%) que para el CV (86%), y se necesitan procedimientos más invasivos para el diagnóstico definitivo.(219) La nefroureterectomía radical (RNU) con escisión del manguito de la vejiga es el tratamiento estándar para pacientes con UTUC localizados.

El CV y del UTUC también tienen diferencias genéticas que pueden influir en la terapia. Los UTUC y el CV comparten mutaciones en genes similares, pero con diferentes frecuencias.

Algunos genes como el TP53, RB1 y ERBB2 se alteran con menos frecuencia en los UTUC con respecto a CV (26 % frente a 46 %, 3 % frente a 20 %, 8 % frente a 19 %, respectivamente), pero otros, como FGFR3 y HRAS se encuentran alterados con mayor frecuencia en el UTUC con respecto al CV (40 % frente a 26 %, 12 % frente a 4 %, respectivamente). (220)

Una caracterización genómica integral de una cohorte de 199 muestras de UTUC permitió una clasificación molecular de los UTUC pudiendo agruparlos en cinco subtipos moleculares basados en el estado mutacional de : TP53, MDM2, RAS y FGFR3. Estos subtipos fueron: FGFR3, RAS, TP53/MDM2, hipermutado y "triple negativo" con perfiles de expresión génica, ubicación/histología del tumor e implicaciones pronósticas diferentes. (221).

(Figura 10)

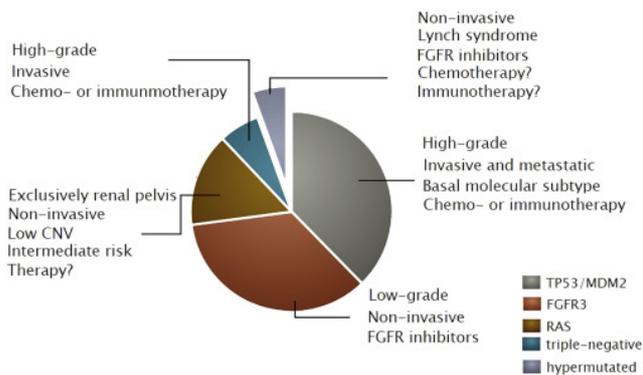


Figura 10. Subtipos moleculares de UTUC para guiar las decisiones terapéuticas (222)

En 2015, Sfakianos et al. analizaron 83 UTUC de bajo y alto grado (354). Los genes mutados con mayor frecuencia fueron FGFR3 (54 %), KMT2D (35 %), KDM6A (34 %), STAG2 (22 %), CDKN2A (21 %) y TP53 (18 %).

En este estudio, los autores evaluaron la asociación entre mutaciones genómicas y características clinicopatológicas. Se encontraron mutaciones activadoras recurrentes en FGFR3 en el 95.6% de los tumores de bajo grado. Las mutaciones de TP53 se observaron únicamente en tumores de alto grado, mientras que las mutaciones en KDM6A y KMT2D se detectaron tanto en UTUC de grado bajo y alto.

El estadio tumoral (T) también se relacionó con mutaciones genéticas. Los tumores con mutaciones en FGFR3 solían ser pTa/pT1/pT2, mientras que aquellos con alteraciones en TP53, CCND1, ERBB2, ERBB3 y KRAS eran con mayor frecuencia pT3/pT4.

Cuando compararon los perfiles genómicos de UTUC de alto grado (n = 59) y CV de alto grado (n = 102), el perfil de mutaciones fue similar, pero la prevalencia de mutaciones fue diferente. FGFR3, HRAS y CDKN2B se mutaron

más comúnmente en UTUC, mientras que TP53 y ARID1A se mutaron más comúnmente en CV. Se detectó un mayor número de fusiones FGFR3-TACC3 en el grupo UTUC, mientras que no se encontraron mutaciones en RB1. Los autores propusieron un patrón en el que los tumores de bajo grado con mutaciones en FGFR3 y HRAS pueden ser más propensos a progresar a una enfermedad invasiva de alto grado cuando ocurren en el tracto superior que en la vejiga.(217)

Audenet et al. secuenciaron prospectivamente 195 UTUC metastásicos y no metastásicos . Los genes mutados con mayor frecuencia fueron FGFR3 (40 %), KMT2D (37 %), KDM6A (32 %), TP53 (26 %) y ARID1A (23 %). En pacientes con enfermedad \geq pT2, las alteraciones en la vía RTK/RAS fueron menos frecuentes, mientras que las alteraciones en TP53/MDM2 fueron más comunes. Las alteraciones en FGFR3 y HRAS se detectaron en menor frecuencia en pacientes con enfermedad en estadio más alto. Por el contrario, la incidencia de alteraciones en TP53 y MDM2 fue considerablemente mayor en pacientes con enfermedad \geq pT2.(220)

A pesar de las diferencias significativas en la prevalencia de alteraciones genómicas comunes en UTUC y CV, en pacientes con antecedentes de ambos tumores, CV y UTUC siempre están relacionados clonalmente. Se evaluó el vínculo entre las mutaciones de los genes y la recurrencia de la vejiga, y se encontró que las alteraciones en FGFR3, KDM6A y CCND1 se asociaron significativamente con un mayor riesgo de desarrollar un tumor de vejiga posterior, mientras que las alteraciones de TP53 se asociaron con un menor riesgo. (220)

Estos resultados son similares a los informados por Nassar et al. en el que as mutaciones de FGFR3 se observaron en el 80% de los UTUC de bajo grado y las de TP53 solo en los cánceres de alto grado. (293) Además las alteraciones en FGFR3, PIK3CA y EP300 se correlacionaron con una peor SG en UTUC de alto grado y ocurrieron simultáneamente. Además describieron que el panorama mutacional de UTUC de bajo grado era similar al de NIMBC de bajo

grado con mayor incidencia de alteraciones en los genes KDM6A, STAG2 y FGFR3.

Van Oers et al. demostraron una frecuencia de mutaciones de FGFR3 similar en CV (48/100, 46 %) y UTUC (71/147, 48 %). El FGFR3 estaba mutado con más frecuencia en las muestras de uréter que en las de pelvis renal (59 % frente a 39 %). (224) Estas alteraciones se asociaron con UTUC de bajo estadio y un curso de la enfermedad menos agresivo. Además, los pacientes con UTUC con mutaciones en FGFR3 pT2-pT4 tuvieron una mejor supervivencia.

Moss et al. realizaron un la secuenciación del exoma completo (WES), en muestras de 27 sujetos con UTUC, encontrando 2784 mutaciones somáticas. En el análisis de los perfiles mutacionales de UTUC, se encontró que el FGFR3 era el gen más frecuentemente mutado en el 74% de todos los tumores; con un aumento de la frecuencia de las mutaciones de FGFR3 en el 92% de los UTUC de bajo grado.(225) Otros genes alterados identificados en UTUC fueron: KMT2D (44,4%), PIK3CA (25,9%) y TP53 (22,2%)

Necchi et al evaluaron la correlación entre las alteraciones genéticas y el origen anatómico de los UTUC. Las mutaciones de FGFR3 y HRAS fueron más comunes en los UTUC frente a los tumores de vejiga, en concreto en aquellos localizados en la pelvis renal, mientras que las frecuencias de las mutaciones de KRAS y NRAS fueron similares entre los tumores de pelvis y uréter. (226)

Bagrodia et al. evaluó una asociación entre alteraciones genómicas en UTUC y los resultados patológicos y clínicos adversos en 83 pacientes con enfermedad clínicamente localizada tratados con nefroureterectomía. (227) Descubrieron que las mutaciones de TP53/MDM2 estaban relacionadas con peores resultados clínico-patológicos, mientras que las alteraciones de FGFR3 están asociadas con resultados favorables. Las mutaciones en TP53, la alteración de TP53/MDM2 y la alteración de CCND1 aumentaron significativamente el riesgo de muerte por enfermedad, mientras que la mutación de FGFR3 disminuyó significativamente este riesgo

Además, la subtipificación de UTUC y CV ha identificado subtipos de expresión similares, pero UTUC es más a menudo luminal con más agotamiento de células T.

Robinson et al. realizaron una secuenciación del exoma y del ARN de UTUC de alto grado (228). Reportaron que la mayoría de los UTUC eran luminal-papilares (20/32, 62,5%), y la mayoría de los UTUC restantes también exhibían un perfil de expresión luminal. Además, la alta expresión de FGFR3 en UTUC se correlacionaba con un microambiente inmunitario empobrecido en células T y una carga mutacional total más baja que en el CV. En la cohorte TCGA, solo el 27,3% (35/128) de los casos de CV eran luminal-papilares(229).

McConkey et al. evaluó una asociación entre el perfil de expresión génica, los subtipos de cáncer urotelial y los resultados clínicos en pacientes con UTUC tratados con quimioterapia neoadyuvante (125). El 26,7% de los pacientes estaban afectados por UTUC de alto; el subtipo más común fue luminal. En contexto de neoadyuvancia, los pacientes con tumores basales tuvieron una mejor supervivencia en comparación con los subtipos luminal y p53 like.

1.4.3 Clasificación pronóstica del cáncer vesical metastásico (CVm)

1.4.3.1 Criterios de Bajorin

Varios estudios han evaluado los factores pronósticos relacionados con la supervivencia en pacientes con CVm tratados con terapias basadas en cisplatino en el contexto de primera línea. Los resultados de estos estudios son consistentes, siendo el estado funcional (ECOG- PS o Karnofsky) y la presencia de metástasis viscerales factores pronósticos bien establecidos. Los modelos pronósticos que predicen la supervivencia se desarrollaron inicialmente en pacientes tratados en primera línea con metotrexato, vinblastina, doxorubicina y cisplatino (M-VAC) e incluyeron niveles elevados de fosfatasa alcalina (FA), un PS pobre y la presencia de metástasis viscerales.(231) Análisis posteriores han establecido las metástasis viscerales

y un mal ECOG como los dos factores pronósticos que predicen la supervivencia. (230)(146). En el análisis de Bajorin et al (230), se estableció un modelo basado en tres categorías de riesgo en función de la presencia de estos dos factores. La mediana de supervivencia de los pacientes que tenían cero, uno o dos factores de riesgo fue de 33, 13,4 y 9,3 meses respectivamente ($p < 0,001$). (230)

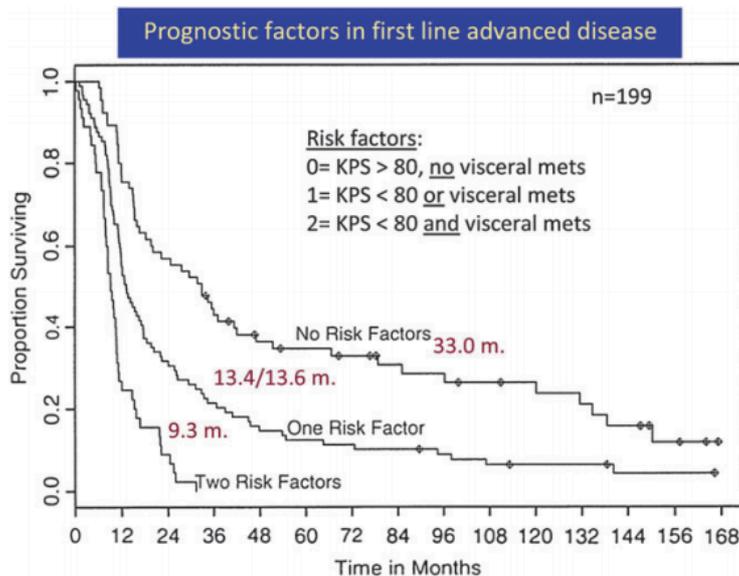


Figura 11. Factores pronóstico en primera línea de carcinoma urotelial avanzado (230)

1.4.3.2 Criterios de Bellmunt

En el escenario de segunda línea, en pacientes con enfermedad refractaria al platino, tres factores de riesgo (Eastern Cooperative Oncology Group PS superior a ≥ 1 , un nivel de hemoglobina inferior a 10 g / dl y la presencia de metástasis hepáticas) fueron identificados y validados como factores pronósticos relacionados con la SG y permitieron clasificar a los pacientes en cuatro grupos de riesgo con diferente pronóstico, con medianas de SG en base a la presencia de cero, uno, dos o tres factores pronósticos de 14,2, 7,3, 3,8 y 1,7 meses ($p < 0,001$), respectivamente.(232)

Al igual que en los criterios de Bajorin en primera línea, la presencia de metástasis viscerales y un mal PS predijeron un mal pronóstico.

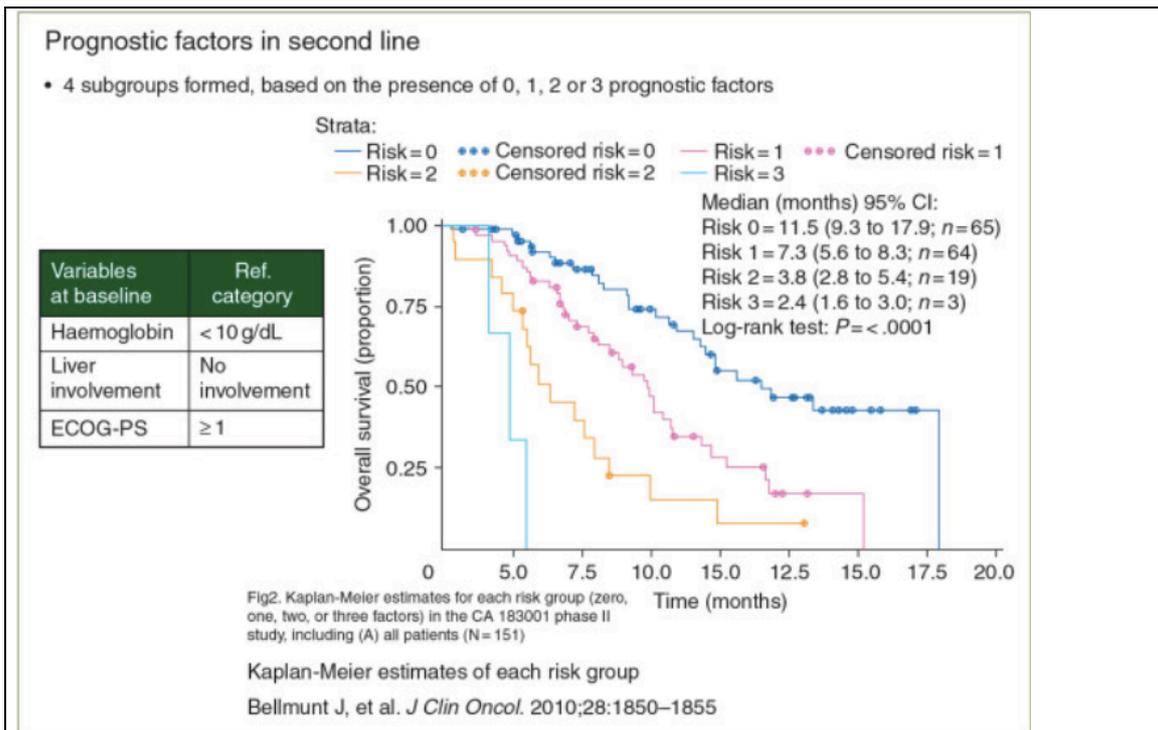


Figura 12. Factores pronóstico en segunda línea de carcinoma urotelial avanzado (232)

Otros estudios han añadido diversos factores eminentemente clínicos. Por ejemplo, Sonpavde et al añadieron el intervalo de tiempo desde la quimioterapia previa de <3 meses como un cuarto factor que mejoraba la clasificación pronóstica. (233) Posteriormente Sonpavde et al. incluyeron un quinto factor: los niveles de albúmina por debajo del límite inferior de la normalidad, que se asoció con una peor SG en pacientes con cáncer de vejiga refractario al platino, estableciendo un modelo pronóstico de 5 factores clínicos. (234)

1.4.4 Tratamiento del cáncer de vejiga metastásico

1.4.4.1 Primera línea de tratamiento

1.4.4.1.1 Quimioterapia:

La quimioterapia basada en platino sigue siendo la opción de primera línea preferida en el CV avanzado. Los esquemas basados en cisplatino en primera línea se asocian con unas tasas de respuesta del 49 al 72%.

Desafortunadamente, pese a las respuestas iniciales en la mayoría de las ocasiones, se acaban produciendo resistencias intrínsecas y adquiridas. (146)

(149) En aquellos que no son elegibles a cisplatino, la quimioterapia basada en carboplatino es una alternativa. (235)

El beneficio en supervivencia de la combinación de quimioterapia basada en cisplatino en pacientes con cáncer de vejiga se objetivó por primera vez a principios de la década de 1990, cuando el esquema de MVAC (Metotrexate, Vinblastina, Adriamicina, Cisplatino) demostró un beneficio de supervivencia sobre el cisplatino en monoterapia.(236) Debido a los efectos secundarios del MVAC, que incluyeron neutropenia, mucositis, neuropatía periférica, y una tasa de mortalidad de entre el 3% y el 4%, su uso se vio relegado.(236) Otras opciones de tratamiento con similar actividad clínica y mejor perfil de toxicidad han sido testadas como el uso de cisplatino-gemcitabina (CG) y las dosis densas de MVAC (dd MVAC). En el ensayo clínico fase 2, CG tuvo una actividad clínica similar a la del MVAC con un mejor perfil de toxicidad.(237)(238) Posteriormente, un ensayo fase 3, aunque no fue diseñado como un estudio de no inferioridad, mostró unas tasas de respuestas objetivas (ORR) similares (GC vs MVAC, 49% vs 46%, respectivamente) y una SG similar con los 2 regímenes.(145)(146) También se observó una mejor tolerancia a las dd MVAC en comparación con el MVAC clásico; y, aunque no hubo diferencias significativas en la SG entre los regímenes, el subconjunto de pacientes que experimentaron un control duradero de la enfermedad favoreció a dd MVAC, con una reducción relativa estadísticamente significativa en el riesgo de progresión y muerte en comparación con M-VAC.(149) (150) Cuando se comparó dd MVAC con dd CG en un estudio aleatorizado en fase 3, no hubo diferencias en la mediana de SG, aunque dd CG fue mejor tolerado.(239) En base a estos resultados, CG y dd MVAC se han adoptado como opciones de primera línea para CUm. La adición de taxanos, como paclitaxel (240) también se ha estudiado ampliamente en combinación con CG; sin embargo, debido a la ausencia de beneficio de SG y a una mayor incidencia de toxicidades graves, como neutropenia y fatiga, los regímenes de tripletes de quimioterapia no se han implementado de forma generalizada.

En los pacientes inelegibles para cisplatino, la combinación de carboplatino más gemcitabina (CaG) se evaluó en el ensayo de la EORTC 30986

(NCT00014274). En este ensayo, De Santis et al compararon distintos esquemas basados en carboplatino: CaG vs metotrexato / carboplatino / vinblastina (M - CAVI) en 238 pacientes con CV avanzado no tratados previamente que tenían una insuficiencia renal (tasa de filtración glomerular entre 30 y 60 ml por minuto) y / o un ECOG PS ≥ 2 . Con una mediana de seguimiento de 4,5 años, no hubo diferencias en la ORR , la SLP o la SG entre las dos cohortes, aunque se observó una mejor tolerancia al esquema CaG con menos toxicidades agudas graves.(235) Sin embargo, la mediana de SG con esquemas basados en CaG es de entre 8 y 9 meses, notablemente inferior a la alcanzada con esquemas con cisplatino.

Otras combinaciones han sido testadas en primera línea para pacientes con insuficiencia renal como las combinaciones de vinflunina y carboplatino versus vinflunina y gemcitabina en un ensayo clínico fase II.(241) La ORR y la SG fue similar en ambos grupos con un perfil de toxicidad hematológica más favorable en el grupo de vinflunina más gemcitabina. (241)

En 2019, esta combinación fue de nuevo testada en primera línea de tratamiento en pacientes cisplatino inelegibles en el ensayo clínico fase II randomizado VINGEM. En este ensayo se comparó la combinación de vinflunina más gemcitabina versus CaG en 59 pacientes con un aclaramiento de creatinina (CrCl) de entre 30 a 60 mililitros por minuto y un ECOG PS ≤ 1 . No se alcanzó el objetivo primario de aumento de la SLP, no existiendo diferencias entre ambos tratamientos; sin embargo, la combinación de vinflunina –gemcitabina tuvo una tasa de RC más elevada en comparación con CaG (22% vs 3%) a expensas de mayores tasas de neutropenia grado 3 y 4 (62% vs 43%) y de neutropenia febril (31% vs 7%). Aunque se requieren más estudios, parece un régimen activo en el carcinoma urotelial en pacientes inelegibles a platino .(242) En la actualidad, en pacientes con CUM inelegibles para cisplatino CaG sigue siendo el régimen de quimioterapia citotóxica en uso para el tratamiento de primera línea.

1.4.4.1.2 Inmunoterapia:

Dado que la mitad de los pacientes no van a ser elegibles para recibir una primera línea con esquemas basados en cisplatino (214) otras opciones, como el tratamiento con inmunoterapia, han cambiado el paradigma de tratamiento de esta enfermedad.

Actualmente existen dos tratamiento aprobados en primera línea para la enfermedad avanzada en pacientes que no son considerados aptos para terapia con cisplatino: atezolizumab y pembrolizumab. (243) (244)

Atezolizumab: La aprobación de atezolizumab se basó en los resultados de la cohorte 1 del ensayo IMvigor210, un ensayo fase 2 multicéntrico, de 2 cohortes. En la cohorte 1, se evaluó la eficacia y seguridad de atezolizumab en 119 pacientes con CUm inelegibles para cisplatino sin tratamiento previo. El objetivo primario de eficacia fue la ORR evaluada por un comité de revisión independiente (CRI) según criterios RECIST 1.1. Los objetivos secundarias incluyeron la SLP y la duración de la respuesta (DOR) evaluados por el CRI según criterios RECIST 1.1 y la SG . La ORR fue del 23% (IC 95%, 16%-31%) con un 9% de RC, una mediana de SLP de 2.7 meses (IC 95%, 2.1-4.2 meses) y una SG de 15.9 meses (IC 95%, 10.1-no alcanzado). Estas diferencias son notables cuando se comparan con las ORR del 36%, RC del 4%, con pocas respuestas duraderas y medianas de SG de 9-10 meses observados con los regímenes basados en carboplatino - gemcitabina del estudio de la EORTC 30986. (235) El 39% de los pacientes con tumores del tracto urinario superior tuvieron respuestas. Las respuestas se observaron en todos los subgrupos de PD- L1 con ORR: 28% en células inmunes (IC) 2/3, 24% en ICI 1/2/3 , 21% en ICI1 y 21% en IC0. La carga mutacional tumoral se asoció con la respuesta. Los EA de grado 3 o 4 se produjeron en el 45% de los pacientes, en una proporción similar a la observada en la cohorte que había progresado al platino. (243)

Atezolizumab fue el primer fármaco que demostró respuestas duraderas con un perfil de seguridad bien tolerado en CUm inelegible a cisplatino. Dados los resultados de actividad clínica duradera y el buen perfil de seguridad,

atezolizumab recibió una aprobación acelerada en mayo de 2017 como tratamiento de primera línea para pacientes no elegibles para cisplatino. (245)

Pembrolizumab: La aprobación del pembrolizumab en primera línea en pacientes con CUM se basó en los resultados del ensayo clínico fase II KEYNOTE - 052 en el que 370 pacientes no elegibles a cisplatino, sin tratamiento previo y con un ECOG PS de 0-2 recibieron tratamiento con pembrolizumab 200 mg cada 3 semanas. El PD-L1 se determinó mediante la puntuación positiva combinada (CPS). PD-L1 positivo se consideró como CPS ≥ 10 . El objetivo primario fue la tasa de respuestas objetivas confirmadas por RECIST v1.1. La tasa de respuesta objetiva confirmada para todos los pacientes fue del 28.9 % (IC 95 %, 24.3-33.8), con una respuesta completa del 9.5 % (n=35) y una tasa de RP del 19.5 % (n=72). La mediana de la duración de la respuesta fue de 33.4 meses (rango, 1.4+ a 60.7+), incluido el 44.8 % y el 39.4 % de los pacientes con una duración de la respuesta ≥ 36 y ≥ 48 meses, respectivamente. La mediana de SG fue de 11.3 meses (IC 95 %, 9.7-13.1). Las tasas de SG a 24 y 36 meses fueron del 31.5 % y del 22.1 %. Los pacientes con CPS ≥ 10 tuvieron mejor pronóstico que los pacientes con CPS < 10 . Se produjeron eventos adversos relacionados con el tratamiento en el 67.3 % de los pacientes, y el 21,1 % de los eventos adversos relacionados con el tratamiento fueron de grado ≥ 3 , incluido 1 fallecimiento (miositis). (246)

Los comités de seguimiento de datos y seguridad de los ensayos clínicos IMvigor130 y KEYNOTE - 361, antes de completar el reclutamiento, observaron que los pacientes que tenían tumores con baja expresión de PD - L1 incluidos en estos ensayos y se asignaron al azar a recibir tratamiento con checkpoint inhibitors experimentaban una mayor frecuencia de muertes en comparación con los pacientes asignados al azar a la quimioterapia estándar. Estos hallazgos llevaron a la FDA y a la Agencia Médica Europea (EMA) a restringir su indicación en primera línea de atezolizumab y pembrolizumab para pacientes con CUM no elegibles a cisplatino y con una alta expresión tumoral de PD - L1. Por lo tanto, la determinación previa al tratamiento de PD - L1 es crucial para su uso.

El atezolizumab se restringió a aquellos pacientes con carcinoma urotelial localmente avanzado irreseccable o metastásico no elegibles a cisplatino que expresaran PD-L1 $\geq 5\%$ en las células inmunes tumor-infiltrantes (IC2 / 3 por IHC con VENTANA SP142). (247) El pembrolizumab recibió la aprobación acelerada de la FDA en mayo de 2017 como tratamiento de primera línea para pacientes con CU avanzado que no eran elegibles para quimioterapia con cisplatino y cuyos tumores expresaban PD-L1 (CPS ≥ 10). Recientemente, en agosto de 2021, la FDA ha restringido su autorización a aquellos pacientes como tratamiento de primera línea de pacientes con carcinoma urotelial metastásico o localmente avanzado no elegibles para cisplatino y carboplatino. Pembrolizumab está aprobado por la EMA en pacientes con carcinoma urotelial localmente avanzado o metastásico inelegibles a quimioterapia con cisplatino y cuyos tumores expresan PD-L1 con un CPS ≥ 10 .

1.4.4.1.3 Combinaciones de quimioterapia-inmunoterapia o inmunoterapia-inmunoterapia

El siguiente paso, ha sido combinar los CPI con la quimioterapia en pacientes elegibles para cisplatino. Varios ensayos clínicos están evaluando distintas combinaciones:

Atezolizumab + platino+ gemcitabina: Los primeros datos disponibles fueron los del ensayo clínico fase III IMvigor-130 (NCT02807636) Este ensayo, presentado en ESMO 2019, demostró un beneficio significativo en la SLP con atezolizumab más platino / gemcitabina (grupo A) frente a placebo más platino / gemcitabina (grupo C) como tratamiento de primera línea para el carcinoma urotelial metastásico. La evaluación de la SG (criterio de valoración coprimario) se realizó mediante un procedimiento de secuencia fija jerárquica: grupo A versus grupo C en la población por intención de tratar; luego, Brazo B versus Brazo C en la población por intención de tratar y pacientes IC2 / 3. En ese momento, los datos provisionales de supervivencia general para el grupo A frente al grupo C eran alentadores pero inmaduros, demostrando una mejoría en la SG en los pacientes que recibieron atezolizumab más quimioterapia frente a la quimioterapia sola, sin embargo, no se alcanzó el umbral

prespecificado de significación estadística en el análisis intermedio de SG (HR, 0.83; IC del 95%, 0.69-1.00; $p = 0.027$). No hubo diferencias en la SG al comparar atezolizumab (Grupo B) versus placebo más platino / gemcitabina (Grupo C) en la población por intención de tratar (HR 1.02; IC del 95%: 0.83-1.24). De manera similar, no hubo beneficio de supervivencia al comparar el grupo B con el grupo C en pacientes con PD-L1 IC2 / 3 (HR 0.68; IC del 95%: 0.43-1.08), sin embargo, hubo un beneficio en SG (grupo B versus grupo C: HR 0.53, IC del 95% 0.30-0.94) y en la ORR (Grupo B 38%, IC 95% 25%-53%; Grupo C 33%, IC 95% 19%-49%) en pacientes tratados con atezolizumab con IC2 / 3 no elegibles para cisplatino. El perfil de seguridad del brazo de quimioinmunoterapia fue similar al del brazo de quimioterapia sola. En la población general, se produjeron EA de todos los grados relacionados con el tratamiento en el 60% de los pacientes del Grupo B y el 96% de los pacientes del Grupo C. Los EA de grado 3-4 relacionados con el tratamiento ocurrieron en el 15% de los pacientes del Grupo B y el 81% de los pacientes del Grupo C. En este estudio, un análisis combinado de biomarcadores, demostró que un TMB elevado y niveles altos de PD-L1(IC2/3) parecía aumentar las respuestas a la inmunoterapia.

Durvalumab + Tremelimumab: Posteriormente, en ESMO 2020, se presentó el ensayo DANUBE (NCT02516241), un ensayo fase 3, abierto, aleatorizado, en 1032 pacientes con carcinoma urotelial, irresecable, localmente avanzado o metastásico que evaluaba una primera línea de tratamiento con durvalumab con o sin tremelimumab frente a quimioterapia. Los objetivos coprimarios fueron la SG comparada entre los grupos de monoterapia de durvalumab frente a los grupos de quimioterapia en la población de pacientes con alta expresión PD-L1 y entre los grupos de durvalumab más tremelimumab frente a los grupos de quimioterapia en la población por intención de tratar (ITT). La mediana de seguimiento para la supervivencia fue de 41,2 meses (IQR 37,9–43,2) en todos los pacientes. En la población con PD-L1 alto ($\geq 25\%$), la mediana SG fue de 14,4 meses (IC del 95 %: 10,4–17,3) en el grupo de monoterapia con durvalumab (n=209) frente a 12,1 meses (10,4–15,0) en el grupo de quimioterapia (n=207; HR 0,89, IC del 95 % 0,71–1,11; $p=0,30$). En la población ITT, la mediana de SG fue de 15,1 meses (13,1–18,0) en el grupo de

durvalumab más tremelimumab frente a 12,1 meses (10,9–14,0) en el grupo de quimioterapia (HR 0·85, IC 95% 0·72–1·02; p=0·075). La combinación de CPI no demostró un beneficio estadísticamente significativo en la SG en comparación con la quimioterapia sola. Si bien no se cumplió ninguno de los criterios de valoración coprimarios, durvalumab y tremelimumab mostraron evidencia de actividad, particularmente en la población con alta expresión de PD-L1 (HR: 0,74 [IC del 95 %: 0,59–0,93]). Al igual que con IMvigor130, se observó un entrecruzamiento de las curvas alrededor de los 8 meses entre los pacientes tratados con quimioterapia.

Pembrolizumab +platino+ gemcitabina: En ESMO 2020, también se presentaron los datos del ensayo KEYNOTE-361 (NCT02853305), ensayo fase 3, aleatorizado, abierto, en 1010 pacientes con CV, localmente avanzado, no resecable o metastásico, con un ECOG de hasta 2 , se aleatorizaron (1:1:1) a recibir tratamiento con pembrolizumab iv 200 mg cada 3 semanas durante un máximo de 35 ciclos más quimioterapia intravenosa (cisplatino [70 mg/m²] o carboplatino [AUC 5] y gemcitabina [1000 mg/ m²]) durante un máximo de seis ciclos, o pembrolizumab en monoterapia o quimioterapia en monoterapia. Los pacientes fueron estratificados de acuerdo al tratamiento con platino y a la expresión de PD-L1(CPS). Los objetivos coprimarios fueron la SLP y la SG. Este ensayo utilizó un análisis estadístico secuencial, examinando primero la SLP y luego la SG. Debido a que uno de los análisis provisionales de SLP fue negativo, se gastó una cantidad considerable de alfa antes del análisis de supervivencia general y, por lo tanto, no fue posible realizar un análisis de SG de la monoterapia con pembrolizumab en comparación con la quimioterapia y se analizó a modo de análisis exploratorio. Con respecto a la SLP, la combinación de pembrolizumab y quimioterapia se asoció con una mediana de SLP de 8.3 meses frente a 7.1 meses (HR 0.78, 0.65-0.93, p = 0.0033). El valor de p no cumplió con el límite de significación (p < 0,0019). La mediana de SG para el tratamiento combinado fue de 17 meses frente a 14.3 meses para la quimioterapia sola (HR 0.86, 0.72-1.02, p = 0.0407). El valor de p para esta comparación no alcanzó el umbral de significación de p < 0.0142.La SG fue similar para la población con CPS de al menos 10 : 16.1 meses con pembrolizumab vs 15.2 meses con quimioterapia; (HR 1.01, 0.77–1.32).Con

respecto a la ORR (objetivo secundario), la quimioterapia tuvo una ORR superior (~45 %) en relación con pembrolizumab en monoterapia (~30 %). La combinación de pembrolizumab y quimioterapia obtuvo una ORR del 54,7 %. Es importante destacar que los respondedores a la inmunoterapia parecían tener respuestas más duraderas en relación con los respondedores a la quimioterapia. La adición de pembrolizumab a la quimioterapia con platino para el tratamiento de primera línea del cáncer urotelial avanzado no proporcionó un beneficio estadísticamente significativo en SLP o SG. (248) En las comparaciones de pembrolizumab en monoterapia versus quimioterapia, nuevamente, se evidenció el entrecruzamiento de las curvas con mejores resultados iniciales en pacientes que recibieron quimioterapia seguidos de mejores resultados en el grupo de pembrolizumab, con el cruce de las curvas a los 12 meses.(248)

Nivolumab + Ipilimumab: en ensayo clínico en fase 3, CheckMate-091(NCT03036098) se aleatorizaron 707 pacientes con CUm a recibir tratamiento con nivolumab 1 mg/kg e ipilimumab 3 mg/kg trisemanal durante 4 ciclos, seguido de nivolumab 480 mg cada 4 semanas durante un máximo de 2 años, o al grupo de comparación de quimioterapia estándar con cisplatino/gemcitabina o carboplatino/gemcitabina trisemanal durante 6 ciclos. Los objetivos principales de este ensayo eran la SG en pacientes no aptos para cisplatino y la SG en pacientes con un nivel de expresión de PD-L1 en el tumor de al menos el 1 %. Los objetivos secundarios eran la SG en todos los pacientes aleatorizados, la supervivencia libre de progresión y la seguridad. En mayo 2022, se anunciaron los primeros datos, de que el ensayo no alcanzaba su objetivo primario de aumento de SG en la población PD-L1 ≥ 1 % con la combinación de nivolumab más ipilimumab frente a la quimioterapia estándar. El resto de los objetivos secundarios están en curso.

Durvalumab +/- Tremelimumab +/- quimioterapia: NILE (NCT03682068): es un ensayo aleatorizado, abierto, multicéntrico, global fase III que aleatorizará ~1215 pacientes con carcinoma urotelial irreseccable, localmente avanzado o metastásico. Los pacientes elegibles son aleatorizados 1:1:1 a durvalumab + quimioterapia (Brazo 1), durvalumab + tremelimumab + quimioterapia (Brazo 2)

o quimioterapia (Brazo 3). Los objetivos coprimarios son la SG en pacientes con expresión alta de PD-L1 para el grupo 1 frente al grupo 3 y el grupo 2 frente al grupo 3. Los criterios de valoración secundarios incluyen la SG, Tasa de SG a los 24 meses, SLP, tasa de respuesta objetiva, proporción de pacientes vivos y libres de progresión a los 12 meses, duración de la respuesta, tasa de control de la enfermedad, tiempo desde la aleatorización hasta la segunda progresión, calidad de vida relacionada con la salud y seguridad. Este ensayo sigue en reclutamiento y se encuentran a la espera de resultados.

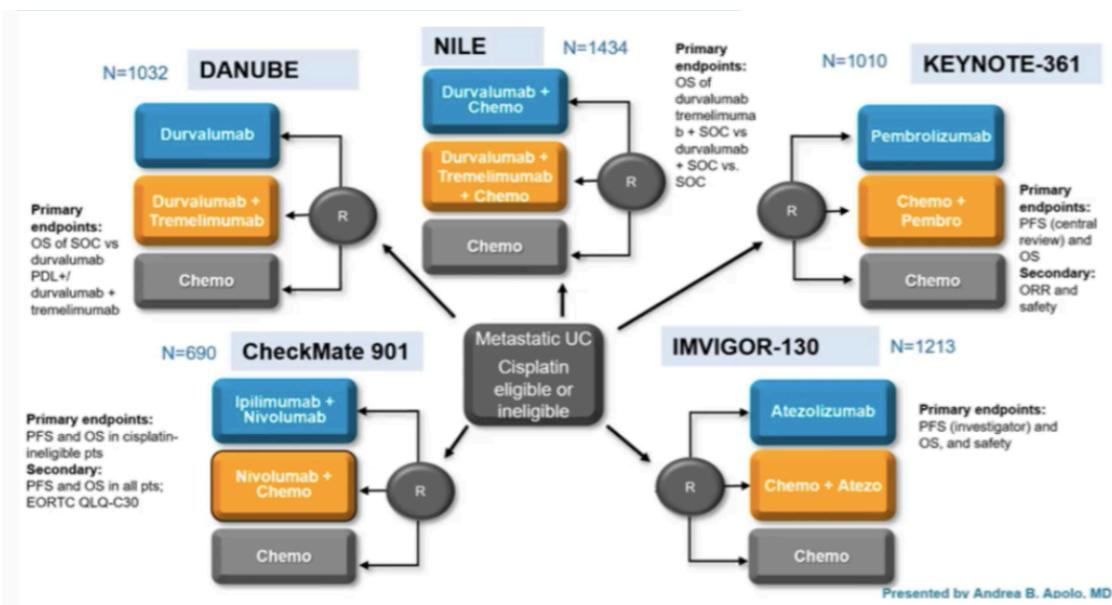


Figura 13. Combinaciones de inmunoterapia y quimioterapia en primera línea en el CUM.
Presentado por Andrea B. Apolo en ASCO GU 2021

Otra cuestión importante con respecto a la inhibición combinada de los puntos de control inmunológico de PD-L1 y CTLA-4 es en relación a cómo administrar los 2 agentes, si de forma simultánea o secuencial:

Nivolumab + Ipilimumab: El ensayo clínico (TITAN-TCC) (NCT03219775): Tailored Immunotherapy Approach with Nivolumab in Advanced Transitional Cell Carcinoma, presentó los resultados en ASCO-GU 2022. En este ensayo se evaluó un tratamiento personalizado en pacientes con CUM en progresión a platinos, con 4 ciclos nivolumab 240mg cada 2 semanas en monoterapia

seguidos de un boost de 2 ciclos nivolumab 1mg/kg + ipilimumab 3mg/kg cada 3 semanas, en aquellos pacientes no respondedores. 83 pacientes con carcinoma urotelial avanzado recibieron tratamiento con inducción de nivolumab 240 mg. El objetivo principal fue la ORR evaluada por el investigador confirmada según RECIST1.1(249) y las variables secundarias incluyeron la actividad de nivolumab en monoterapia en la semana 8, ña tasa de remisión con nivolumab más el boost de ipilimumab, la seguridad, SG y calidad de vida. Entre los 83 pacientes inscritos, la ORR connivolumab fue del 20,5 %. La ORR confirmada con la inducción de nivo ± refuerzos de nivo+ipi se logró en 27/83 (32,5 %) de los pacientes, cumpliendo con el objetivo primario preespecificado y demostrando una respuesta significativamente superior al 20 % ($p < 0,01$). Los pacientes con alta expresión de PD-L1 ≥ 1 % en células tumorales tuvieron un ORR superior (46 % frente a 24 % PD-L1 negativos). Durante una mediana de tiempo de seguimiento de 5,6 meses, la mediana de SLP fue de 1,9 meses (IC del 95 %: 1,8 a 3,2). (250) y la mediana de SG fue de 7,6 meses (IC del 95 %: 5,1 a 14,9). (250)

Durvalumab + tremelimumab: Un ensayo fase 2 (NCT02527434) de durvalumab y tremelimumab combinado versus durvalumab secuencial y tremelimumab versus durvalumab está en curso en pacientes con CU avanzado refractarios al platino para responder esta cuestión

[1.4.4.1.4. Combinaciones de inmunoterapia y antibody drug conjugate \(ADC\):](#)

La inmunoterapia también se está investigando en combinación con los ADC:

Pembrolizumab +EV: El ensayo en fase 3 EV - 302: (NCT04223856), actualmente en reclutamiento, evaluará la valuará la eficacia y seguridad de la combinación de EV+pembrolizumab frente a cisplatino+gemcitabina o carboplatino+ gemcitabina en pacientes con carcinoma urotelial avanzado no tratados previamente. Los objetivos primarios son la SLP y la SG para EV+P en comparación con gem+cis o carbo. Otros criterios de valoración incluyen ORR, duración de la respuesta, tasa de control de la enfermedad, EA, resultados informados por el paciente y biomarcadores. Los resultados de este ensayo

determinarán si la combinación de ADC+ inmunoterapia se establecerá como tratamiento estándar de primera línea para los pacientes con CV avanzado.

1.4.4.2 Terapias de mantenimiento tras respuesta a una primera línea de tratamiento

1.4.4.2.1 Inmunoterapia de mantenimiento:

Previamente el estándar de tratamiento tras completar 6 ciclos de quimioterapia de primera línea era realizar un seguimiento mediante pruebas radiológicas, y no estaba establecido iniciar una nueva línea de tratamiento hasta que no se objetivara una progresión radiológica de la enfermedad.

Actualmente, la inmunoterapia también se ha explorado como terapia de mantenimiento en pacientes con CUm que han logrado algún grado de respuesta a la quimioterapia previa basada en platino.

Dos estudios han cambiado el paradigma de tratamiento de la primera línea, permitiendo incorporar la terapia de mantenimiento en aquellos pacientes en los que no se ha objetivado una progresión de la enfermedad tras una primera línea de quimioterapia basada en platino:

Pembrolizumab: En el ensayo de fase II randomizado, doble ciego HCRN 14-182 (NCT02500121) Galsky et al testaron el tratamiento de mantenimiento con pembrolizumab (n = 55) vs placebo (n = 53) en aquellos pacientes que lograron al menos una enfermedad estable después de hasta 8 ciclos de quimioterapia de primera línea basada en platino. El objetivo principal era determinar la SLP. Los objetivos secundarios incluyeron la SG, así como los resultados de acuerdo al CPS de PD-L1. Se permitía el crossover en los pacientes en la rama de placebo que experimentaran una progresión de la enfermedad. La ORR fue del 23% con pembrolizumab y 10% con placebo. Los EA de grado 3-4 del tratamiento ocurrieron en el 59% de los pacientes que recibieron pembrolizumab y el 38% de los pacientes que recibieron placebo. La SLP fue significativamente más prolongada con el mantenimiento con pembrolizumab versus placebo (5.4 meses [IC 95%, 3.1-7.3 meses] versus 3.0 meses [IC del 95%; 2.7 - 5.5 meses]; HR: 0.65; log-rank p = 0.04. La mediana de SG fue de 22 meses (IC 95%, 12.9 meses- no alcanzada) con pembrolizumab y 18.7

meses (IC 95%, 11.4 meses -no alcanzada) con placebo. No hubo interacción significativa entre el nivel de PD-L1 y la SLP o la SG. Tras una mediana de seguimiento de 14.7 meses, el 50% de los pacientes realizaron un crossover a la rama de pembrolizumab por progresión de la enfermedad a placebo ($p = 0.038$). (251)

Avelumab: El ensayo clínico fase 3, JAVELIN Bladder 100 (NCT02603432), exploró el papel de la terapia de mantenimiento con avelumab después de la quimioterapia de inducción demostrando una SG significativamente mayor con avelumab + terapia de soporte de soporte (BSC) frente a BSC solo en pacientes con CV avanzada que no había progresado a una primera línea de quimioterapia con platino.

700 pacientes fueron aleatorizados (350 por brazo); 358 (51,1%) tenían tumores PD-L1+. El objetivo principal fue la SG, evaluada a partir de la aleatorización en todos los pacientes y en pacientes con tumores PD-L1+. Los criterios de valoración secundarios incluyeron la SLP y la seguridad.

Este es el primer ensayo aleatorizado hasta la fecha que ha demostrado un beneficio en SG a favor del mantenimiento con avelumab, en comparación con la BSC. En la población ITT, tras una mediana de seguimiento de 18 meses hubo una mejoría significativa de 7 meses en la mediana de SG (21.4 vs 14.3 meses) con una HR de 0.68 (IC 95%: 0.56 a 0.86). Se observó un beneficio similar en la población PD-L1 +, con una magnitud de efecto algo mayor (HR 0.56, IC 95%: 0,40 a 0,79). De manera similar, la SLP mejoró tanto en la población general como en la población PD-L1 +. En base a estos datos, la FDA aprobó avelumab como terapia de mantenimiento tras respuesta a platino.

Con un seguimiento prolongado de ≥ 38 meses, la SG se mantuvo significativamente más tiempo en el brazo de avelumab + BSC frente a BSC solo en todos los pacientes aleatorizados y en los pacientes con tumores PD-L1+ alcanzado una mediana de SG de 23.8 meses para la terapia de mantenimiento con avelumab, frente a 15 meses en la rama control con una HR de 0.76 (IC 95%: 0.63 a 0.92). En la población PD-L1+, las medianas de SG fueron de 30.9 meses a favor del avelumab frente a 18.5 meses en la rama control (HR 0.69, IC 95% : 0.521-0.901). La SLP fue más prolongada con avelumab + BSC frente a BSC en todos los pacientes aleatorizados (5.5

meses vs 2.1 meses, HR 0.54, IC 95% 0.45-0.645) y en pacientes con tumores PD-L1+ (7.5 meses vs 2.8 meses, HR 0.46, IC 95% 0.36-0.58) . En los brazos de avelumab + BSC vs BSC, 185 (52.9 %) frente a 252 (72.0 %) pacientes respectivamente, recibieron un tratamiento posterior, incluido un inhibidor de PD-(L)1 en 40 (11,4 %) frente a 186 (53,1 %) pacientes respectivamente. El perfil de tolerancia fue aceptable, con una incidencia de efectos adversos grado 3 o mayor del 47.4%. (252) los pacientes tratados con avelumab de mantenimiento no presentaron un detrimento en la calidad de vida con respecto a los pacientes en la rama del mejor tratamiento de soporte, medida mediante las escalas validadas FBISI-18 y EQ-5D-5L.

1.4.4.2.2 Otras terapias de mantenimiento:

Rucaparib: El ensayo clínico fase 2 ATLANTIS (ISRCTN25859465), es un ensayo de mantenimiento, aleatorizado, doble ciego, de selección por biomarcadores. Los resultados iniciales han sido presentados en ASCO GU 2022 y ASCO 2022. En los pacientes con CUM que no experimentaron progresión de la enfermedad después de 4 a 8 ciclos de quimioterapia basada en platino, se randomizaron (1:1) para recibir rucaparib de mantenimiento, 600 mg cada 12 horas o placebo, hasta la progresión de la enfermedad en aquellos pacientes con ≥ 10 % de pérdida de heterocigosidad (%LOH) y/o alteración somática en genes asociados a HRD definidos, incluidos ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDK12, CHEK2, FANCA, NBN, PALB2, RAD51, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L y/o alteración de la línea germinal BRCA1 o BRCA2. El objetivo primario fue la SLP. Se comparó la SLP entre los brazos del ensayo, por intención de tratar. La mediana de SLP fue de 35.3 semanas en pacientes que recibieron rucaparib y de 15.1 semanas en las que recibieron placebo (HR 0.53, IC 80 %: 0.30-0.92, $p = 0.07$). En cuanto a la SG (objetivo secundario), la mediana no se alcanzó entre los que recibieron rucaparib mientras que fue de 72.3 semanas en los que recibieron placebo (HR 1.22, 80 % IC 0,62-2,38, $p=0,35$). Hubo una respuesta parcial entre los pacientes tratados con rucaparib.

Cabozantinib: En otra de las ramas comparativas del ensayo clínico ATLANTIS, en pacientes con biomarcadores negativos, y tras experimenta una

respuesta a la primera línea de tratamiento basada en platino, los pacientes fueron aleatorizados (1:1) a recibir tratamiento de mantenimiento con cabozantinib 40 mg diarios o placebo. El objetivo principal fue la SLP. Los objetivos secundarios incluyeron la SG, la tasa de respuesta, el porcentaje máximo de disminución de la enfermedad medible, la seguridad y la tolerabilidad. La mediana de SLP fue de 13.7 semanas (80 % IC 12,1-23,3) con cabozantinib y 15.8 semanas (80 % IC 11.3-23.6) con placebo (HR 0.89 , 80 % IC 0.61-1.3, $p= 0.35$). Tampoco hubo diferencia en la SG (HR 0.80 (0.52-1.23; $p=0.25$). Este estudio no respalda la investigación adicional de cabozantinib como terapia de mantenimiento en pacientes no seleccionados por biomarcador.

1.4.4.3 Segunda línea de tratamiento y líneas sucesivas:

A pesar de las tasas de respuesta del 50% a 70 % alcanzadas con la quimioterapia de primera línea basada en cisplatino la mayoría de los pacientes acaban progresando tras de un intervalo de tiempo aproximado de 8 meses.

(253)

Los agentes quimioterápicos de segunda línea de tratamiento han demostrado un beneficio discreto, con ORR de entre el 5% y 20% y medianas de SLP de entre 3 a 4 meses. Para los pacientes que progresan después de la quimioterapia basada en platino, los resultados son desalentadores con medianas de SG en el rango de 6-7 meses.(254)

Se han recomendado terapia con vinflunina en Europa o taxanos a nivel mundial en esta población, pero faltan ensayos aleatorios que respalden estas opciones de tratamiento.

1.4.4.3.1 Quimioterapia en segunda línea

1.4.4.3.1.1. Vinflunina (VFL)

La vinflunina, un inhibidor de microtúbulos aprobado por las agencias reguladoras Europeas en 2009. Su uso ha sido bastante extendido en Europa tras la progresión a la quimioterapia basada en platino.

En el ensayo fase III, 370 fueron asignados aleatoriamente (2:1) para recibir tratamiento con vinflunina más el mejor tratamiento de soporte (BSC) vs BSC .

Curiosamente, la asignación aleatoria se estratificó por sitio de estudio y refractariedad a tratamiento previo con platino, pero no por el estado funcional, un factor de importancia significativa en el entorno metastásico. En la población ITT se observó beneficio en supervivencia a favor de la vinflunina (6.9 vs. 4.3 meses; HR 0.88; IC 95%, 0.69 a 1.12) pero no fue estadísticamente significativa ($p= 0.287$), con un perfil de seguridad favorable.

El análisis multivariado de Cox ajustado por factores pronósticos mostró un efecto estadísticamente significativo de la vinflunina en la SG ($p = 0.036$, HR = 0.77; IC del 95 %, 0.61 a 0.98). En la población elegible ($n = 357$), la mediana de SG fue significativamente mayor para VFL + BSC que para BSC (6,9 frente a 4,3 meses), siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,040$). Los objetivos secundarios, que incluyeron la ORR, la tasa de control de la enfermedad y la supervivencia libre de progresión fueron significativamente mejores el brazo BSC de vinflunina. La ORR fue del 8,6%, sin embargo las medianas SLP son cortas (≈ 3 meses). (238)

1.4.4.3.1.2 Taxanos y otras quimioterapias:

Varios ensayos clínicos fase II han investigado el papel de la quimioterapia en segunda línea con ORR bajas (ORR: 0-29 %) y medianas de SLP y SG cortas. La ganancia de la supervivencia específica por cáncer con quimioterapia versus BSC podría ser estadísticamente significativo pero clínicamente marginal (de semanas a pocos meses).

Taxanos: de uso común, con buena tolerabilidad y carente de nefrotoxicidad pero con ORR modestas de alrededor del 10 %. Docetaxel alcanzó ORR del 6 % al 13 %. (256). El paclitaxel en monoterapia demostró una eficacia limitada en ensayos fase II con una ORR del 5 % al 10%. (257) (258) Nab-paclitaxel logró un ORR 27.7 % y una buena tolerabilidad en pacientes previamente tratados con cisplatino.(259)

Pemetrexed: Ensayos fases II con pemetrexed alcanzaron ORR de entre el 5 y 8%. (260)(261)

Si bien ninguno de ellos han demostrado en ensayos clínicos randomizados un beneficio en supervivencia global. Los regímenes de quimioterapia combinada en segunda línea, en general, alcanzaron mayores tasas de respuesta, pero también aumentaron la toxicidad y no necesariamente alcanzaron resultados de supervivencia. Por lo tanto, las combinaciones no son el estándar para el tratamiento de segunda línea y se asocian con una toxicidad notable.(253)

1.4.4.3.2 Inmunoterapia en segunda línea :

La actividad clínica del bloqueo de PD -1 / PD- L1 en el CUM fue validada en ensayos en fase 1 y condujo al desarrollo de ensayos clínicos fases II y III. Un ensayo fase 1a de atezolizumab (15 mg / kg IV cada 3 semanas durante un máximo de 1 año) en 85 pacientes con CUM proporcionó la primera experiencia con los checkpoint inhibitors en el CUM, alcanzando un 30% de respuestas completas o parciales y las respuestas fueron rápidas y duraderas, con una mediana de tiempo hasta la primera respuesta de 42 días (rango 38-85 días). Estos resultados dieron lugar al desarrollo de ensayos clínicos más avanzados y consecuentemente a la aprobación por la FDA y la EMA de 5 agentes inmunoterápicos.

Los CPI han cambiado el paradigma del tratamiento del CUM. Alcanzando respuestas duraderas en algunos pacientes.

En la actualidad, 5 CPI (atezolizumab, pembrolizumab, nivolumab, durvalumab y avelumab) están aprobados por la FDA para el tratamiento de pacientes con CUM que hayan progresado a la quimioterapia basada en platino y 3 por la EMA (pembrolizumab, atezolizumab y nivolumab), (163), aunque el pembrolizumab fue el único tratamiento con aprobación basada en un nivel de evidencia I. Además 2 CPI (atezolizumab y pembrolizumab) están aprobados por la FDA y la EMA para el tratamiento de primera línea en pacientes no elegibles para cisplatino. (262) (263)(264) (265)(266)(267) Los resultados de los estudios que llevaron a estas aprobaciones se enumeran en la **Tabla 3**.

Atezolizumab: Atezolizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG1 anti-PD-L1. Atezolizumab fue el primer CPI que en 2016 demostró actividad antitumoral duradera en un subconjunto de pacientes con CUM que habían

progresado previamente a la quimioterapia basada en platino. El ensayo clínico en fase II IMvigor210 (NCT02108652) constaba de 2 cohortes de pacientes. En la cohorte 1: pacientes con progresión a platino y cohorte 2: pacientes “naive” de tratamiento o cisplatino inelegibles. En la población platino refractaria se objetivó una ORR del 15% (IC 95%, 11% -19%); además tras una mediana de seguimiento de 11.7 meses, 38 de 45 respondedores (84%) tuvieron una respuesta duradera. Tras haber demostrado una actividad duradera y una buena tolerabilidad, atezolizumab recibió la aprobación acelerada de la FDA en mayo de 2016 para pacientes con CUm refractarios al platino. Sin embargo, dada la aprobación acelerada se estipuló la realización de un ensayo en fase III. El ensayo en fase III IMvigor211 (NCT02302807), fue un ensayo fase III en 931 pacientes con CUm que habían progresado a quimioterapia basada en platino y fueron asignados al azar a recibir atezolizumab o quimioterapia a elección del investigador (docetaxel, paclitaxel, vinflunina). El ensayo realizó una estrategia jerárquica de prueba de hipótesis, de modo que se requería una diferencia de SG en la población de PD - L1 alto (IC2/3) , si este era positivo se procedería a analizar la SG en la población con PD-L1 en las células inmunes infiltrantes $\geq 1\%$ (IC1/2/3), antes de probar una diferencia de SG en la población por ITT del estudio (267). Los pacientes se estratificaron en base a: la expresión de PD-L1 (IC 0/1 Vs IC2/3), el tipo de quimioterapia (vinflunina vs taxanos), la presencia de metástasis hepáticas (si vs no) y el número de factores pronósticos (tiempo desde el último régimen de quimioterapia < 3 meses, ECOG PS > 1 y hemoglobina).

El análisis de eficacia se realizó inicialmente en la población IC2/3. La mediana de SG fue de 11,1 meses (IC 95% 8.6–15.5) para atezolizumab vs 10,6 meses (IC 95% 8,4–12.2) para el brazo de quimioterapia con un HR estratificado de 0,87 (IC 95% 0.63–1.21; $p=0.41$). La población con un PD-L1 elevado alcanzó una mejor SG en ambos brazos. Dado que no hubo una diferencia estadísticamente significativa en SG en la rama de atezolizumab en la población PD-L1 IC2/3, y teniendo en cuenta el diseño jerárquico estratificado, los análisis posteriores de los siguientes objetivos se consideraron exploratorios.

En los pacientes PD-L1 positivos en células inmunes (IC 1/2/3) la SG fue de 8,9 meses para atezolizumab vs 8,2 meses con quimioterapia (HR 0,87, IC 95% 0,71-1,05; p=0,14).

Hubo una mejora significativa en la SG con atezolizumab en la ITT; La SG fue de 8,6 vs. 8,0 meses respectivamente (HR 0,85, IC95%: 0,73-0,99; p=0,038) aunque, debido al diseño jerárquico del estudio, se consideró exploratorio.

Además, se realizó un análisis exploratorio de la SG según el tipo de quimioterapia recibida y se objetivó una mejor SG con atezolizumab frente a taxanos (HR 0.73, IC95% 0.58-0.92), pero no frente a vinflunina (HR 0.97, IC 95% 0,78-1,19), que tuvo una mediana de SG mayor a la esperada (9.2 meses frente a 6,9 meses en el estudio fase III que dio lugar a su aprobación). (255)

No se objetivaron diferencias en SLP (2,4 frente a 4 meses respectivamente en la población IC2/3 y 2,1 frente a 4 meses en la población ITT) ni a la ORR (23% vs 21,6% en IC2/3 y 13,4% en ambos brazos en ITT), independientemente de la expresión de PD-L1. Sin embargo, si que se objetivó una mayor duración de la respuesta en los respondedores a atezolizumab con respecto a quimioterapia (21,7 vs 7,4 meses). Además, se observó una mejor tolerancia al atezolizumab con respecto a la quimioterapia (EA de grado 3 o 4, 20% frente a 43%) en la ITT y un 3% de interrupciones definitivas por toxicidad con atezolizumab frente al 14% con quimioterapia. (267)

A pesar de que el objetivo primario jerárquico de supervivencia global no se cumplió, teniendo en cuenta el beneficio en SG en la población ITT, con ORR duraderas y un buen perfil de toxicidad, la EMA (247) y la FDA (268) aprobaron este fármaco para el tratamiento de segunda línea del carcinoma urotelial.

Sin embargo, en marzo 2021, se decidió la retirada voluntaria de atezolizumab del mercado estadounidense por su indicación como tratamiento para pacientes con carcinoma urotelial metastásico (CUm) tratados previamente con platino, según un comunicado de prensa de la compañía. (269)

Pembrolizumab: Pembrolizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG4 anti-PD1 que ha sido aprobado para el tratamiento del carcinoma urotelial tras progresión a platino de acuerdo a los resultados del ensayo clínico KEYNOTE-045 (NCT02256436).

Se trata de un ensayo clínico fase III, abierto, multicéntrico, internacional, aleatorizado, controlado, que comparó la eficacia y seguridad de pembrolizumab con la quimioterapia a elección del investigador (paclitaxel, docetaxel o vinflunina) en 542 pacientes con carcinoma urotelial localmente avanzado o metastásico en progresión a quimioterapia basada en platino. Los objetivos co-primarios fueron la SG y la SLP en la población ITT y en la población con PD-L1 \geq 10%.

El estudio fue positivo para SG en la ITT con una mediana de 10,3 meses en el brazo de pembrolizumab frente a 7,4 meses en el de quimioterapia, con una HR de 0.73 (IC95% 0,59-0,91, p=0,002) y en la población con PD-L1 \geq 10% con HR 0,57 (IC95% 0.37-0.88, p=0,005). El beneficio en SG fue independiente del PD-L1, observándose beneficio en el subgrupo de pacientes que no expresaban PD-L1. Sin embargo, no se objetivó diferencias en la SLP en la ITT, con una HR de 0,89 (IC 95% 0,81- 1,19, p=0,42), ni en la población con PD-L1 \geq 10%, con HR 0,89 (IC 95% 0,61-1,28, p=0,24) (14).

Pembrolizumab alcanzó una ORR superior (21,1% frente a 11,4%).

La mediana de tiempo hasta la respuesta fue de 2,1 meses en ambos grupos.

La mediana de duración de la respuesta no se había alcanzado en el grupo de pembrolizumab frente a 4,3 meses en el de quimioterapia.

Además, el pembrolizumab se toleró mejor (EA: cualquier grado, 60,9% frente al 90,2%; grado 3-5, 15% frente al 49,4%). Con un mediana de seguimiento posterior de hasta 24 meses se confirmó el beneficio de supervivencia similar al observado en los resultados iniciales (HR, 0.7; IC del 95%, 0,57 a 0,86; $P = 0.0004$). (270)

Debido al incremento en SG (a pesar de no haber demostrado un aumento en la SLP), con una mayor tasa de respuestas y un mejor perfil de tolerabilidad, dio lugar a la aprobación por la FDA (243) y la EMA(272), convirtiéndose así en un nuevo estándar de tratamiento.

Nivolumab: Nivolumab es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG4 anti-PD1. En base a los resultados del ensayo fase II no comparativo CheckMate 275 (NCT02387996) en el que se incluyeron 270 pacientes con carcinoma urotelial en progresión a platino con la ORR como objetivo primario. La ORR

fue de 19,6% con un 2% de RC, llegando al 28,4% en pacientes con PD-L1 $\geq 5\%$, con un 77% de respuestas mantenidas al momento del análisis. La SG fue de 8,74 meses en la población ITT, siendo algo superior en los pacientes con PD-L1 $\geq 1\%$ (11.3 meses) e inferior en los pacientes que no expresaban PD-L1 (5,9 meses). El perfil de tolerancia también fue favorable, con una tasa de eventos adversos grado 3-4 del 18%. (273) Con un seguimiento más prolongado de 33,7 meses nivolumab continuó brindando actividad antitumoral duradera en pacientes con CUM, con ORR, medianas de SLP y de SG del 20,7 % , 1,9 meses y 8,6 meses respectivamente. EL TMB combinado con PD-L1 predijo mejor la ORR, PFS y OS que PD-L1 solo. (274) Este ensayo dio lugar a la aprobación del Nivolumab por la FDA (275) y la EMA (276).

Durvalumab: es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG1 anti-PD-L1. Fue aprobado por la FDA para el carcinoma urotelial avanzado en progresión a platino en base a los resultados del análisis intermedio del ensayo fase I/II (NCT01693562) de 61 pacientes con carcinoma urotelial en progresión a platino o inelegibles a cisplatino en primera línea.

El objetivo primario fue la seguridad. Un 63,4% de pacientes tuvieron EA de cualquier grado, siendo los más frecuentes: fatiga (13,1%), diarrea (9,8%) e hiporexia (8,2%). Sólo hubo un 4,9% de eventos grado 3 y ningún evento grado 4-5. Dentro de los objetivos secundarios la ORR fue de un 31% en la población ITT y de un 46,4% en los pacientes PD-L1 alto ($\geq 25\%$ en células inmunes (IC) o tumorales (TC)) y un 0% en los PD-L1 bajo o negativo. La tasa de control de enfermedad a las 12 fue del 57,1% en los pacientes PD-L1 alto en IC o TC y del 28,6% en los pacientes PD-L1 bajo o negativo (277).

Avelumab : Avelumab es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG1 anti-PD-L1. Fue aprobado por la FDA para el tratamiento del carcinoma urotelial en progresión a platino basado en el ensayo clínico fase 1b (JAVELIN, NCT01772004) en 249 pacientes con carcinoma urotelial en progresión a platino o inelegibles a cisplatino en primera línea. (278) El objetivo primario del estudio era la ORR, que fue de 17%, con un 6% de RC, independiente de la expresión de PD-L1. Los eventos secundarios más frecuentes fueron la

reacción infusional (29%) y la fatiga (13%), con sólo un 8% de eventos grado 3-4 (siendo el más frecuente la fatiga en un 2%). (155)

Nivolumab, durvalumab y avelumab recibieron la aprobación acelerada en pacientes tras progresión a platino según los datos de los ensayos de fase 1 y 2. No hay ensayos clínicos en fase 3 planificados para que estos agentes obtengan una aprobación regular.

Toripalimab: En el ensayo en fase II POLARIS-03 (NCT03113266) ,el anticuerpo monoclonal anti PD-1 humanizado recombinante, toripalimab en pacientes pretratados con CUm. En la población por intención de tratar, compuesta por 151 pacientes, la mediana de SLP fue de 2,3 meses y la SG de 14,4 meses. La tasa de respuesta objetiva (ORR) fue del 26 % con una tasa de control de la enfermedad (DCR) del 45 % Tanto los pacientes con PD-L1 positivo como aquellos con un TMB alto tuvieron una mejor ORR que los pacientes con PD-L1 negativo y TMB bajo. (279)

STUDY	MONTH/YEAR	ELIGIBILITY	NO.	PHASE	INTERVENTION	PRIMARY ENDPOINT (95% CI)
Rosenberg 2016 ¹²⁰ (IMvigor210)	05/2016	Platinum-ineligible or refractory	311	2	Atezolizumab	ORR: All, 15% (11%-19%); IC1/IC2/IC3, 18% (13%-24%); IC2/IC3, 26% (18%-36%)
Sharma 2007 ¹²² (CheckMate-032)	11/2016	Platinum-ineligible or refractory	78	1/2	Nivolumab	ORR: All, 24% (15%-35%)
Balar 2017 ¹²³ (IMvigor210)	01/2017	First-line, cisplatin-ineligible ^a	119	2	Atezolizumab ^a	ORR: All, 23% (16%-31%); PD-L1 ≥ 5%, 28% (14%-47%); PD-L1 < 5%, 22% (14%-32%)
Bellmunt 2017 ¹²⁴ (KEYNOTE-045)	03/2017	Platinum-ineligible or refractory	542	3	Pembrolizumab vs chemotherapy	OS: All, HR, 0.73 (0.59-0.91); P = .002; CPS ≥ 10, HR, 0.57 (0.37-0.88); P = .005; CPS < 10, HR, 0.80 (0.61-1.05)
Apolo 2017, ¹²⁵ Patel 2018 ¹²⁶ (JAVELIN Solid Tumor trial)	07/2017; 01/2018	Platinum-ineligible or refractory	242	1b	Avelumab	ORR: All, 17% (11%-24%); PD-L1 ≥ 5, 24% (14%-36%); PD-L1 < 5, 13% (7%-23%)
Powles 2017 ¹²⁷	09/2017	Platinum-ineligible or refractory	191	1/2	Durvalumab	ORR: All, 17% (11%-24%); PD-L1 ≥ 25%, 28% (19%-38%); PD-L1 < 25%, 5% (1%-13%)
Balar 2017 ¹²⁸ (KEYNOTE-052)	11/2017	First-line, cisplatin-ineligible ^b	370	2	Pembrolizumab ^b	ORR: All, 24% (20%-29%); CPS ≥ 10, 39% (28%-50%); CPS 1-10, 20% (14%-28%); CPS < 1, 11% (4%-24%)

Tabla 3: Ensayos con inmunoterapia aprobados en segunda línea en el CUm: (130)

1.4.4.3.3 Antibody Drug Conjugates (ADC)

Enfortumab Vedotin (EV): Ha demostrado una alta eficacia en el CUm. Se trata de un anticuerpo anti-nectin-4, una proteína transmembrana. Nectina-4 es un miembro de la superfamilia Ig, su función principal es mantener las uniones

adherentes junto con la cadherina. La nectina-4 se ha asociado con la tumorigénesis, promoviendo la proliferación de células cancerosas, y se sobreexpresa en la mayoría de los carcinomas uroteliales. Este anticuerpo está unido al agente anti-microtúbulos monometil auristatina E (MMAE). La unión del anticuerpo a las células que expresan nectina-4 da lugar a la internalización del MMAE y a la liberación de la quimioterapia causando la detención del ciclo celular y la apoptosis.

Los datos del ensayo multicohorte fase 1b/2 EV-103 cohorte A (NCT03288545) examinó la seguridad/actividad de la combinación de enfortunab vendotin con pembrolizumab en primera línea de tratamiento en 45 pacientes inelegibles a cisplatino.

Los objetivos incluyeron la seguridad/tolerabilidad, la respuesta del investigador según criterios RECIST v1.1, la duración de la respuesta, la supervivencia libre de progresión y la SG.

La combinación de pembrolizumab y mostró una ORR del 73,3% (IC 95 %: 58.1, 85.4), incluyendo un 17,8% de respuesta completas , y una ORR del 57,1 % en pacientes con metástasis hepáticas.

La tasa de control de la enfermedad fue del 93,3 %, la mediana de SLP de 12,3 meses (IC 95 %: 8,0-no alcanzado) y la mediana de SG de 26,1 meses. La tasa de SG a los 24 meses fue del 56,3 % (IC 95 %: 39,8, -69,9):

Las tasas de respuestas fueron altas independientemente de la expresión de PD-L1.

El ensayo en fase II EV-201 (NCT03219333), es un ensayo de una rama con 2 cohortes que fue diseñado con el objetivo de establecer la eficacia y seguridad de enfortumab-vedotin en pacientes con carcinoma urotelial localmente avanzado o metastásico.

La cohorte 1 incluyó a pacientes pretratados con quimioterapia basada en platino y una terapia anti-PD-1/L1, mientras que la cohorte 2 incluyó a pacientes inelegibles a platino tratados con una terapia anti-PD-1/L1 previa.

El objetivo primario fue la ORR por RECIST 1.1 por revisión central independiente ciega. Los objetivos secundarios fueron la duración de la respuesta, la SLP, la SG, la seguridad y la tolerabilidad.

En la cohorte 1: la ORR fue del 44 % (IC del 95 %, del 35.1 % al 53.2 %), incluyendo un 12 % de RC.

La mediana de duración de la respuesta fue de 7,6 meses (rango 0.95 a 11.30 meses). Los eventos adversos relacionados con el tratamiento más comunes fueron fatiga (50 %), neuropatía periférica (50 %), alopecia (49 %), erupción (48 %), disminución del apetito (44 %) y disgeusia (40 %). No se produjeron EA de grado 3 o mayores relacionados con el tratamiento en el 10 % o más de los pacientes. Los datos de la cohorte 1 llevaron a la aprobación acelerada por la FDA de enfortumab vedotin (280). La calidad de vida, la capacidad funcional y los síntomas no empeoraron con el tratamiento con enfortumab vedotin. (281)

En la cohorte 2: La edad de los pacientes era superior (mediana de 75 años, rango: 49-90), inelegibles al cisplatino por CrCl <60 ml / min (66%), pérdida auditiva de grado ≥ 2 (15%) o ECOG PS 2 (7%). En un 43% de los pacientes, el tumor se localizaba en el tracto superior y el 79% tenía metástasis viscerales, incluyendo un 24% de metástasis hepáticas. La ORR fue del 52 % (IC 95 %: 41-62), un 20 % de los pacientes lograron una respuesta completa.

Se observaron respuestas en todos los subgrupos, incluyendo los pacientes con tumores en el tracto superior (ORR 61%), metástasis hepáticas (ORR 48%) y aquellos que no respondieron previamente a inhibidores de PD-1 / PD-L1 (ORR 48%). La mediana de duración de la respuesta fue de 10,9 meses (IC del 95%: 5,8 – NR). Durante una mediana de seguimiento de 13,4 meses, la mediana de supervivencia libre de progresión fue de 5,8 meses (IC del 95%: 5,0 a 8,3) y la mediana de supervivencia global fue de 14,7 meses (IC del 95%: 10,5 a 18,2), razonablemente elevada en este contexto de la enfermedad.

Con respecto a los efectos secundarios de interés relacionados con el tratamiento incluyeron erupción cutánea (61% de todos los grados, 17% \geq grado 3), neuropatía periférica (54% de todos los grados, 8% \geq grado 3) e hiperglucemia (10% de todos los grados, 6% \geq grado 3). Los investigadores informaron de cuatro muertes relacionadas con el tratamiento, todas en pacientes ≥ 75 años con múltiples comorbilidades: 3 eventos fueron ≤ 30 días de la primera dosis de EV en pacientes con IMC ≥ 30 (lesión renal aguda, acidosis metabólica y síndrome de disfunción) y 1 evento > 30 días después de la última dosis (neumonitis).(282)

La ORR a enfortumab vedotin son numéricamente las más altas observadas para cualquier régimen en pacientes no elegibles para cisplatino con enfermedad avanzada. Estos datos respaldan la investigación continua de enfortumab vedotin en todo el espectro de carcinoma urotelial. Estos resultados alentadores condujeron a la aprobación acelerada de la FDA, (283) confirmado los resultados en el el ensayo de confirmación en fase III, EV-301. En 2022 , recibe también la aprobación por la EMA. (284)

El ensayo fase III EV-301 (NCT03474107): un ensayo abierto, randomizado , en 608 pacientes con carcinoma urotelial localmente avanzado o metastásico que habían recibido una quimioterapia previa basada en platino y que habían progresado durante o después del tratamiento con inhibidor de P1-PD-L1. Los pacientes fueron aleatorizados 1: 1 para recibir enfortumab vedotin (1,25 mg / kg) los días 1, 8 y 15 de cada ciclo de 28 días o quimioterapia a elección del investigador (docetaxel, paclitaxel o vinflunina).

El objetivo primario fue la SG y los objetivos secundarios: la supervivencia libre de progresión evaluada por el investigador, la respuesta clínica y la seguridad/ tolerabilidad .

La mediana de edad fue de 68 años y la mayoría de los pacientes eran varones. El 77.7% de los pacientes presentaba enfermedad visceral. Aproximadamente el 30% de los pacientes de cada grupo tenían metástasis hepáticas y alrededor del 20% de los pacientes de cada grupo habían respondido a tratamiento con checkpoint inhibitors previamente.

Después de un seguimiento de 11,1 meses, la mediana de SG se prolongó significativamente en 3,9 meses con EV en comparación con quimioterapia. La mediana de SG fue de 12,88 meses (IC 95 %: 10,58–15,21 meses) con EV de y de 8,97 meses (IC 95 %: 8,05–10,74 meses) con quimioterapia.

Además, el beneficio de SG de enfortumab vedotin se mantuvo en la mayoría de los subgrupos preespecificados.

El EV también demostró un beneficio en la SLP con una mediana de SLP con EV de 5,55 meses (IC 95 %: 5.32–5.82) y 3,71 meses (IC 95 %: 3.52–3.94) con quimioterapia

Las tasas de ORR fue mayor para los pacientes tratados con EV (40,6% frente al 17,9%, $p < 0,001$), con un 4,9% de respuestas completas con EV y la tasa de

control de la enfermedad fue del 71,9% con EV frente al 53,4% con quimioterapia ($p < 0.001$). (285)

Los resultados actualizados del ensayo EV-301 presentados en ASCO 2022 tras una mediana de seguimiento de 23,75 meses, se confirmó el beneficio, con medianas de SG mayores entre los pacientes que recibieron EV (12.91 meses) en comparación con los que recibieron quimioterapia (8.94 meses), (HR = 0,704 [IC del 95 %: 0,581-0,852] , P= 0,00015).

La SLP también mejoró significativamente con EV (mediana de 5,55 meses) frente a quimioterapia (mediana de 3,71 meses) (HR = 0,632 [IC del 95 %: 0,525-0,762]; $p < 0,00001$). Las tasas de eventos adversos relacionados con el tratamiento (TRAE; 93.9 % frente a 91.8 %), incluidos los TRAE graves (22.6 % frente a 23.4 %), fueron comparables entre los brazos de tratamiento. Se produjeron TRAE de alto grado (grado ≥ 3) en el 50 % de los pacientes de ambos grupos.

El ensayo en fase III EV-302/KN-A39 (NCT04223856) actualmente en reclutamiento, evaluará la combinación EV y Pembrolizumab frente a platino y gemcitabina en primera línea en pacientes con CUM. Los objetivos principales son la SLP y la SG de EV y Pembrolizumab en comparación con gem y cisplatino o carboplatino. Otros criterios de valoración incluyen ORR, duración de la respuesta, tasa de control de la enfermedad, eventos adversos, resultados informados por el paciente y biomarcadores.

Sacituzumab Govitecan (SG): Otra terapia dirigida prometedora es el Sacituzumab govitecan, un anticuerpo-fármaco conjugado formado por la unión de un anticuerpo monoclonal anti-Trop-2 conjugado con SN-38 (un metabolito activo del irinotecan, un inhibidor de la topoisomerasa I). Trop-2, una glicoproteína transmembrana implicada en el crecimiento, la invasión y la diseminación del cáncer celular, se expresa en gran medida en varios tumores sólidos, como el cáncer urotelial, de pulmón, gástrico y colorrectal, así como en el glioma. El complejo Trop-2-SG, internalizado por las células cancerosas, conduce a la inhibición de la topoisomerasa I, lo que eventualmente provoca la muerte celular. De lo contrario, el ADC se mantiene unido por el linker hidrolizable CL2A, que permite que SN-38 se libere en el microambiente

tumoral, atacando las células tumorales adyacentes, con una especie de efecto espectador.

El estudio TROPHY-U-01 (NCT03547973), fue el estudio de registro fase II, abierto, multicohorte. La cohorte 1 incluyó a pacientes con CUM que habían progresado a la terapia basada en platino o a CPI previos.

Los pacientes recibieron Sacituzumab Govitecan 10 mg/kg los días 1 y 8 de cada 21 días. El objetivo primario fue la ORR por revisión central; los objetivos secundarios fueron la SLP, la SG, la duración de la respuesta y la seguridad. La cohorte 1 incluyó a 113 pacientes (66.4 % con metástasis viscerales, mediana de tres líneas previas y con ≥ 1 factores de riesgo de Bellmunt en el 87%). Tras una mediana de seguimiento de 9.1 meses, la ORR fue del 27 % (IC95 %, 19.5 a 36.6); El 77% tuvo una disminución de la enfermedad. Tanto la ORR como la SG en esta cohorte excedieron lo esperado frente a la quimioterapia histórica con una mediana de duración de la respuesta de 7,2 meses (IC 95 %, 4.7 a 8.6 meses), una mediana de SLP y SG de 5,4 meses (IC 95 %, 3,5 a 7,2 meses) y 10,9 meses (IC 95 %, 9,0 a 13,8 meses) respectivamente. Los eventos adversos relacionados con el tratamiento de grado ≥ 3 incluyeron neutropenia (35 %), leucopenia (18 %), anemia (14 %), diarrea (10 %) y neutropenia febril (10 %) y el 6 % interrumpió el tratamiento debido eventos adversos relacionados con el tratamiento.(286) (287)

En la cohorte 3 del ensayo TROPHY-U-01 se combinó SG con pembrolizumab en pacientes con CUM en progresión a regímenes basados en platino. En el momento del corte de datos, 41 pacientes recibieron al menos una dosis de SG. La mediana de edad fue de 67 años, un 83 % eran varones, el 61 % tenían un ECOG 1, el 76 % tenían ≥ 1 factor de riesgo de Bellmunt, y la mediana del número de líneas previas fue 1 (rango: 1–3). Tras mediana de seguimiento de 5,8 meses, la ORR fue del 34 % (IC 95 %: 20,1–50,6; 1 RC; 13 PR), la tasa de beneficio clínico fue del 61 % (IC 95 %: 44,5–75,8), la mediana de SLP fue de 5,5 meses (IC 95 %: 1,7-no alcanzada) y la mediana de SG no se alcanzó. La mediana del tiempo hasta la respuesta fue de 2,0 meses (IC del 95 %: 1,3–2,8) y no se alcanzó la mediana de la duración de la respuesta (IC del 95 %: 2,8 – no alcanzada). 5 meses (IC 95 %: 1,7: no alcanzado) y no se alcanzó la mediana de SG. La mediana del tiempo hasta la respuesta fue de 2,0 meses

(IC 95 %: 1,3–2,8) y no se alcanzó la mediana de la duración de la respuesta (IC 95 %: 2,8 – no alcanzada).

El ensayo confirmatorio fase III, TROPiCS-04 (NCT04527991) se encuentra actualmente en reclutamiento, es un ensayo controlado aleatorio, multicéntrico, abierto, realizado en pacientes con carcinoma urotelial metastásico o irreseccable localmente avanzado. Los pacientes elegibles para la inclusión, han progresado a terapias previas basadas en platino y CPI.

En este ensayo aleatorizado, los pacientes son aleatorizados 1: 1 para recibir SG 10 mg / kg por vía intravenosa los días 1 y 8 de ciclos de 21 días o quimioterapia a elección del investigador (paclitaxel 175 mg / m², docetaxel 75 mg / m² o vinflunina 320 mg / m² IV el día 1 de los ciclos de 21 días).

Se estimar incluir aproximadamente 482 pacientes para proporcionar un poder del 90% siendo el objetivo principal la SG y los objetivos secundarios la SLP, la ORR, la tasa de beneficio clínico, la duración de la respuesta, la seguridad y la calidad de vida.

Sacituzumab govitecan también se está testando en combinación en otros ensayos que incluyen:

1. Estudio en fase I/II de ipilimumab más nivolumab combinado con sacituzumab govitecan como terapia de primera línea para el carcinoma urotelial metastásico no elegible para cisplatino (NCT04863885)
2. Sacituzumab govitecan más enfortumab vedotin para el carcinoma urotelial metastásico que progresa a terapia con platino y CPI (NCT04724018)

Disitamab Vedotin (RC48) + Toripalimab : (NCT04264936) es este ensayo en fase 1b/II se evaluó seguridad y la actividad de Disitamab vedotin, un ADC compuesto por un anticuerpo monoclonal anti-HER-2 conjugado con un agente disruptor de microtúbulos, monometil auristatina E (MMAE) combinado con el anticuerpo anti-PD-1 toripalimab en pacientes con CUm. Los pacientes incluidos recibieron RC48-ADC a 1,5 o 2 mg/kg, en combinación con 3 mg/kg de toripalimab cada dos semanas en una cohorte de escalada y expansión de

dosis hasta que se confirmó la progresión de la enfermedad, toxicidad inaceptable o retirada voluntaria.

El objetivo principal fue la seguridad y los secundarios fueron la eficacia y el estudio de biomarcadores en tejido tumoral.

Se incluyeron 41 pacientes independientemente de la terapia previa e independientemente del estado de HER-2. 61 % no habían recibido tratamiento sistémico previo y la mayoría presentaban metástasis viscerales (54 %), incluyendo metástasis hepáticas en el 24 %. La mayoría de los pacientes (54%) tenían carcinoma del tracto urinario superior.

La expresión de HER2 fue positiva (IHC 2+ o 3+) en el 59 % de los pacientes y PD-L1 fue positiva (CPS \geq 10) en el 32 %.

La dosis recomendada fue RC48-ADC 2 mg/kg + toripalimab 3 mg/kg cada 2 semanas y no se observó toxicidad limitante de la dosis.

Con una mediana de seguimiento de 8,0 meses, se alcanzaron respuestas objetiva del 83.3 %, con una ORR confirmadas del 76.7 % (IC 95 %: 57,7, 90,1), incluyendo un 10 % de RC.

La ORR confirmada fue del 100 % para pacientes con HER2 IHC (2+ o 3+) y PD-L1 (+); 92,3 % para HER2 (2+ o 3+) y PD-L1 (-); 50 % para HER2 (0 o 1+) y PD-L1 (+); y 50% HER2 (0 o 1+) y PD-L1 (-).

Esta combinación demostró una eficacia prometedora en pacientes con CU metastásico y un perfil de seguridad manejable.

Trastuzumab deruxtecan + nivolumab: El ensayo clínico en fase 1b , de dos partes, abierto DS8201-A-U105 (NCT03523572) está evaluando la combinación del ADC compuesto por trastuzumab anti-HER-2 y deruxtecan (T-DXd), un inhibidor de la ADN topoisomerasa-1 derivado del exatecan, análogo de la camptotecina en combinación con nivolumab (NCT03523572) en pacientes con CUm tras progresión previa a platino con expresión inmunohistoquímica de HER2 2+/3+ (cohorte 3; expresión alta) o 1+ (cohorte 4; expresión baja). Los pacientes recibieron T-DXd a 5,4 mg/kg y nivo 360 mg IV cada 3 semanas. El objetivo principal fue la ORR evaluada mediante revisión central independiente. Los objetivos secundarios incluyeron la DOR, la SLP, el tiempo de respuesta (TTR), la SG y la seguridad.

34 pacientes (cohorte 3, n = 30; cohorte 4, n = 4) recibieron la combinación. La mediana de la duración del tratamiento fue de 3,2 meses (rango, 1-21) para T-DXd y de 4,1 meses (rango, 1-20) para nivolumab. En la cohorte 3, la ORR por ICR fue del 36,7 % (IC 95%, 19,9-56,1; respuesta completa: 13,3 %; respuesta parcial: 23,3 %), la mediana de DOR fue de 13,1 meses (IC 95 % , 4.1-NE), la mediana de SLP fue 6,9 meses (IC del 95 %, 2.7-14.4), la mediana de TTR fue de 1,9 meses (rango 1,2-6,9) y la mediana de SG fue de 11,0 meses (IC del 95 %, 7,2-NE). Se produjeron eventos adversos emergentes del tratamiento (TEAE) de grado (G) ≥ 3 en el 73.5 % de todos los pacientes (44,1 % relacionado con T-DXd; 26,5 % relacionado con nivolumab). Los TEAE de cualquier grado más comunes fueron náuseas (73,5 %), fatiga (52,9 %) y vómitos (44,1 %).

1.4.4.3.4 Terapias dirigidas con inhibidores del fibroblast growth factor receptor (FGFR)

Aproximadamente el 20 % de los pacientes diagnosticados con CVM an a presentar una alteración genética en FGFR, \approx 15% de los pacientes tienen mutaciones y 6% translocaciones. (288) (289)

Infigratinib: es un inhibidor tirosin quinasa de FGFR 1-3 oral, selectivo, competitivo con ATP. En el ensayo clínico fase I, se evaluó la seguridad y la actividad antitumoral de infigratinib en 132 pacientes con tumores sólidos. (290) En la fase de expansión de dosis el 9,1% tenía cáncer urotelial, y los pacientes se seleccionaron según las alteraciones del gen *FGFR*. Se recomendó para los estudios en fase II la dosis de 125 mg administrada en un esquema de 3 semanas con 1 semana de descanso. En la cohorte urotelial *FGFR3* mutada, la ORR fue del 38% y se consiguió un control de la enfermedad en el 75%. Sobre las bases del ensayo fase I, se estudió el tratamiento con infigratinib en 67 pacientes con carcinoma urotelial metastásico y alteraciones pre especificadas del *FGFR3*. 17 pacientes (25.4%) lograron una respuesta parcial (RP) o completa (RC), específicamente en pacientes con UTUC (50 %) y se observó PE en 16 pacientes (23.9%). (291)

Un total de 8 de los 67 pacientes con UTUC lograron un control de la enfermedad del 100% (1 RC, 3 RP y 4 enfermedad estable). (292)

Esta diferencia de respuesta se atribuyó a un perfil mutacional de *FGFR* diferente entre el UTUC y el CV de vejiga. La mediana de SLP y SG fue de 3,75 y 7,75 meses, respectivamente.

Aproximadamente el 68,7% de los pacientes desarrollaron EA de grado 3/4 que incluyeron hiperlipasemia, hipofosfatemia, eritrodisestesia palmoplantar, fatiga y anemia. Mediante el estudio del Cell-free DNA se demostró que cuatro pacientes desarrollaron mutaciones de resistencia gatekeeper de *FGFR3*, como V443L, V443M y L496V. En la actualidad, un ensayo clínico en fase III está evaluando el infigratinib en pacientes con UTUC o CV de vejiga después de una cirugía en el entorno adyuvante (NCT04197986) y en el contexto neoadyuvante (NCT04228042). (292)

Erdafitinib : es un potente inhibidor de tirosina quinasa de *FGFR* 1-4 oral. La actividad antitumoral de erdafitinib se evaluó en un ensayo clínico fase II (NCT02365597) en pacientes con CUm que albergaban una mutación de *FGFR3* preespecificada o una fusión de *FGFR2 / 3*.(293) (294)

En la primera parte del estudio, los pacientes fueron aleatorizados 1: 1 para recibir una dosis intermitente o continua de erdafitinib. Posteriormente, se eligió la dosis diaria continua de 8 mg. En el grupo de dosis continua, 99 pacientes comenzaron con una dosis de 8 mg, de los cuales 41 pacientes tuvieron un aumento de la dosis a 9 mg el día 14, ya que no hubo eventos adversos significativos y el nivel de fosfato fue <5,5 mg / dl. 11 pacientes no habían recibido tratamiento previo y el resto había recibido al menos una línea de terapia. La ORR evaluada por el investigador fue del 40% (3 % con respuesta completa y 37 % con respuesta parcial). Entre los 22 pacientes que habían recibido inmunoterapia previa, las tasas de respuestas confirmadas fueron del 59%. 36 (49%) de 74 pacientes con mutaciones de *FGFR3* tuvieron una respuesta, y 4 pacientes (16%) de 25 con fusión de *FGFR 2/3* tuvieron respuesta. Después de un seguimiento de 2 años, la mediana de SLP fue de 5,5 meses (IC del 95%, 4,2-6,0) y la mediana de SG fue de 13,8 meses.(293)

Los EA relacionados con el tratamiento más comunes incluyeron hiperfosfatemia (77%), estomatitis (58%), diarrea (50%) y sequedad de boca

(46%).(293) Los EA de grado 3-4 incluyeron hiponatremia (11%), estomatitis (10%) y astenia (7%). La retinopatía serosa central, un efecto adverso asociado con los inhibidores de FGFR, se observó en el 21% de los pacientes, de los cuales el 3% eran de grado 3. La mayoría de estos efectos secundarios fueron reversibles con la interrupción o reducción de la dosis.

Sobre la base de estos datos de eficacia, la FDA de EE. UU otorgó la aprobación acelerada de erdafitinib en pacientes adultos con CUM con alteraciones genéticas de *FGFR3* o *FGFR2*. (295)

En el ensayo clínico fase Ib / II NORSE (NCT03473743) se evaluó la seguridad y la actividad antitumoral de erdafitinib en combinación con cetrelimab (inhibidor de PD-1) en pacientes con CUM con alteraciones en *FGFR2* / 3. Los pacientes inscritos en la Fase 1b podían haber recibido cualquier número de líneas de terapia previa, y en la Fase 2 eran vírgenes de tratamiento e inelegible al cisplatino. La Fase 1b estableció la dosis recomendada en Fase 2 (RP2D) de la combinación, y la Fase 2 evaluó la seguridad y eficacia del RP2D. El estudio se está realizando en tres fases: fase de cribado, fase de tratamiento y fase de seguimiento. La inclusión en Fase 2 del estudio NORSE está actualmente en curso.

En el momento del análisis, la ORR en 19 pacientes fue del 68 % (IC 95 %; 43-87), con un 21 % de RC y un 47 % de RP. La tasa de control de la enfermedad (DCR) fue del 90 % (IC 95 %; 67-99). La ORR en 18 pacientes tratados con monoterapia con erdafitinib fue del 33 % (95 % IC; 13-59), entre los cuales un paciente mostró RC y el 28 % (n=5) fueron respuestas parciales. La DCR fue del 100 por ciento (IC del 95 por ciento; 82-100). (270)

El perfil de seguridad de la combinación fue similar al del erdafitinib en monoterapia siendo los AE más comunes la hiperfosfatemia (58 %), estomatitis (54 %), diarrea (42 %), sequedad de boca (58 %), piel seca (38 %) y anemia (25 %). Los AE de grado 3-4 ocurrieron en el 50% de los pacientes.

Se está llevando a cabo un estudio fase III (NCT03390504) en pacientes con carcinoma urotelial con mutaciones en *FGFR* en segunda o tercera línea frente a vinflunina, docetaxel o pembrolizumab (33).

Pemigatinib: El pemigatinib es un potente inhibidor selectivo oral de FGFR1–3. En el ensayo clínico fase II FIGHT - 201 (NCT02872714) evaluó la eficacia de pemigatinib en pacientes con cáncer urotelial avanzado que habían progresado a una o más líneas de tratamiento o eran inelegibles para platino y que tenía mutaciones/fusiones de FGFR (cohorte A) u otras alteraciones de FGF/FGFR (cohorte B). (297) (298)

Se asignaron 64 pacientes con mutación o fusión de *FGFR3* a la cohorte A y 36 pacientes con otras mutaciones genéticas de FGF / *FGFR* se asignaron a la cohorte B. El objetivo principal fue la ORR en la cohorte A. La ORR fue del 25% (IC 95%, 14% -40%).

Los eventos adversos frecuentes relacionados con el tratamiento incluyeron diarrea, alopecia, fatiga y estreñimiento e hiperfosfatemia.

El ensayo fase II FIGHT - 205 (NCT04003610) evaluó la eficacia de pemigatinib en combinación con pembrolizumab frente a la quimioterapia o inmunoterapia estándar de primera línea en pacientes con cáncer urotelial inelegibles para cisplatino portadores de una mutación o reordenamiento de *FGFR3*.

El objetivo primario es la SLP. Los objetivos secundarios son la SG, la ORR, la duración de la respuesta, la seguridad y la calidad de vida. El ensayo finalizó debido a una decisión comercial. No hubo problemas de seguridad que contribuyeran a esta decisión.

Rogaritinib: Rogaritinib es un inhibidor selectivo del FGFR1-4, oral. Estudios preclínicos demostraron que la respuesta al rogaritinib se correlacionó con una alta expresión tumoral de ARNm de *FGFR*.(299) En la fase de expansión de dosis del ensayo clínico fase 1 (NCT01976741), 74 pacientes con tumores con expresión de ARNm de *FGFR* tenían carcinoma urotelial.

En la cohorte de cáncer de urotelio, la ORR fue del 20.8%, y un paciente logró RC. La DCR fue del 68.1%. Los eventos adversos más comunes fueron hiperfosfatemia, diarrea y disminución del apetito. Los EA de grado 3 o superiores más comunes fueron fatiga, aumento de lipasa, disnea, anemia e infección del tracto urinario.

El ensayo fase II/III, aleatorizado, abierto FORT-1 (NCT03410693) evaluó la eficacia de rogaratinib frente a la quimioterapia (docetaxel, paclitaxel o vinflunina) en 175 pacientes con cáncer urotelial metastásico que habían recibido quimioterapia basada en cisplatino previa. (30)

Los pacientes fueron seleccionados en base a la sobreexpresión de ARNm de FGFR1-3 y / o mutaciones / translocaciones de FGFR-3.

Se observaron unas ORR con rogaratinib frente a quimioterapia de 19,5 % y 19,3 % ($p = 0,56$) y una ORR del 49,4 % y 55,7 % ($p = 0,84$) respectivamente; la mediana de SLP fue de 2,7 meses (IC 95 %: 1,6 a 4,2) y de 2,9 meses (IC del 95 %: 2,6 a 4,2) respectivamente. Un análisis exploratorio de pacientes con alteraciones de *FGFR3* en el ADN (4 mutaciones puntuales y fusiones) mostraron ORR del 52,4 % con rogaratinib y del 26,7 % con quimioterapia. El perfil de seguridad fue aceptable. Se observaron EA de grado 3-4 en el 47% y 56% en las cohortes de rogaratinib y quimioterapia.

El ensayo clínico fase Ib/II FORT-2 (NCT03473756) evaluó la seguridad y la eficacia de la combinación de rogaratinib (dosis de 800 mg y 600 mg) en combinación con atezolizumab en primera línea en pacientes con CUM inelegibles a cisplatino con sobreexpresión de ARNm de *FGFR1-3* detectada por hibridación in situ de ARN (RNAscope). (300)

Los objetivos principales fueron la seguridad, la tolerabilidad y la determinación de la dosis en fase II recomendada (RP2D). 26 pacientes fueron incluidos. Los eventos adversos emergentes relacionados con el tratamiento (TEAE) fueron la diarrea (65), hiperfosfatemia (58 %) y náuseas (42). Los TEAE G3/4 más comunes fueron lipasa elevada sin pancreatitis (19 %), amilasa elevada (12 %) y erupción cutánea (8 %). Los TEAE relacionados con el rogaratinib fueron hiperfosfatemia (58 %) y desprendimiento del epitelio pigmentario de la retina (4 %). 13 de 24 pacientes evaluables (54%) tuvieron una respuesta objetiva según RECIST v1.1. La tasa de control de la enfermedad fue del 83 %, incluidos 3 pacientes (13 %) con respuesta completa (RC), 10 (42 %) con respuesta parcial (RP) y 7 (29 %) con enfermedad estable. No se alcanzó la mediana de la duración de la respuesta. La ORR fue del 56 % (2 RC y 7 PR) en los 16 pacientes con tumores que tenían expresión de PD-L1 baja/negativa y *Sobreexpresión de ARNm de FGFR3*. La RP2D fue de 600 mg dos veces al día para rogaratinib y atezolizumab 1200 mg el día 1 de cada ciclo de 21 días.

Derazantinib: El derazantinib es un inhibidor multiquinasa y competitivo con el ATP de la quinasa FGFR 1-3 y del receptor del factor estimulador de colonias 1 (CSF1R)(301). La señalización mediada por CSF1R es importante para el mantenimiento de los macrófagos promotores de tumores. El agotamiento de los macrófagos tumorales a través del bloqueo de CSF1R hace que los tumores respondan mejor a la inmunoterapia.(302) El ensayo clínico en fase 1b/2 FIDES-02 (NCT04045613) está evaluando actualmente la seguridad y la actividad antitumoral del derazantinib como agente único o en combinación con atezolizumab en pacientes con cáncer urotelial y alteraciones genómicas de FGFR.

Futibatinib (TAS -120): TAS-120 es un inhibidor irreversible selectivo de FGFR 1-4. (36). Los resultados preliminares del ensayo en fase 1 en pacientes con tumores y aberraciones de FGFR incluyeron a un total de 134 pacientes con 21 pacientes con cáncer de vejiga. (303)

En la fase de escalada de la dosis, una dosis oral de 20 mg / día de TAS-120 se consideró seguro y demostró actividad clínica en varios tumores. La hiperfosfatemia fue el efecto secundario más común. Se observaron respuestas parciales en el cáncer de vejiga.

En la actualidad, el ensayo clínica fase II (NCT04601857) está evaluando la combinación de futibatinib con pembrolizumab en el CUM en pacientes inelegibles a cisplatino. El objetivo principal es evaluar la seguridad y la actividad antitumoral de esta combinación especialmente en la resistencia a PD-1 en muestras de tumores específicas.

Zoligratinib (Debio-1347): Zoligratinib es una pequeña molécula oral que inhibe selectivamente el sitio de unión de ATP de FGFR1-3. Un ensayo clínico fase 1 evaluó la seguridad y la actividad antitumoral de Zoligratinib en 58 pacientes con tumores sólidos incluyendo vejiga (10%) con alteraciones conocidas de FGFR 1-3. (39)(146) La amplificación de FGFR1 fue la más común (40%), seguido de la fusión de FGFR (21%), la mutación de FGFR2 (12%) y la mutación FGFR3 (17%). Los TEAE por todas las causas incluyeron hiperfosfatemia (76%), diarrea (41%), náuseas (40%), fatiga (40%),

estreñimiento (38%), disminución del apetito (33%) y cambios en las uñas (31%). Los TEAE de grado 3 o superior incluyeron hiperfosfatemia (21%), anemia (12%) y disnea (5%). Dos de los seis pacientes con cáncer urotelial tenían una respuesta. La dosis recomendada de 80 mg una vez al día fue bien tolerada y mostró signos de actividad en tumores sólidos que albergaban una fusión FGFR.

Vofatamab (B-701): Vofatamab es un anticuerpo monoclonal selectivo anti-receptor de FGFR3 que se está evaluando en pacientes con CUM en el entorno de segunda línea. (305)

El ensayo clínico fase 1b/2 FIERCE -21 (NCT02401542) evaluó la eficacia y seguridad de vofatamab solo o en combinación con docetaxel, o frente a docetaxel en sujetos con CUM portadores de una mutación/fusión de FGFR3 que habían recaído o eran refractarios a al menos una línea de quimioterapia previa. Los objetivos principales fueron la seguridad y la actividad (ORR). En el análisis preliminar de 55 pacientes, vofatamab en monoterapia o en combinación con docetaxel, demostró ser bien tolerado.

Los efectos secundarios más comunes fueron disminución del apetito, diarrea, fiebre, astenia y fatiga. Una respuesta objetiva se observó en siete pacientes. El análisis final de este estudio están pendientes.

El ensayo clínico fase 1b/2 FIERCE-22 (NCT03123055) evaluó la eficacia de vofatamab 25 mg/kg en monoterapia durante 2 semanas seguido de la combinación de vofatamab con pembrolizumab en 35 pacientes con CUM que habían progresado a ≥ 1 línea de quimioterapia previa. Los objetivos primarios fueron seguridad y actividad (ORR). Los TEAE que ocurrieron en $>20\%$ de los pacientes fueron náuseas, anemia, diarrea y fatiga. Seis pacientes FGFR WT (30 %) tuvieron respuestas. Las respuestas ocurrieron en una mediana de 3.5 meses. El estudio fue suspendido por el sponsor.

Gunagratinib (ICP-192): Un ensayo fase 2, multicéntrico, de un solo brazo abierto (NCT04492293) está evaluando el tratamiento con el inhibidor de FGFR ICP-192, un inhibidor irreversible de FGFR, en pacientes con CUM con alteraciones genéticas en FGFR.

1.5 Perspectivas futuras en el tratamiento del cáncer de vejiga

Varios ensayos están explorando distintas combinaciones en el entorno de segunda línea y posterior. Otros enfoques inmunoterapéuticos novedosos, con el objetivo de mejorar la respuesta inmune contra el cáncer:

Atezolizumab más docetaxel o gemcitabina-carboplatino : está en evaluación en pacientes no elegibles para cisplatino en un ensayo en fase II (NCT03737123). En particular, la primera combinación se reserva para pacientes pretratados con carboplatino y gemcitabina con CPI concomitante o de mantenimiento, mientras que la última se ha propuesto para pacientes sin tratamiento previo.

Avelumab + pemetexed: Un ensayo en fase II (NCT03744793) está investigando el papel de avelumab en combinación con pemetrexed en pacientes pretratados con deficiencia de metiltioadenosina fosforilasa (MTAP).

Pembrolizumab +paclitaxel: La combinación se está testando en pacientes refractarios al platino (NCT02581982)

Durvalumab+ cabozantinib: En ensayo fase II ARCADIA (NCT03824691) evaluó la combinación durvalumab más cabozantinib en 16 pacientes tratados con platino, mostró, como resultado preliminar, una ORR del 37,5 %, incluidas cuatro respuestas parciales y dos completas.(306)

Nivolumab + ipilimumab + cabozantinib: La combinación de cabozantinib con nivolumab más ipilimumab se está testando en un ensayo fase II (NCT03866382).

Pembrolizumab +EphB4-HSA: Los resultados de un ensayo fase II (NCT02717156) que evaluó la combinación del pembrolizumab con EphB4-HSA (una proteína de fusión recombinante compuesta por el dominio

extracelular del receptor humano tirosina quinasa efrina tipo B receptor 4 (sEphB4), que se fusiona con la albúmina sérica humana (HSA)) en el CUM pretratado. El complejo funciona como un receptor trampa para el ligando unido a la membrana EphrinB2 e interfiere con la unión de EphrinB2 a sus receptores nativos, incluido EphB4. EphrinB2 y EphB4 se expresan en gran medida en la CV y se han considerado marcadores pronósticos negativos. Los resultados preliminares, reportaron una mediana de SG de 14,4 meses, con una SLP de 4 meses; la ORR fue del 38 %, con una mediana de DOR de 8,0 meses.

- Un ensayo fase II (NCT03606174) está testando la combinación de sitravatinib, un TKI dirigido a VEGFR, PDGFR, KIT, RET, MET y miembros seleccionados de la familia Eph con nivolumab y pembrolizumab.

CPI intermitente: Un ensayo en fase II está testando la seguridad y la eficacia de varios CPI administrados de forma intermitente en el CUM (NCT04322643).

Nivolumab: Los efectos de la monoterapia con nivolumab están en evaluación en CUM en pacientes con aberraciones en el gen *ARID1A* y se correlacionan con el nivel de expresión de la citoquina CXCL13 (NCT04953104)

Avelumab con agonistas de OX40: El ensayo en fase I/II JAVELIN Medley (NCT02554812) está evaluando la combinación de avelumab con diferentes opciones de tratamiento, incluido el PF-04518600, un agonista de OX40. El OX40 (o CD134) una proteína de membrana expresada en células T CD4⁺, CD8⁺, células NK y neutrófilos, que asume una función coestimuladora uniéndose a su ligando, OX40L, en las células presentadoras de antígenos. OX40 condiciona una alta producción de citocinas y aumenta la supervivencia y la proliferación de células T.

Atezolizumab con IL-7: La combinación de atezolizumab con CYT-107, una interleucina (IL)-7 humana recombinante glicosilada se está evaluando en pacientes con CUM refractarios al platino (NCT03513952).

CPI con N-803 : En el ensayo fase IIb QUILT-3.055 (NCT03228667) se están evaluando varios CPI (nivolumab, pembrolizumab, avelumab y atezolizumab)

combinados con N-803, un complejo IL-15/IL-15R α fusionado con una IgG1 Fc que mejorar el agonismo del receptor de la IL-2 y del 15 β γ , en pacientes previamente tratados con CPI.(307)

Nivolumab con IPI-549: Las estrategias de combinación de inmunoterapia y terapias dirigidas están en curso, como nivolumab y eganelisib, conocido como IPI-549, un inhibidor oral de PI3K (NCT03980041). También se están testando monoterapias con sapanisertib, un inhibidor de mTORC1/2, en un estudio en fase II en pacientes con esclerosis tuberosa (TSC)1 y/o mutaciones en TSC2 (NCT03047213).

Varios ensayos clínicos están evaluando el papel del gen-3 de activación de linfocitos (LAG3) e inhibidores que contienen dominios de mucina (TIM3) (NCT03538028 y NCT03250832), vacunas antitumorales en combinación con CPI (NCT03639714) y la eficacia de los (CAR-T) (NCT03185468) y macrófagos (NCT04660929). Además, está en curso un ensayo en fase II para evaluar el papel de la infusión autóloga de linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) y el tratamiento posterior con altas dosis de IL-2 (NCT04383067) (**Tabla 4**)

Combination Strategies	NCT	Drugs Involved	Number of Patients	Disease Characteristics	Primary Outcomes	Status
(a) ICI plus chemotherapy	03737123	Atezolizumab + docetaxel or gemcitabine/carboplatin	6 ae	Cisplatin-ineligible, second-line therapy	PFS	Active, not recruiting
	03744793	Avelumab + pemetrexed	25 ee	Methylthioadenosine phosphorylase (MTAP)-deficient metastatic urothelial cancer, second or later line	ORR	Recruiting
	02581982	Pembrolizumab + paclitaxel	29 ae	Second or later line	ORR	Active, not recruiting
(b) ICI combination	03219775	Nivolumab + nivolumab/ipilimumab "boost"	169 ae	Platinum-based pretreated, second and third line	ORR	Active, not recruiting
(c) ICIs plus antiangiogenics	03824691 (ARCADIA)	Durvalumab + Cabozantinib	122 ee	Second or later line, urothelial and non-urothelial histology	OS	Recruiting
	02717156	Pembrolizumab + EphA4-HSA	60 ee	Second or later line	OS	Recruiting
	03606174	Nivolumab/pembrolizumab/enfortumab vedotin + sitravatinib	425 ee	Nine different cohorts, different disease settings	ORR	Recruiting
(d) ICI monotherapy	03113266	Toripalimab (J5001)	370 ee	Patients who have failed in routine systemic treatment	ORR	Recruiting
	03557918	Tremelimumab	27 ae	Disease progression despite prior treatment with PD-1/PD-L1 blockade	ORR	Active, not recruiting
	04322643	Pembrolizumab, atezolizumab, durvalumab, nivolumab, avelumab	20 ee	Treatment refractory or cisplatin ineligible	Efficiency (tumor burden reduction of 10% or greater)	Recruiting
	04953104	Nivolumab	30 ee	Progression or recurrence after prior chemotherapy treatment, no prior ICIs	ORR, OS	Not yet recruiting
(e) Novel immune therapies	03513952	Atezolizumab + CYT107	54 ee	Recurrent disease after any prior platinum-based chemotherapy regimen	ORR	Recruiting
	03228667	Nivolumab, pembrolizumab, avelumab, atezolizumab + ALT-803	145 ae	Previously received treatment with PD-1/PD-L1 ICIs	ORR	Active, not recruiting

(f) PARP inhibitors	03448718	Olaparib	30 ee	Progressed despite at least one prior line of treatment, harboring specific alterations on DDR genes	ORR	Active, not recruiting
	03375307	Olaparib	60 ee	At least one platinum-based regimen of chemotherapy and/or an ICI, with specific alterations on DDR genes	ORR	Recruiting
	03682289	Olaparib + AZD6738	68 ee	Progression on at least one prior systemic therapy	ORR	Recruiting
	04383067	High-dose IL-2 after adoptive cell therapy	20 ee	Failed at least one line of platinum-based chemotherapy and one line of immunotherapy of targeted therapy	ORR, safety	Recruiting
(g) Target therapies	02608125	Pemigatinib	263 ae	Failed at least one previous treatment (chemotherapy or immunotherapy) or not received chemotherapy owing to poor ECOG status or insufficient renal function, harboring specific FGFR alteration	ORR	Completed
	03410693	Rogaratinib	175 ae	Disease progression during or following treatment with at least one platinum-containing regimen, high FGFR-1 or -3 mRNA expression level	ORR	Completed
	04492293	ICP-192	95 ee	FGFR genetic aberrations	ORR	Recruiting
	04045613	Derazantinib + atezolizumab	272 ee	Central FGFR genetic aberration (FGFR-1, -2, or -3 mutations/short variants and rearrangements/fusions), different cohorts in different line of therapy	ORR, safety, and tolerability	Recruiting
	03809013	Disitamab vedotin	60 ee	Disease progression after surgery and at least regular chemotherapy including gemcitabine, cisplatin, and paclitaxel, HER-2 overexpressing (ie IHC 2+ or 3+)	ORR	Active, not recruiting
	04879329	Disitamab vedotin	100 ee	One of two lines of prior treatment for advanced UC, HER-2-expressing status to be IHC 1+, 2+, or 3+	ORR	Not yet recruiting
	04839510	MIRG002	58 ee	Failed in the prior one or more line of systemic chemotherapy and HER-2 positive (IHC 3+ or IHC 2+)	ORR	Recruiting
	03980041	Nivolumab + IPI-549	160 ee	Progression or recurrence after treatment with at least one platinum-based chemotherapy	ORR	Active, not recruiting
	03047213	Sapanisertib	209 ee	Disease progression during or following treatment with at least one platinum-containing regimen, harboring a TSC1 or TSC2 mutation	ORR	Active, not recruiting

Tabla 4:. Ensayos clínicos Fase II en segunda línea o posterior en desarrollo. (308)

1.6 Características moleculares del gen FGFR

1.6.1 Gen FGFR

Los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), son una subfamilia de receptores de tirosina quinasa (RTK), que constan de cinco miembros (FGFR1-5) que comparten una secuencia homóloga. (309) Están compuestos de un dominio extracelular, un dominio transmembrana hidrofóbico y un dominio intracelular de tirosina quinasa. (310)

Los dominios extracelulares inmunoglobuline-like (Ig) se unen a factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), y en los FGFR1-3, el splicing alternativo del tercer dominio IgIII, produce dos isoformas (IIIb y IIIc) que varían en la especificidad de unión al ligando, diversificando así los patrones de señalización. (311)

A diferencia de los otros cuatro receptores, FGFR5 (conocido como FGFR1) carece del dominio de tirosina quinasa.

El eje de señalización de los FGFR se activa de manera dependiente del ligando, mediante la unión de los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) y la subsecuente dimerización del receptor que conduce a la transfosforilación de la quinasa intracelular.

Los ligandos de FGF son una familia de 18 glicoproteínas (FGF1–10 y FGF16–23). Cuatro FGF adicionales (FGF11–14) no son ligandos de FGFR y tienen funciones intracelulares no relacionadas. (311) Los 15 ligandos canónicos de FGF actúan de forma autocrina y paracrina, uniéndose al FGFR mediante el complejo de sulfato heparán proteoglicano (HSPG), que protegen a los FGF de su degradación y estabilizan la interacción FGF-FGFR. (312)

Los tres FGF endocrinos (FGF19, FGF21 y FGF23) actúan como hormonas y carecen de afinidad de unión de HSPG, lo que permite su difusión desde el sitio de producción a la circulación. (313)

Los ligandos de FGF inducen la dimerización y la fosforilación cruzada de los dominios quinasa del receptor afín, reclutando varias moléculas efectoras. FGFR substrato 2 (FRS2) es un transductor de señal de FGFR.(311)(314) Tras la dimerización del FGFR, FRS2 se une a la región yuxtamembrana del FGFR y, en consecuencia, es fosforilado en varios residuos, que actúan como un sitio de acoplamiento para son of sevenless (SOS) y el receptor del factor de crecimiento 2 (GRB2). Este complejo a su vez activa la vía de RAS-MAPK-ERK.

La señalización de FGFR se puede diversificar mediante el reclutamiento de GRB2-associated binding protein 1 (GAB1) al complejo FRS2, activando así la señalización de la vía de PI3K-AKT.

Otro compañero de unión de FGFR es la fosfolipasa C γ (PLC γ), que se une en el cola carboxi-terminal en la autofosforilación de FGFR. Esto estimula la liberación de calcio intracelular y, en consecuencia, activa la familia de la proteína quinasa C (PKC) de proteínas, lo que resulta en migración celular, proliferación y diferenciación celular.(315)

Además, los FGFR tienen la capacidad de activar la vía de señalización JAK-STAT. (316)

La regulación negativa de la señalización de FGFR puede estar mediada por la

endocitosis y ubiquitilación de Casitas B-lineage lymphoma (Cbl); MAPK fosfatasa, que desfosforilan moléculas MAPK activadas; y las proteínas SPROUTY y SPRED, que se unen a GRB2, atenuando así la señalización de la vía. (317)

Sin embargo la activación de FGFR también se pueden producir de manera independiente del ligando, como consecuencia de la fusión del gen FGFR inducida por la translocación cromosómica con otros genes expresados constitutivamente

La vía de señalización de FGF/FGFR está relacionada con la angiogénesis, la embriogénesis, la reparación de heridas y la homeostasis tisular. (318)

También desempeña funciones críticas en la diferenciación, proliferación, migración celular y apoptosis. (319)

El activación aberrante de la señalización FGF/FGFR activado de forma aberrante conduce a una variedad de enfermedades, especialmente tumores malignos y a trastornos esqueléticos, que son causados por la amplificación, mutación y fusión de genes.

Las mutaciones: Las mutaciones en FGFR se observan con frecuencia fuera del dominio quinasa.(317) Las mutaciones más comunes en FGFR3 ocurren en el dominio extracelular (R248, S249) y en el dominio transmembrana (G370,Y373) del receptor, lo que resulta en un aumento dimerización del receptor y en una señalización independiente del ligando. (317) Aunque es probable que la dimerización conduce al aumento de la actividad de la quinasa FGFR, su papel aún no se ha establecido.

Las fusiones: son genes híbridos que se originan a partir de la reorganización cromosómica de dos genes, en forma de translocación, inserción, inversión y eliminación. (320) Las fusiones de FGFR3 son relativamente comunes en el cáncer de vejiga, aunque en menor frecuencia (<10%). (288) (321)

Las translocaciones cromosómicas en los cánceres conducen a proteínas de fusión que ejercen sus efectos oncogénicos a través de la sobreexpresión de un gen normal o la creación de un gen quimérico en el que se fusionan partes de dos genes.

La mayoría de las fusiones de FGFR3 son con el transforming acidic coiled-coil 3 (TACC3) y resultan de la fusión in-frame del extremo FGFR3 N-terminal con el TACC3 C-terminal. (322) La proteína TACC3 tiene un dominio enrollado en espiral en el extremo C y participa en el ensamblaje y la estabilidad del huso mitótico. (323) La proteína FGFR3-TACC3 también induce defectos de segregación mitótica y cromosómica y genera aneuploidía . (322)

La proteína de fusión FGFR3-TACC3 induce una activación constitutiva del dominio tirosina quinasa con la consiguiente activación de la señalización de MEK/ERK y STAT1, pero no de PLC γ 1, ya que se pierde el residuo de tirosina en el exón 19, responsable de la interacción con PLC γ 1. (324)

Otras fusiones descritas en el CU han sido la fusión FGFR3-BAIAP2L1 que promueve la activación constitutiva de la señalización de FGFR3 con una potente actividad oncogénica. (325)

Las amplificaciones La amplificación de genes conduce a la sobreexpresión de proteínas FGFR, lo que da como resultado la activación aberrante de los receptores y un aumento de la señalización.(317) La amplificación de FGFR3 y FGFR4 y la activación oncogénica de estos receptores a menudo está relacionado con una mutación o amplificación de ligandos. (317)

Desregulación de la expresión de FGF: La amplificación del locus 11q13, que incluye la ciclina D1 (CCND1), FGF3, FGF4 y FGF19, es frecuente en muchos cánceres. La mayor parte de la evidencia de loops autocrinos y paracrinos de FGF anormales provienen de modelos de líneas celulares y xenoinjertos. (317)

Un estudio reciente que analizó las alteraciones genómicas del *FGFR* en 4853 muestras tumorales mediante secuenciación de próxima generación (NGS), describió la presencia de alteraciones del *FGFR* en el 7,1% de los casos. Hubo 126 casos de cánceres uroteliales en el conjunto de datos, el 15 % de las aberraciones fueron mutaciones somáticas activantes en *FGFR3*. Otro 7 % de los cánceres uroteliales tenían amplificaciones de *FGFR1* , 6 % tenían fusiones de genes y 3 % tenían amplificaciones de *FGFR3*.

Una amplia variedad de inhibidores de FGFR están en desarrollo. Sin embargo, los resultados de los ensayos clínicos han demostrado que solo los tumores que presentan mutaciones o fusiones responden al tratamiento con inhibidores de FGFR, al menos cuando se usan como agentes únicos.

Aunque los FGFR-TKI han mostrado resultados prometedores en terapias dirigidas, la resistencia a los FGFR-TKI es cada vez más frecuente. (326)

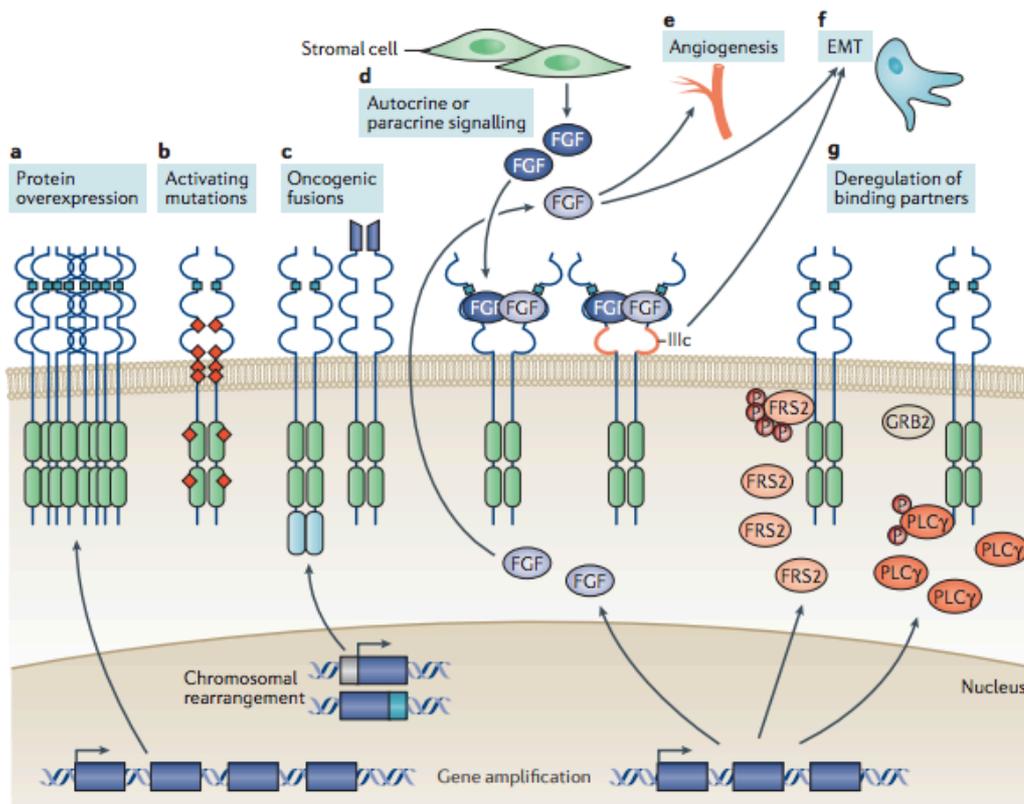


Figura 14: Mecanismos oncogénicos de FGFR (317)

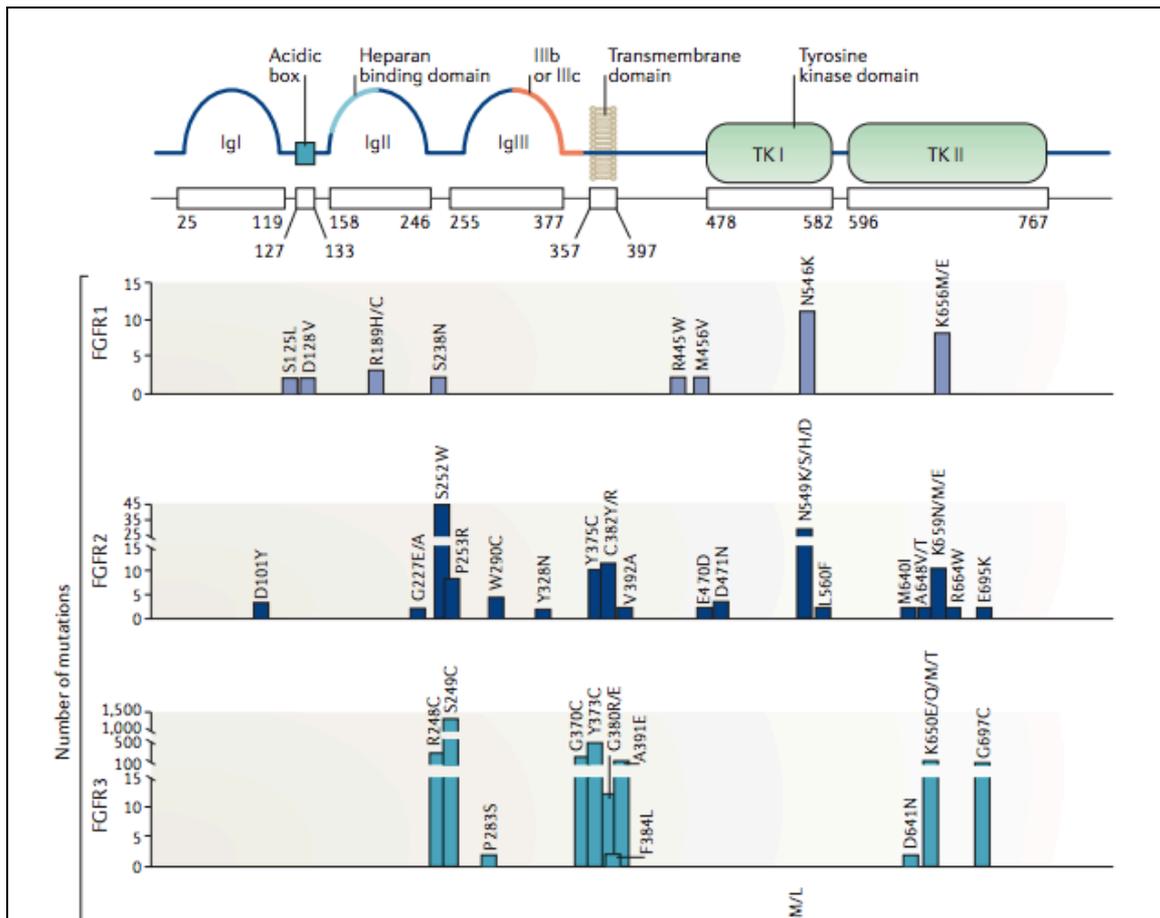


Figura 15: Estructura del FGFR y ubicación y frecuencia de las mutaciones somáticas (317)

1.6.2 Mecanismos de resistencia a los inhibidores de FGFR:

Los mecanismos de resistencia más frecuentemente descritos han sido: (1) mutación Gatekeeper que interfiere con la unión del inhibidor de tirosin kinasa (TKI); (2) “secuestro” del inhibidor de tirosin kinasa mediado por los lisosomas que promueve la retención de TKI en los lisosomas y evita que los TKI alcancen sus quinasas diana ; (3) Activación de vías de señalización alternativas que evitan la inhibición de FGFR; (4) Fusiones de genes que inducen una activación continua de la señalización, eliminando así la inhibición de TKI.

Mutaciones Gatekeeper: son el mecanismo de resistencia más frecuente en FGFR. Los residuos Gatekeeper están localizados en la región visagra del “bolsillo” de unión al ATP de las quinasas y controlan el acceso de unión de los inhibidores de tirosin quinasa. Se han identificado en modelos preclínicos

mutaciones gatekeeper secundarias como mecanismo de resistencia adquirida a los inhibidores de FGFR como FGFR3_V555M, FGFR1_V561, FGFR2_V564 en la hendidura de unión de ATP que inducen resistencia a la inhibición de FGFR. (327) (328) (326)

Secuestro de TKI mediado por lisosomas: Los lisosomas son vesículas de fagocitosis compuestas por una membrana de lipoproteínas. Contienen varias hidrolasas ácidas que eliminan el exceso de proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, polisacáridos y otras macromoléculas en la célula. Son unas organelas ideales para el secuestro de TKI básicos lipofílicos lejos de sus objetivos diana alterando la cinética de los TKI y dando como resultado resistencia a los medicamentos.(329) Después de que los TKI lipofílicos débilmente básicos ingresan en la célula, pueden difundirse libremente en los lisosomas, impulsados por el cambio de gradiente de pH entre los lisosomas y el citoplasma. Luego, el fármaco se protona en un ambiente ácido y no puede volver a cruzar la membrana lisosomal. Está secuestrado en la vesícula lisosomal, lo que impide que el fármaco alcance su objetivo, lo que provoca una disminución de la concentración del fármaco y de la resistencia al fármaco. (329)

Terapias dirigidas contra los lisosomas puede ser una estrategia prometedora para superar la resistencia a los medicamentos. También cambiando la estructura del TKI mediante su ensamblaje a nanopartículas podría ser otra estrategia. (330)

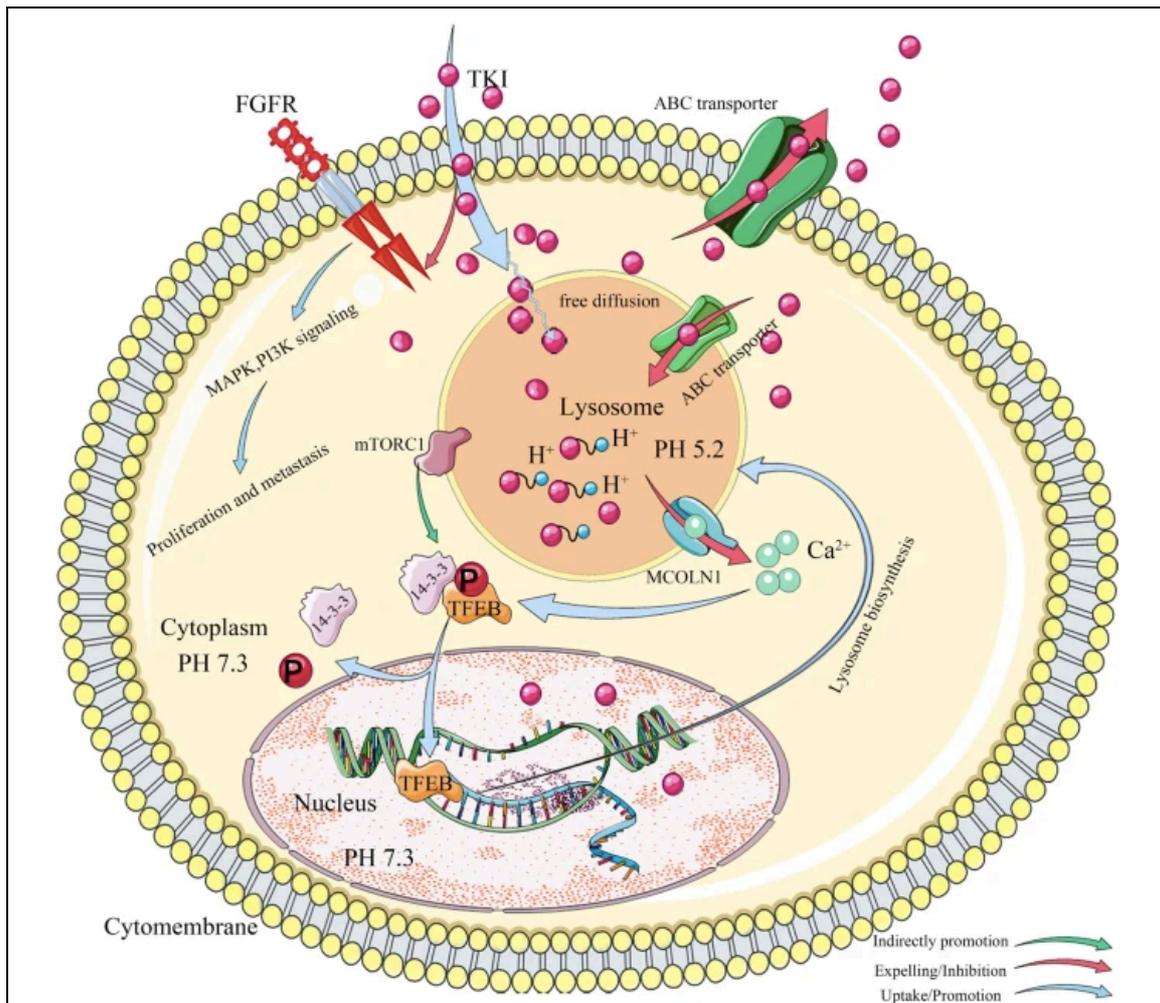


Figura 16: Mecanismos de secuestro de FGFR-TKI mediado por lisosomas. En primer lugar, los TKI débilmente básicos lipofílicos quedan atrapados en la cavidad del lisosoma por difusión libre y protonación. En segundo lugar, los transportadores ABC bombean los TKI al lisosoma. En tercer lugar, bajo la estimulación de la inactivación de mTORC1 y la liberación de Ca²⁺ inducida por TKI, el factor de transcripción TFEB se traslada al núcleo y media la biosíntesis de los lisosomas, mejorando el secuestro de TKI: (326)

Activación de vías de señalización alternativas: otros de los mecanismos de resistencia a los inhibidores tirosin quinasa de FGFR puede estar mediado por la activación de vías de señalización alternativa como PI3K-AKT, RAS-MAPK y otras vías del receptor de tirosin quinasa de membrana.

- Activación de PI3K-AKT: Líneas celulares resistentes al inhibidor de FGFR BGJ398 recuperaron su sensibilidad después de bloquear la señal de PI3K-AKT mediante el inhibidor de AKT GSK2141795 o la intervención de siRNA. (331)

- Activación RAS-MAPK: las anomalías de NRAS y DUSP6 pueden afectar la resistencia a los inhibidores de FGFR. La co-inhibición de la vía FGFR y MAPK por los inhibidores de FGFR y el inhibidor de MEK Trametinib indujo la degradación tumoral en xenoinjertos tumorales derivados de líneas celulares de tumores mesenquimatosos KRAS mutado. (332)
- Activación de receptores tirosin quinasa de membrana (RTK): La activación de RTK de membrana alternativos como ErbB3, MET, EGFR , EphB3 , KIT podrían explicar la resistencia de las terapias dirigidas FGFR. La activación de la vía de señalización ErbB3 se ha visto que podría mediar la resistencia a inhibidores de FGFR como AZD4547 (332) o BGJ398 en líneas celulares y se sugiere que la inhibición simultánea de estas dos vías puede ser vencer resistencias en tumores dependientes de FGFR3.(333) La activación de MET juega un papel crucial en la resistencia al inhibidor de FGFR AZ8010.(333) Lee et al. informaron que la vía de señalización de EphB3 se activó alternativamente en la línea celular de cáncer gástrico resistente al inhibidor de FGFR AZD4547 SNU-16R, promoviendo así la transición epitelial a mesenquimatoso. (334)

1.6.3 Carcinoma urotelial con alteraciones moleculares de FGFR

En el carcinoma urotelial, se han documentado alteraciones de *FGFR3* entre el 60-70%% de los carcinomas uroteliales papilares no invasivos de vejiga de grado bajo (335) (336) Las alteraciones genómicas con activación constitutiva de los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) que conducen a la carcinogénesis se observan en aproximadamente el 20% de los pacientes con cáncer urotelial avanzado. (117)

La incidencia de alteraciones moleculares en FGFR en el cáncer urotelial de alto grado del tracto superior es del 35,6%. (217)

De las alteraciones del *FGFR3* observadas en pacientes con cáncer urotelial, las sustituciones de bases son las más frecuentes (84%) . S249C, la mutación más común en el cáncer urotelial de vejiga, afecta al dominio extracelular, estabiliza la dimerización del receptor y eventualmente conduce a la transducción de señales .(337) (338) Otras mutaciones notables comúnmente observadas son R248C, Y375C, G372C y N542S. (288)

La fusión FGFR3 - TACC3 es una fusión común. Esta proteína de fusión se forma por duplicación en tándem en el cromosoma 4, lo que da como resultado la fusión del gen FGFR3 con la proteína TACC3. Otras proteínas de fusión son FGFR3 - TNIP2, FGFR1 - NTM y FGFR3 - JAKMIP1.(339)

1.7 Biomarcadores en cáncer de vejiga:

1.7.1 Biomarcadores de respuesta a la quimioterapia:

Aunque el cáncer urotelial es un tumor quimiosensible, las respuestas patológicas al cisplatino neoadyuvante varían entre pacientes y estadios tumorales y el beneficio de la quimioterapia se limita a un subconjunto de pacientes.

El ADN está continuamente dañado por factores estresantes intracelulares y ambientales. Para preservar la integridad genómica, el ADN está protegido por una red de proteínas implicadas en la respuesta al daño del ADN que incluye puntos de control del ciclo celular y vías de reparación del ADN.

Sin embargo, los genes de reparación y respuesta al daño del ADN (genes DDR) suelen mutar en el cáncer urotelial y las alteraciones en estos genes pueden usarse como biomarcadores predictivos para la selección de la terapia.

El cisplatino forma enlaces cruzados intra e inter hebras con el ADN que interfieren con la replicación del ADN y la transcripción de genes. (340)

Los tumores con alteraciones en los mecanismos de reparación del ADN pueden ser más sensibles al cisplatino, debido a la pérdida de la capacidad de reparar el daño persistente producido por la quimioterapia que da lugar a la muerte celular por apoptosis, siendo conocido este mecanismo como letalidad sintética. (341)

Los genes de reparación del ADN (DDR) están frecuentemente alterados en el CUM y se asocian con mejores respuestas a la quimioterapia basada en platino. En particular, del 2% al 14 % de los CUM mostraron alteraciones en ATM, ERCC2 y RAD51B; y entre el 3.7 % y el 12.3 % de todos los CUM tenían alteraciones en BRCA-1/2, PALB2, FANCD2, ERCC2 y ATM. (342)

Las mutaciones en genes DDR en MIBC, como el gen de reparación por escisión de nucleótidos ERCC2 y ATM, fueron identificadas en el TCGA. (343)

ERCC2 es posiblemente la alteración DDR mejor validada y relacionada con la sensibilidad al platino en el carcinoma urotelial. Las mutaciones somáticas en ERCC2 se encuentran entre el 10-18% de los cáncer de vejiga. (106) (344)

Van Allen et al estudiaron 50 muestras de tumores MIBC previo al tratamiento con quimioterapia neoadyuvante y encontraron que *ERCC2*, un gen de reparación por escisión de nucleótidos, estaba enriquecido en respondedores al cisplatino en comparación con los no respondedores ($p < 0.001$). (345) La asociación entre las mutaciones de ERCC2 y los resultados favorables se validó externamente en 55 pacientes en dos ensayos clínicos. (289)

Plimack et al encontraron que la presencia de alteraciones en al menos uno de los tres genes de reparación del ADN (*ATM*, *RB1* y *FANCC*) predijo una respuesta patológica ($p < 0,001$; sensibilidad del 87%, especificidad del 100%) y una mejor SG ($p = 0,007$) en los respondedores en comparación con los no respondedores a dd MVAC o GC y se confirmó en la cohorte de validación. (347) Es de destacar que ese análisis no incluyó *ERCC2* en el panel de secuenciación de genes y, en un nuevo análisis donde se incluyó *ERCC2*, los respondedores eran más propensos a albergar alteraciones en este gen en comparación con los no respondedores (40% vs 7%; $p = 0.01$).

Además de los genes implicados en los mecanismos de reparación del ADN, las mutaciones *ERBB2* estuvieron presentes con mayor frecuencia en los respondedores al cisplatino en comparación con los no respondedores (23% frente a 0%; $p = 0.003$). (348) Van Allen et al y Plimack et al también encontraron mutaciones *ERBB2* recurrentes, que no se asociaron con una RC. Por lo tanto, se necesitan más estudios para dilucidar el valor predictivo de *ERBB2*.

ATM también actúa como sensor de daño al ADN, detectando roturas de cadena doble. (349)

Otro estudio de pacientes con CUM en los que se realizó secuenciación genómica mediante el panel Foundation One mostró que las alteraciones de

ATM se correlacionaron con una SG más corta, mientras que otras alteraciones de DDR (excluyendo ATM) se asociaron con un mejor pronóstico, lo que sugiere un papel complejo de ATM en la progresión tumoral.(350)

El número de mutaciones DDR coexistentes también es importante. Más de 3 mutaciones DDR (excluyendo el gen ATM) se correlacionó con mejores supervivencia en el CUm. (350)

1.7.2 Biomarcadores de respuesta a la inmunoterapia:

Las alteraciones en los genes DDR, no solo pueden conferir sensibilidad a la quimioterapia basada en platino, sino también a los CPI.(351)

Las mutaciones en los genes DDR conducen a un aumento de la tasa de mutaciones somáticas y, por lo tanto, aumentan la susceptibilidad de respuesta a los los CPI.(352)

Se examinó la relación entre las alteraciones del DDR y la respuesta a los CPI en 60 pacientes con CUm tratados con atezoliumab o nivolumab. 28 de los pacientes presentaban alteraciones en los genes DDR en ATM, POLE, BRCA2, ERCC2, FANCA y MSH6. Los pacientes con mutaciones deletéreas de DDR se correlacionaron con una mejor ORR , SLP y SG independientemente de la carga mutacional del tumor.(352)

La predicción de la respuesta a los CPI en pacientes con CUm es particularmente importante, ya que solo aproximadamente el 20% de los pacientes van a responder a un tratamiento con inmunoterapia. (353)

Se han estudiado distintos biomarcadores relacionados con la respuesta a los CPI: (354) (273)

PD-L1: es un biomarcador ampliamente estudiado.

El PD-L1 ha demostrado su valor pronóstico en el beneficio clínico de la inmunoterapia en la enfermedad refractaria al platino y faltan datos que apoyen el valor predictivo de la expresión de PD-L1. (355)(274)(356)

Las limitaciones metodológicas, como la escasa concordancia entre los ensayos clínicos de inmunoterapia en enfermedad platino refractaria, han provocado cierta confusión sobre la definición de “positividad para PD-L1”,

especialmente dados los diferentes sistemas de puntuación que incluyen la expresión de proteínas en células tumorales y / o inmunitarias.(357)

En algunos de los ensayos clínicos con CPI en la población con enfermedad refractaria al platino se observó que los pacientes con tumores PD-L1 positivos demostraron tasas de respuesta más altas y una supervivencia más prolongada que aquellos con tumores PD-L1 negativos. (273) (358) (359) (155)

Sin embargo, dos grandes ensayos clínicos aleatorizados fase III, IMvigor211(244) y KEYNOTE-045 (264) demostraron que la expresión de PD-L1 no se asoció significativamente con la SG, la SLP, la ORR o la duración de la respuesta (DOR) en pacientes con CUM refractario al platino tratados con CPI.

El ensayo fase II KEYNOTE-052 de pembrolizumab en primera línea en pacientes con CUM no elegibles para cisplatino mostró una ORR superior en pacientes con alta expresión de PD-L1 mediante el anticuerpo IHC 22C3 (CPS) ≥ 10 (246).

Sin embargo, no hubo una correlación significativa entre las tasas de respuesta y la expresión de PD-L1 en el ensayo IMvigor210 de atezolizumab utilizando el anticuerpo SP142. (243)

El beneficio en SG con avelumab de mantenimiento tras la respuesta a los esquemas basados en platino se observó independientemente del estado de PD-L1, lo que sugiere que la positividad de PD-L1 no ofrece actualmente utilidad clínica después de la quimioterapia en CUM.

Los datos de ensayos clínicos no respaldan actualmente el uso de la expresión de PD-L1 para seleccionar pacientes al tratamiento con CPI en la enfermedad refractaria al platino.

La evaluación de biomarcadores predictivos de respuesta a los CPI en el entorno perioperatorio están pendiente de evaluación tras la finalización de ensayos prospectivos randomizados. (170) (171)

El ensayo fase III IMvigor010 que evaluó atezolizumab adyuvante versus observación no se observaron diferencias significativas en la SLP ni en población global del estudio ni en pacientes con tumores PD-L1 positivos (IC2 / 3).(200)

El beneficio en la SLE en el ensayo CheckMate 274 con nivolumab adyuvante versus placebo se observó tanto en la población ITT como en el

subconjunto de pacientes con PD-L1, aunque el beneficio en SLE fue superior en pacientes con tumores PD-L1 positivos frente a la población ITT (0,53 [IC 95% 0,34 a 0,84] frente a 0,70 [IC del 95%: 0,54 a 0,89], respectivamente).(199)

TMB: Otro biomarcador predictivo de respuesta a los CPI es el “tumor mutational burden” (TMB). Se ha observado que aquellos tumores con TMB alta pueden responder mejor a la inmunoterapia(274) (356) (170) . Sin embargo aún faltan datos sobre el uso de TMB en la toma de decisiones clínicas en el CV. La FDA ha otorgado una aprobación acelerada para pembrolizumab para el tratamiento de pacientes adultos y pediátricos con tumores sólidos no resecables o metastásicos con TMB alta (≥ 10 mutaciones / megabase (mut / Mb)) que han progresado después de un tratamiento previo y que no presentan opciones de tratamiento alternativas en base al ensayo fase II KEYNOTE-158 (NCT02628067). (360)

2. JUSTIFICACIÓN:

Las alteraciones genómicas en FGFR están presentes entre el 40-70% de los tumores no músculo-invasivos de vejiga y en el 20% de los pacientes con cáncer de vejiga avanzado. (317) (326)

A pesar de que los NMIBC con alteraciones moleculares en FGFR se han asociado con características clínicas favorables, a día de hoy, no existe suficiente evidencia que demuestre que las FGFR AG se correlacionan con un fenotipo menos agresivo una vez que la enfermedad ha metastatizado. Por este motivo, nuestro estudio pretende analizar el valor pronóstico de las alteraciones genómicas en FGFR en el CV y UTUC avanzado.

Además, queremos validar las escalas de riesgo de Bajorin y Bellmunt tanto en los pacientes FGFR AG y FGFR WT, para ver si mantienen su significación pronóstica, de acuerdo al estatus molecular y por tipo de tratamiento recibido (quimioterapia o inmunoterapia).

Afortunadamente la primera terapia dirigida ha sido aprobada en la población con alteraciones moleculares en FGFR. Sin embargo, no está claro si los tumores FGFR AG responden igual a la quimioterapia o a la inmunoterapia que los FGFR WT.(293) Es por ello que queremos analizar si existe alguna correlación entre el estatus de FGFR y la respuesta terapéutica.

Dado que se ha postulado que los tumores FGFR GA, tienen una menor infiltración linfocitaria, una menor expresión de PD-L1 y unas tasas de mutaciones por megabase más bajas con respecto a los FGFR WT, queremos realizar un análisis de biomarcadores en la cohorte FGFR AG de forma específica.

También queremos analizar si el tipo de alteración molecular en FGFR puede tener implicaciones pronósticas y terapéuticas.

3.HIPÓTESIS:

3.1 Primaria

- Las alteraciones moleculares en FGFR (mutaciones/fusiones) pueden representar un factor pronóstico en el cáncer vesical y UTUC metastásico en términos de supervivencia global (SG).

3.2. Secundarias

-La población FGFR mut/fus puede presentar unas características clínicas, patológicas y una localización metastásica diferente a la población FGFR Wild Type.

-Las respuestas a los esquemas basados en cisplatino y a la inmunoterapia pueden ser diferentes entre los tumores FGFR AG y los tumores FGFR Wild WT.

-La SLP puede variar en función del tipo de alteración genómica en FGFR presente en la muestra tumoral: mutación, translocación o amplificación.

- Los factores pronósticos clínicos clásicos de Bajorin (metástasis viscerales, el ECOG) en primera línea pueden presentar una precisión diferente en la población FGFR con AG comparada con la WT.

- Los factores pronósticos clínicos de Bellmunt (metástasis hepáticas, ECOG PS y la anemia) en segunda línea pueden presentar una precisión diferente en la población FGFR con AG comparada con la WT.

-Distintos biomarcadores como el PD-L1, el tumor mutational burden y otras alteraciones en genes distintos a FGFR, junto con las alteraciones moleculares en FGFR podría optimizar el pronóstico de la población FGFR GA

4. OBJETIVOS:

4.1 Objetivos Primarios

-Determinar el papel pronóstico de las alteraciones genómicas en FGFR en el CV o UTUC metastásico. Analizar la correlación entre las alteraciones moleculares tumorales en FGFR (mutaciones y fusiones) con la SG.

4.2 Objetivos Secundarios

-Evaluar las características clínico-patológicas y el patrón de recaída en la población con presencia de alteraciones moleculares en FGFR y compararlas con la población FGFR Wild Type.

-Analizar si el estatus molecular en FGFR predice un pronóstico distinto entre los tumores del tracto urinario superior (pelvis renal, uréter) metastásicos.

-Analizar si el estatus molecular de FGFR puede predecir el éxito de un tratamiento con esquemas basados en cisplatino o inmunoterapia en términos de tasas de respuestas objetivas radiológicas por RECIST versión 1.1.

-Correlacionar el tipo de alteración genómica en FGFR (mutación, fusión, amplificación) con las tasas de respuestas radiológicas a los distintos tratamientos (cisplatino, inmunoterapia, inhibidores de FGFR) así como con la supervivencia libre de progresión y valorar si existen diferencias en términos de supervivencia global.

-Analizar la presencia de otras alteraciones moleculares en la población FGFR AG y compararlas con la WT y evaluar su potencial como biomarcadores pronósticos.

-Evaluar si los criterios pronósticos clásicos de Bajorin en la primera línea de tratamiento y de Bellmunt en segunda línea en el carcinoma vesical o UTUC metastásico presentan la misma validez en la población con AG de FGFR.

5. MATERIAL Y MÉTODOS:

5.1 Diseño del estudio

Se trata de un estudio retrospectivo observacional multicéntrico.

Identificación de los pacientes candidatos:

Para la identificación de pacientes candidatos a participar en el estudio, se solicitó la revisión de la base de datos asistencial del grupo HM, seleccionando aquellos que hubieran sido atendidos en el la Unidad de Tumores Genitourinarios del Servicio de Oncología de HM (que incluye cuatro hospitales: HM Sanchinarro, HM Puerta del Sur, HM Montepíncipe, HM Madrid) y tuvieran un diagnóstico de “cáncer de vejiga”, “cáncer urotelial” o “cáncer de vías altas” entre enero 2010 y diciembre 2020.

Dicha búsqueda se llevó a cabo tras la aprobación del estudio por parte del CEIm del grupo (ver apartado 5.2, Anexo 1 y Anexo 2)

Obtención de datos:

Tras obtener el consentimiento de los pacientes se procedió a la extracción de su historia clínica de los datos del estudio.

En el caso de pacientes fallecidos, y atendiendo el protocolo del estudio aprobado por el CEIm, se comprobó que no existiera oposición previa expresada por el paciente durante su atención en el centro a la participación en estudios clínicos.

Para la recogida sistemática de datos diseñamos una tabla con el programa Microsoft Excel, compuesta por las variables clínicas, anatomopatológicas, terapéuticas y moleculares de interés para nuestro estudio.

Revisamos todas las historias clínicas de manera electrónica en 2 ocasiones.

Todos los datos de los pacientes fueron recogidos de forma anonimizada en la base de datos generada.

Revisamos en cada historia clínica, si estaban presentes los estudios anatomopatológicos que confirmaron el diagnóstico de cáncer de vejiga o del tracto urinario superior por parte del Servicio de Anatomía Patológica. Comprobamos si los informes reportaban el análisis inmunohistoquímico de PD-L1 y su expresión, realizado por parte del Servicio de Anatomía Patológica y transcribimos sus resultados.

Para conocer si los pacientes presentaban alteraciones moleculares en FGFR, revisamos en sus historias clínicas si se había realizado algún estudio de NGS o RT-PCR de forma asistencial o dentro de algún ensayo clínico en el que el paciente hubiera participado, de forma completa o solo como pre-screening, para el análisis genético.

Solicitamos los resultados de los estudios de los paneles de NGS o RT-PCR, que no estaban reflejados en la historia clínica cuando fue preciso.

Todos los resultados obtenidos acerca del estatus molecular de FGFR y el tipo de alteración genómica correspondiente, las alteraciones genéticas (patogénicas o de significado incierto) disponibles en los informes de los estudios de NGS, así como la presencia de inestabilidad de microsatélites o el valor del TMB, fueron revisados y añadidos a la base de datos.

5.2 Aprobación por parte del Comité de Ética de Investigación con medicamentos (CEim) y por la Comisión Ejecutiva I+D+I

Previo a la realización del estudio, el proyecto fue presentado al Comité Ético de Investigación de la Fundación de Investigación HM (**Anexo 1**). Tras haber sido valorado desde un punto de vista ético y metodológico y recibir las respuesta a las aclaraciones solicitadas, fue evaluado en la reunión del 18 de septiembre de 2019, Acta nº 163, emitiéndose un dictamen favorable.

El CEim de HM Hospitales, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de Buenas Prácticas Clínicas (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento. Del mismo modo, el proyecto fue valorado por la Comisión Ejecutiva I+D+I de la Fundación de Investigación de HM Hospitales, con el código interno del proyecto :52_19 (**Anexo 2**), habiendo cumplido el quorum preceptivo

legalmente establecido, emitiéndose un dictamen favorable desde el punto de vista científico y metodológico.

En relación a los pacientes fallecidos, se aplicó lo estipulado en la Ley de Investigación Biomédica 14/2007 de 3 de julio y las consideraciones del CEIm.

5.3 Selección de Pacientes

Se identificaron los pacientes diagnosticados de un carcinoma de vejiga o del tracto urinario superior que fueron valorados o tratados en el Servicio de Oncología Médica de HM Hospitales (HM Sanchinarro, HM Puerta del Sur, HM Montepríncipe, HM Madrid) entre el 1 de Enero de 2010 y el 17 de Diciembre de 2020.

5.3.1. Variables clínicas, anatomopatológicas y moleculares recogidas:

Las siguientes variables fueron recogidas de forma retrospectiva en nuestro estudio:

1. Número de identificación del paciente
2. Fecha de nacimiento
3. Sexo (hombre/mujer)
4. Comorbilidades y tipo
5. Historia de tabaquismo previa (fumador activo/exfumador/nunca fumador)
6. Peso y Talla
7. ECOG basal (0,1,2,3)
8. Fecha de diagnóstico inicial
9. Fecha de cirugía
10. Tipo de cirugía: RTU, Cistectomía Radical, Nefroureterectomía , Ureterectomía.
11. Linfadenectomía: (si/no) y extensión (estándar/extendida)
12. TNM patológico: T (0,a, TIS, 1,2,3,4), N(x,0,1,2,3), M (0,1)
13. Grado: 1,2,3
14. Estatus molecular FGFR (mutación-fusión-amplificación /WT)

15. Quimioterapia perioperatoria (si/no) , (neoadyuvante/adyuvante) y fecha de inicio
16. Esquema de quimioterapia perioperatoria
17. Terapia trimodal (si/no)
18. Fecha de diagnóstico de enfermedad metastásica
19. ECOG al inicio de la enfermedad metastásica
20. Metástasis hepáticas (si/no) al debut
21. Metástasis óseas (si/no) al debut
22. Metástasis viscerales (si/no) al debut
23. Niveles de hemoglobina previo al inicio de la primera línea
24. Niveles de creatinina previo al inicio de la primera línea
25. Primera línea de quimioterapia (si/no)
26. Tipo de primera línea de quimioterapia
27. Número de ciclos recibidos
28. Mejor respuesta radiológica obtenida basada en los criterios RECIST v1.1.
29. Toxicidades secundarias y grado de las mismas
30. Radioterapia paliativa (si/no)
31. Segunda línea de quimioterapia (si/no) y fecha
32. ECOG PS previo a la segunda línea
33. Niveles de hemoglobina previo a la segunda línea
34. Metástasis hepáticas (si/no) previas a la segunda línea
35. Tipo de segunda línea de quimioterapia
36. Número de ciclos recibidos
37. Mejor respuesta radiológica obtenida basada en los criterios RECIST v1.1.
38. Toxicidades secundarias y grado de las mismas
39. Radioterapia paliativa (si/no)
40. Tercera línea de quimioterapia (si/no) y fecha
41. Tipo de tercera línea de quimioterapia
42. Número de ciclos recibidos
43. Mejor respuesta radiológica obtenida basada en los criterios RECIST versión 1.1.
44. Toxicidades secundarias y grado de las mismas

45. Radioterapia paliativa (si/no)
46. Expresión inmunohistoquímica de PD-L1 (si/no) y valor
47. Realización de secuenciación tumoral (si/no)
48. Tipo de alteración molecular FGFR: mutación/fusión/amplificación
49. Presencia de alteraciones en genes distintos de FGFR en los paneles de NGS
50. Fecha de última visita
51. Éxito (si/no)
52. Fecha de éxito

5.4 Criterios para la revisión del estatus molecular de FGFR:

5.4.1. Análisis molecular de las muestras:

Revisamos los resultados de los informe emitidos tras la realización de la determinación molecular de FGFR de los 98 pacientes en los que se habían realizado técnicas de Next Generation Sequencing (Oncomine, FoundationOne®CDx) o RT-PCR dentro de los distintos ensayos clínicos con inhibidores de FGFR sujetos a un análisis molecular previo a su inclusión o en la práctica asistencial.

También revisamos los informes que reportaban la expresión inmunohistoquímica de PD-L1 y su porcentaje expresado como combined positive score (CPS), su expresión en células inmunes (IC) o en células tumorales (TC), realizados por el Servicio de Anatomía Patológica.

5.4.1.1: Secuenciación masiva de próxima generación (Next-Generation Sequencing o NGS):

Los resultados de la secuenciación dirigida, que había sido realizada previamente de forma asistencial o dentro de un ensayo clínico, mediante los paneles comerciales (Oncomine, Foundation One® CDx) fueron revisados por nuestra parte para el estudio. Estos paneles cubren las regiones con mutaciones recurrentes en FGFR.

El panel OncoPrint Comprehensive Assay v.3 está diseñado para el análisis de variantes en 161 genes relevantes, incluidos FGFR 1, 2,3, y 4, en tumores sólidos mediante la plataforma Ion-Chef™ / Ion-S5™ (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Las alteraciones que cubre el panel se dividen en mutaciones puntuales (sustituciones, inserciones o deleciones), alteraciones en el número de copias y reordenamientos. Los datos se analizan mediante los programas Torrent Suite Software v5.2 y Ion Reporter v5.2 (ThermoFisher Scientific). El análisis bioinformático incluye: 1) el alineamiento de las secuencias obtenidas con la secuencia de referencia para los genes diana tras filtrado según criterios de calidad; 2) la identificación de variantes; y 3) anotación de las variantes. (361)

Foundation One® CDx (F1CDx) es un método de diagnóstico basado en la secuenciación de próxima generación para la detección de sustituciones, inserciones y deleciones (indels) y alteraciones del número de copias (CNA) en 324 genes, así como en intrones de 36 genes involucrados en reordenamientos, firmas genómicas que incluyen inestabilidad de microsatélites (MSI), carga mutacional tumoral (TMB) y pérdida de heterocigosidad (LOH), utilizando ADN aislado de muestras de tejido tumoral fijado con formalina y parafinado. La prueba se usa como diagnóstico complementario para identificar a los pacientes que pueden beneficiarse del tratamiento con terapias dirigidas validadas tanto aprobadas como dentro de ensayos clínicos.(362)

5.4.1.2 PCR (reacción en cadena de la polimerasa):

También revisamos los resultados de los informes, que habían sido previamente generados, de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) en distintos ensayos clínicos.

Los tests empleados incluyeron QIAGEN o theascreen® TFGFR FGFR RGQ RT-PCR que se basan en la amplificación de un gen o un fragmento de DNA, sin necesidad de una purificación previa y evalúan las mutaciones somáticas dentro del gen FGFR3: R248C, S249C, G370C e Y373C o ciertos

reordenamientos (fusiones): FGFR3-TACC3v3, FGFR3-TACC3v1 y FGFR3-BAIAP2L1, FGFR2-BICC1 y FGFR2-CASP7.(363)

El kit therascreen TFGFR FGFR RGQ RT-PCR es una test de diagnóstico molecular aprobado por la FDA para la identificación de pacientes con cáncer vesical o UTUC que albergan alteraciones del FGFR, y para los que el tratamiento con erdafitinib está indicado.

5.4.1.3. Estudio molecular dentro de ensayo clínico:

Los pacientes de nuestro estudio, participaron en los siguientes ensayos clínicos llevados a cabo en el Hospital Universitario Sanchinarro entre 2015 y 2020, donde el estudio molecular de FGFR se realizó de las siguiente manera y fue revisado por nuestra parte:

1. B-701-U21 (NCT02401542) con Vofatamab: “Dose Escalation, Expansion Study of Vofatamab (B-701) in Treatment of Locally Advanced or Metastatic Urothelial Cell Carcinoma (FIERCE-21)” analizó en las muestras tumorales una de las siguientes mutaciones de FGFR3: R248C, S249C, G370 / 2C, S371 / 3C, Y373 / 5C, G380 / 82R, F384 / 6L, K650 / 2X (X = E, T o M) o la fusión FGFR3-TACC3, realizadas por un laboratorio certificado CAP (Certified Analytics Professional) o CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) tal como Foundation Medicine, Ashion Analytics o Paradigm Diagnostics.
2. INCB 54828-201 (NCT02872714) con Pemigatinib: “A Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Pemigatinib (INCB054828) in Subjects With Urothelial Carcinoma - (FIGHT-201)”. La alteración molecular en FGF / FGFR , fue analizada mediante técnicas de NGS realizadas en el laboratorio central del patrocinador o mediante secuenciación genómica local.
3. BLC2001 (NCT02365597) con Erdafitinib: “An Efficacy and Safety Study of Erdafitinib (JNJ-42756493) in Participants With Urothelial Cancer.” Los pacientes debían tener al menos una mutación de FGFR3 o fusión de

FGFR2 / 3, testado en el laboratorio central mediante el estudio del ARN de las muestras de tumor mediante la técnica de (RT-PCR) con transcriptasa inversa desarrollado por la compañía diagnóstica Qiagen.

4. FIDES -02 (NCT02365597) con Derazantinib: “Derazantinib and Atezolizumab in Patients With Urothelial Cancer”. Se analizaron todas las alteraciones genómicas de FGFR mediante NGS utilizando protocolos estándar aprobados por el Insitucional Review Boards/Independent Ethics Committees (IRB / IEC local, Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) u otros kits aprobados por la FDA de EE. UU. Además se analizó la expresión de ARN del FGFR-1/2/3 mediante la secuenciación de ARN (RNAseq).
5. TPU-TAS-120-101 (NCT02052778) con Futibatinib “A Study of TAS-120 in Patients With Advanced Solid Tumors”. La inclusión se restringió a pacientes con alteraciones de FGF / FGFR (testado localmente) en nuestro centro mediante paneles comerciales de NGS como Oncomine o Foundation Medicine.
6. PROOF 302 (NCT04197986) con infigratinib: “Study of Oral Infigratinib for the Adjuvant Treatment of Subjects With Invasive Urothelial Carcinoma With Susceptible FGFR3 Genetic Alterations”. La preselección molecular se llevó a cabo mediante técnicas de NGS con Foundation Medicine para confirmar la presencia de las alteraciones genéticas de FGFR3.

5.5 Análisis estadístico:

Se utilizó un análisis descriptivo para resumir las características basales de la población de estudio y de cada cohorte (FGFR AG o FGFR WT). Las variables categóricas se describieron como frecuencia absoluta (%), mientras que las variables numéricas como media \pm desviación estándar para las variables distribuidas normalmente (prueba de Shapiro, $p > 0,05$) o mediana (IQR) en

caso contrario. Las asociaciones entre las alteraciones del FGFR y los factores clínicos se analizaron utilizando X^2 o las pruebas exactas de Fisher para las variables categóricas y la prueba T o la prueba U de Mann-Whitney para las variables numéricas.

La SLP se definió como el tiempo desde el día de inicio del tratamiento hasta la progresión de la enfermedad o la muerte, lo que ocurriera primero.

La SG se estimó como el tiempo desde el inicio del tratamiento hasta la fecha de muerte o de último seguimiento, lo que ocurriera primero.

El beneficio clínico se definió como Respuesta Completa (RC), Respuesta Parcial (RP) o Enfermedad Estable (EE) y la tasa de respuestas objetivas (ORR) como la suma de las RC+ RP.

Se realizó un análisis de regresión de Cox univariable para evaluar la correlación entre las alteraciones de FGFR, las características clínicas basales y terapéuticas más relevantes y la supervivencia. Se aplicaron modelos de riesgo proporcional de Cox para el análisis multivariable. Se calculó la Hazard Ratio (HR) y el intervalo de confianza (IC) del 95% para cada factor pronóstico. Los resultados se consideraron estadísticamente significativos para valores de $p < 0,05$. La SLP y la SG se estimaron mediante el método de Kaplan-Meier y la significación estadística se evaluó mediante la prueba de log-rank. Todos los análisis se realizaron con R (versión 4.1.1).

6. RESULTADOS:

6.1. Criterios de Inclusión

1. Diagnóstico anatomopatológico de carcinoma de vejiga o del tracto urinario superior
2. Carcinoma de células transicionales o variantes histológicas
3. Estadio IV de acuerdo a la clasificación TNM-AJCC (**Anexo 3**)
4. Determinación del estatus molecular de FGFR

6.2. Características basales de la población global:

Se identificaron 201 pacientes con diagnóstico de cáncer de vejiga o UTUC. Un total de 98 (49%) de los 201 pacientes revisados, presentaban información molecular del estatus de FGFR realizado mediante paneles de NGS o RT-PCR y representaron la población global.

Las principales características basales y patológicas a estudio se encuentran recogidas en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Características clínicas y anatomopatológicas de 98 pacientes con CVm o UTUCm con determinación molecular de FGFR, incluidos 77 casos con enfermedad avanzada (población de estudio)

Variable	Modalidad	n = 98
Edad	Mediana ± sd	67 ± 10 [35 - 92]
Sexo	Masculino	71 (72.4%)
	Femenino	27 (27.6%)

ECOG PS	0	37 (37.7%)
	1	31 (31.6%)
	2	2 (2.1%)
	No disponible	28 (28.6%)
Tabaquismo	No fumador	19 (19.4%)
	Fumador	15 (15.3%)
	Exfumador	46 (46.9%)
	No disponible	18 (18.4%)
FGFR	Mutación/Fusión	31 (31.6%)
	WT	67 (68.4%)
Localización tumoral	Vejiga	78 (79.6%)
	Tracto urinario superior	20 (20.4%)
Cirugía	No	5 (5.1%)
	Si	93 (94.9%)
Días hasta la cirugía	Mediana (IQR)	24.00 (0.00 - 96.75)
Extensión quirúrgica	Cistectomía (RC)	52 (56%)
	Nefroureterectomía (NU) /Nefrectomía	15 (16.1%)
	NU + RC	5 (5.4%)
	Ureterectomía	1 (1%)
	RTU	20 (21.5%)
Linfadenectomía	No	41 (41.8%)
	Si	53 (54.1%)
	No disponible	4 (4.1%)
Preservación vesical	Radioterapia	4 (4.1%)
	Quimio-Radioterapia	7 (7.1%)
	No	87 (88.8%)
pT	1	9 (9.2%)
	2	38 (38.8%)
	3	37 (37.8%)
	4	13 (13.2%)
	No disponible	1 (1.0%)

pN	0	24 (45.3%)
	1	15 (28.3%)
	2	13 (24.5%)
	3	1 (1.9%)
Número de ganglios linfáticos positivos	Mediana (IQR)	1.00 (0.00 - 1.50)
	No disponible	6 (11.3%)
Número de ganglios linfáticos resecados	Mediana (IQR)	8.0 (5.0 - 11.5)
	No disponible	10 (18.9%)
Grado	2	3 (3.1%)
	3	93 (94.9%)
	No disponible	2 (2%)
Histología	Células transicionales	87 (88.8%)
	Escamoso	7 (7.1%)
	Anaplásico	1 (1.0%)
	Neuroendocrino	1 (1.0%)
	Sarcomatoide	2 (2.1%)
Quimioterapia perioperatoria	No	58 (59.2%)
	Neoadyuvante	17 (17.3%)
	Adyuvante	23 (23.5%)
Esquema de quimioterapia	Basado en Cisplatino	32 (80%)
	Carboplatino-Gemcitabina	7 (17.5%)
	Durvalumab-Olaparib (Ensayo clínico)	1 (2.5%)
Días hasta la quimioterapia	Mediana (IQR)	60 (33 - 114)
	No disponible	58 (59.2%)
Número de ciclos administrados	Mediana (IQR)	3.5 (2.8 - 4.0)

6.3. Características basales de la población de estudio :

De los 98 pacientes cuyo resultado sobre el estatus molecular de FGFR era conocido, 77 (78.5%) desarrollaron una enfermedad metastásica y representaron la población de estudio. **(Figura 17)**

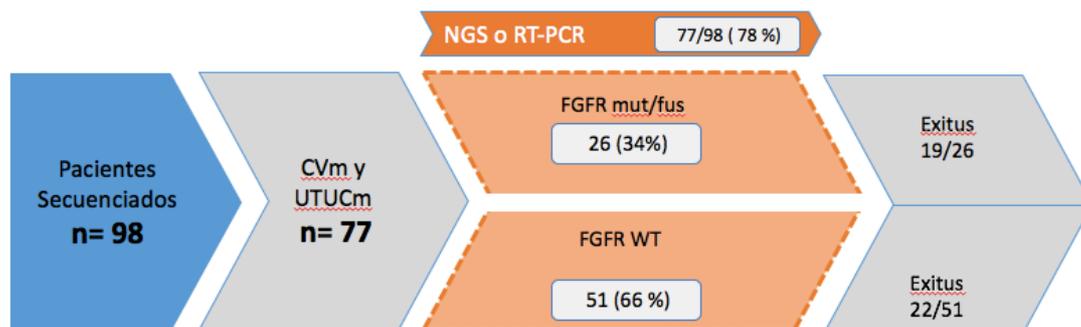


Figura 17. Diagrama de flujo de la población de estudio. Población global (n=98) y población de estudio (n=77) .De los 98 pacientes en los que se realizó la secuenciación génica para determinar el estado de FGFR, 77 presentaron CV o UTUC metastásico (26 FGFR AG vs 51 FGFR WT).

Los tumores del tracto urinario superior fueron más comunes en la cohorte FGFR AG ($p = 0.037$) y en consecuencia, se realizaron más nefroureterectomías ($p = 0.0076$). Los FGFR AG se asociaron con más estadios pT4 ($p=0.022$). **(Tabla 6)**

Al debut de la enfermedad metastásica y previo al inicio de la primera línea de tratamiento para la enfermedad se evaluaron distintas características clínicas y analíticas de los pacientes de acuerdo a los criterios pronósticos de Bajorin. (230)

De los 77 pacientes con CV o UTUC metastásico, el ECOG previo al inicio de la primera de tratamiento fue: ECOG 0: 26 (33.8%), ECOG 1: 25 (32.4%), ECOG 2: 2 (2.6%). En 24 (31.2%) no había datos disponibles.

Un total de 60 (77.9%) pacientes presentaron metástasis viscerales y 15 (19.5%) metástasis ganglionares al debut y en 1 no se especificó la localización. Además, 15 (19.5%) debutaron con metástasis hepáticas y 30 (39%) con metástasis óseas.

Los esquemas de tratamiento empleados en la primera línea se describen en la **Tabla 6**, siendo los más comúnmente usados: los regímenes de cisplatino-gemcitabina en 33 (42.8%) pacientes, seguidos de la inmunoterapia en 23 (29.9%) y el carboplatino-gemcitabina en 8 (10.4%) de ellos. Las terapias con inhibidores de FGFR en una primera línea dentro de un ensayo clínico se emplearon en 5 (6.5%).

Además, en 1 (1.3%) ocasión se procedió a la intervención quirúrgica del tumor y al tratamiento de soporte en 2 (2.6%).

Del total de la población de estudio, 53 (68.8%) casos progresaron y recibieron una segunda línea de tratamiento y 30 (39%) una tercera línea de tratamiento a la progresión.

Un total de 41 (53.2%) de los 77 sujetos con enfermedad metastásica fueron éxitos. En 8 (10.3%), no disponemos de información debido a una pérdida de seguimiento por traslado a otros hospitales o falta de asistencia a las consultas.

(Tabla 6)

Tabla 6. Datos demográficos de la población de estudio (N=77) y comparación entre los pacientes FGFR mut/fus y FGFR WT

Variable	Modalidad	Metastásico	Mut/Fus (n = 26)	WT (n = 51)	p.valor
Edad	Mediana (IQR)	69 (62 - 76)	69 (63 - 77)	69 (61 - 75)	0.45
Sexo	Masculino	55 (71.4%)	17 (65.4%)	38 (74.5%)	0.57
	Femenino	22 (28.6%)	9 (34.6%)	13 (25.5%)	
ECOG	0	26 (33.8%)	9 (34.6%)	17 (33.3%)	0.15
	1	25 (32.4%)	14 (53.8%)	11 (21.6%)	
	2	2 (2.6%)	0 (0%)	2 (3.9%)	
	No disponible	24 (31.2%)	3 (11.5%)	21 (41.2%)	
Tabaquismo	No fumador	16 (25.4%)	7 (26.9%)	9 (17.6%)	0.55
	Fumador	9 (14.3%)	3 (11.5%)	6 (11.8%)	
	Exfumador	38 (60.3%)	11 (42.3%)	27 (52.9%)	
	No disponible	14 (18.2%)	5 (19.2%)	9 (17.6%)	
Localización tumoral	Vejiga	62 (80.5%)	17 (65.4%)	45 (88.2%)	0.037
	Tracto urinario superior	15 (19.5%)	9 (34.6%)	6 (11.8%)	
Cirugía	No	4 (5.2%)	1 (3.8%)	3 (5.9%)	1
	Si	73 (94.8%)	25 (96.2%)	48 (94.1%)	
Extensión quirúrgica	Cistectomía (CR)	38 (49.3%)	7 (28.0%)	31 (64.6%)	0.0076

	Nefroureterectomía /Nefrectomía (NU)	12 (15.6%)	8 (32.0%)	4 (8.3%)	
	NU + CR	3 (3.9%)	1 (4.0%)	2 (4.2%)	
	RTU	20 (26%)	9 (36.0%)	11 (22.9%)	
Linfadenectomía	No	36 (46.8%)	15 (57.7%)	21 (41.2%)	0.37
	Si	38 (49.3%)	11 (42.3%)	27 (52.9%)	
	No disponible	3 (3.9%)	0 (0.0%)	3 (5.9%)	
Preservación vesical	Radioterapia (RT)	4 (5.2%)	2 (7.7%)	2 (3.9%)	0.86
	Quimio-RT	6 (7.8%)	2 (7.7%)	4 (7.8%)	
	No	67 (87.0%)	22 (84.6%)	45 (88.2%)	
pT	1	7 (9.1%)	3 (11.5%)	4 (7.8%)	0.022
	2	28 (36.4%)	8 (30.8%)	20 (39.2%)	
	3	28 (36.4%)	6 (23.1%)	22 (43.1%)	
	4	13 (16.8%)	9 (34.6%)	4 (7.8%)	
	No disponible	1 (1.3%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	
pN	0	14 (36.8%)	3 (27.3%)	11 (40.7%)	0.81
	1	11 (28.9%)	4 (36.4%)	7 (25.9%)	
	2	12 (31.6%)	4 (36.4%)	8 (29.6%)	
	3	1 (2.6%)	0 (0%)	1 (3.7%)	
Grado	2	2 (2.6%)	1 (3.8%)	1 (2%)	1
	3	73 (94.8%)	25 (96.2%)	48 (94.1%)	
	No disponible	2 (2.6%)	0 (0.0%)	2 (3.9%)	
Variantes histológicas	Células transicionales	70 (90.9%)	23 (88.5%)	47 (92.2%)	0.71
	Escamoso	5 (6.5%)	2 (7.7%)	3 (5.9%)	
	Anaplásico	1 (1.3%)	1 (3.8%)	0 (0%)	
	Neuroendocrino	1 (1.3%)	0 (0%)	1 (2%)	
Quimioterapia perioperatoria	No	52 (67.5%)	16 (61.5%)	36 (70.6%)	0.67
	Neoadyuvante	12 (15.6%)	5 (19.2%)	7 (13.7%)	
	Adyuvante	13 (16.9%)	5 (19.2%)	8 (15.7%)	
Metástasis hepáticas	No	61 (79.2%)	22 (84.6%)	39 (76.5%)	0.7
	Si	15 (19.5%)	4 (15.4%)	11 (21.6%)	
	No disponible	1 (1.3%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	
Metástasis óseas	No	46 (59.7%)	15 (57.7%)	31 (60.8%)	0.91
	Si	30 (39.0%)	11 (42.3%)	19 (37.3%)	
	No disponible	1 (1.3%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	
Metástasis ganglionares	Si	15 (19.5%)	5 (19.2%)	10 (19.6%)	1
Metástasis viscerales	Si	60 (77.9%)	21 (80.8%)	39 (76.5%)	1
	No disponible	1 (1.3%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	
Primera línea de tratamiento para la enfermedad metastásica	Basado en cisplatino	33 (42.8%)	11 (42.3%)	22 (44.0%)	
	Inmunoterapia	23 (29.9%)	5 (19.2%)	18 (36.0%)	

	Basado en carboplatino	8 (10.4%)	2 (7.7%)	6 (12.0%)	
	Inhibidor FGFR	5 (6.5%)	5 (19.2%)	0 (0.0%)	
	Vinflunina	3 (3.9%)	1 (3.8%)	2 (4.0%)	
	Tratamiento de soporte	2 (2.6%)	2 (7.7%)	0 (0.0%)	
	Paclitaxel	1 (1.3%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	
	Cirugía	1 (1.3%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	
	No disponible	1 (1.3%)	0 (0%)	1 (2.0%)	

6.4 Caracterización de las alteraciones moleculares en FGFR:

Entre los sujetos caracterizados molecularmente, las alteraciones genómicas más frecuentemente descritas fueron: la mutación de FGFR3 S249C reportada en 15 (57.7%) de los 26 pacientes. Seguida de las fusiones en 6 (23.1%) ocasiones, siendo la más común la FGFR3: TACC3v1 reportada en 3 de los 6 casos con translocaciones. Se describieron amplificaciones, que aparecían asociadas de forma concurrente a las mutaciones y fusiones, destacando la amplificación de FGFR1.

Las alteraciones moleculares descritas en la población de estudio, pueden verse en la **Tabla 7**:

Tabla 7. Tipo de alteraciones moleculares en FGFR caracterizadas en la población de estudio

TIPO DE ALTERACIÓN GENÓMICA DE FGFR (número de casos)	N (26)	%
MUTACIÓN -FGFR3 S249C (13) -FGFR3 S249C // S783* (1) -FGFR3 S249C // H349D (1)	15	57.7%
FUSIÓN -FGFR1-FGFR1 (1) -FGFR3-TACC3 (3) -FGFR2-OFD1 (1) -FGFR2-AFF3 (1)	6	23.1%

MUTACIÓN+AMPLIFICACIÓN		
-FGFR3 S249C + FGFR1 amplificación (1)	2	7.7%
-FGFR3 G370C + FGFR1 amplificación (1)		
MUTACIÓN+FUSIÓN		
-FGFR3 R248C // S249C + FGFR3-TACC3 (1)	1	3.8%
FUSIÓN +AMPLIFICACIÓN		
-FGFR2-RTKN2 + FGFR2 amplificación (1)	2	7.7%
-FGFR3-TACC3 + FGFR1 amplificación (1)		

6.5 Supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG) de la población de estudio y en función del estatus FGFR

La SLP y SG fueron analizadas en 76 de los 77 pacientes de la población de estudio. En un caso no se disponía de fecha de última visita o de éxitus

La mediana de la SLP desde el inicio de la primera línea de tratamiento para la enfermedad metastásica hasta la progresión de la enfermedad o éxitus fue de 6 meses.

Aunque hubo una tendencia hacia una mayor SLP en los pacientes FGFR GA, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la SLP en los pacientes con FGFR mut/fus frente a los FGFR WT (6 vs 5 meses, $p=0.71$).

(Figura 18)

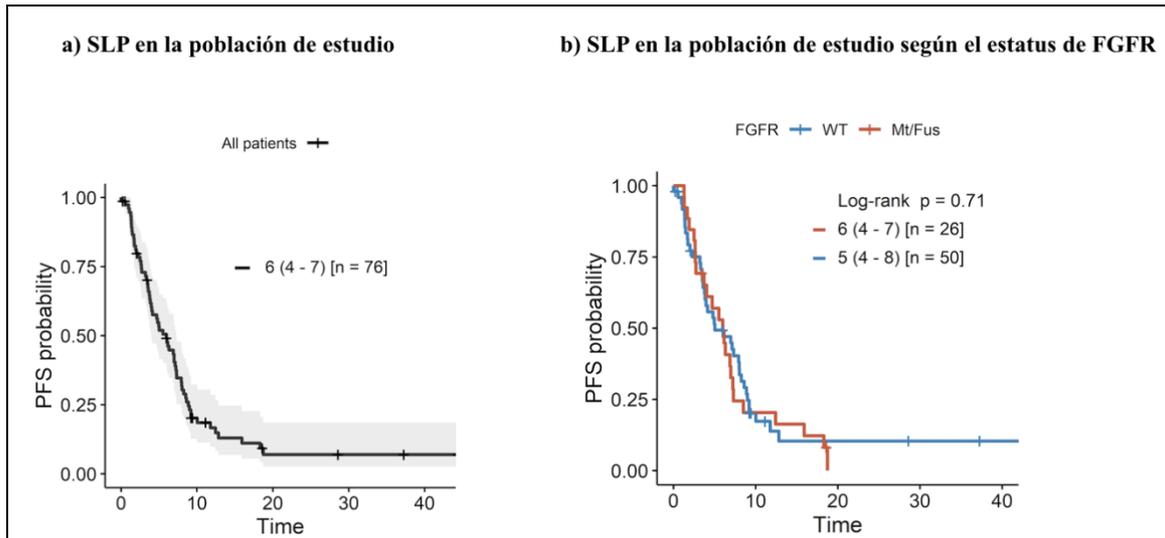


Figura 18. Supervivencia libre de progresión de la población de estudio (a) y en función del estatus de FGFR (b)

La SG se definió desde la fecha de inicio del tratamiento para la enfermedad metastásica a la fecha de última visita o éxito. La mediana de supervivencia global de la población de estudio fue de 20 meses (IC 95%,13-32).

Se observó que los pacientes con alteraciones genómicas en FGFR tenían una peor SG con respecto a los FGFR WT, siendo la mediana de SG en los pacientes FGFR mut/fus de 16.2 meses (IC 95%, 9.27 - NA) frente a 31.9 meses (IC 95% 12.5 - NA) en los pacientes FGFR WT. Esta diferencia fue estadísticamente significativa (p= 0.045) como se observa en la **Figura 19**.

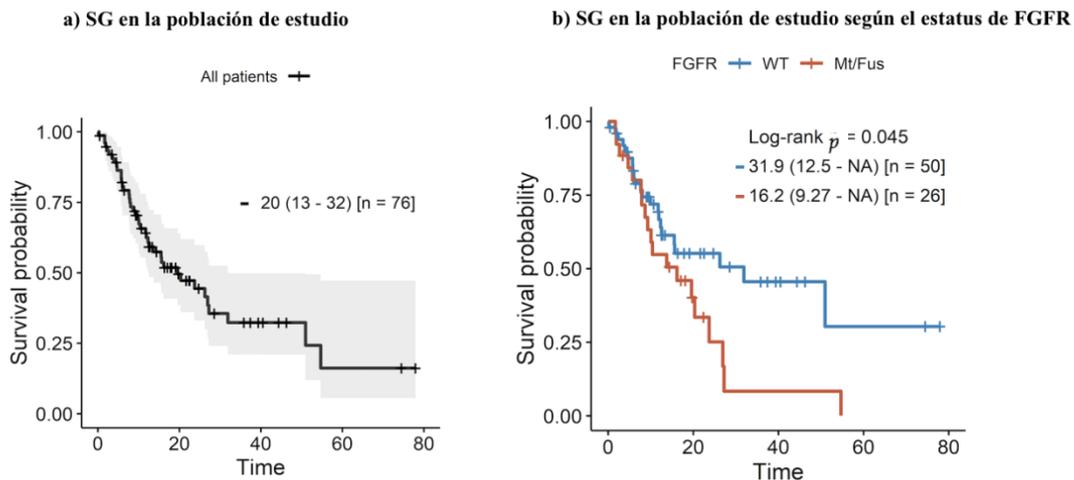


Figura 19. Supervivencia global de la población de estudio (a) y por estatus de FGFR (b)

6.6 Supervivencia global de la población de estudio en función la localización del tumor primario y por estatus de FGFR

En la población de estudio, 15 pacientes presentaron tumores en el tracto urinario superior (uréter y/o pelvis renal) y 62 en el tracto inferior (vejiga). De los 15 sujetos con UTUC, 9 (60%) tenían alteraciones en FGFR, frente a 6 que eran FGFR WT.

En cuanto a la supervivencia global, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con carcinomas del tracto urinario superior y aquellos con tumores en la vejiga.

Aunque pareció existir una tendencia hacia una mejor supervivencia en los pacientes con UTUC FGFR WT, esta diferencia no fue estadísticamente significativa, dado el tamaño limitado de la muestra ($p=0.76$) (**Figura 20**).

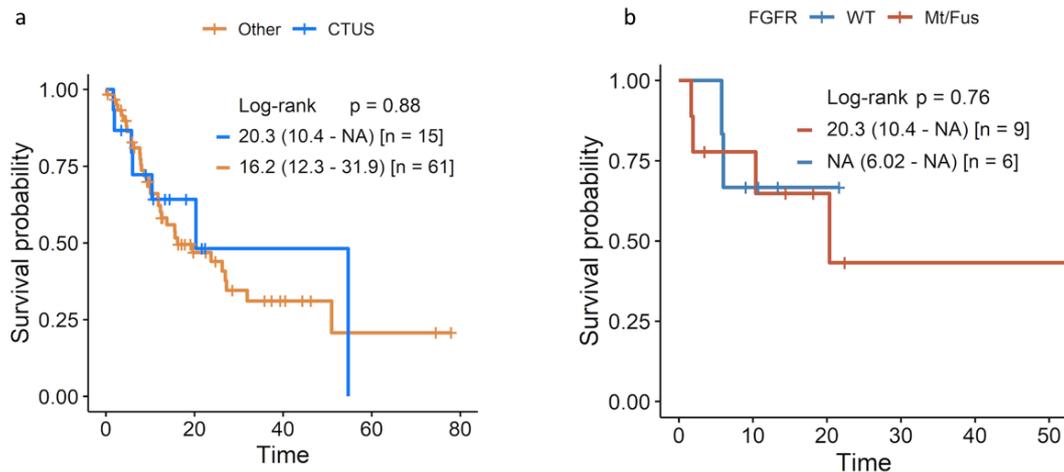


Figura 20. Supervivencia global de la población con carcinoma del tracto urinario superior (CTUS o UTUC) vs cáncer de vejiga (a) y de los pacientes con UTUC por estatus de FGFR (b)

6.7 Supervivencia global de la población de estudio en función del patrón de diseminación metastásica y por estatus de FGFR:

6.7.1. Metástasis hepáticas:

Se observó una proporción de metástasis hepáticas menor en la población FGFR AG (15.4%) con respecto a la población FGFR WT (21.6%) no estadísticamente significativa ($p=0.7$). (**Tabla 8**).

Curiosamente, no se observaron diferencias en términos de SG en la población FGFR mut/fus con metástasis hepáticas frente a la FGFR WT (14.1 meses vs 6.02 meses, $p=0.87$) como puede observarse en la **Figura 21**.

6.7.2. Metástasis óseas:

La proporción de metástasis óseas estuvo equilibrada entre las dos cohortes, siendo de un 42.3% en la cohorte FGFR mut/fus y de un 37.3% en la FGFR WT, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0.91$) como queda reflejado en la **Tabla 8**.

Tampoco se observaron diferencias en la supervivencia global entre los pacientes que presentaron metástasis óseas en la población FGFR mut/fus vs la población FGFR WT ($p=0.96$). **(Figura 21)**

6.7.3. Metástasis viscerales:

El 77.9% de la población de estudio presentó metástasis viscerales al debut. La proporción de metástasis viscerales estuvo equilibrada entre ambos subgrupos siendo del 80.8% en la cohorte FGFR mut/fus y del 76.5% en la FGFR WT ($p =1$) como podemos ver en la **Tabla 8**.

En este subgrupo, podemos observar una tendencia hacia una mejor supervivencia en la cohorte de pacientes FGFR WT, sin embargo, no estadísticamente significativa ($p=0.19$). **(Figura 21)**

6.7.4. Metástasis ganglionares:

La presencia de metástasis ganglionares exclusivas se observó en el 19.5 % de los pacientes metastásicos. La proporción de metástasis ganglionares fue similar entre ambas cohortes, siendo de un 19.2% en los pacientes FGFR AG y de un 19.6% en los pacientes FGFR WT ($p=1$). **(Tabla 8)**

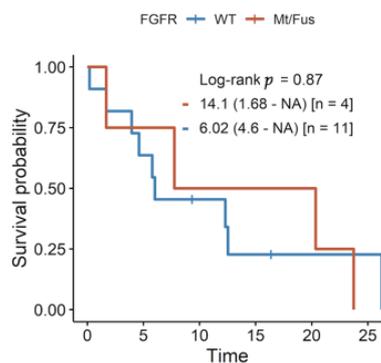
Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.73$) en cuanto a la supervivencia global entre los pacientes con metástasis ganglionares en función de la presencia o no de alteraciones genómicas en FGFR, aunque el número de pacientes fue limitado. **(Figura 21)**

Tabla 8. Localización metastásica en la población FGFR mut/fus y FGFR WT

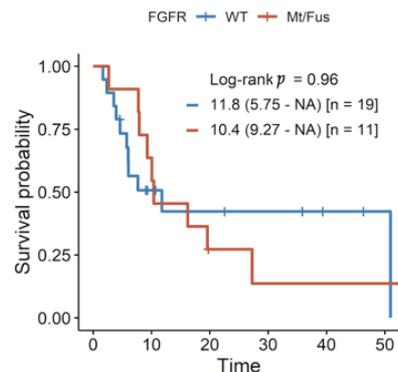
Variable	Modalidad	Metastásicos	Mut/fus(n = 28)	WT (n = 49)	p.valor
Metástasis hepáticas	No	61 (79.2%)	22 (84.6%)	39 (76.5%)	0.7
	Si	15 (19.5%)	4 (15.4%)	11 (21.6%)	
	No disponible	1 (1.3%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	

Metástasis óseas	No	46 (59.7%)	15 (57.7%)	31 (60.8%)	0.91
	Si	30 (39.0%)	11 (42.3%)	19 (37.3%)	
	No disponible	1 (1.3%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	
Metástasis ganglionares	Si	15 (19.5%)	5 (19.2%)	10 (19.6%)	1
Metástasis viscerales	Si	60 (77.9%)	21 (80.8%)	39 (76.5%)	1
	No disponible	1 (1.3%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	

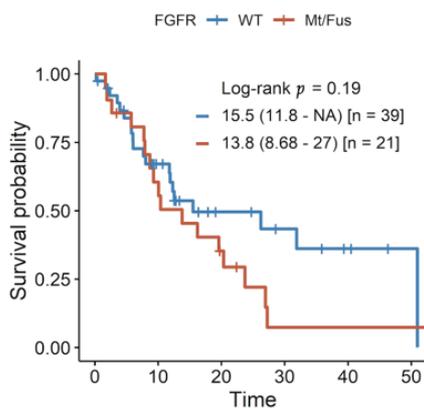
a) Metástasis hepáticas: SG por estatus de FGFR



b) Metástasis óseas: SG por estatus de FGFR



c) Metástasis viscerales: SG por estatus de FGFR



d) Metástasis ganglionares: SG por estatus de FGFR

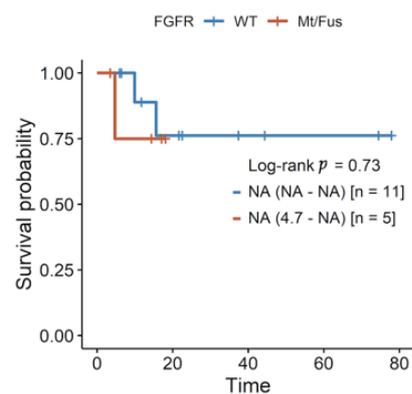


Figura 21. Supervivencia global de acuerdo a la localización metastásica por estatus de FGFR: metástasis hepáticas (a), metástasis óseas (b), metástasis viscerales (c), metástasis ganglionares (d)

6.8 Supervivencia global de la población de estudio en función de las variantes histológicas:

En la población de estudio, 7 pacientes tenían tumores con variantes histológicas (5 carcinomas uroteliales con componente de carcinoma escamoso, 1 neuroendocrino, 1 anaplásico) frente a 70 carcinomas uroteliales. No se observó diferencia en la supervivencia global entre las distintas histologías ($p=0.67$).

Centrándonos en los 5 pacientes con histología escamosa frente a la urotelial, tampoco observamos diferencias en la supervivencia global entre ambos subtipos histológicos ($p=0.94$). (**Figura 22**)

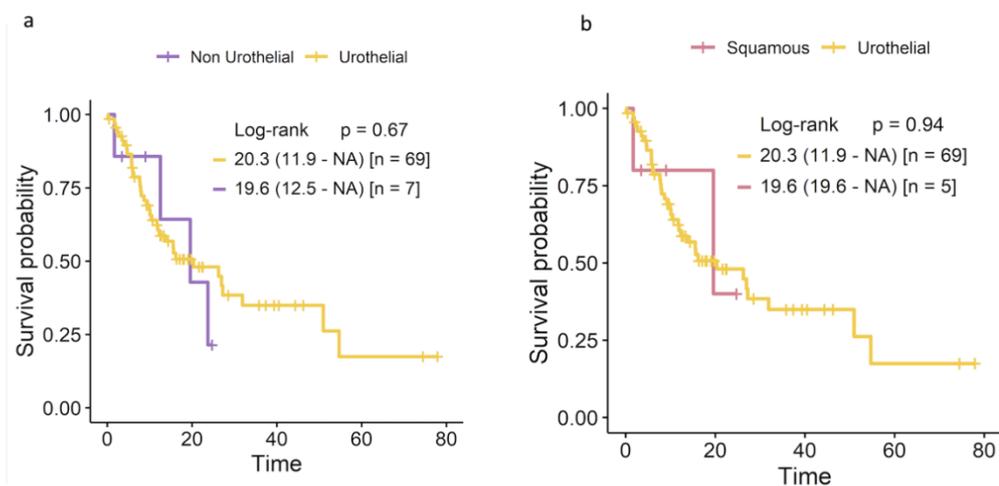


Figura 22. Supervivencia global por histología: urotelial vs no urotelial (a), escamoso vs urotelial (b)

6.9 Tasas de respuesta a la primera línea de tratamiento en la población de estudio y por estatus de FGFR

Todos los pacientes de la población de estudio recibieron tratamiento sistémico. El tratamiento de primera línea consistió en quimioterapia basada en

cisplatino (n:32), inmunoterapia (n:21), inhibidores de FGFR (iFGFR) (n:5) y otros (n:19) en 26 pacientes FGFR AG y 51 FGFR WT.

La ORR a todos los tratamientos recibidos en la población de estudio fue del 50 %, incluyendo 5 (7.1 %) respuestas completas (RC) y 30 (42.9 %) respuestas parciales (RP). Además, 8 (11.4 %) pacientes lograron una enfermedad estable (EE) como mejor respuesta, para una tasa de control de la enfermedad (DCR) del 61.4 %.

La ORR a la terapia de primera línea basada en cisplatino fue del 72.7% en la cohorte FGFR mut/fus y del 52.4% en la FGFR WT (p=0.45).

La ORR alcanzada con una primera línea de inmunoterapia fue del 60% en la cohorte FGFR mut/fus y de 31.3% en la FGFR WT (p=0.33). Aunque no fue estadísticamente significativa, se puede observar una tendencia hacia una mayor tasa de respuestas tanto a las terapias basadas en cisplatino como a la inmunoterapia en los pacientes FGFR AG con respecto a los pacientes FGFR WT.

Cinco pacientes con FGFR AG que recibieron un iFGFR en primera línea tuvieron peores ORR en comparación con las otras opciones de tratamiento en primera línea (20 % frente a 68.4 %, p = 0.12) y un mayor porcentaje de PE (80% vs 15.8%, p= 0.065). **(Tabla 9)**

Tabla 9. Respuesta al tratamiento por terapia específica de primera línea y por estatus de FGFR: de acuerdo a los criterios RECIST v1.1

Población	Tratamiento (n)	Tipo de respuesta						p-valor*	p-valor ORR
		RC	RP	EE	PE	ORR			
Global FGFR WT FGFR mut/fus	Todos (70)	5 (7,1%)	30 (42,9%)	8 (11,4%)	27 (38,6%)	35 (50,0%)	0,71	0,57	
		3 (6,5%)	18 (39,1%)	5 (10,9%)	20 (43,5%)	21 (45,7%)			
		2 (8,3%)	12 (50,0%)	3 (12,5%)	7 (29,2%)	14 (58,3%)			
Global	Basado en cisplatino (32)	2 (6,3%)	17 (53,1%)	5 (15,6%)	8 (25,0%)	19 (59,4%)	0,43	0,45	
FGFR WT		1 (4,8%)	10 (47,6%)	3 (14,3%)	7 (33,3%)	11 (52,4%)			
FGFR mut/fus		1 (9,1%)	7 (63,6%)	2 (18,2%)	1 (9,1%)	8 (72,7%)			
Global	Inmunoterapia (21)	2 (9,5%)	6 (28,6%)	2 (9,5%)	11 (52,4%)	8 (38,1%)	0,59	0,33	
FGFR WT		1 (6,3%)	4 (25,0%)	2 (12,5%)	9 (56,3%)	5 (31,3%)			
FGFR mut/fus		1 (20,0%)	2 (40,0%)	0 (0,0%)	2 (40,0%)	3 (60,0%)			

FGFR mut/fus	FGFR Inhibidores (5) Otros (19)	0 (0.0%)	1 (20.0%)	0 (0.0%)	4 (80.0%)	1 (20.0%)	0,065	0,12
		2 (10.5%)	11 (57.9%)	3 (15.8%)	3 (15.8%)	13 (68.4%)		

*(ref) Los p valor para los cuatro tipos de respuesta y para la ORR se obtuvieron utilizando las pruebas de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher

6.10 Factores pronósticos relacionados con la supervivencia:

6.10.1. Criterios de Bajorin:

Los factores pronósticos clásicos desarrollados en el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) y publicados en 1999 por Bajorin y colaboradores, estratificaron a los pacientes de acuerdo a dos factores pronósticos conocidos: metástasis viscerales (pulmón, hígado o hueso) y estado funcional de Karnofsky inferior al 80%. (230) Esta escala pronóstica ha sido ampliamente utilizada para predecir la supervivencia global de los pacientes carcinoma urotelial metastásico, antes de iniciar una primera línea de tratamiento con quimioterapia.

En nuestro estudio, hemos testado el modelo de Bajorin en la cohorte de pacientes FGFR AG y FGFR WT, para ver si mantiene su validez en aquellos pacientes con alteraciones moleculares en FGFR.

Además, hemos analizado su precisión pronóstica de acuerdo al tratamiento de primera línea recibido (quimioterapia o inmunoterapia) en los pacientes de nuestra serie.

De los 77 pacientes, 32 recibieron una primera línea de tratamiento con esquemas basados en cisplatino alcanzando medianas de SG : no alcanzada (cero factores de riesgo), 22.9 meses (un factor de riesgo) y 28 meses (dos factores de riesgo) siendo estas diferencias no estadísticamente significativas ($p=0.14$) como se puede observar en la **Figura 23**.

Un total de 21 pacientes, fueron tratados con una primera línea de inmunoterapia, con medianas de SG : no alcanzada (cero factores de riesgo), 25.6 meses (un factor de riesgo) y <1 mes (dos factores de riesgo) . En este caso, las diferencias fueron significativas ($p < 0.0001$).

Cuando analizamos los criterios de Bajorin según el estatus de FGFR: en la cohorte FGFR WT, se alcanzaron medianas de SG: no alcanzada (cero factores de riesgo), 26 meses (un factor de riesgo) y 3.4 meses (dos factores de riesgo), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0.00058$). En la cohorte FGFR mut/fus, observamos unas medianas de SG : no alcanzada (cero factores de riesgo) y de 12.4 meses (un factor de riesgo). Ninguno de los pacientes con FGFR GA presentó dos factores de riesgo. En esta cohorte, no se alcanzó la significación estadística ($p=0.11$). (**Figura 23**)

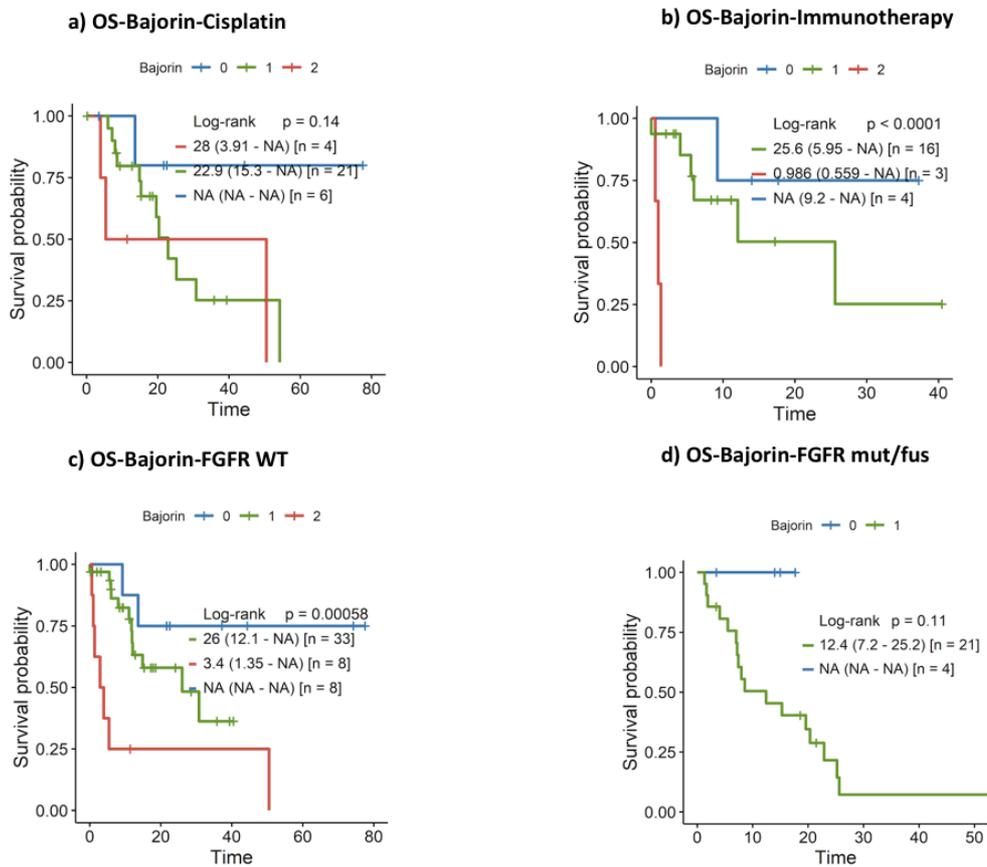


Figura 23. Supervivencia global de la población de estudio de acuerdo a los criterios de Bajorin (0,1,2 factores pronósticos). Pacientes tratados con quimioterapia (a), pacientes tratados con inmunoterapia (b), pacientes FGFR WT (c), pacientes FGFR GA (d)

6.10.2. Análisis univariable y multivariable en primera línea para la supervivencia global:

Se analizó la asociación entre distintos parámetros clínicos, así como la alteración molecular en FGFR con la SG.

El análisis univariable permitió identificar factores clínicos y moleculares que afectaron significativamente a la supervivencia. El análisis multivariable identificó factores pronósticos independientes.

La regresión de Cox univariable se realizó con 6 variables hipotéticamente asociadas con la SG: edad, localización del tumor primario, tipo de tratamiento de primera línea, presencia de metástasis viscerales, ECOG PS y estatus de FGFR. Los resultados se consideraron estadísticamente significativos para valores de $p < 0,05$.

En nuestra cohorte, excepto la localización tumoral, todas las variables, se asociaron de manera estadísticamente significativa con la SG.

Teniendo en cuenta, el régimen de tratamiento recibido en primera línea, se observó que los pacientes que recibieron un tratamiento de primera línea con cisplatino frente a otros tratamientos, presentaron un mejor pronóstico, considerándose el tratamiento con cisplatino un factor determinante para la mejor supervivencia global.

Las alteraciones genómicas en FGFR se asociaron significativamente con una peor SG (HR: 2.59) y se comportaron como variables independientes en el análisis multivariable como podemos observar en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Análisis univariable y multivariable de los distintos factores pronósticos y su relación con la supervivencia global:

Variable	Modalidad	Univariable		Multivariable	
		HR	95% IC	HR	95% IC
Edad	(contínua)	1.02	0.992 - 1.05	1.03	1.00 - 1.07
Localización	No vejiga	1 (ref)*	-	1 (ref)	-

	Vejiga	1.07	0.47 - 2.42	1.39	0.56 - 3.48
Tratamiento	Cisplatino	1 (ref)	-	1 (ref)	-
	Inmunoterapia	1.32	0.60 - 2.90	2.40	0.97 - 5.90
	Otros	1.71	0.84 - 3.48	3.17	1.38 - 7.24
Metástasis viscerales	No	1 (ref)	-	1 (ref)	-
	Si	4.87	1.48 - 16.0	11.4	2.56 - 50.9
ECOG > 1	No	1 (ref)	-	1 (ref)	-
	Si	2.79	1.29 - 6.00	6.40	2.43 - 16.9
FGFR	Wild-type	1 (ref)	-	1 (ref)	-
	Mut/Fus	1.87	1.01 - 3.48	2.59	1.21 - 5.55

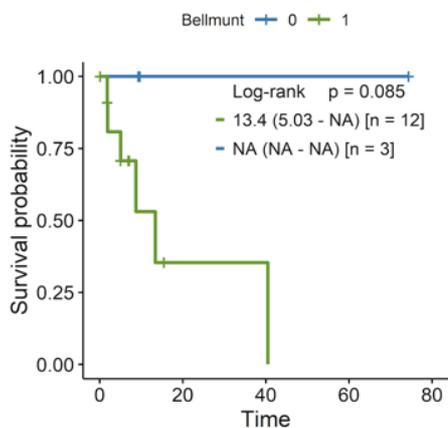
*(ref) categoría usada como referencia

6.10.3. Criterios de Bellmunt:

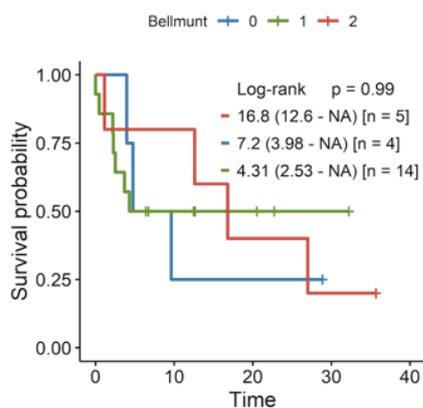
Posteriormente, testamos el modelo pronóstico de Bellmunt previo al inicio de la segunda línea de tratamiento en nuestra serie. (232)

Observamos una tendencia hacia una mejor supervivencia global en los 15 pacientes tratados con quimioterapia sin factores de riesgo con respecto a los que presentaron un factor de riesgo (no alcanzada vs 13.4 meses, $p=0.085$). Sin embargo, ningún paciente de nuestra serie presentó dos o más factores de riesgo en segunda línea. Esta tendencia no se encontró en aquellos pacientes que recibieron una segunda línea con inmunoterapia ($p=0.99$) ni tampoco estratificando por estatus de FGFR. **(Figura 24)**

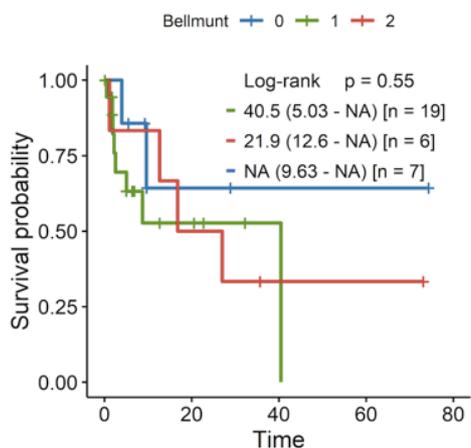
a) OS-Bellmunt-Chemotherapy



b) OS-Bellmunt-Immunotherapy



c) OS-Bellmunt-FGFR WT



d) OS-Bellmunt-FGFR mut/fus

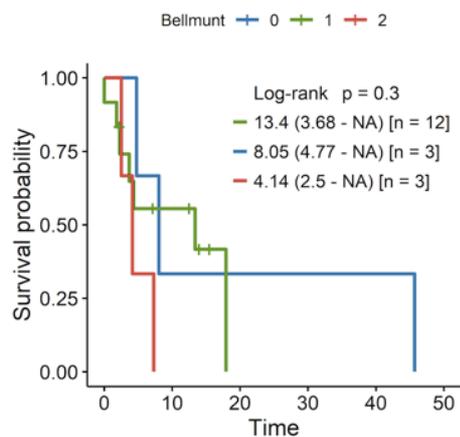


Figura 24. Supervivencia global de la población de estudio de acuerdo a los criterios de Bellmunt (0,1,2,3 factores pronósticos). Pacientes tratados con quimioterapia (a), pacientes tratados con inmunoterapia (b), pacientes FGFR WT (c), pacientes FGFR GA (d)

6.11 Estudio de biomarcadores en la población con alteraciones genómicas en FGFR:

6.11.1 Parámetros de eficacia por subtipo de alteración molecular:

Para caracterizar mejor la asociación de las alteraciones genómicas en FGFR con el pronóstico, incluimos 4 casos que presentaron una amplificación de FGFR a la cohorte de pacientes con FGFR mut/fus (n = 30).

Analizamos la SLP y la SG según el tipo de alteración molecular en FGFR. En nuestro estudio, los resultados fueron equivalentes, y no se observaron diferencias estadísticamente significativas en términos de supervivencia, independientemente de la alteración genómica presente. **(Figura 25).**

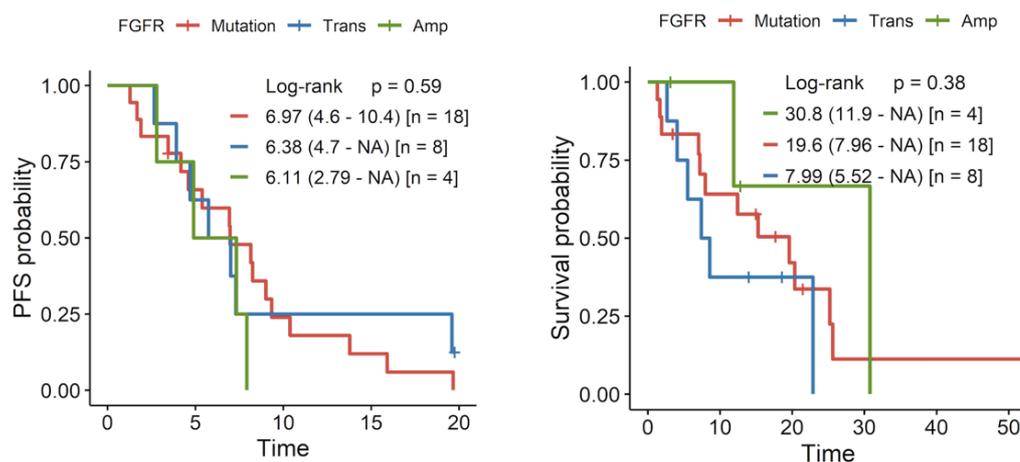


Figura 25. Supervivencia libre de progresión y supervivencia global por tipo de alteración genómica en FGFR: *Trans: translocación/fusión; Amp: amplificación

6.11.2 Respuesta a tratamiento por subtipo de alteración molecular:

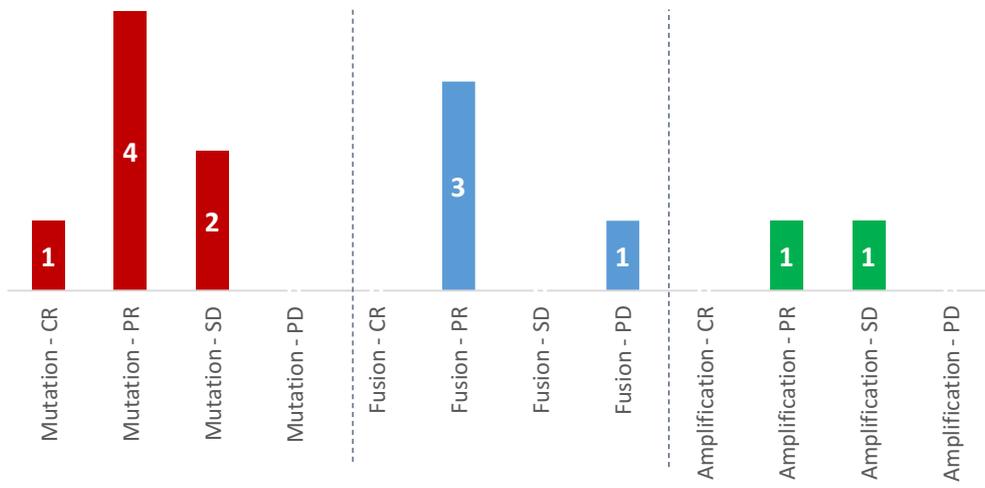
Posteriormente, exploramos la relación entre el tipo de alteración genómica de FGFR y la respuesta a los distintos tratamientos con: cisplatino, inmunoterapia e iFGFR. Tampoco se observaron diferencias significativas en las tasas de respuesta según el subtipo de aberración a ningún tratamiento específico como se puede observar en la **Tabla 11** y **Figura 26**.

Tabla 11. Tasas de respuestas objetivas (ORR) por tipo de alteración genómica de FGFR (mutación, fusión, amplificación)

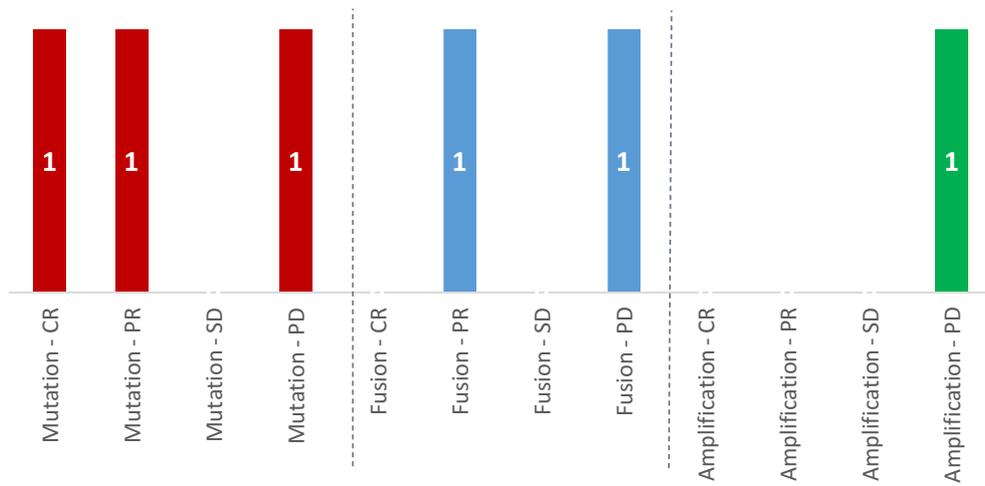
		Primera línea: Cisplatino (n = 13)				p valor
FGFR	<i>Mutación</i>	RC	RP	EE	PE	0.64
	<i>Fusión</i>	1 (14.3%)	4 (57.1%)	2 (28.6%)	0 (0.0%)	
	<i>Amplificación</i>	0 (0.0%)	3 (75.0%)	0 (0.0%)	1 (25.0%)	
		Primera línea: Inmunoterapia (n = 6)				p valor
FGFR	<i>Mutación</i>	RC	RP	EE	PE	1
	<i>Fusión</i>	1 (33.3%)	1 (33.3%)	0 (0.0%)	1 (33.3%)	
	<i>Amplificación</i>	0 (0.0%)	1 (50.0%)	0 (0.0%)	1 (50.0%)	
		Primera línea : inhibidores FGFR (n = 5)				p valor
FGFR	<i>Mutación</i>	RC	RP	EE	PE	1
	<i>Fusión</i>	0 (0.0%)	1 (25.0%)	0 (0.0%)	3 (75.0%)	
	<i>Amplificación</i>	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (100.0%)	
		Segunda línea: Inmunoterapia (n = 8)				p valor
FGFR	<i>Mutación</i>	CR	PR	SD	PD	0.57
	<i>Fusión</i>	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (33.3%)	2 (66.7%)	
	<i>Amplificación</i>	0 (0.0%)	1 (33.3%)	0 (0.0%)	2 (66.7%)	
		Segunda línea: inhibidores FGFR (n = 11)				p valor
FGFR	<i>Mutación</i>	CR	PR	SD	PD	0.79
	<i>Fusión</i>	0 (0.0%)	1 (100.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
	<i>Amplificación</i>	0 (0.0%)	1 (50.0%)	0 (0.0%)	1 (50.0%)	
		Tercera línea: Inmunoterapia (n = 8)				p valor
FGFR	<i>Mutación</i>	CR	PR	SD	PD	1
	<i>Fusión</i>	1 (16.7%)	5 (83.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
	<i>Amplificación</i>	0 (0.0%)	1 (100.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	

Figura 26: Tasas de respuestas por tipo de alteración genómica de FGFR (Rojo: mutación; Azul: fusión; Verde: amplificación). Frecuencia absoluta de número de casos con FGFR GA identificados de acuerdo al número de línea y tipo de tratamiento recibido

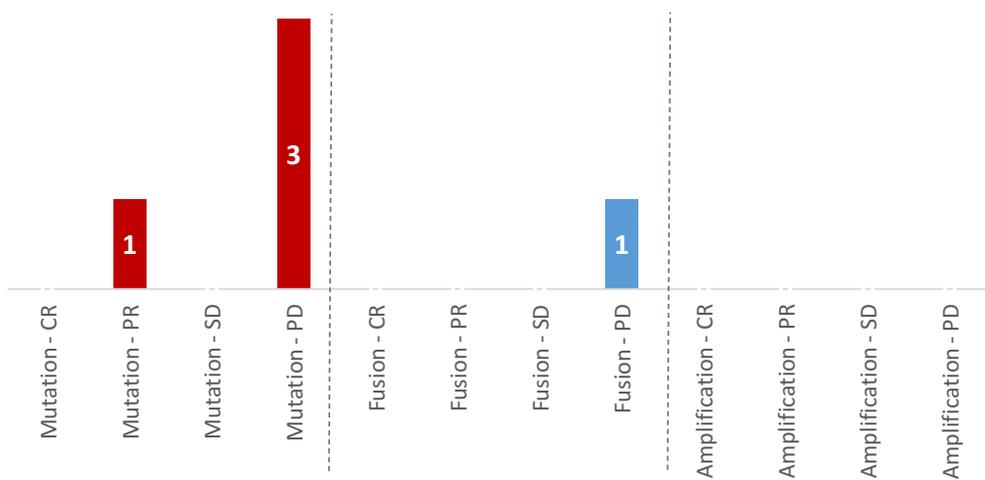
Primera línea: Cisplatino (n = 13)



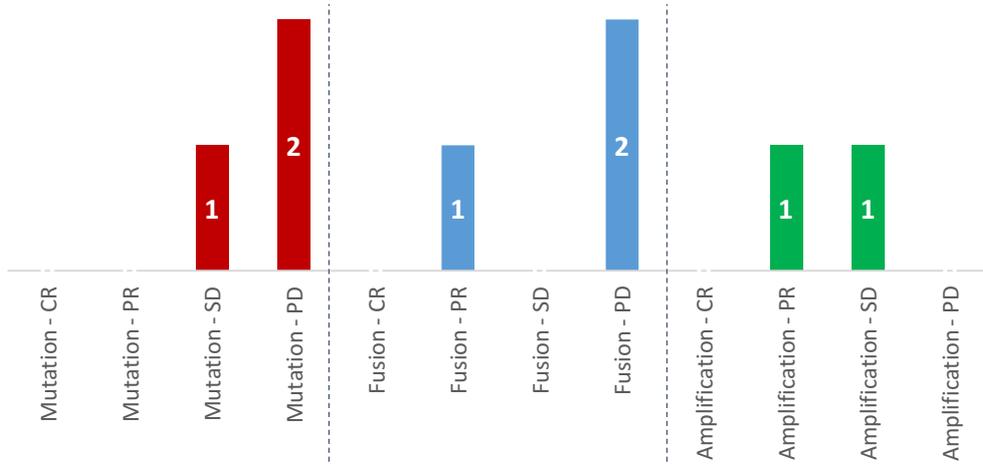
Primera línea: Inmunoterapia (n = 6)



Primera línea: inhibidores FGFR (n = 5)



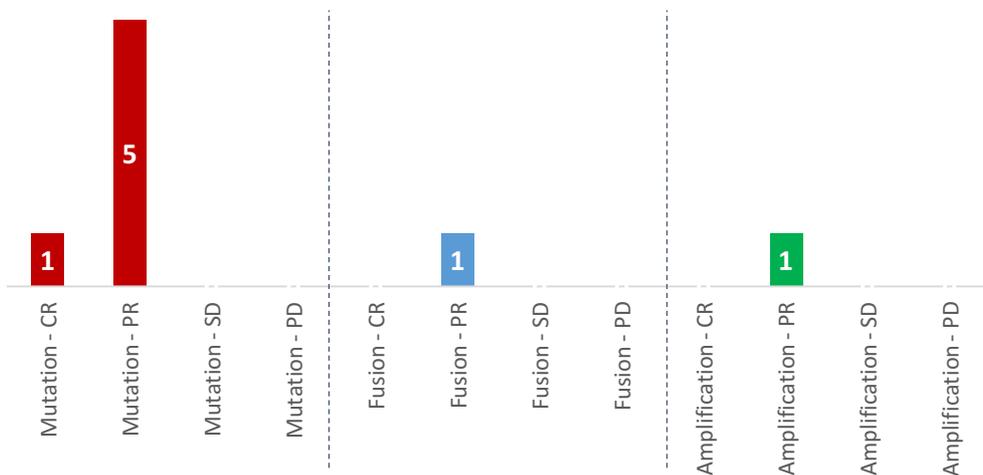
Segunda línea: Inmunoterapia (n = 8)



Segunda línea: inhibidores FGFR (n = 11)



Tercera línea: Inmunoterapia (n = 8)



6.11.3 Correlación de FGFR AG con otros biomarcadores:

Posteriormente, analizamos las posibles interacciones entre las alteraciones genómicas en FGFR y marcadores moleculares de respuesta a la inmunoterapia como el PD-L1 y el TMB o mutaciones de interés concurrentes, como la pérdida de CDKN2A/B y las mutaciones del promotor TERT. Se calcularon matrices de correlación Phi y se construyó un diagrama de Venn en los 30 tumores FGFR AG para determinar su posible relación con la supervivencia global. **(Figura 27, Figura 28 y Figura 29)**

La prevalencia por NGS de mutaciones del promotor TERT fue del 36% (11/30) y el 30% (9/30) tenían pérdida de CDKN2A/B. La expresión positiva por inmunohistoquímica de PD-L1 estuvo presente en 8/30 (26%) y los resultados de TMB estuvieron disponibles en 11/30 (36%) de las muestras.

Los tumores FGFR AG con un PD-L1 CPS ≥ 1 se asociaron con peor SG ($p=0.028$). También observamos una tendencia hacia una peor SG en pacientes con FGFR AG que asociaban mutaciones del promotor TERT o tenían un TMB >10 . **(Figura 27)**

La pérdida de CDKN2A/B y las mutaciones del promotor de TERT se correlacionaron positivamente (Phi 0.56). También PD-L1 (CPS ≥ 1) y TMB >10 (Phi 0.31). Otra asociación significativa se encontró entre las mutaciones de FGFR y las mutaciones del promotor TERT con un valor intermedio (Phi 0.34). Se identificó una correlación más débil entre las mutaciones de FGFR y la pérdida de CDKN2A/B (Phi 0.24). Estas correlaciones no se observaron en los casos FGFR translocados o amplificados. También se observó una asociación débil entre los genes PD-L1 CPS ≥ 1 y FGFR mutado (Phi 0.03) o amplificado (Phi 0.15). **(Figura 28 y Figura 29)**

Figura 27. Supervivencia global por biomarcadores adicionales: pérdida CDKN2A/B (a), mutación promotor TERT (b), PD-L1 (CPS <1 vs CPS ≥ 1) (c), TMB (≤ 10 vs >10) (d)

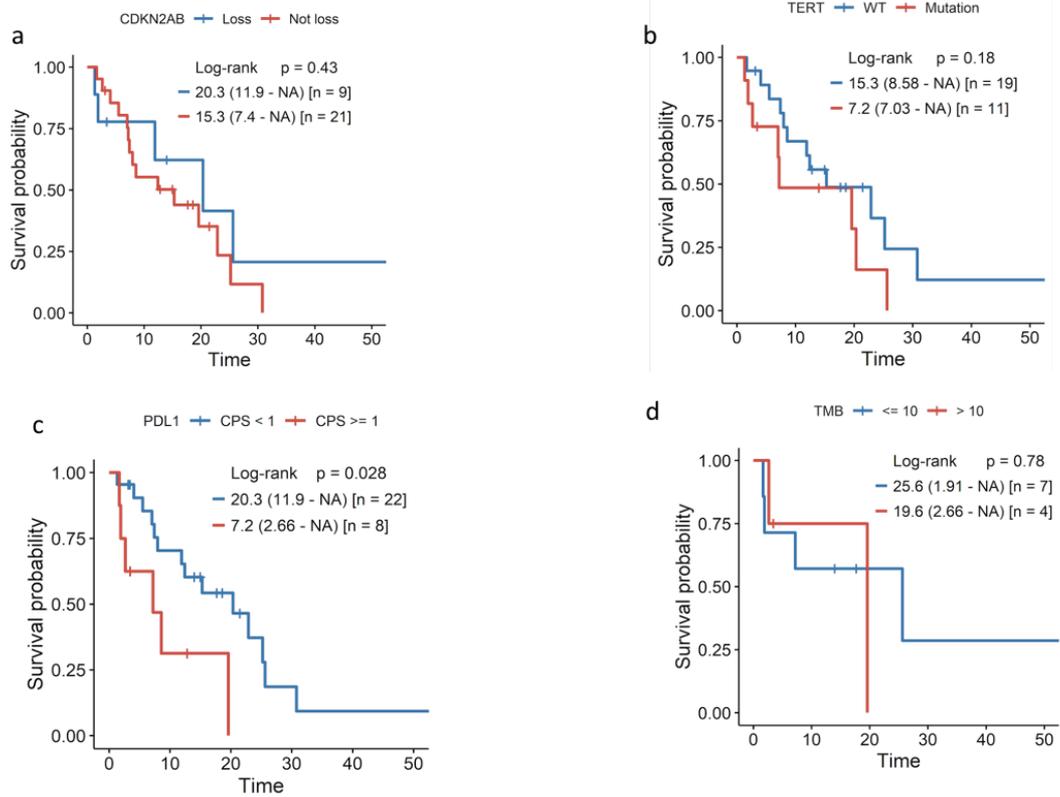
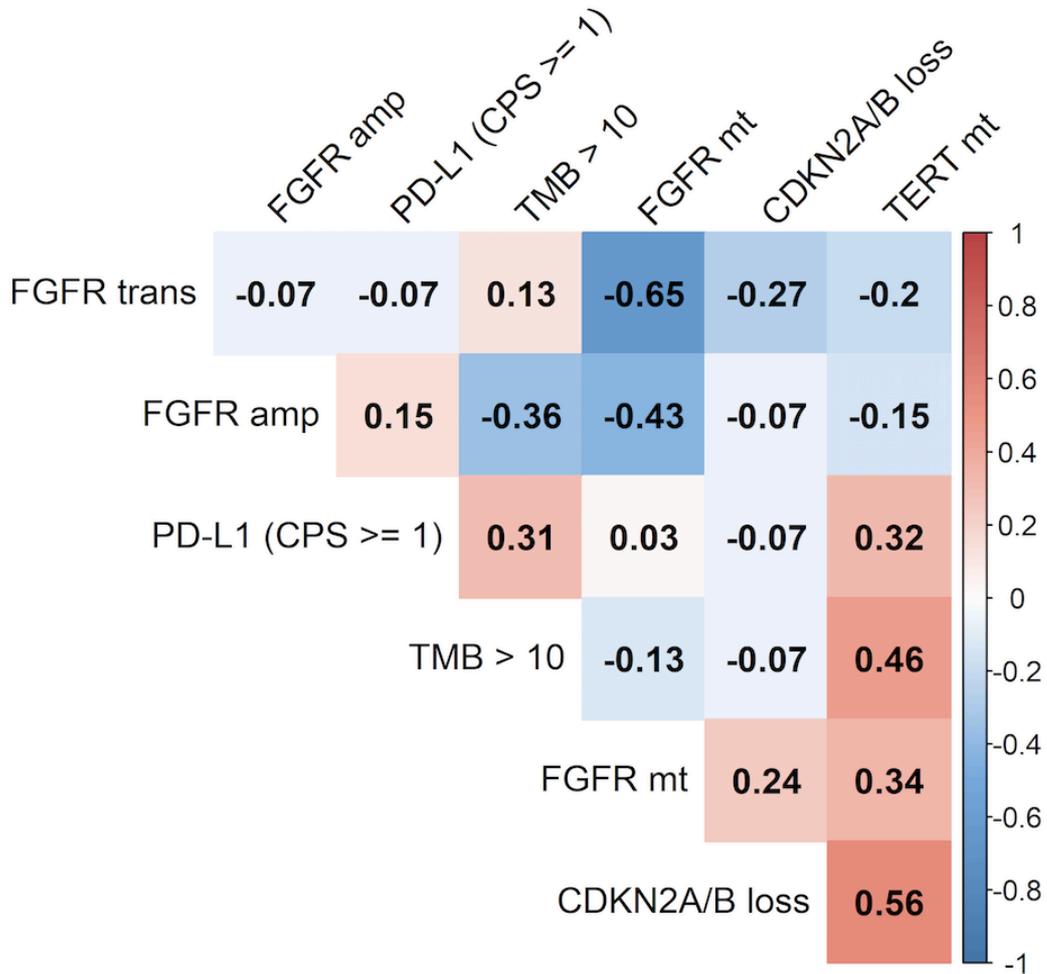
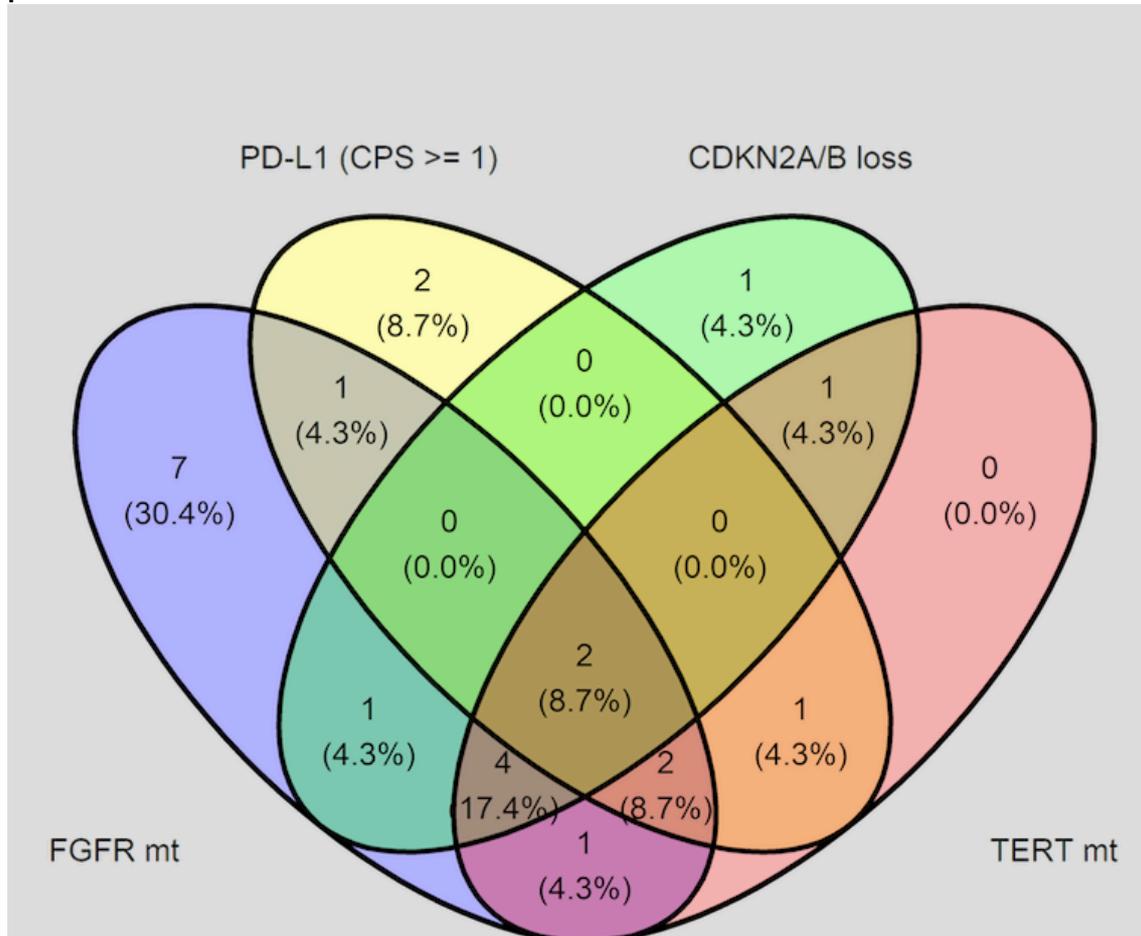


Figura 28. Coeficiente de Phi de acuerdo a la correlación entre distintos biomarcadores en la población FGFR AG



Correlación Phi. Heat map, el índice Phi varía de -1 a +1: el rojo indica una correlación positiva (el rojo más oscuro indica una correlación más fuerte entre dos biomarcadores); el azul indica una correlación negativa. El blanco (phi = 0) representa que no existe correlación

Figura 29. Diagrama de Venn que representa la superposición entre la expresión de diferentes biomarcadores: expresión de PD-L1 \geq 1, Alteraciones genómicas en FRGR, pérdida del inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina (CDKN2A/B), mutación del promotor del TERT:



7. DISCUSIÓN:

7.1 Introducción

En el actual trabajo presentamos el análisis global de una población de pacientes con carcinoma de vejiga y del tracto urinario superior tratados dentro de la práctica clínica asistencial y de ensayo clínico en el Grupo Hospitalario HM Hospitales en los cuáles se ha revisado los informes del estatus molecular de FGFR en tejido tumoral.

De la misma manera, se ha procedido a analizar el impacto que presenta esta alteración genómica a nivel pronóstico y su correlación con la respuesta a las distintas terapias. Además, se evaluó la precisión de modelos pronósticos previos en la población FGFR AG y FGFR WT.

Por último, se realizó un análisis para evaluar su asociación con otras alteraciones genéticas en la población FGFR GA de forma exclusiva.

Las principales características de la cohorte, las limitaciones encontradas y los resultados obtenidos se discuten y se contrastan con estudios similares a continuación.

7.2. Características de la población de estudio

El presente estudio identificó 201 pacientes que habían sido valorados en el Servicio de Oncología Médica de HM Hospitales a lo largo de un periodo de 10 años (enero 2010- diciembre 2020).

De los 201 casos, en 98 se había determinado la presencia de las alteraciones en FGFR y representaron la población global. De estos 98 pacientes, 77 debutaron o progresaron en forma de enfermedad metastásica y fueron considerados la población de estudio.

De los 77 pacientes de la población de estudio, 26 (33.7%) presentaron alteraciones genómicas en FGFR y 51 pacientes eran FGFR WT. Esta frecuencia concuerda con el porcentaje de alteraciones en FGFR descrito en otras series en pacientes con CUM.

La edad media de diagnóstico de la enfermedad oncológica en nuestra serie es de 67 años, similar a la reportada en la literatura. (3)

Respecto a la distribución por sexos el 71.4% eran varones y el 28.6% mujeres, datos que reflejan lo publicado a nivel mundial. (4)

En cuanto a la localización del tumor primario, el 80.5% se encontraba en la vejiga y un 19.5% en el tracto urinario superior. Encontramos una mayor distribución de tumores del tracto urinario superior en nuestro estudio, siendo la incidencia de los tumores del UTUC descritos en la literatura de entre un 5-10%. (362) (365) (217) Esta mayor proporción de UTUC y su asociación con la SG, ha sido analizada de forma específica en nuestro estudio.

En relación a la localización de las metástasis, el 77.9% de los pacientes presentaron diseminación visceral, siendo un factor de mal pronóstico claramente establecido,(230) mientras que en un 19.5% la localización fue ganglionar exclusiva. (366)

Un 19.5% de los pacientes presentaron metástasis hepáticas y un 39% óseas al debut de la enfermedad avanzada, datos que coinciden con series más amplias previamente publicadas. Ambas se han asociado con un mal pronóstico.(367)

De los 77 pacientes, 73 (94,8%), fueron sometidos a una cirugía cuando su enfermedad era localizada. Es de destacar que solo un 32,5% de los pacientes recibieron tratamiento con quimioterapia perioperatoria (15.6% neoadyuvante, 16.9% adyuvante), datos que concuerdan con lo publicado en la literatura. (368) (369) . Aunque la administración de quimioterapia perioperatoria en el MIBC, ha aumentado a lo largo de los años, todavía no satisface las necesidades reales.(156)

De los 77 pacientes metastásicos que recibieron una primera línea de tratamiento, el 42.8% de los pacientes eran elegibles a terapias con cisplatino. Esto supone que menos de la mitad de los pacientes, son aptos para recibir

esquemas con cisplatino, datos similares a lo publicado en la literatura. (156)
Dada la inegibilidad a cisplatinato por diversos motivos (insuficiencia renal mayoritariamente y comorbilidades asociadas a la edad) un 10.4% recibió esquemas de combinación con carboplatino.

Cabe destacar que un tercio de nuestros pacientes (29.9%) recibió un tratamiento con inmunoterapia como primera línea de tratamiento para el CVM o UTUCM por diversos motivos: tiempo de finalización de quimioterapia perioperatoria inferior a 6 meses, eventos cardiológicos previos, insuficiencia renal o edad avanzada, siendo lo reportado en otras series de un 30 % (370). Hay que resaltar, que en la práctica clínica real, los pacientes con CUM a menudo son más frágiles que los incluidos en los ensayos clínicos. Tenemos que tener en cuenta que, a partir de 2018, de acuerdo a la alerta de seguridad de la EMA y la FDA, basada en los resultados de dos ensayos fase III que informaron de una SG más corta en los pacientes PD-L1 negativos, el tratamiento con inmunoterapia en primera línea estuvo restringido a aquellos pacientes con expresión positiva de PD-L1. (247) (371)

De los 26 pacientes con alteraciones genómicas en FGFR, 5 (19.2%) recibieron una primera línea de tratamiento con iFGFR, dado que presentaron una rápida progresión (< 1 año) a la quimioterapia perioperatoria. Este dato induce a pensar, una diferente respuesta a la quimioterapia perioperatoria o una supervivencia libre de recaída más corta en la población FGFR AG, como ya ha sido reportado previamente en otras series en la población FGFR AG. (372)

7.3 Determinación de FGFR

En nuestro estudio, las mutaciones en FGFR3 fueron los eventos genómicos más frecuentes (57.7%), seguidos de las fusiones (23.1%) y las amplificaciones tal y como está descrito en el TCGA donde se identificaron 12% de mutaciones en FGFR3 y 2% de fusiones en FGFR3 en el MIBC. (115) (118)

La mutación más frecuente fue la FGFR3 S249C, localizada en el dominio extracelular y la fusión la FGFR3-TACC3. En general, las mutaciones de FGFR3 (que incluyen R248C, S249C y Y375C) inducen la activación de FGFR3 y las fusiones de FGFR3-TACC3 dan como resultado una proteína de fusión FGFR3-TACC3, que puede autodimerizarse, lo que lleva a la activación constitutiva del dominio quinasa de FGFR3. (116)

Las mutaciones de FGFR3 más frecuentes descritas en el TCGA fueron la S249C y la Y373C, y se encontraron mayoritariamente en tumores en estadio más localizado (21 % en T2 frente a 10 % en T3, T4; $p = 0.003$), asociándose con una mejor supervivencia ($p = 0.04$). (229) (115)

En el cáncer de vejiga, el TCGA ha informado de mutaciones activadoras missense en S249C (7.9 %) y R248C (0.7 %) en el dominio extracelular; Y373C (2.0 %), G370C (1.2 %), S371C (0.5 %) y G380R (0.5 %) en el dominio transmembrana; y K650E (0.5%) en el dominio quinasa intracelular. (116)

Las mutaciones en FGFR suelen estar producidas por variantes en la secuencia de ADN que ocurren cuando se altera un solo nucleótido (single nucleotide variants: SNV), y hacen que el receptor sea activo de forma constitutiva al conferir una mayor dimerización, una mayor actividad de la quinasa o una mayor afinidad por los ligandos de FGF. (317) (373)

A diferencia de otros receptores, como EGFR o VEGF, en los que las SNV tienden a ocurrir en el dominio catalizador exclusivamente, las SNV en FGFR pueden producirse en el dominio extracelular, transmembrana o el intracelular. (374) (373)

A día de hoy no está claramente establecido el rol de la amplificación de FGFR en los tumores uroteliales y la amplificación de FGFR no resultó ser un predictor de la respuesta tumoral en ninguno de los ensayos disponibles. (375)

A pesar de la frecuencia relativamente baja de amplificaciones de FGFR3, en algunos casos albergan una mutación concomitante de FGFR3 o una sobreexpresión de la proteína FGFR3, que indica que la activación de la señalización transmitida por FGFR3 puede verse reforzada por mecanismos moleculares sinérgicos. (376)

Dado que los inhibidores de FGFR están aprobados en los pacientes con carcinoma urotelial metastásico con mutaciones y fusiones de este gen, no incluimos en los análisis de SLP o SG los casos amplificados.

Sin embargo, en el análisis de biomarcadores, para analizar su correlación con distintos marcadores moleculares y para testar los parámetros de eficacia por tipo de alteración molecular, añadimos 4 pacientes con amplificación de FGFR .

El material tumoral obtenido mediante la biopsia a menudo es limitado y una potencial estrategia para detectar aberraciones de FGFR sería a través de su estudio en el ADN tumoral libre circulante extraído del plasma.(377)

A día de hoy, existen algunas preguntas sin responder en relación a la falta de estandarización en las técnicas de secuenciación tumoral de FGFR en los distintos ensayos clínicos.

Un estudio reciente señaló la discrepancias existente entre la biopsia en tejido y la biopsia líquida para determinar las mutaciones o fusiones de FGFR ; las diferencias fueron particularmente evidentes en los casos en que la biopsia líquida se realizó con un intervalo de tiempo de > 180 días entre ambas pruebas. (226)

7.4 Principales limitaciones del estudio

Una de principales limitaciones es que se trata de un estudio retrospectivo, basado en la práctica clínica diaria habitual y de pacientes incluidos en ensayos clínicos.

Aunque se siguieron los patrones estándar de tratamiento del momento en que fueron diagnosticados, ha habido un importante punto de inflexión en la terapéutica del cáncer urotelial a partir del 2016 secundario a la aprobación de los checkpoint inhibitors por la FDA y posteriormente por la EMA y al desarrollo de nuevos fármacos como los inhibidores de FGFR, aprobados en 2019 por la FDA. Este hecho puede haber influido en los resultados de eficacia y en la secuencia de tratamiento de nuestra población.

Tenemos que tener en cuenta que, al tratarse de un estudio retrospectivo que se ha realizado de acuerdo a las guías de práctica clínica o criterios de inclusión de los distintos ensayos clínicos, y dada la incorporación de

tecnologías de próxima generación (NGS), los pacientes de los que tenemos información de su secuenciación, son mayoritariamente pacientes que han sido tratados en los últimos años (2015 en adelante).

A pesar de que en la revisión de los informes analizados encontramos que un gran porcentaje de los pacientes fueron previamente secuenciados como parte de la práctica asistencial o dentro de un ensayo clínico (48.7% de la población global y 70% de la metastásica) existe un 30% de los pacientes, en los que no obtuvimos información acerca del estatus mutacional de FGFR, lo que nos impidió incluirlos en los análisis de eficacia, respuesta terapéutica o en el estudio de biomarcadores.

Hay que considerar que la mayoría de los tumores sujetos al análisis molecular eran muestras del tumor primario y pudo eliminar la capacidad de detectar alteraciones genómicas que podrían estar presentes en el tumor metastásico. No obstante, esto refleja las limitaciones de la práctica clínica habitual.

Del mismo modo, encontramos en los informes revisados que, el análisis de la expresión inmunohistoquímica de PD-L1 solo se realizó en el 21.3% de las muestras tumorales totales, perdiendo parte de información clave molecular para el estudio.

Además, a partir del 2018, el tratamiento con inmunoterapia en primera línea para el CUM, se restringió a los pacientes con expresión PD-L1 positiva, lo que pudo condicionar la elección de la terapia de primera línea desde ese momento.

Al ser un estudio basado en la práctica clínica real y en pacientes tratados dentro de ensayos clínicos, los patrones terapéuticos son heterogéneos, habiéndose empleado diversos esquemas de inmunoterapia, así como distintos inhibidores de FGFR dentro de ensayos clínicos, por lo que las tasas de respuesta pueden variar.

Todo ello, junto con el número relativamente pequeño de pacientes, limita el poder estadístico de nuestro análisis. Sin embargo, hemos de destacar que nuestro estudio incluye una cohorte representativa de pacientes FGFR AG (34%), teniendo en cuenta la frecuencia de esta alteración molecular en el CUM y superior a otros estudios donde el porcentaje de pacientes recogidos con FGFR GA es inferior.(116)

Por otra parte, todas las muestras pertenecen a un mismo Grupo Hospitalario, pudiendo representar solo a una parte de la población general.

Además, en los registros de los pacientes, puede existir falta de datos debido a la pérdida de parte de la población que ha sido derivado a otros centros por distintos motivos, por lo que a la hora de realizar el análisis de seguimiento, no estuvieron disponibles en 1 de los pacientes.

7.5 Supervivencia libre de progresión y supervivencia global de la población de estudio y en función del estatus de FGFR:

La mediana de supervivencia libre de progresión a la primera línea de tratamiento para la enfermedad metastásica en la población de estudio fue de 6 meses.

Aunque hubo una tendencia hacia una SLP más prolongada en aquellos pacientes con FGFR mut/fus frente a los FGFR WT (6 vs 5 meses, $p=0.71$), las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Las medianas de SLP fueron similares a las reportadas en los ensayos de primera línea con tratamientos basados en cisplatino.(146)

La supervivencia global de la población de estudio fue de 20 meses, superior a la descrita en el carcinoma vesical metastásico.(146) Hay que tener en cuenta que un 39% de nuestra población recibió hasta 3 líneas de tratamiento , superior a lo reportado en series previas, donde menos de un 15% de los pacientes llegaron a recibir una tercera línea de tratamiento (378). Esto ha podido ser debido al cambio en el arsenal terapéutico experimentado en los últimos años a lo largo de la evolución de este estudio y a las largas respuestas terapéuticas mantenidas que han sido posibles gracias al tratamiento con inmunoterapia en algunos pacientes.

Con respecto a la supervivencia global en base al estatus de FGFR, la mediana de supervivencia global en pacientes con FGFR AG fue menor con respecto a los pacientes FGFR WT, con unas diferencias estadísticamente significativas (16.2 meses vs 31.9 meses, $p= 0.045$).

Esta observación es congruente con los resultados reportados en los análisis univariable y multivariable.

En el análisis multivariable, se objetivó que FGFR es un factor pronóstico independiente asociado con la supervivencia global (HR: 2.59), al igual que la presencia de metástasis viscerales (HR 11.4), el ECOG PS >1 (HR 6.40), o el tratamiento de primera línea con esquemas diferentes al cisplatino (HR 3.17). Aunque de acuerdo al valor de la Hazard Ratio, FGFR AG no parecen tener tanta influencia como las metástasis viscerales o el ECOG PS, el hecho de presentar una alteración de FGFR representa un factor de riesgo para una peor SG.

Dada la alta frecuencia de alteraciones en FGFR en el NMIBC, su papel pronóstico ha sido más estudiado en este entorno.

Como indicadores pronósticos, los carcinomas uroteliales con alteraciones del gen FGFR3 se han asociado con tumores de bajo grado y estadio y con un subtipo luminal-papilar. (64) (379) (229)

En un estudio retrospectivo unicéntrico realizado en 263 pacientes con NMIBC de alto grado, de los cuales el 43% presentaban FGFR AG, no se observaron diferencias significativas en la SLP, supervivencia libre de recaída (SLR) ,ni en la supervivencia específica de enfermedad (DSS) en aquellos que recibieron tratamiento con BCG, ni entre los pacientes con o sin FGFR AG. (380)

Por el contrario, un metaanálisis de 62 estudios con 9229 pacientes con NMIBC, tanto la mutación de FGFR3 como la sobreexpresión proteica de FGFR se asociaron significativamente con la SLR, SLP y SG. La mutación de FGFR3 se asoció con una peor supervivencia libre de recaída (HR: 1.30; IC 95 %: 1,08-1,57) pero una mejor SLP (HR: 0,62; IC 95%: 0,42-0,92). (381)

En otro estudio, los NMIBC que presentaron una mutación en FGFR3 tras la primera resección tumoral se asociaron con una peor SLR. Aunque las mutaciones de FGFR3 caracterizaron a un subgrupo de NMIBC de buen pronóstico, los pacientes con tumores TaG1 FGFR mutados tenían un mayor riesgo de recurrencia. (382) (376)

En nuestro estudio, examinamos el valor pronóstico de las mutaciones y fusiones de FGFR y su correlación con la SLP y la SG. Los pacientes con alteraciones genómicas de FGFR no demostraron diferencias en la SLP pero sí en la SG frente a los pacientes FGFR WT.

Nuestros datos indican que las mut/fus de los genes FGFR son un factor pronóstico independiente y se asocian con una peor SG.

Estos resultados hacen pensar que, a diferencia de lo que ocurre en la enfermedad localizada, donde las alteraciones genómicas en FGFR condicionan un buen pronóstico, una vez que los tumores FGFR GA metastatizan se comportan de una manera agresiva en comparación con los FGFR WT, pudiéndose diferenciar dos entidades biológicamente distintas.

A pesar de que las alteraciones genómicas en FGFR se han relacionado con un mal pronóstico en otros subtipos tumorales, (383) los estudios que analizan el papel pronóstico de FGFR en el CUM son limitados y no existen datos suficientes que confirmen su valor pronóstico en la enfermedad avanzada.

En un estudio de 72 pacientes con CUM tratados con inmunoterapia, se encontró que los pacientes con una sobreexpresión de ARNm de FGFR3 tenían una supervivencia específica de enfermedad desfavorable tras el tratamiento con inmunoterapia. (384)

Por el contrario, un estudio realizado por Necchi et al, en 112 pacientes con CUM, de los cuales 22 tenían FGFR AG, las alteraciones en FGFR no fueron pronósticas para la SLP ni para la SG en pacientes que recibieron quimioterapia de primera línea basada en platino.(297)

Estos hallazgos controvertidos podrían deberse a la heterogeneidad entre las series y a un tamaño muestral limitado de pacientes con FGFR GA, que limita la potencia de los estudios.

Además la falta de estandarización en las técnicas de secuenciación tumoral de FGFR, puede condicionar los resultados.

7.6 Supervivencia libre de progresión y supervivencia global en base a la localización del tumor primario y por estatus de FGFR

En nuestro estudio, observamos una alta proporción de pacientes con UTUC (n=15 [19.5%]), con respecto a la prevalencia reportada. De ellos, 9 (60%) presentaron alteraciones en FGFR.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la SG entre los pacientes con carcinoma de tracto urinario superior (UTUC) y cáncer de vejiga. Cuando estratificamos por estatus de FGFR, objetivamos una tendencia hacia una mejor supervivencia en los pacientes con UTUC FGFR WT ($p=0.76$) Sin embargo debido a la pequeña cantidad de pacientes en ambas cohortes, debería de ser corroborado en series más grandes.

Nuestros datos sugieren que las aberraciones del gen FGFR son más frecuentes en los carcinomas uroteliales que surgen del tracto urinario superior que inferior, como apunta la literatura.

Los UTUC y el cáncer de vejiga comparten algunas características histológicas, comunes pero, dadas las diferencias desde el punto de vista de precursores embriológicos, su manejo médico y quirúrgico y las respuestas diferentes a la terapia, deben considerarse como dos entidades distintas.

En relación con el cáncer de vejiga, los UTUC tiene un comportamiento clínico más agresivo y es más probable que sean invasivos al diagnóstico. (219)

Robinson et al. realizaron un secuenciación del exoma completo (WES) y una secuenciación del ARN de los UTUC de alto grado y comprobaron que la mayoría de los UTUC son luminal-papilares (20/32, 62,5%), que estaban caracterizados por una alta expresión de FGFR3, un microambiente inmunitario empobrecido y una menor carga mutacional tumoral con respecto al cáncer de vejiga. (385)

Sfakianos et al. compararon los perfiles genómicos de UTUC de alto grado ($n = 59$) y cáncer de vejiga de alto grado ($n = 102$) (217). Curiosamente, el perfil genómico en los grupos UTUC y el cáncer de vejiga fue similar, pero la prevalencia de mutaciones fue diferente. FGFR3, HRAS y CDKN2B se mutaron

más comúnmente en UTUC, mientras que TP53 y ARID1A se mutaron más en el cáncer de vejiga . Se detectó un mayor número de fusiones FGFR3-TACC3 en los UTUC. Los autores propusieron un patrón en el que los tumores de bajo grado con mutaciones en FGFR3 y HRAS pueden ser más propensos a progresar a una enfermedad invasiva de alto grado cuando ocurren en el tracto superior que en la vejiga.

Una de las cohortes más grandes que investigan el perfil molecular de UTUC y cáncer de vejiga ha demostrado que el cáncer urotelial tenía un 70 % de alteraciones genómicas "potencialmente accionables" . TERT, TP53 y CDKN2A fueron los genes mutados con mayor frecuencia en UTUC. Las alteraciones de FGFR3 y HRAS fueron más comunes en UTUC con respecto al cáncer de vejiga.(226)

Por este motivo, los UTUC son un campo de interés para el desarrollo de inhibidores de FGFR.

El ensayo clínico fase 2 (NCT01004224), evaluó el tratamiento con infigratinib en 67 pacientes con carcinoma urotelial metastásico y alteraciones preespecificadas del *FGFR3*. Un total de 17 pacientes (25,4%) lograron una respuesta parcial o completa, se observó una progresión de la enfermedad en 16 pacientes (23,9%) y 8 lograron un control de la enfermedad del 100% (1 RC, 3 RP y 4 enfermedad estable). Esta diferencia de respuesta se atribuyó a un perfil mutacional de *FGFR* diferente entre el UTUC y el CV, lo que subraya la biología distinta entre estas enfermedades.(292)

Dado que la caracterización genómica de los UTUC, integrada con la información clínica, podría optimizar la selección de pacientes que podrían beneficiarse de una terapia dirigida, la implementación del análisis genómico en los UTUC debería de contemplarse de manera rutinaria.

7.7 Supervivencia global en base a la diseminación metastásica y por estatus de FGFR

En nuestro estudio, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en relación con el patrón de diseminación metastásico entre la población FGFR AG y la población FGFR WT.

A pesar de que las metástasis hepáticas y óseas representan un peor pronóstico en el CUm, no hubo diferencias estadísticamente significativas en frecuencia entre ambas cohortes. Y cuando estas estuvieron presentes, tampoco se encontraron diferencias en términos de SG.

7.8 Validación de escalas pronósticas clásicas en primera y segunda línea y de acuerdo al estatus de FGFR:

Los factores pronósticos son un reflejo de la biología y extensión tumoral y han sido ampliamente utilizados para la toma de decisiones clínicas y terapéuticas. Se han desarrollado múltiples escalas pronósticas en pacientes con CVM tratados con quimioterapia para identificar factores que permitan guiar la práctica clínica, la estratificación del riesgo y la inclusión de los pacientes en ensayos clínicos.

En nuestro modelo, testamos las escalas pronósticas clásicas de Bajorin en primera línea, y de Bellmunt en segunda línea e intentamos validar estas escalas incluyendo factores moleculares como el estatus de FGFR en pacientes con carcinoma vesicales y UTUC tratados dentro de la práctica clínica actual.

Para ello, estudiamos de forma independiente los criterios de Bajorin en la cohorte FGFR WT y FGFR AG y de acuerdo al tratamiento de primera línea recibido.

Cuando analizamos los criterios de Bajorin en la cohorte FGFR WT, las medianas de SG en función de la presencia de cero, uno o dos factores de

riesgo fueron : no alcanzada, de 26 y de 3.4 meses respectivamente, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0.00058$).

Comparando con el estudio original, que se realizó en 203 pacientes con CVM tratados con una primera línea con quimioterapia basada en cisplatino que presentaban medianas de SG para los pacientes con cero, uno o dos factores de riesgo de 33, 13.4 y 9.3 meses respectivamente, podemos observar diferencias con respecto a nuestra serie.(230).

Las medianas de supervivencia global en nuestro estudio son superiores en los pacientes con 1 factor pronóstico con respecto al estudio original, pero inferiores en los pacientes con dos factores pronósticos. Estas diferencias pueden ser debidas al tratarse de una población heterogénea, donde se emplearon distintas terapias de primera línea dentro de la práctica clínica habitual, a diferencia del estudio original donde los pacientes recibían exclusivamente una primera línea con esquemas basados en cisplatino. Así mismo, en nuestro estudio, en los pacientes que presentaron 2 factores de riesgo al debut, se observó una mayor inclinación hacia tratamientos con inmunoterapia con respecto al estudio clásico, que pueden explicar las diferencias en la supervivencia global entre ambos estudios.

En la cohorte FGFR AG observamos unas medianas de SG en función de la presencia de cero o un factor de riesgo de: no alcanzada y 12.4 meses respectivamente. Sin embargo, no se alcanzó la significación estadística en la población con FGFR AG ($p=0.11$).

Esta cohorte presentaba un número limitado de casos con cero factores de riesgo (n:4) y ninguno de ellos presentaban ≥ 2 factores de riesgo , lo que supone una limitación de nuestro estudio a la hora de sacar conclusiones debido al pequeño tamaño de la muestra.

Si comparamos ambas cohortes, la cohorte de pacientes FGFR AG que presenta un factor de riesgo, impresiona de tener una supervivencia global inferior con respecto a los pacientes con similares características FGFR WT (12.4 vs 26 meses), lo que nos induce a pensar de nuevo, en el peor pronóstico per se de esta subpoblación.

Curiosamente, cuando analizamos por línea de tratamiento, los pacientes que recibieron una primera línea con esquemas basados en cisplatino la significación estadística no se cumplió en nuestro estudio ($p=0.14$). Esto puede deberse al tamaño de la muestra ya que solo 31 pacientes recibieron terapias basadas en cisplatino comparado con los 201 pacientes del estudio original (230). Además, la mayoría de ellos ($n=21$), presentaban un solo factor de riesgo.

Cuando analizamos los criterios de Bajorin en la población tratada con inmunoterapia, sí que se observaron diferencias significativas de acuerdo al número de factores de riesgo ($p=0.0001$) con medianas de SG para cero, uno o dos factores de riesgo de: no alcanzado, 25.6 y <1 mes respectivamente.

Posteriormente, analizamos los criterios de Bellmunt en nuestra serie, observando una tendencia hacia una mejor supervivencia en los pacientes tratados con quimioterapia sin factores de riesgo con respecto a los que presentaban 1 factor de riesgo: no alcanzada vs 13.4 meses ($p=0.085$). Dado que se trata de una población pequeña en la que solo 3 pacientes no presentaban ningún factor de riesgo y ningún paciente de nuestra serie presentaba dos o más factores de riesgo en segunda línea, sería necesario una población mayor, para poder alcanzar una potencia representativa. En el estudio clásico de Bellmunt et al, se analizaron 370 pacientes y se identificaron cuatro subgrupos en función de la presencia de cero, uno, dos o tres factores pronósticos adversos, con una mediana de SG de 14.2, 7.3, 3.8 y 1.7 meses, respectivamente. (232) Comparado con nuestro estudio, los pacientes con un solo factor de riesgo de nuestra población, experimentaron medianas de SG superiores con respecto al estudio clásico (13.4 vs 7.3 meses).

En los 24 pacientes tratados con inmunoterapia, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.99$), y la mayoría de los pacientes presentaron un solo factor de riesgo y ningún paciente presentó tres. Por lo tanto, sería necesario una población mayor para poder sacar conclusiones, dado que los patrones de tratamiento en segunda línea han cambiado.

En segunda línea tampoco se observaron diferencias cuando estratificamos por estatus de FGFR. En este caso, en ambas cohortes, la mayoría de los pacientes presentaban 1 solo factor de riesgo, y en ninguna de ellas se encontraban pacientes con 3 factores de riesgo, por lo que sería necesaria una población mayor, para poder confirmar nuestros resultados.

Además los modelos de pronóstico clásicos para la supervivencia global (SG) en pacientes con CVm se derivaron de poblaciones de ensayos clínicos de pacientes tratados con cisplatino o vinflunina, por lo que sería necesario validarlos de acuerdo a las terapias disponibles en la actualidad y de acuerdo al estatus de FGFR.

A lo largo de las últimas décadas, otras escalas pronósticas se han ido desarrollando, sin embargo hasta la actualidad, ninguna de ellas, ha incluido factores moleculares. De acuerdo a las diferencias en supervivencia objetivadas en nuestro estudio, y la validación de FGFR como un factor pronóstico independiente relacionado con la SG en el análisis multivariable, la determinación de FGFR podría ser un factor pronóstico clave que debería de ser incluido y validado en otras escalas pronósticas en un futuro próximo.

Otros estudios han añadido diversos factores clínicos que no hemos incluido en nuestro análisis. Por ejemplo, Sompavde et al añadieron el intervalo de tiempo desde la quimioterapia previa <3 meses como un cuarto factor que mejoraba la clasificación pronóstica. (233) Posteriormente, Sompavde et al. añadieron un quinto factor: los niveles de albúmina por debajo del límite inferior de la normalidad, que se asoció con una SG deficiente en pacientes con cáncer de vejiga refractario al platino estableciendo un modelo pronóstico de 5 factores clínicos. (234)(386)

Este modelo de 5 factores se asemeja a otros modelos pronósticos propuestos en el marco de la primera línea basada en cisplatino, que incluye PS, hemoglobina, albúmina y metástasis viscerales liderados por Galsky et al (387), y Apolo et al (388), que han evaluado cómo distintas variables clínicas pre y post-tratamiento pueden afectar a la supervivencia en el carcinoma urotelial

metastásico, desarrollando nomogramas que pueden predecir la supervivencia de los pacientes.

Más recientemente, se han comunicado otros modelos pronósticos en la era de la inmunoterapia. Sonpavde et al utilizó datos de tres ensayos clínicos con inhibidores de PD-L1 (atezolizumab, avelumab y durvalumab) después de la quimioterapia basada en platino para desarrollar un modelo pronóstico de cinco factores para la SG. Este modelo identificó el ECOG PS, el ratio neutrófilo-linfocito y las metástasis hepáticas como factores pronósticos negativos, y también incluyó el recuento de plaquetas y la lactato deshidrogenasa. (386)

Nassar et al evaluaron otros parámetros metabólicos e inflamatorios pronósticos en el cáncer urotelial resistente al platino como el ratio neutrófilo-linfocito en sangre periférica > 5 , las metástasis viscerales y el recuento de variantes de un solo nucleótido < 9 asociados con el beneficio de la inmunoterapia, pero no demostraron su beneficio en pacientes tratados con quimioterapia con taxanos. (389)

Sin embargo, debido a su falta de estandarización en la práctica clínica diaria y dado que el recuento de neutrófilos y linfocitos son parámetros no específicos, que pueden ser influenciado por otras condiciones concurrentes tales como infecciones, inflamación o fármacos no los incluimos en nuestro análisis. (389) (390) (391) (392) (393)

En nuestro estudio, analizando los factores riesgo de Bajorin demostramos que estos se cumplían en los pacientes FGFR WT, pero que perdían su significación en la población FGFR AG. Curiosamente, los criterios se cumplían en la población tratada con inmunoterapia, pero no en aquella tratada con quimioterapia en primera línea, posiblemente por la baja potencia estadística dado el número limitado de pacientes.

Por este motivo, y dado el contexto terapéutico y el mayor conocimiento molecular del CV actual, las nuevas escalas pronósticas deberían incluir el estatus de FGFR como un factor pronóstico independiente.

7.9 Correlación de las alteraciones de FGFR con respuesta al tratamiento:

En nuestra serie, se observó una ORR global ligeramente superior cuando comparamos todos los tratamientos de primera línea para la enfermedad metastásica en pacientes con alteraciones de FGFR y FGFR WT (58.3 % frente a 45.7 %, $p = 0.57$), a pesar de una tasa similar de respuestas completas (8.3 % frente a 6.5 %, $p = 0.71$), pero una mayor enfermedad progresiva como mejor respuesta al tratamiento en la población FGFR WT (29.2 % frente a 43.5 %, $p = 0.71$).

Se observó una tendencia hacia una mayor tasas de respuesta tanto a esquemas basados en cisplatino (72.7% vs 52.4%, $p = 0.45$) como a la inmunoterapia en primera línea (60% frente a 31.3%, $p=0.33$) en la cohorte de pacientes FGFR AG frente a los FGFR WT.

El cáncer urotelial con alteraciones en FGFR se ha clasificado dentro del subtipo molecular luminal- papilar.(229) (394) (61) (273)(262) Dado que este subtipo responde relativamente peor a la inmunoterapia, estos datos han llevado a la especulación de que las mutaciones de FGFR pueden estar relacionadas con un fenotipo pobremente infiltrado por células T y que los pacientes con FGFR AG pueden ser candidatos subóptimos al tratamiento con inmunoterapia. Sin embargo, vincular estos hallazgos con la resistencia a la inmunoterapia es una extrapolación que requiere de una validación clínica.

Los distintos estudios acerca de la hipótesis de que las alteraciones genómicas en FGFR confieren resistencia a la inmunoterapia son controvertidos , por lo que son necesarios más datos prospectivos.(395) (396)

FGFR desempeña un papel esencial en la regulación del sistema inmunológico.(397) La señalización de FGFR3 afecta a las vías que alteran la composición del microambiente inmunitario.(385)

Las tasas de respuesta a la inmunoterapia en nuestro estudio fueron discretamente más elevadas que las informadas anteriormente, incluida la tasa

de respuesta del 31.3 % en pacientes con FGFR de tipo WT, superior a la observada en los ensayos clínicos en el entorno de primera línea (24 % en KEYNOTE-052 con pembrolizumab y 23% en el Imvigor 211 con atezolizumab). (244) (398) Sin embargo, las respuestas aumentaron en la cohorte FGFR AG (ORR 60%) aunque el número de pacientes tratados era limitado (n=5).

Según nuestros hallazgos, las alteraciones genómicas en FGFR no son un biomarcador de resistencia a la inmunoterapia. Y aunque no estadísticamente significativa, las tasas de respuesta son mayores en la cohorte FGFR AG. Sin embargo, estos datos requieren de una validación prospectiva, debido al número limitado de pacientes con FGFR AG que reciben una primera línea con inmunoterapia.

Nuestros resultados están en consonancia con distintos estudios como el ensayo PURE-01 con pembrolizumab neoadyuvante en el que se observaron tasas de respuestas patológicas en pacientes con cáncer urotelial con alteraciones en FGFR3. (169) (399) En otro análisis, Wang et al evaluaron mediante NGS los datos de los 274 pacientes del ensayo clínico IMVigor 210 (cohortes 1 y 2) separando los pacientes por estatus de FGFR mutados (n = 49) y FGFR WT (n = 225). En este estudio, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la ORR con atezolizumab o a la SG entre los dos grupos (396). Estos hallazgos se confirmaron con los datos del ensayo CheckMate 275, donde se analizaron los 139 pacientes con secuenciación del exoma completo de sus tumores (FGFR mutado: n = 15, FGFR WT: n = 124) sin observarse diferencias estadísticamente significativas en ORR o SG (273) (262). Para confirmar el hallazgo de que las alteraciones de FGFR3 se asociaron con una menor infiltración de células T, pero no con una menor probabilidad de respuesta a la inmunoterapia, evaluaron el equilibrio de otros parámetros independientes asociados con la respuesta a inmunoterapia en el CV como la carga mutacional tumoral (TMB) y firmas estromales supresoras como las firmas genéticas relacionadas con el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) o la transición epitelial-mesénquima (EMT). Los autores demostraron que, si bien los tumores FGFR3 mutados se asociaron con una menor infiltración de células T y una TMB similar en comparación con los tumores FGFR3 WT, también se asociaron con una

menor presencia de firmas estromales supresoras . Por lo tanto, el impacto negativo de la disminución de la infiltración de células T podría contrarrestarse con una disminución de los elementos inmunosupresores del estroma, resultando en un balance entre las características que promueven la respuesta y la resistencia a la inmunoterapia. Esto permitiría a los pacientes con mutaciones en FGFR3 responder de la misma manera a inmunoterapia que los FGFR WT(396)

Un análisis de Rose et al también confirmó que los CV FGFR WT y los CV FGFR3 GA respondían de manera similar a la inmunoterapia (12 frente a 19 %, $p = 0.73$). La señalización de FGFR se correlaciona con firmas de expresión del gen PPARG que se asocian con un fenotipo no inflamado por células T y parecía suprimir la señalización de citoquinas proinflamatorias. (395)

Este grupo postuló que, a pesar de estar menos inflamados por las células T, los tumores con alteraciones FGFR3 tenían una clonalidad del receptor de células T (TCR) equivalente (395).

Sweis et al también demostraron que los CV con mutaciones somáticas en FGFR3 poseían un microambiente tumoral no inflamado por células T ($p < 0,0001$)(400).

Por el contrario, en el ensayo fase II BLC2001 (NCT02365597) en aquellos pacientes con CUm con mutaciones o fusiones en FGFR2/3, que habían recibido tratamiento previo con inmunoterapia en primera línea, la ORR a erdafitinib fue mayor en la cohorte pretratada (59 %, 13/22). Sin embargo, solo un 5 % (1/22) de los pacientes con alteraciones en FGFR3 habían respondido a la inmunoterapia previamente.(293)

Los datos preliminares con rogaratinib sugieren un efecto similar: un análisis provisional de su ensayo en fase I demostró una respuesta del 30% entre los pacientes tratados con inmunoterapia previa en comparación con la ORR del 24%.(401)

Las respuestas a la inmunoterapia en los pacientes FGFR GA, previas al tratamiento con Infigratinib, también fueron bajas (2 de 9 pacientes evaluables mostraron enfermedad estable y el resto mostró progresión).(292)

Sin embargo, hay que tener en cuenta que dado que son datos de ensayos clínicos, ha podido haber un sesgo de selección de un subconjunto de

pacientes con menos comorbilidades, que habían progresado a una terapia previa y una biología subyacente potencialmente diferente. Solo los pacientes que progresan con terapias anteriores buscarán la inclusión en un ensayo con una terapia experimental. Los resultados del ensayo Thor (NCT03390504), el ensayo en fase III que compara erdafitinib con quimioterapia o con inmunoterapia, en sujetos con CUM FGFR GA a la progresión a 1 o 2 líneas de tratamiento previas, nos permitirá dilucidar cual será la mejor secuenciación terapéutica en esta subpoblación.

Finalmente, cabe destacar que en nuestro estudio faltan algunos factores moleculares, previamente asociados con el pronóstico. Como ejemplo, los perfiles de expresión de FGFR que están sobrerrepresentados en el subtipo luminal-papilar, que parece tener un mejor pronóstico en el cáncer de vejiga músculo-invasivo, el estudio del microambiente tumoral, y factores relacionados con la respuesta a la inmunoterapia como el TGF- β o el TMB en ambas cohortes. Por lo que la comparación entre estas cohortes sería difícil.

En cuanto a las tasas de respuesta a la quimioterapia, se observó de la misma manera una tendencia hacia una mayor respuesta en los pacientes FGFR AG frente a los FGFR WT (72.7% vs 52.4%, $p = 0.45$). Estos resultados están en consonancia con los reportados en la literatura, donde se objetivaron unas respuestas a la quimioterapia de primera línea de entre un 50–70% de los pacientes con CV locamente avanzado o metastásicos.(146) (149)

Nuestros resultados, basados en la práctica clínica real y en pacientes incluidos en ensayos clínicos, alcanzaron una ORR en la población FGFR AG, superiores a las descritas en el análisis retrospectivo de pacientes incluidos en el ensayo fase II BLC2001 tratados con erdafitinib, donde la ORR a la quimioterapia basada en platino en primera línea fue numéricamente inferior que en los controles históricos (ORR 29%) , sin embargo, la mediana de PFS de 7,6 meses fue discretamente superior a la alcanzada en nuestro estudio. (293)

Es de destacar que 5 pacientes, recibieron una primera línea con inhibidores de FGFR, de los que 3 de ellos habían recibido una tratamiento con

quimioterapia perioperatoria reciente, experimentando una recaída en forma de enfermedad metastásica en un intervalo <12 meses.

Curiosamente, se ha observado que las mutaciones de FGFR3 podrían estar asociadas con respuestas patológicas inferiores y un intervalo libre recurrencia inferior entre pacientes con CV musculo invasivo que recibieron quimioterapia perioperatoria basada en platino.

Teo et al (372) reportaron que los pacientes que albergaban mutaciones FGFR3 tenían peores respuestas patológicas tras la quimioterapia perioperatoria. Se analizaron tres cohortes que consistían en pacientes con MIBC tratados con quimioterapia neoadyuvante con cisplatino -gemcitabina, una cohorte de CV metastásico tratados con quimioterapia basada en platino en primera línea y la cohorte de MIBC del TCGA que recibió quimioterapia adyuvante. Entre los pacientes que albergaban mutaciones FGFR3, no se observó respuestas patológicas completas tras la quimioterapia neoadyuvante. Sin embargo las alteraciones en FGFR3 no impactaron significativamente en la respuesta a la quimioterapia en aquellos pacientes con carcinoma uroteliales metastásicos ni en la supervivencia, a diferencia de nuestro estudio.(372)

Además, la ORR en nuestra serie en los pacientes tratados con una primera línea con un iFGFR fue inferior a aquellos que recibieron un esquema de tratamiento diferente. Esto concuerda con los resultados del ensayo fase 2 de registro de erdafitinib en el que 11 de los 99 pacientes, recibieron erdafitinib en primera línea con una ORR del 36%, discretamente inferior a la reportada en líneas sucesivas. (294)

7.10 Estudio individual por tipo alteraciones genómica en FGFR y su relación con la respuesta terapéutica y los parámetros de eficacia

Los resultados de ensayos clínicos, han demostrado que los tumores con aberraciones de FGFR responden a los inhibidores de la tirosina quinasa, y

han supuesto un hito en la terapia dirigida en el cáncer urotelial. Por este motivo, están en desarrollo múltiples inhibidores de FGFR. Sin embargo, el espectro completo de aberraciones del gen FGFR y su importancia clínica en el CV y UTUC no se han estudiado exhaustivamente.

Por este motivo, analizamos las diferentes aberraciones genómicas de FGFR, ya que pueden estar asociadas con distintas características biológicas que pueden dar como resultado respuestas terapéuticas diversas y SLP y SG distintas.

Por ejemplo, la mutación FGFR3-S249C, la más frecuentemente descrita, reside en la región extracelular del receptor entre los dos dominios Ig-like, un sitio clave para la unión del ligando. Aunque fue la alteración genómica más frecuentemente detectada en nuestro estudio, no se observaron diferencias en cuanto a las tasas de respuesta por tipo de alteración genómica (mutación, fusión, amplificación). Tampoco se observó que ninguna de las alteraciones genómicas respondiera de manera diferencial a las distintas terapias (cisplatino, inmunoterapia o inhibidores de FGFR).

De los 11 pacientes que recibieron terapia con inhibidores de FGFR en segunda línea de tratamiento, se observó una tendencia hacia una ORR más elevada en los pacientes con fusiones/reordenamientos de FGFR [n = 1; 100 %], seguido de aquellos con mutaciones de FGFR [n = 6; 75 %] y de amplificaciones [n = 1; 50 %, (p=0.79)].

En este mismo contexto, en el ensayo pivotal de erdafitinib, en pacientes que habían progresado a terapias basadas en platino: 36 (49%) de 74 pacientes con mutación de *FGFR3* tuvieron una respuesta, y 4 pacientes (16%) de 25 con fusión de *FGFR 2/3* tuvieron respuesta.

Aunque en nuestra serie, las tasas de respuesta son superiores, especialmente en los casos con fusiones, los datos deben de ser interpretados con cautela debido al número limitado de casos.

En el ensayo fase 1 con pemigatinib en una cohorte multitumoral, la ORR fue más alta para los pacientes con fusiones/reordenamientos de FGFR [n = 5; 25.0 % (IC 95 %: 8.7 % a 49.1 %)], seguido de aquellos con mutaciones de

FGFR [n = 3; 23.1 % (IC 95 %: 5.0 % a 53.8 %)] como ocurre en nuestro estudio. (402)

En el ensayo clínico NORSE (NCT03473743), donde se testó la combinación de erdafitinib y cetrelimab, la ORR en 19 pacientes fue del 68 % (IC 95 %; 43-87), con un 21 % de RC y un 47 % de RP para la combinación. La ORR en 18 pacientes tratados con monoterapia con erdafitinib fue del 33 % (95 % IC; 13-59), en los cuales un paciente mostró RC y 5 (28 %) respuestas parciales. (296) La ORR alcanzada con la combinación, se asemeja a la alcanzada en monoterapia en nuestra cohorte con distintos inhibidores de FGFR.

También tenemos que tener en cuenta, que los pacientes de nuestro estudio tratados dentro de la práctica clínica real y dentro de ensayos clínicos, recibieron inhibidores de FGFR distintos, por lo que al tratarse de fármacos diferentes, las ORR pueden ser heterogéneas.

Tampoco observamos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la SLP (6 meses) ni la SG independientemente de la alteración genómica presente en FGFR, aunque hubo una tendencia hacia una mayor supervivencia en los FGFR amplificados (30.8 meses) y peor en el caso de las fusiones de FGFR (7.99 meses) ($p=0.38$). Sin embargo, debido al número limitado de pacientes con alteraciones genómicas de FGFR y al desbalance entre el porcentaje de pacientes con mutación y con amplificación de FGFR estos resultados precisarían de un estudio prospectivo mayor.

En el ensayo pivotal de erdafitinib, tras un seguimiento de 2 años, la mediana de SLP fue de 5,5 meses (IC del 95%, 4,2-6,0) y la mediana de SG fue de 11.3 meses.

Sin embargo, se necesita una mayor comprensión de la mejor manera de combinar y secuenciar estos fármacos con otras terapias.

Todavía nos enfrentamos con limitaciones dado que las respuestas a estos agentes suelen ser de corta duración debido al desarrollo de resistencias a la terapia dirigida con inhibidores de FGFR. Las resistencias adquiridas producidas por : mutaciones gatekeeper, por la activación de vías de señalización

alternativas, secundarias al secuestro del inhibidor de tirosin quinasa mediado por lisosomas o por la fusión de genes que inducen una activación continua de la señalización y evitan la inhibición del dominio tirosin quinasa.

Por este motivo, es preciso el avance en nuevas estrategias, como el desarrollo de nuevos inhibidores de FGFR, especialmente inhibidores covalentes que venzan la resistencia a los inhibidores de FGFR inducidas por mutaciones, la adopción de una terapia combinada que se dirija a múltiples vías simultáneamente, las terapias dirigidas a lisosomas que permitan liberar a los inhibidores de tirosin quinasa secuestrados, o los anticuerpos monoclonales específicos para FGFR para eludir la resistencia a los TKI. De esta manera podríamos avanzar hacia la medicina de precisión y al tratamiento individualizado para desarrollar estrategias de tratamiento óptimas en este subtipo tumoral.

Valorar nuevas combinaciones terapéuticas puede ser prometedor, pero también puede desencadenar interacciones farmacológicas indeseables. Por esta razón, otro enfoque sería el diseño racional de compuestos individuales con terapias dirigidas duales contra PI3K/AKT/mTOR y RAF/MEK/ERK. Dado que la inhibición dual de ambas vías puede exhibir potencialmente una eficacia favorable en comparación con la inhibición de ambas vías por separado.(403) Es importante enfatizar que, a pesar de su aprobación para su uso en el entorno de segunda línea, actualmente el avelumab de mantenimiento es el nuevo estándar de tratamiento en pacientes que no experimentan una progresión tras una primera línea de quimioterapia basada en platino. (404) Aún se necesitan más estudios para desarrollar la secuencia terapéutica más adecuada en pacientes con alteraciones del FGFR.

7.11 Biomarcadores en la cohorte con alteraciones genómicas en FGFR

Durante la última década, se han identificado múltiples biomarcadores moleculares que juegan un papel en el desarrollo tumoral y la respuesta terapéutica.

El PD-L1 es uno de los biomarcadores más estudiados, cuyo descubrimiento dio lugar al desarrollo de números fármacos anti PD-1/PD-L1. El ligando de la

proteína de muerte celular 1 o PD-L1 se encuentra ampliamente expresado en las células neoplásicas, y su unión a la proteína de muerte celular 1 (PD-1) expresada en los linfocitos T citotóxicos, produce su regulación negativa inhibiendo la acción de estos contra el tumor. Este proceso es uno de los tantos que posee el tumor para evadir el sistema inmune, haciendo así, que PD-1 y PD-L1 sean buenas dianas terapéuticas. (405)

Otro biomarcador relacionado con la inmunoterapia es la carga mutacional del tumor (TMB o Tumor Mutational Burden), ésta se define como el número total de mutaciones somáticas detectadas por Megabase de ADN tumoral. Las mutaciones no sinónimas que se producen en el genoma tumoral, generan neoantígenos, que son péptidos mutados que se expresan específicamente en las células tumorales y no existen en los tejidos normales, y pueden desencadenar una respuesta inmunitaria. (406) El problema que podemos encontrar con el TMB es que es difícil identificar el mejor punto de corte.

La alta prevalencia de anomalías del gen FGFR en los carcinomas uroteliales no solo sugiere que las terapias anti-FGFR pueden ser efectivas para estos pacientes, sino que también plantea la cuestión de si existen genes coaberrantes que también podrían ser el objetivo de terapias adicionales. Uno de esos genes de interés es CDKN2A/B y la mutación en el promotor del TERT.

En nuestro estudio se recogió en la población FGFR alterada, la presencia de PD-L1, inestabilidad de microsatélites (MSI), TMB, junto con distintas alteraciones como la delección de CDKN2A/B, o las mutaciones en el promotor TERT.

Los resultados del análisis de los biomarcadores seleccionados en los 30 pacientes con cáncer urotelial metastásico FGFR AG mostraron, que los genes que se encontraron alterados en mayor frecuencia fueron la delección de CDKN2A/B (30%) y la mutación en el promotor TERT (36%).

La expresión positiva de PD-L1 se encontraba en 26% de las muestras de los pacientes con FGFR alterado. El TMB de esta cohorte también fue recogida en el 36% de las muestras, encontrando tumores con 2,52 mutaciones/Mb (mínimo) y pacientes con 15,13 mutaciones/Mb, mientras que no se encontró MSI en ninguno de los pacientes.

El valor de PD-L1 como factor pronóstico ha sido analizado en distintos estudios observacionales que indican un peor pronóstico en pacientes con alta expresión de PD-L1 en células tumorales.(407) Un metaanálisis que analizó un total de 11 estudios en cáncer de vejiga con 1697 pacientes concluyó que la alta expresión de PD-L1 se asoció con una peor SG (HR = 1.83). (408)

Sin embargo, a día de hoy, el papel pronóstico de la expresión de PD-L1 en la población FGFR AG no había sido estudiado.

Los tumores FGFR AG PD-L1 CPS \geq 1 (8/30) se asociaron con peor SG (p=0.028) en nuestro estudio. En nuestro estudio, el PD-L1 se determinó fundamentalmente mediante la puntuación positiva combinada (CPS), aunque también incluimos casos con la tinción de membrana de PD-L1 en células inmunes (IC) o células tumorales (TC). El CPS es un método de puntuación que evalúa el número de células teñidas con PD-L1 (células tumorales, linfocitos, macrófagos) en relación con todas las células tumorales viables. El PD-L1 positivo se consideró con un CPS \geq 1. Sin embargo, la interpretación de los resultados se complica por el uso de distintos anticuerpos, la medición de las células evaluadas (células inmunes o las células tumorales) o los distintos puntos de corte de PD-L1 (409) por lo que estos resultados podrían variar en estudios futuros.

La asociación entre FGFR y PD-L1 no ha sido a día de hoy extensamente analizada. Las mutaciones de FGFR3 se han asociado con una menor expresión de PD-L1 (410) (411) Un estudio danés, realizado en pacientes con carcinoma urotelial metastásico, no encontró relación entre la expresión de PD-L1 y las alteraciones genómicas de FGFR1-3. (412)

En nuestro estudio, objetivamos que los pacientes con FGFR AG se asocian con una peor SG. La alta expresión de PD-L1 en la subpoblación FGFR AG puede indicar una SG aun peor en estos pacientes.

Además del PD-L1 como biomarcador, también se ha descrito que FGFR puede desempeñar un papel esencial en la regulación del sistema inmune. (397) Algunos estudios han sugerido que el FGFR3 tiene un papel importante

en la regulación del sistema inmunitario innato, mediante la inhibición del interferón y la estimulación del factor de necrosis tumoral- α . (397) Otros estudios han observado efectos inhibitorios en una amplia gama de componentes de la respuesta inmunitaria adaptativa, así como los efectos estimulantes sobre la firma de la respuesta antiinflamatoria TGF- β . Un estudio reveló que las vías moleculares de β -catenina, PPAR- γ y FGFR3 estaban ligadas a los tumores no inflamados por células T. (400) (411)

A día de hoy, el tratamiento con inmunoterapia en primera línea para el CUM ha sido relegado para pacientes con alta expresión de PD-L1.

Por lo que estrategias de combinación de inhibidores de FGFR con fármacos antiPD-1(L1) podrían aumentar las tasas de respuestas. Un ejemplo de ello es el ensayo clínico NORSE (NCT03473743), donde la combinación de erdafitinib y cetrelimab aumentó las tasas de respuesta frente a la monoterapia con erdafitinib (ORR 68% vs 33%). Esta estrategia podría ser especialmente interesante en la población FGFR AG con expresión positiva de PD-L1 CPS ≥ 1 , donde, de acuerdo a los resultados de nuestro estudio, tienen una SG desalentadora frente a la población FGFR AG PD-L1 negativa CPS < 1 (7.2 meses vs 20.3 meses, $p = 0.028$).

Un total de 11 de los 30 tumores, disponían de información del TMB.

Curiosamente en nuestro estudio, observamos una tendencia hacia una peor SG en aquellos pacientes que tenían un TMB > 10 mut/mg [$n = 4$, ($p = 0.78$)] no significativa.

Debido al número pequeño de la muestra, la dificultad en la estandarización según el panel de NGS empleado, la evolución del tumor a lo largo de la enfermedad, o a la variabilidad del punto de corte, la medición del TMB representa un desafío a la hora de su estandarización.

Por contra, diversos estudios han relacionado el estado del TMB más elevado con una mayor tasa de respuesta a la inmunoterapia, ya que la alta carga de neoantígenos los hacen ser altamente inmunogénicos. (273) (398)(267)

El CV con mutaciones en FGFR3 y fusiones FGFR3-TACC3 se asocia con una carga mutacional tumoral similar, pero una menor infiltración de células T y menor expresión de factor de crecimiento transformante beta (TGF- β). (396) (401)

Sin embargo, algunas series no han detectado una diferencia en las tasas de respuesta a la inmunoterapia entre pacientes con mutaciones FGFR3 en comparación con aquellos con FGFR WT. (396)

El evento genómico más común descrito en CV hasta la fecha son las mutaciones puntuales del promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa (TERT), que se encuentran en aproximadamente el 80% de los CU, independientemente del grado y estadio. (117)

Las mutaciones del promotor del gen de la transcriptasa inversa de la telomerasa TERT son prevalentes en los NMIBC, lo que sugiere que estos eventos ocurren de forma precoz en la tumorigénesis. (64)

El gen TERT codifica para la subunidad catalítica de la retrotranscriptasa de la telomerasa. Una de sus funciones es mantener la longitud de los telómeros en las células madre. En el resto de células de nuestro organismo esta función se encuentra desactivada, en cambio; algunas células tumorales tienen la capacidad de mantener esta función activa desarrollando así una capacidad indefinida de replicación (413). Las zonas de mutación más comunes del promotor TERT o "hotspots" son las posiciones -57, -124 y -146 bp. Las mutaciones en estos dominios producen cambios de nucleótido que crean sitios de unión a los factores de transcripción (TFBS): Ets, ELK1 y ELK4. Estos sitios de unión producen un aumento en la actividad del promotor TERT y de este modo su expresión génica. (414)

Teniendo en cuenta la alta frecuencia de esta alteración en pacientes con CV y dado que se encontraba en alta frecuencia en nuestra serie, analizamos muestras de tejido de pacientes con CV y UTUC metastásico con FGFR AG con el objetivo de evaluar el estado del promotor *TERT* y el efecto de su mutación en la SG.

Observamos una tendencia hacia una peor SG en aquellos pacientes con FGFR AG que presentaban mutaciones del promotor TERT frente a los que no (7.2 vs 15.3, $p=0.18$), aunque no fue estadísticamente significativa. Sin embargo, dado que se trata de un estudio retrospectivo y con una muestra pequeña de pacientes que albergaban esta alteración molecular, puede tener limitaciones.

La determinación de la mutación del TERT y su impacto pronóstico, ha sido analizada en otros estudios que están en consonancia con nuestros resultados, donde se ha observado que los pacientes con mutación del promotor TERT tratados con inmunoterapia presentaron una mediana de SG y SLP más baja. (415)

La mutación del promotor del *TERT* también se ha considerado un biomarcador de agresividad en los MIBC, objetivándose aumento de células tumorales circulantes y posterior recaída en todos los pacientes portadores de la mutación. (416)

Un metaanálisis de ocho estudios que incluyeron 1382 casos, para describir el valor pronóstico de las mutaciones del promotor TERT en la recurrencia en pacientes con CV reveló que las mutaciones del promotor de TERT condicionaron un peor pronóstico. (417) (418)

La delección del cromosoma 9 es otro de los eventos genómicos más comunes en el CV (>60%). Los genes supresores afectados por la delección del cromosoma 9 son el inhibidor de cinasa dependiente de ciclina 2A (CDKN2A; que codifica p16 y p14ARF) y CDKN2B (que codifica p15) en el locus 9p21.(419) Por las funciones que desempeñan estas 3 proteínas, estos genes son conocidos como genes supresores de tumores (420). La proteína p16 es un inhibidor de ciclinas dependientes de kinasa (CKD) que suprime la proliferación celular. Específicamente p16 inhibe al complejo ciclina D – CDK4/6, encargado de controlar la fase G1 del ciclo celular (420). Inhibiendo este complejo, p16 consigue que la proteína del retinoblastoma (Rb) no se inactive y no comience el ciclo celular (420). De este modo, no permite a la célula seguir con el proceso de replicación y mitosis. La proteína p14ARF se

encarga de unirse a MDM2 para evitar la degradación de la proteína tumoral 53 (p53 o TP53) (421). La proteína p15, al igual que p16; se encarga de inhibir el complejo ciclina D – CDK4/6 uniéndose a la parte no catalítica de las kinasas (421).

Esta delección de CDKN2A/B, supone un aumento de la actividad del complejo ciclina D-CDK4/6, con una disminución de la inhibición de E2F (factor de transcripción) por Rb y de ese modo, la pérdida de control en el ciclo celular. Esto supondrá una proliferación desmesurada y con ello un crecimiento tumoral acelerado.

Las delecciones de CDKN2A se han asociado con las mutaciones de FGFR3 (422) (423) y se han descrito como marcadores de progresión de tumores NMIBC a MIBC en los tumores FGFR3 mutados. (117)

En nuestro estudio, encontramos que más del 30% de los tumores FGFR AG de nuestra serie contenían delecciones de CDKN2A/B. Además en las matrices de correlación Phi identificamos una correlación ente las mutaciones de FGFR y la delección CDKN2A/B (Phi 0,24). Curiosamente, estas correlaciones no se observaron en los casos FGFR translocados o amplificados.

En este estudio, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en términos de SG en aquellos pacientes FGFR AG con delecciones de CDKN2A/B. Sin embargo, la pérdida de heterocigosidad (LOH) de 9p, la delección homocigota de CDKN2A y la pérdida de expresión de p16 en NMIBC son predictores de un intervalo libre de recurrencia reducido y de un peor pronóstico en el MIBC. (117) (423)(422)

Breyer et al. encontraron una correlación positiva entre la expresión de CDKN2A/p16 con tumores G3 y CIS, mientras que FGFR3 mostró patrones de expresión opuestos. La combinación de niveles altos de expresión de ARNm de CDKN2A y bajos de FGFR3 fueron predictivos de una peor supervivencia libre de progresión en tumores no musculo-invasivos. (424)

Además, dado que las delecciones de 9p pueden extenderse a muchos otros genes en 9p, como genes relacionados con el interferón (IFN) y sus vías de

señalización, este evento genómico puede contribuir a un sistema inmune exhausto.(389) Por este motivo, se ha observado en algunos estudios que la delección de CDKN2A se ha asociado con un menor beneficio de la inmunoterapia en el CV.(425) (389)

En nuestro estudio, realizamos unas matrices de correlación Phi y construimos un diagrama de Venn en los 30 tumores FGFR AG para determinar la posible asociación existente entre los potenciales marcadores moleculares. La pérdida de CDKN2A/B y las mutaciones del promotor de TERT fue la correlación más intensa encontrada en nuestra serie (Phi 0,56). Esta correlación entre ambas alteraciones moleculares, no ha sido descrita en la literatura en el CV previamente.

8. CONCLUSIONES:

1. Las alteraciones genómicas de FGFR (mutaciones / fusiones) son un factor pronóstico independiente asociado a una peor supervivencia global en el carcinoma vesical o UTUC metastásico.
2. Las alteraciones genómicas de FGFR podrían condicionar la respuesta a la terapia sistémica (quimioterapia e inmunoterapia) en el carcinoma metastásico del tracto urinario. En concreto, se apunta a un mayor porcentaje de respuestas objetivas aunque no se alcanzó la significación estadística en nuestro estudio.
3. Si bien el modelo de Bajorin predijo correctamente los resultados clínicos en la población general del estudio, al separar los pacientes con AG de FGFR de los WT, el modelo perdió precisión en el primer grupo y la ganó en el segundo. Esto sugiere que, deberían desarrollarse nuevos modelos clínico-moleculares que incluyan las AG de FGFR para una mejor clasificación pronóstica de los casos.
4. Las alteraciones genéticas de FGFR presentaron una asociación, aunque débil, con otras características moleculares como las mutaciones de TERT o las deleciones de CDKN2A/B. Esto podría señalar a una interacción a nivel biológico entre ellas. De confirmarse, podríamos subclassificar de forma más precisa la población con AG de FGFR e incluso diseñar combinaciones o nuevos fármacos específicos para cada subgrupo.

En definitiva, las alteraciones genómicas de FGFR no solo definen una población susceptible de un tratamiento concreto (los inhibidores de FGFR) sino que caracterizan un subtipo molecular de cáncer del tracto urinario con

un pronóstico, respuesta a terapia sistémica y distribución de alteraciones moleculares propio.

El diseño de nuevos modelos pronósticos que incluyan factores clínico-moleculares, podrían ser de extraordinaria utilidad en el diseño de estrategias terapéuticas específicas y personalizadas para cada caso.

"Y una vez que la tormenta termine, no recordarás como lo lograste, como sobreviviste. Ni siquiera estarás seguro si la tormenta ha terminado realmente. Aunque una cosa sí es segura, cuando salgas de esa tormenta, no serás la misma persona que entró en ella".

Haruki Murakami

9. BIBLIOGRAFÍA:

1. Teoh JYC, Huang J, Ko WYK, Lok V, Choi P, Ng CF, et al. Global Trends of Bladder Cancer Incidence and Mortality, and Their Associations with Tobacco Use and Gross Domestic Product Per Capita. *Eur Urol.* 2020 Sep 21;
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018 Nov;68(6):394–424.
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018: *Cancer Statistics, 2018.* *CA Cancer J Clin.* 2018 Jan;68(1):7–30.
4. 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;71(3):209–49.
5. Babjuk M, Burger M, Compérat EM, Gontero P, Mostafid AH, Palou J, et al. European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (TaT1 and Carcinoma In Situ) - 2019 Update. *Eur Urol.* 2019 Nov;76(5):639–57.
6. Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I, Znaor A, Jemal A, Bray F. Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends. *Eur Urol.* 2017;71(1):96–108.
7. Fernández MI, Brausi M, Clark PE, Cookson MS, Grossman HB, Khochikar M, et al. Epidemiology, prevention, screening, diagnosis, and evaluation: update of the ICUD–SIU joint consultation on bladder cancer. *World J Urol.* 2019 Jan;37(1):3–13.
8. <https://www.redcan.org>.
9. Cumberbatch MG, Rota M, Catto JWF, La Vecchia C. The Role of Tobacco Smoke in Bladder and Kidney Carcinogenesis: A Comparison of Exposures and Meta-analysis of Incidence and Mortality Risks. *Eur Urol.* 2016 Sep;70(3):458–66.
10. Freedman ND, Silverman DT, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Abnet CC. Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women. *JAMA.* 2011 Aug 17;306(7):737–45.
11. van Osch FH, Jochems SH, van Schooten FJ, Bryan RT, Zeegers MP. Quantified relations between exposure to tobacco smoking and bladder cancer risk: a meta-analysis of 89 observational studies. *Int J Epidemiol.* 2016;45(3):857–70.
12. Westhoff E, Maria de Oliveira-Neumayer J, Aben KK, Vrieling A, Kiemeny LA. Low awareness of risk factors among bladder cancer survivors: New evidence and a literature overview. *Eur J Cancer.* 2016 Jun;60:136–45.
13. Hadkhale K, Martinsen JI, Weiderpass E, Kjaerheim K, Sørensen P, Tryggvadóttir L, et al. Occupational exposure to solvents and bladder cancer: A population-based case control study in Nordic countries. *Int J Cancer.* 2017 Apr 15;140(8):1736–46.
14. Abol-enein H. Infection: Is it a cause of bladder cancer? *Scand J Urol Nephrol.* 2008 Jan;42(sup218):79–84.
15. Miyazaki J, Nishiyama H. Epidemiology of urothelial carcinoma. *Int J Urol Off J Jpn Urol Assoc.* 2017;24(10):730–4.
16. Gutiérrez J, Jiménez A, de Dios Luna J, Soto MJ, Sorlózano A. Meta-Analysis

- of Studies Analyzing the Relationship Between Bladder Cancer and Infection by Human Papillomavirus. *J Urol*. 2006 Dec;176(6):2474–81.
17. Zaitu M, Nakamura F, Toyokawa S, Tonooka A, Takeuchi T, Homma Y, et al. Risk of Alcohol Consumption in Bladder Cancer: Case-Control Study from a Nationwide Inpatient Database in Japan. *Tohoku J Exp Med*. 2016;239(1):9–15.
 18. Botteri E, Ferrari P, Roswall N, Tjønneland A, Hjartåker A, Huerta JM, et al. Alcohol consumption and risk of urothelial cell bladder cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition cohort: Alcohol consumption and risk of UCC. *Int J Cancer*. 2017 Nov 15;141(10):1963–70.
 19. Ros MM, Bueno-de-Mesquita HB, Kampman E, Aben KK, Büchner FL, Jansen EH, et al. Plasma carotenoids and vitamin C concentrations and risk of urothelial cell carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Clin Nutr*. 2012 Oct 1;96(4):902–10.
 20. Zamora-Ros R, Sacerdote C, Ricceri F, Weiderpass E, Roswall N, Buckland G, et al. Flavonoid and lignan intake in relation to bladder cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Br J Cancer*. 2014 Oct;111(9):1870–80.
 21. Park SJ, Myung SK, Lee Y, Lee YJ. Effects of Vitamin and Antioxidant Supplements in Prevention of Bladder Cancer: a Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Korean Med Sci*. 2017;32(4):628.
 22. Chen F, Li Q, Yu Y, Yang W, Shi F, Qu Y. Association of vitamin C, vitamin D, vitamin E and risk of bladder cancer: a dose-response meta-analysis. *Sci Rep* [Internet]. 2015 Sep [cited 2020 Nov 8];5(1). Available from: <http://www.nature.com/articles/srep09599>
 23. Liao Y, Huang JL, Qiu MX, Ma ZW. Impact of serum vitamin D level on risk of bladder cancer: a systemic review and meta-analysis. *Tumor Biol*. 2015 Mar;36(3):1567–72.
 24. Wu SH, Li F, Huang X, Hua QS, Huang T, Liu ZL, et al. The Association of Tea Consumption with Bladder Cancer Risk: A Meta-Analysis. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2013 Mar;22(1):128–37.
 25. Turati F, Bosetti C, Polesel J, Zucchetto A, Serraino D, Montella M, et al. Coffee, Tea, Cola, and Bladder Cancer Risk: Dose and Time Relationships. *Urology*. 2015 Dec;86(6):1179–84.
 26. Di Maso M, Bosetti C, Taborelli M, Montella M, Libra M, Zucchetto A, et al. Dietary water intake and bladder cancer risk: An Italian case-control study. *Cancer Epidemiol*. 2016 Dec;45:151–6.
 27. Villanueva CM, Cantor KP, Cordier S, Jaakkola JJK, King WD, Lynch CF, et al. Disinfection byproducts and bladder cancer: a pooled analysis. *Epidemiol Camb Mass*. 2004 May;15(3):357–67.
 28. Begum M, Horowitz J, Hossain MI. Low-Dose Risk Assessment for Arsenic: A Meta-Analysis Approach. *Asia Pac J Public Health*. 2015 Mar;27(2):NP20-NP35.
 29. Saint-Jacques N, Parker L, Brown P, Dummer TJ. Arsenic in drinking water and urinary tract cancers: a systematic review of 30 years of epidemiological evidence. *Environ Health* [Internet]. 2014 Dec [cited 2020 Nov 8];13(1). Available from: <https://ehjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-069X-13-44>
 30. Vieira AR, Vingeliene S, Chan DSM, Aune D, Abar L, Navarro Rosenblatt D, et al. Fruits, vegetables, and bladder cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Med*. 2015 Jan;4(1):136–46.
 31. Dianatinasab M, Wesselius A, de Loeij T, Salehi-Abargouei A, Yu EYW, Fararouei M, et al. The association between meat and fish consumption and bladder

- cancer risk: a pooled analysis of 11 cohort studies. *Eur J Epidemiol*. 2021 Aug;36(8):781–92.
32. Desbiolles A, Roudier C, Goria S, Stempfelet M, Kairo C, Quintin C, et al. Cancer incidence in adults living in the vicinity of nuclear power plants in France, based on data from the French Network of Cancer Registries. *Int J Cancer*. 2018 Mar;142(5):899–909.
33. Turati F, Pelucchi C, Galeone C, Decarli A, La Vecchia C. Personal hair dye use and bladder cancer: a meta-analysis. *Ann Epidemiol*. 2014 Feb;24(2):151–9.
34. Burger M, Catto JWF, Dalbagni G, Grossman HB, Herr H, Karakiewicz P, et al. Epidemiology and Risk Factors of Urothelial Bladder Cancer. *Eur Urol*. 2013 Feb;63(2):234–41.
35. Dobruch J, Daneshmand S, Fisch M, Lotan Y, Noon AP, Resnick MJ, et al. Gender and Bladder Cancer: A Collaborative Review of Etiology, Biology, and Outcomes. *Eur Urol*. 2016 Feb;69(2):300–10.
36. Weibull CE, Eloranta S, Altman D, Johansson ALV, Lambe M. Childbearing and the risk of bladder cancer: a nationwide population-based cohort study. *Eur Urol*. 2013 Apr;63(4):733–8.
37. Zhu Z, Wang X, Shen Z, Lu Y, Zhong S, Xu C. Risk of bladder cancer in patients with diabetes mellitus: an updated meta-analysis of 36 observational studies. *BMC Cancer*. 2013 Jun 26;13:310.
38. Turner RM, Kwok CS, Chen-Turner C, Maduakor CA, Singh S, Loke YK. Thiazolidinediones and associated risk of bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *Br J Clin Pharmacol*. 2014 Aug;78(2):258–73.
39. Tseng CH. Metformin may reduce bladder cancer risk in Taiwanese patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetol*. 2014 Apr;51(2):295–303.
40. Cao L, Tong H, Xu G, Liu P, Meng H, Wang J, et al. Systemic lupus erythematosus and malignancy risk: a meta-analysis. *PloS One*. 2015;10(4):e0122964.
41. Onishi A, Sugiyama D, Kumagai S, Morinobu A. Cancer Incidence in Systemic Sclerosis: Meta-Analysis of Population-Based Cohort Studies: Cancer Incidence in SSc. *Arthritis Rheum*. 2013 Jul;65(7):1913–21.
42. Algaba A, Guerra I, Castaño A, de la Poza G, Castellano VM, López M, et al. Risk of cancer, with special reference to extra-intestinal malignancies, in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2013 Dec 28;19(48):9359–65.
43. Sun JW, Zhao LG, Yang Y, Ma X, Wang YY, Xiang YB. Obesity and Risk of Bladder Cancer: A Dose-Response Meta-Analysis of 15 Cohort Studies. Koul HK, editor. *PLOS ONE*. 2015 Mar 24;10(3):e0119313.
44. Reulen RC, de Vogel S, Zhong W, Zhong Z, Xie LP, Hu Z, et al. Physical activity and risk of prostate and bladder cancer in China: The South and East China case-control study on prostate and bladder cancer. Ali R, editor. *PLOS ONE*. 2017 Jun 2;12(6):e0178613.
45. Lin J, Spitz MR, Dinney CP, Etzel CJ, Grossman HB, Wu X. Bladder cancer risk as modified by family history and smoking. *Cancer*. 2006 Aug 15;107(4):705–11.
46. Guey LT, García-Closas M, Murta-Nascimento C, Lloreta J, Palencia L, Kogevinas M, et al. Genetic susceptibility to distinct bladder cancer subphenotypes. *Eur Urol*. 2010 Feb;57(2):283–92.
47. Gu J, Liang D, Wang Y, Lu C, Wu X. Effects of N-acetyl transferase 1 and 2 polymorphisms on bladder cancer risk in Caucasians. *Mutat Res*. 2005 Mar 7;581(1–2):97–104.
48. Rafnar T, Vermeulen SH, Sulem P, Thorleifsson G, Aben KK, Witjes JA, et al. European genome-wide association study identifies SLC14A1 as a new urinary bladder

- cancer susceptibility gene. *Hum Mol Genet.* 2011 Nov 1;20(21):4268–81.
49. Rothman N, Garcia-Closas M, Chatterjee N, Malats N, Wu X, Figueroa JD, et al. A multi-stage genome-wide association study of bladder cancer identifies multiple susceptibility loci. *Nat Genet.* 2010 Nov;42(11):978–84.
50. Lonati C, Moschini M, Simeone C, Spiess PE, Necchi A. Lynch syndrome in urological practice: diagnosis, therapeutic strategies, and screening for upper tract urothelial carcinoma. *Curr Opin Urol.* 2022 Jan 1;32(1):40–7.
51. Lonati C, Necchi A, Gómez Rivas J, Afferi L, Laukhtina E, Martini A, et al. Upper Tract Urothelial Carcinoma in the Lynch Syndrome Tumour Spectrum: A Comprehensive Overview from the European Association of Urology - Young Academic Urologists and the Global Society of Rare Genitourinary Tumors. *Eur Urol Oncol.* 2022;5(1):30–41.
52. Babjuk M, Burger M, Capoun O, Cohen D, Compérat EM, Dominguez Escrig JL, et al. European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (Ta, T1, and Carcinoma in Situ). *Eur Urol.* 2022 Jan;81(1):75–94.
53. van Rhijn BWG, van der Kwast TH, Alkhateeb SS, Fleshner NE, van Leenders GJLH, Bostrom PJ, et al. A new and highly prognostic system to discern T1 bladder cancer substage. *Eur Urol.* 2012 Feb;61(2):378–84.
54. Lamm DL. Carcinoma in situ. *Urol Clin North Am.* 1992 Aug;19(3):499–508.
55. Ferlay J. GLOBOCAN 2012. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012.
56. Cookson MS, Herr HW, Zhang ZF, Soloway S, Sogani PC, Fair WR. The treated natural history of high risk superficial bladder cancer: 15-year outcome. *J Urol.* 1997 Jul;158(1):62–7.
57. Leblanc B, Duclos AJ, Bénard F, Côté J, Valiquette L, Paquin JM, et al. Long-term followup of initial Ta grade 1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol.* 1999 Dec;162(6):1946–50.
58. Palou J, Sylvester RJ, Faba OR, Parada R, Peña JA, Algaba F, et al. Female gender and carcinoma in situ in the prostatic urethra are prognostic factors for recurrence, progression, and disease-specific mortality in T1G3 bladder cancer patients treated with bacillus Calmette-Guérin. *Eur Urol.* 2012 Jul;62(1):118–25.
59. Brausi M, Collette L, Kurth K, van der Meijden AP, Oosterlinck W, Witjes JA, et al. Variability in the Recurrence Rate at First Follow-up Cystoscopy after TUR in Stage Ta T1 Transitional Cell Carcinoma of the Bladder: A Combined Analysis of Seven EORTC Studies. *Eur Urol.* 2002 May;41(5):523–31.
60. Divrik RT, Yildirim Ü, Zorlu F, Özen H. The Effect of Repeat Transurethral Resection on Recurrence and Progression Rates in Patients With T1 Tumors of the Bladder Who Received Intravesical Mitomycin: A Prospective, Randomized Clinical Trial. *J Urol.* 2006 May;175(5):1641–4.
61. Kamoun A, de Reyniès A, Allory Y, Sjödaahl G, Robertson AG, Seiler R, et al. A Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer. *Eur Urol.* 2020 Apr;77(4):420–33.
62. Cooley LF, McLaughlin KA, Meeks JJ. Genomic and Therapeutic Landscape of Non-muscle-invasive Bladder Cancer. *Urol Clin North Am.* 2020 Feb;47(1):35–46.
63. Hedegaard J, Lamy P, Nordentoft I, Algaba F, Høyer S, Ulhøi BP, et al. Comprehensive Transcriptional Analysis of Early-Stage Urothelial Carcinoma. *Cancer Cell.* 2016 11;30(1):27–42.
64. Pietzak EJ, Bagrodia A, Cha EK, Drill EN, Iyer G, Isharwal S, et al. Next-generation Sequencing of Nonmuscle Invasive Bladder Cancer Reveals Potential Biomarkers and Rational Therapeutic Targets. *Eur Urol.* 2017;72(6):952–9.

65. Bellmunt J, Kim J, Reardon B, Perera-Bel J, Orsola A, Rodriguez-Vida A, et al. Genomic Predictors of Good Outcome, Recurrence, or Progression in High-Grade T1 Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cancer Res.* 2020 Oct 15;80(20):4476–86.
66. Rouanne M, Betari R, Radulescu C, Goubar A, Signolle N, Neuzillet Y, et al. Stromal lymphocyte infiltration is associated with tumour invasion depth but is not prognostic in high-grade T1 bladder cancer. *Eur J Cancer.* 2019 Feb;108:111–9.
67. Batista R, Lima L, Vinagre J, Pinto V, Lyra J, Máximo V, et al. TERT Promoter Mutation as a Potential Predictive Biomarker in BCG-Treated Bladder Cancer Patients. *Int J Mol Sci.* 2020 Jan 31;21(3):947.
68. Babjuk M, Burger M, Capoun O, Cohen D, Compérat EM, Dominguez Escrig JL, et al. European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (Ta, T1, and Carcinoma in Situ). *Eur Urol.* 2022 Jan;81(1):75–94.
69. Chang SS, Boorjian SA, Chou R, Clark PE, Daneshmand S, Konety BR, et al. Diagnosis and Treatment of Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: AUA/SUO Guideline. *J Urol.* 2016 Oct;196(4):1021–9.
70. Sylvester RJ, van der Meijden APM, Oosterlinck W, Witjes JA, Boufflioux C, Denis L, et al. Predicting Recurrence and Progression in Individual Patients with Stage Ta T1 Bladder Cancer Using EORTC Risk Tables: A Combined Analysis of 2596 Patients from Seven EORTC Trials. *Eur Urol.* 2006 Mar;49(3):466–77.
71. Fernandez-Gomez J, Madero R, Solsona E, Unda M, Martinez-Piñeiro L, Gonzalez M, et al. Predicting nonmuscle invasive bladder cancer recurrence and progression in patients treated with bacillus Calmette-Guerin: the CUETO scoring model. *J Urol.* 2009 Nov;182(5):2195–203.
72. Veeratterapillay R, Heer R, Johnson MI, Persad R, Bach C. High-Risk Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer—Therapy Options During Intravesical BCG Shortage. *Curr Urol Rep [Internet].* 2016 Sep [cited 2021 May 24];17(9). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11934-016-0625-z>
73. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *J Urol.* 1976 Aug;116(2):180–3.
74. Larsen ES, Joensen UN, Poulsen AM, Goletti D, Johansen IS. Bacillus Calmette-Guérin immunotherapy for bladder cancer: a review of immunological aspects, clinical effects and BCG infections. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand.* 2020 Feb;128(2):92–103.
75. Herr HW. Intravesical Bacillus Calmette-Guérin Outcomes in Patients With Bladder Cancer and Asymptomatic Bacteriuria. *J Urol.* 2012 Feb;187(2):435–7.
76. Bladder Cancer, An Issue of Hematology/Oncology Clinics of North America, Volume 35-3 1st Edition.
77. Sylvester RJ, Oosterlinck W, Holmang S, Sydes MR, Birtle A, Gudjonsson S, et al. Systematic Review and Individual Patient Data Meta-analysis of Randomized Trials Comparing a Single Immediate Instillation of Chemotherapy After Transurethral Resection with Transurethral Resection Alone in Patients with Stage pTa-pT1 Urothelial Carcinoma of the Bladder: Which Patients Benefit from the Instillation? *Eur Urol.* 2016 Feb;69(2):231–44.
78. Abern MR, Owusu RA, Anderson MR, Rampersaud EN, Inman BA. Perioperative intravesical chemotherapy in non-muscle-invasive bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN.* 2013 Apr 1;11(4):477–84.
79. Perlis N, Zlotta AR, Beyene J, Finelli A, Fleshner NE, Kulkarni GS. Immediate post-transurethral resection of bladder tumor intravesical chemotherapy prevents non-muscle-invasive bladder cancer recurrences: an updated meta-analysis on 2548 patients

- and quality-of-evidence review. *Eur Urol.* 2013 Sep;64(3):421–30.
80. Huncharek M, McGarry R, Kupelnick B. Impact of intravesical chemotherapy on recurrence rate of recurrent superficial transitional cell carcinoma of the bladder: results of a meta-analysis. *Anticancer Res.* 2001 Feb;21(1B):765–9.
81. Malmström PU, Sylvester RJ, Crawford DE, Friedrich M, Krege S, Rintala E, et al. An individual patient data meta-analysis of the long-term outcome of randomised studies comparing intravesical mitomycin C versus bacillus Calmette-Guérin for non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol.* 2009 Aug;56(2):247–56.
82. Shelley MD, Kynaston H, Court J, Wilt TJ, Coles B, Burgon K, et al. A systematic review of intravesical bacillus Calmette-Guérin plus transurethral resection vs transurethral resection alone in Ta and T1 bladder cancer. *BJU Int.* 2001 Aug;88(3):209–16.
83. Han RF, Pan JG. Can intravesical bacillus Calmette-Guérin reduce recurrence in patients with superficial bladder cancer? A meta-analysis of randomized trials. *Urology.* 2006 Jun;67(6):1216–23.
84. Sylvester RJ, van der MEIJDEN APM, Lamm DL. Intravesical bacillus Calmette-Guérin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *J Urol.* 2002 Nov;168(5):1964–70.
85. Järvinen R, Kaasinen E, Sankila A, Rintala E. Long-term Efficacy of Maintenance Bacillus Calmette-Guérin versus Maintenance Mitomycin C Instillation Therapy in Frequently Recurrent TaT1 Tumours without Carcinoma In Situ: A Subgroup Analysis of the Prospective, Randomised FinnBladder I Study with a 20-Year Follow-up. *Eur Urol.* 2009 Aug;56(2):260–5.
86. Sylvester RJ, Brausi MA, Kirkels WJ, Hoeltl W, Calais Da Silva F, Powell PH, et al. Long-term efficacy results of EORTC genito-urinary group randomized phase 3 study 30911 comparing intravesical instillations of epirubicin, bacillus Calmette-Guérin, and bacillus Calmette-Guérin plus isoniazid in patients with intermediate- and high-risk stage Ta T1 urothelial carcinoma of the bladder. *Eur Urol.* 2010 May;57(5):766–73.
87. Duchek M, Johansson R, Jahnson S, Mestad O, Hellström P, Hellsten S, et al. Bacillus Calmette-Guérin Is Superior to a Combination of Epirubicin and Interferon- α 2b in the Intravesical Treatment of Patients with Stage T1 Urinary Bladder Cancer. A Prospective, Randomized, Nordic Study. *Eur Urol.* 2010 Jan;57(1):25–31.
88. Flanigan null, DeLaurentis null, Waters null, Kunz null. Bacillus Calmette-Guérin. Is monthly maintenance an option for transitional cell carcinoma of the bladder? *Urol Oncol.* 2000 Dec 15;6(1):16–9.
89. Oddens J, Brausi M, Sylvester R, Bono A, van de Beek C, van Andel G, et al. Final results of an EORTC-GU cancers group randomized study of maintenance bacillus Calmette-Guérin in intermediate- and high-risk Ta, T1 papillary carcinoma of the urinary bladder: one-third dose versus full dose and 1 year versus 3 years of maintenance. *Eur Urol.* 2013 Mar;63(3):462–72.
90. Martínez-Piñeiro L, Portillo JA, Fernández JM, Zabala JA, Cadierno I, Moyano JL, et al. Maintenance Therapy with 3-monthly Bacillus Calmette-Guérin for 3 Years is Not Superior to Standard Induction Therapy in High-risk Non-muscle-invasive Urothelial Bladder Carcinoma: Final Results of Randomised CUETO Study 98013. *Eur Urol.* 2015 Aug;68(2):256–62.
91. Martínez-Piñeiro JA, Martínez-Piñeiro L, Solsona E, Rodríguez RH, Gómez JMF, Martín MG, et al. Has a 3-fold decreased dose of bacillus Calmette-Guérin the same efficacy against recurrences and progression of T1G3 and Tis bladder tumors than

the standard dose? Results of a prospective randomized trial. *J Urol*. 2005 Oct;174(4 Pt 1):1242–7.

92. Gallagher BL, Joudi FN, Maymí JL, O'Donnell MA. Impact of previous bacille Calmette-Guérin failure pattern on subsequent response to bacille Calmette-Guérin plus interferon intravesical therapy. *Urology*. 2008 Feb;71(2):297–301.

93. Solsona E, Iborra I, Dumont R, Rubio-Briones J, Casanova J, Almenar S. The 3-month clinical response to intravesical therapy as a predictive factor for progression in patients with high risk superficial bladder cancer. *J Urol*. 2000 Sep;164(3 Pt 1):685–9.

94. Raj GV, Herr H, Serio AM, Donat SM, Bochner BH, Vickers AJ, et al. Treatment paradigm shift may improve survival of patients with high risk superficial bladder cancer. *J Urol*. 2007 Apr;177(4):1283–1286; discussion 1286.

95. Herr HW, Sogani PC. Does early cystectomy improve the survival of patients with high risk superficial bladder tumors? *J Urol*. 2001 Oct;166(4):1296–9.

96. Breau RH, Karnes RJ, Farmer SA, Thapa P, Cagiannos I, Morash C, et al. Progression to detrusor muscle invasion during urothelial carcinoma surveillance is associated with poor prognosis. *BJU Int*. 2014 Jun;113(6):900–6.

97. Weiss C, Wolze C, Engehausen DG, Ott OJ, Krause FS, Schrott KM, et al. Radiochemotherapy after transurethral resection for high-risk T1 bladder cancer: an alternative to intravesical therapy or early cystectomy? *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2006 May 20;24(15):2318–24.

98. Gofrit ON, Yutkin V, Shapiro A, Pizov G, Zorn KC, Hidas G, et al. The Response of Variant Histology Bladder Cancer to Intravesical Immunotherapy Compared to Conventional Cancer. *Front Oncol* [Internet]. 2016 Mar 15 [cited 2021 May 24];6. Available from:

<http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fonc.2016.00043/abstract>

99. Steinberg G, Bahnsen R, Brosman S, Middleton R, Wajzman Z, Wehle M. Efficacy and safety of valrubicin for the treatment of Bacillus Calmette-Guérin refractory carcinoma in situ of the bladder. The Valrubicin Study Group. *J Urol*. 2000 Mar;163(3):761–7.

100. Arends TJH, Nativ O, Maffezzini M, de Cobelli O, Canepa G, Verweij F, et al. Results of a Randomised Controlled Trial Comparing Intravesical Chemohyperthermia with Mitomycin C Versus Bacillus Calmette-Guérin for Adjuvant Treatment of Patients with Intermediate- and High-risk Non-Muscle-invasive Bladder Cancer. *Eur Urol*. 2016;69(6):1046–52.

101. Racioppi M, Di Gianfrancesco L, Ragonese M, Palermo G, Sacco E, Bassi PF. ElectroMotive drug administration (EMDA) of Mitomycin C as first-line salvage therapy in high risk “BCG failure” non muscle invasive bladder cancer: 3 years follow-up outcomes. *BMC Cancer*. 2018 Dec 6;18(1):1224.

102. Skinner EC, Goldman B, Sakr WA, Petrylak DP, Lenz HJ, Lee CT, et al. SWOG S0353: Phase II trial of intravesical gemcitabine in patients with nonmuscle invasive bladder cancer and recurrence after 2 prior courses of intravesical bacillus Calmette-Guérin. *J Urol*. 2013 Oct;190(4):1200–4.

103. Steinberg RL, Thomas LJ, Brooks N, Mott SL, Vitale A, Crump T, et al. Multi-Institution Evaluation of Sequential Gemcitabine and Docetaxel as Rescue Therapy for Nonmuscle Invasive Bladder Cancer. *J Urol*. 2020;203(5):902–9.

104. Balar AV, Kamat AM, Kulkarni GS, Uchio EM, Boormans JL, Bajorin DF, et al. Pembrolizumab (pembro) for the treatment of patients with Bacillus Calmette-Guérin (BCG) unresponsive, high-risk (HR) non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC): Over two years follow-up of KEYNOTE-057. *J Clin Oncol*. 2020 May 20;38(15_suppl):5041–5041.

105. Balar AV, Kamat AM, Kulkarni GS, Uchio EM, Boormans JL, Roumiguié M, et al. Pembrolizumab monotherapy for the treatment of high-risk non-muscle-invasive bladder cancer unresponsive to BCG (KEYNOTE-057): an open-label, single-arm, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2021 Jul;22(7):919–30.
106. Black PC, Tangen C, Singh P, McConkey DJ, Lucia S, Lowrance WT, et al. Phase II trial of atezolizumab in BCG-unresponsive non-muscle invasive bladder cancer: SWOG S1605 (NCT #02844816). *J Clin Oncol.* 2020 May 20;38(15_suppl):5022–5022.
107. Hahn NM, Chang S, Meng M, Shore ND, Konety BR, Steinberg GD, et al. A phase II, randomized study of nivolumab (NIVO), NIVO plus linrodostat mesylate, or NIVO plus intravesical bacillus Calmette-Guerin (BCG) in BCG-unresponsive, high-risk, nonmuscle invasive bladder cancer (NMIBC): CheckMate 9UT. *J Clin Oncol.* 2020 May 20;38(15_suppl):TPS5090-TPS5090.
108. Kowalski M, Guindon J, Brazas L, Moore C, Entwistle J, Cizeau J, et al. A phase II study of oportuzumab monatox: an immunotoxin therapy for patients with noninvasive urothelial carcinoma in situ previously treated with bacillus Calmette-Guérin. *J Urol.* 2012 Nov;188(5):1712–8.
109. PD03-02 PHASE 3 RESULTS OF VICINIUM IN BCG-UNRESPONSIVE NON-MUSCLE INVASIVE BLADDER CANCER.
110. Boorjian SA, Alemozaffar M, Konety BR, Shore ND, Gomella LG, Kamat AM, et al. Intravesical nadofaragene firadenovec gene therapy for BCG-unresponsive non-muscle-invasive bladder cancer: a single-arm, open-label, repeat-dose clinical trial. *Lancet Oncol.* 2021 Jan;22(1):107–17.
111. Ramesh N, Ge Y, Ennist DL, Zhu M, Mina M, Ganesh S, et al. CG0070, a conditionally replicating granulocyte macrophage colony-stimulating factor--armed oncolytic adenovirus for the treatment of bladder cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2006 Jan 1;12(1):305–13.
112. Packiam VT, Lamm DL, Barocas DA, Trainer A, Fand B, Davis RL, et al. An open label, single-arm, phase II multicenter study of the safety and efficacy of CG0070 oncolytic vector regimen in patients with BCG-unresponsive non-muscle-invasive bladder cancer: Interim results. *Urol Oncol.* 2018;36(10):440–7.
113. Chu CE, Porten SP, Grossfeld GD, Meng MV. Role of Indoleamine-2,3-Dioxygenase Inhibitors in Salvage Therapy for Non-Muscle Invasive Bladder Cancer. *Urol Clin North Am.* 2020 Feb;47(1):111–8.
114. Waldmann TA. The biology of interleukin-2 and interleukin-15: implications for cancer therapy and vaccine design. *Nat Rev Immunol.* 2006 Aug;6(8):595–601.
115. Robertson AG, Kim J, Al-Ahmadie H, Bellmunt J, Guo G, Cherniack AD, et al. Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cell.* 2018 Aug 9;174(4):1033.
116. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature.* 2014 Mar 20;507(7492):315–22.
117. Knowles MA, Hurst CD. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity. *Nat Rev Cancer.* 2015 Jan;15(1):25–41.
118. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature.* 2014 Mar 20;507(7492):315–22.
119. Mo Q, Nikolos F, Chen F, Tramel Z, Lee YC, Hayashi K, et al. Prognostic Power of a Tumor Differentiation Gene Signature for Bladder Urothelial Carcinomas. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 2018 May 1;110(5):448–59.

120. Damrauer JS, Hoadley KA, Chism DD, Fan C, Tiganelli CJ, Wobker SE, et al. Intrinsic subtypes of high-grade bladder cancer reflect the hallmarks of breast cancer biology. *Proc Natl Acad Sci*. 2014 Feb 25;111(8):3110–5.
121. Choi W, Porten S, Kim S, Willis D, Plimack ER, Hoffman-Censits J, et al. Identification of Distinct Basal and Luminal Subtypes of Muscle-Invasive Bladder Cancer with Different Sensitivities to Frontline Chemotherapy. *Cancer Cell*. 2014 Feb;25(2):152–65.
122. Rebouissou S, Bernard-Pierrot I, de Reynies A, Lepage ML, Krucker C, Chapeaublanc E, et al. EGFR as a potential therapeutic target for a subset of muscle-invasive bladder cancers presenting a basal-like phenotype. *Sci Transl Med*. 2014 Jul 9;6(244):244ra91-244ra91.
123. Lopez-Beltran A, Blanca A, Cimadamore A, Gogna R, Montironi R, Cheng L. Molecular Classification of Bladder Urothelial Carcinoma Using NanoString-Based Gene Expression Analysis. *Cancers*. 2021 Nov 1;13(21).
124. Seiler R, Ashab HAD, Erho N, van Rhijn BWG, Winters B, Douglas J, et al. Impact of Molecular Subtypes in Muscle-invasive Bladder Cancer on Predicting Response and Survival after Neoadjuvant Chemotherapy. *Eur Urol*. 2017;72(4):544–54.
125. McConkey DJ, Choi W, Shen Y, Lee IL, Porten S, Matin SF, et al. A Prognostic Gene Expression Signature in the Molecular Classification of Chemotherapy-naïve Urothelial Cancer is Predictive of Clinical Outcomes from Neoadjuvant Chemotherapy: A Phase 2 Trial of Dose-dense Methotrexate, Vinblastine, Doxorubicin, and Cisplatin with Bevacizumab in Urothelial Cancer. *Eur Urol*. 2016 May;69(5):855–62.
126. Lotan Y, Boorjian SA, Zhang J, Bivalacqua TJ, Porten SP, Wheeler T, et al. Molecular Subtyping of Clinically Localized Urothelial Carcinoma Reveals Lower Rates of Pathological Upstaging at Radical Cystectomy Among Luminal Tumors. *Eur Urol*. 2019 Aug;76(2):200–6.
127. Mariathasan S, Turley SJ, Nickles D, Castiglioni A, Yuen K, Wang Y, et al. TGFβ attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. *Nature*. 2018 Feb;554(7693):544–8.
128. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, van der Heijden MS, Balar AV, Necchi A, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Lond Engl*. 2016 May 7;387(10031):1909–20.
129. Kim J, Kwiatkowski D, McConkey DJ, Meeks JJ, Freeman SS, Bellmunt J, et al. The Cancer Genome Atlas Expression Subtypes Stratify Response to Checkpoint Inhibition in Advanced Urothelial Cancer and Identify a Subset of Patients with High Survival Probability. *Eur Urol*. 2019 Jun;75(6):961–4.
130. Patel VG, Oh WK, Galsky MD. Treatment of muscle-invasive and advanced bladder cancer in 2020. *CA Cancer J Clin*. 2020;70(5):404–23.
131. Yafi FA, Aprikian AG, Chin JL, Fradet Y, Izawa J, Estey E, et al. Contemporary outcomes of 2287 patients with bladder cancer who were treated with radical cystectomy: a Canadian multicentre experience: OUTCOMES AFTER RADICAL CYSTECTOMY. *BJU Int*. 2011 Aug;108(4):539–45.
132. Waingankar N, Jia R, Marqueen KE, Audenet F, Sfakianos JP, Mehrazin R, et al. The impact of pathologic response to neoadjuvant chemotherapy on conditional survival among patients with muscle-invasive bladder cancer. *Urol Oncol Semin Orig Investig*. 2019 Sep;37(9):572.e21-572.e28.
133. Harker WG, Meyers FJ, Freiha FS, Palmer JM, Shortliffe LD, Hannigan JF, et al. Cisplatin, methotrexate, and vinblastine (CMV): an effective chemotherapy regimen

- for metastatic transitional cell carcinoma of the urinary tract. A Northern California Oncology Group study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1985 Nov;3(11):1463–70.
134. Soloway MS, Ikard M, Ford K. Cis-diamminedichloroplatinum (II) in locally advanced and metastatic urothelial cancer. *Cancer*. 1981 Feb 1;47(3):476–80.
135. Sternberg CN, Yagoda A, Scher HI, Watson RC, Ahmed T, Weiselberg LR, et al. Preliminary results of M-VAC (methotrexate, vinblastine, doxorubicin and cisplatin) for transitional cell carcinoma of the urothelium. *J Urol*. 1985 Mar;133(3):403–7.
136. Yagoda A, Watson RC, Gonzalez-Vitale JC, Grabstald H, Whitmore WF. Cis-dichlorodiammineplatinum(II) in advanced bladder cancer. *Cancer Treat Rep*. 1976 Jul;60(7):917–23.
137. Scher HI, Yagoda A, Herr HW, Sternberg CN, Bosl G, Morse MJ, et al. Neoadjuvant M-Vac (Methotrexate, Vinblastine, Doxorubicin and Cisplatin) Effect on the Primary Bladder Lesion. *J Urol*. 1988 Mar;139(3):470–4.
138. Sonpavde G, Goldman BH, Speights VO, Lerner SP, Wood DP, Vogelzang NJ, et al. Quality of pathologic response and surgery correlate with survival for patients with completely resected bladder cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Cancer*. 2009 Sep 15;115(18):4104–9.
139. Splinter TA, Scher HI, Denis L, Bukowski R, Simon S, Klimberg I, et al. The prognostic value of the pathological response to combination chemotherapy before cystectomy in patients with invasive bladder cancer. European Organization for Research on Treatment of Cancer--Genitourinary Group. *J Urol*. 1992 Mar;147(3):606–8.
140. Malmstrom PU, Rintala E, Wahlqvist R, Hellstrom P, Hellsten S, Hannisdal E. Five-year Followup of a Prospective Trial of Radical Cystectomy and Neoadjuvant Chemotherapy: Nordic Cystectomy Trial 1. *J Urol*. 1996 Jun;155(6):1903–6.
141. Sherif A, Rintala E, Mestad O, Nilsson J, Holmberg L, Nilsson S, et al. Neoadjuvant Cisplatin-Methotrexate Chemotherapy for Invasive Bladder Cancer - Nordic Cystectomy Trial 2. *Scand J Urol Nephrol*. 2002 Jan;36(6):419–25.
142. International Collaboration of Trialists, Medical Research Council Advanced Bladder Cancer Working Party (now the National Cancer Research Institute Bladder Cancer Clinical Studies Group), European Organisation for Research and Treatment of Cancer Genito-Urinary Tract Cancer Group, Australian Bladder Cancer Study Group, National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group, Finnbladder, et al. International phase III trial assessing neoadjuvant cisplatin, methotrexate, and vinblastine chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer: long-term results of the BA06 30894 trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2011 Jun 1;29(16):2171–7.
143. Grossman HB, Natale RB, Tangen CM, Speights VO, Vogelzang NJ, Trump DL, et al. Neoadjuvant Chemotherapy plus Cystectomy Compared with Cystectomy Alone for Locally Advanced Bladder Cancer. *N Engl J Med*. 2003 Aug 28;349(9):859–66.
144. Vale CL. Neoadjuvant Chemotherapy in Invasive Bladder Cancer: Update of a Systematic Review and Meta-Analysis of Individual Patient Data. *Eur Urol*. 2005 Aug;48(2):202–6.
145. von der Maase H, Hansen SW, Roberts JT, Dogliotti L, Oliver T, Moore MJ, et al. Gemcitabine and cisplatin versus methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin in advanced or metastatic bladder cancer: results of a large, randomized, multinational, multicenter, phase III study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2000 Sep;18(17):3068–77.
146. von der Maase H, Sengelov L, Roberts JT, Ricci S, Dogliotti L, Oliver T, et al.

Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2005 Jul 20;23(21):4602–8.

147. Zargar H, Espiritu PN, Fairey AS, Mertens LS, Dinney CP, Mir MC, et al. Multicenter assessment of neoadjuvant chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol*. 2015 Feb;67(2):241–9.

148. Pfister C, Gravis G, Fléchon A, Soulié M, Guy L, Laguerre B, et al. Randomized Phase III Trial of Dose-dense Methotrexate, Vinblastine, Doxorubicin, and Cisplatin, or Gemcitabine and Cisplatin as Perioperative Chemotherapy for Patients with Muscle-invasive Bladder Cancer. Analysis of the GETUG/AFU V05 VESPER Trial Secondary Endpoints: Chemotherapy Toxicity and Pathological Responses. *Eur Urol*. 2021 Feb;79(2):214–21.

149. Sternberg CN, de Mulder P, Schornagel JH, Theodore C, Fossa SD, van Oosterom AT, et al. Seven year update of an EORTC phase III trial of high-dose intensity M-VAC chemotherapy and G-CSF versus classic M-VAC in advanced urothelial tract tumours. *Eur J Cancer*. 2006 Jan;42(1):50–4.

150. Sternberg CN, de Mulder PH, Schornagel JH, Théodore C, Fossa SD, van Oosterom AT, et al. Randomized phase III trial of high-dose-intensity methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin (MVAC) chemotherapy and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor versus classic MVAC in advanced urothelial tract tumors: European Organization for Research and Treatment of Cancer Protocol no. 30924. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2001 May 15;19(10):2638–46.

151. Choueiri TK, Jacobus S, Bellmunt J, Qu A, Appleman LJ, Tretter C, et al. Neoadjuvant dose-dense methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin with pegfilgrastim support in muscle-invasive urothelial cancer: pathologic, radiologic, and biomarker correlates. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2014 Jun 20;32(18):1889–94.

152. Plimack ER, Hoffman-Censits JH, Viterbo R, Trabulsi EJ, Ross EA, Greenberg RE, et al. Accelerated methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin is safe, effective, and efficient neoadjuvant treatment for muscle-invasive bladder cancer: results of a multicenter phase II study with molecular correlates of response and toxicity. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2014 Jun 20;32(18):1895–901.

153. Iyer G, Balar AV, Milowsky MI, Bochner BH, Dalbagni G, Donat SM, et al. Multicenter Prospective Phase II Trial of Neoadjuvant Dose-Dense Gemcitabine Plus Cisplatin in Patients With Muscle-Invasive Bladder Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2018 01;36(19):1949–56.

154. Flaig TW, Tangen CM, Daneshmand S, Alva AS, Lerner SP, Lucia MS, et al. SWOG S1314: A randomized phase II study of co-expression extrapolation (COXEN) with neoadjuvant chemotherapy for localized, muscle-invasive bladder cancer. *J Clin Oncol*. 2019 May 20;37(15_suppl):4506–4506.

155. Patel MR, Ellerton J, Infante JR, Agrawal M, Gordon M, Aljumaily R, et al. Avelumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum failure (JAVELIN Solid Tumor): pooled results from two expansion cohorts of an open-label, phase 1 trial. *Lancet Oncol*. 2018;19(1):51–64.

156. Dash A, Galsky MD, Vickers AJ, Serio AM, Koppie TM, Dalbagni G, et al. Impact of renal impairment on eligibility for adjuvant cisplatin-based chemotherapy in patients with urothelial carcinoma of the bladder. *Cancer*. 2006 Aug 1;107(3):506–13.

157. Bellmunt J, Ribas A, Eres N, Albanell J, Almanza C, Bermejo B, et al. Carboplatin-based versus cisplatin-based chemotherapy in the treatment of surgically incurable advanced bladder carcinoma. *Cancer*. 1997 Nov 15;80(10):1966–72.

158. Dogliotti L, Carteni G, Siena S, Bertetto O, Martoni A, Bono A, et al. Gemcitabine plus cisplatin versus gemcitabine plus carboplatin as first-line chemotherapy in advanced transitional cell carcinoma of the urothelium: results of a randomized phase 2 trial. *Eur Urol*. 2007 Jul;52(1):134–41.
159. Petrioli R, Frediani B, Manganelli A, Barbanti G, De Capua B, De Lauretis A, et al. Comparison between a cisplatin-containing regimen and a carboplatin-containing regimen for recurrent or metastatic bladder cancer patients. A randomized phase II study. *Cancer*. 1996 Jan 15;77(2):344–51.
160. Koie T, Ohyama C, Hashimoto Y, Hatakeyama S, Yamamoto H, Yoneyama T, et al. Efficacies and safety of neoadjuvant gemcitabine plus carboplatin followed by immediate cystectomy in patients with muscle-invasive bladder cancer, including those unfit for cisplatin: a prospective single-arm study. *Int J Clin Oncol*. 2013 Aug;18(4):724–30.
161. Koie T, Ohyama C, Yamamoto H, Imai A, Hatakeyama S, Yoneyama T, et al. Neoadjuvant gemcitabine and carboplatin followed by immediate cystectomy may be associated with a survival benefit in patients with clinical T2 bladder cancer. *Med Oncol Northwood Lond Engl*. 2014 May;31(5):949.
162. Mertens LS, Meijer RP, Kerst JM, Bergman AM, van Tinteren H, van Rhijn BWG, et al. Carboplatin based induction chemotherapy for nonorgan confined bladder cancer--a reasonable alternative for cisplatin unfit patients? *J Urol*. 2012 Oct;188(4):1108–13.
163. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/bladder.pdf.
164. Abdelhafez M, Williams M. PD62-04 SAFETY AND EFFICACY GEMCITABINE-CISPLATIN SPLIT DOSE AS A NEOADUVANT CHEMOTHERAPY FOR MUSCLE INVASIVE BLADDER CANCER. *J Urol* [Internet]. 2017 Apr [cited 2020 Nov 16];197(4S). Available from: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2017.02.2776>
165. Hussain SA, Palmer DH, Lloyd B, Collins SI, Barton D, Ansari J, et al. A study of split-dose cisplatin-based neo-adjuvant chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer. *Oncol Lett*. 2012 Apr 1;3(4):855–9.
166. Yip W, Coleman J, Wong NC, Sjoberg DD, Bochner BH, Dalbagni G, et al. Final results of a multicenter prospective phase II clinical trial of gemcitabine and cisplatin as neoadjuvant chemotherapy in patients with high-grade upper tract urothelial carcinoma. *J Clin Oncol*. 2022 Feb 20;40(6_suppl):440–440.
167. Xylinas E, Rink M, Margulis V, Clozel T, Lee RK, Comploj E, et al. Impact of renal function on eligibility for chemotherapy and survival in patients who have undergone radical nephro-ureterectomy. *BJU Int*. 2013 Aug;112(4):453–61.
168. Raman JD, Lin YK, Kaag M, Atkinson T, Crispen P, Wille M, et al. High rates of advanced disease, complications, and decline of renal function after radical nephroureterectomy. *Urol Oncol*. 2014 Jan;32(1):47.e9-14.
169. Necchi A, Anichini A, Raggi D, Briganti A, Massa S, Lucianò R, et al. Pembrolizumab as Neoadjuvant Therapy Before Radical Cystectomy in Patients With Muscle-Invasive Urothelial Bladder Carcinoma (PURE-01): An Open-Label, Single-Arm, Phase II Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2018 Oct 20;JCO1801148.
170. Necchi A, Raggi D, Gallina A, Madison R, Colecchia M, Lucianò R, et al. Updated Results of PURE-01 with Preliminary Activity of Neoadjuvant Pembrolizumab in Patients with Muscle-invasive Bladder Carcinoma with Variant Histologies. *Eur Urol*. 2020;77(4):439–46.
171. Powles T, Kockx M, Rodriguez-Vida A, Duran I, Crabb SJ, Van Der Heijden

- MS, et al. Clinical efficacy and biomarker analysis of neoadjuvant atezolizumab in operable urothelial carcinoma in the ABACUS trial. *Nat Med*. 2019 Nov;25(11):1706–14.
172. Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Mar 2;107(9):4275–80.
173. Gao J, Siefker-Radtke AO, Navai N, Campbell MT, Slack Tidwell R, Guo C, et al. A pilot presurgical study evaluating anti-PD-L1 durvalumab (durva) plus anti-CTLA-4 tremelimumab (treme) in patients (pts) with high-risk muscle-invasive bladder carcinoma (MIBC) who are ineligible for cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy (NAC). *J Clin Oncol*. 2019 May 20;37(15_suppl):4551–4551.
174. van Dijk N, Gil-Jimenez A, Silina K, Hendricksen K, Smit LA, de Feijter JM, et al. Preoperative ipilimumab plus nivolumab in locoregionally advanced urothelial cancer: the NABUCCO trial. *Nat Med* [Internet]. 2020 Oct 12 [cited 2020 Nov 23]; Available from: <http://www.nature.com/articles/s41591-020-1085-z>
175. Necchi A, Martini A, Raggi D, Cucchiara V, Colecchia M, Lucianò R, et al. A feasibility study of preoperative pembrolizumab before radical nephroureterectomy in patients with high-risk, upper tract urothelial carcinoma: PURE-02. *Urol Oncol*. 2022;40(1):10.e1-10.e6.
176. 10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.4503 *Journal of Clinical Oncology* 39, no. 15_suppl (May 20, 2021) 4503-4503.
177. 10.1200/JCO.2020.38.6_suppl.439 *Journal of Clinical Oncology* 38, no. 6_suppl (February 20, 2020) 439-439.
178. 10.1200/JCO.2022.40.6_suppl.487 *Journal of Clinical Oncology* 40, no. 6_suppl (February 20, 2022) 487-487.
179. 10.1200/JCO.2021.39.6_suppl.430 *Journal of Clinical Oncology* 39, no. 6_suppl (February 20, 2021) 430-430.
180. Funt SA, Lattanzi M, Whiting K, Al-Ahmadie H, Quinlan C, Teo MY, et al. Neoadjuvant Atezolizumab With Gemcitabine and Cisplatin in Patients With Muscle-Invasive Bladder Cancer: A Multicenter, Single-Arm, Phase II Trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2022 20;40(12):1312–22.
181. Martinez Chanza N, Soukane L, Barthelemy P, Carnot A, Gil T, Casert V, et al. Avelumab as neoadjuvant therapy in patients with urothelial non-metastatic muscle invasive bladder cancer: a multicenter, randomized, non-comparative, phase II study (Oncodistinct 004 - AURA trial). *BMC Cancer*. 2021 Dec 2;21(1):1292.
182. Stein JP, Lieskovsky G, Cote R, Groshen S, Feng AC, Boyd S, et al. Radical Cystectomy in the Treatment of Invasive Bladder Cancer: Long-Term Results in 1,054 Patients. *J Clin Oncol*. 2001 Feb 1;19(3):666–75.
183. Gschwend JE, Heck MM, Lehmann J, Rübber H, Albers P, Wolff JM, et al. Extended Versus Limited Lymph Node Dissection in Bladder Cancer Patients Undergoing Radical Cystectomy: Survival Results from a Prospective, Randomized Trial. *Eur Urol*. 2019;75(4):604–11.
184. Bruins HM, Hernandez V, Veskimäe E, Imamura M, Lam TB, Neuberger M, et al. 118 Does the extent of lymphadenectomy impact survival after radical cystectomy: A systematic review. *Eur Urol Suppl*. 2014 Apr;13(1):e118–e118b.
185. Nieuwenhuijzen JA, de Vries RR, Bex A, van der Poel HG, Meinhardt W, Antonini N, et al. Urinary Diversions after Cystectomy: The Association of Clinical Factors, Complications and Functional Results of Four Different Diversions. *Eur Urol*. 2008 Apr;53(4):834–44.
186. Bachour K, Faiena I, Salmasi A, Lenis AT, Johnson DC, Pooli A, et al. Trends

- in urinary diversion after radical cystectomy for urothelial carcinoma. *World J Urol.* 2018 Mar;36(3):409–16.
187. Quek ML, Stein JP, Daneshmand S, Miranda G, Thangathurai D, Roffey P, et al. A Critical Analysis of Perioperative Mortality From Radical Cystectomy. *J Urol.* 2006 Mar;175(3):886–90.
188. Gerharz EW, Turner WH, Kälble T, Woodhouse CRJ. Metabolic and functional consequences of urinary reconstruction with bowel. *BJU Int.* 2003 Jan;91(2):143–9.
189. Pagano F, Bassi P, Galetti TP, Meneghini A, Milani C, Artibani W, et al. Results of contemporary radical cystectomy for invasive bladder cancer: a clinicopathological study with an emphasis on the inadequacy of the tumor, nodes and metastases classification. *J Urol.* 1991 Jan;145(1):45–50.
190. Donat SM, Shabsigh A, Savage C, Cronin AM, Bochner BH, Dalbagni G, et al. Potential impact of postoperative early complications on the timing of adjuvant chemotherapy in patients undergoing radical cystectomy: a high-volume tertiary cancer center experience. *Eur Urol.* 2009 Jan;55(1):177–85.
191. Cognetti F, Ruggeri EM, Felici A, Gallucci M, Muto G, Pollera CF, et al. Adjuvant chemotherapy with cisplatin and gemcitabine versus chemotherapy at relapse in patients with muscle-invasive bladder cancer submitted to radical cystectomy: an Italian, multicenter, randomized phase III trial. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2012 Mar;23(3):695–700.
192. Paz-Ares LG, Solsona E, Esteban E, Saez A, Gonzalez-Larriba J, Anton A, et al. Randomized phase III trial comparing adjuvant paclitaxel/gemcitabine/cisplatin (PGC) to observation in patients with resected invasive bladder cancer: Results of the Spanish Oncology Genitourinary Group (SOGUG) 99/01 study. *J Clin Oncol.* 2010 Jun 20;28(18_suppl):LBA4518-LBA4518.
193. Stadler WM, Lerner SP, Groshen S, Stein JP, Shi SR, Raghavan D, et al. Phase III study of molecularly targeted adjuvant therapy in locally advanced urothelial cancer of the bladder based on p53 status. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2011 Sep 1;29(25):3443–9.
194. Sternberg CN, Skoneczna I, Kerst JM, Albers P, Fossa SD, Agerbaek M, et al. Immediate versus deferred chemotherapy after radical cystectomy in patients with pT3-pT4 or N+ M0 urothelial carcinoma of the bladder (EORTC 30994): an intergroup, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2015 Jan;16(1):76–86.
195. Galsky MD, Stensland KD, Moshier E, Sfakianos JP, McBride RB, Tsao CK, et al. Effectiveness of Adjuvant Chemotherapy for Locally Advanced Bladder Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2016 Mar 10;34(8):825–32.
196. Leow JJ, Martin-Doyle W, Rajagopal PS, Patel CG, Anderson EM, Rothman AT, et al. Adjuvant Chemotherapy for Invasive Bladder Cancer: A 2013 Updated Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Trials. *Eur Urol.* 2014 Jul;66(1):42–54.
197. Advanced Bladder Cancer (ABC) Meta-analysis Collaborators Group. Adjuvant Chemotherapy for Muscle-invasive Bladder Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis of Individual Participant Data from Randomised Controlled Trials. *Eur Urol.* 2022 Jan;81(1):50–61.
198. Birtle A, Johnson M, Chester J, Jones R, Dolling D, Bryan RT, et al. Adjuvant chemotherapy in upper tract urothelial carcinoma (the POUT trial): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *The Lancet.* 2020 Apr;395(10232):1268–77.
199. Bajorin DF, Witjes JA, Gschwend JE, Schenker M, Valderrama BP, Tomita Y, et al. Adjuvant Nivolumab versus Placebo in Muscle-Invasive Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med.* 2021 Jun 3;384(22):2102–14.

200. Bellmunt J, Hussain M, Gschwend JE, Albers P, Oudard S, Castellano D, et al. Adjuvant atezolizumab versus observation in muscle-invasive urothelial carcinoma (IMvigor010): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2021 Apr;22(4):525–37.
201. Pal SK, Somford DM, Grivas P, Sridhar SS, Gupta S, Bellmunt J, et al. Targeting FGFR3 alterations with adjuvant infigratinib in invasive urothelial carcinoma: the phase III PROOF 302 trial. *Future Oncol Lond Engl*. 2022 Jul;18(21):2599–614.
202. Mak KS, Smith AB, Eidelman A, Clayman R, Niemierko A, Cheng JS, et al. Quality of Life in Long-term Survivors of Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2016 01;96(5):1028–36.
203. Mak RH, Hunt D, Shipley WU, Efstathiou JA, Tester WJ, Hagan MP, et al. Long-term outcomes in patients with muscle-invasive bladder cancer after selective bladder-preserving combined-modality therapy: a pooled analysis of Radiation Therapy Oncology Group protocols 8802, 8903, 9506, 9706, 9906, and 0233. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2014 Dec 1;32(34):3801–9.
204. Rödel C, Grabenbauer GG, Kühn R, Papadopoulos T, Dunst J, Meyer M, et al. Combined-modality treatment and selective organ preservation in invasive bladder cancer: long-term results. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2002 Jul 15;20(14):3061–71.
205. James ND, Hussain SA, Hall E, Jenkins P, Tremlett J, Rawlings C, et al. Radiotherapy with or without chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer. *N Engl J Med*. 2012 Apr 19;366(16):1477–88.
206. Hall E, Hussain SA, Porta N, Crundwell M, Jenkins P, Rawlings CL, et al. BC2001 long-term outcomes: A phase III randomized trial of chemoradiotherapy versus radiotherapy (RT) alone and standard RT versus reduced high-dose volume RT in muscle-invasive bladder cancer. *J Clin Oncol*. 2017 Feb 20;35(6_suppl):280–280.
207. Giacalone NJ, Shipley WU, Clayman RH, Niemierko A, Drumm M, Heney NM, et al. Long-term Outcomes After Bladder-preserving Tri-modality Therapy for Patients with Muscle-invasive Bladder Cancer: An Updated Analysis of the Massachusetts General Hospital Experience. *Eur Urol*. 2017;71(6):952–60.
208. Caffo O, Thompson C, De Santis M, Kragelj B, Hamstra DA, Azria D, et al. Concurrent gemcitabine and radiotherapy for the treatment of muscle-invasive bladder cancer: A pooled individual data analysis of eight phase I-II trials. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol*. 2016;121(2):193–8.
209. Coen JJ, Zhang P, Saylor PJ, Lee CT, Wu CL, Parker W, et al. Bladder Preservation With Twice-a-Day Radiation Plus Fluorouracil/Cisplatin or Once Daily Radiation Plus Gemcitabine for Muscle-Invasive Bladder Cancer: NRG/RTOG 0712-A Randomized Phase II Trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2019 01;37(1):44–51.
210. Huddart RA, Birtle A, Maynard L, Beresford M, Blazeby J, Donovan J, et al. Clinical and patient-reported outcomes of SPARE - a randomised feasibility study of selective bladder preservation versus radical cystectomy. *BJU Int*. 2017;120(5):639–50.
211. Wang Y, Deng W, Li N, Neri S, Sharma A, Jiang W, et al. Combining Immunotherapy and Radiotherapy for Cancer Treatment: Current Challenges and Future Directions. *Front Pharmacol*. 2018;9:185.
212. Reits EA, Hodge JW, Herberts CA, Groothuis TA, Chakraborty M, Wansley EK, et al. Radiation modulates the peptide repertoire, enhances MHC class I expression, and induces successful antitumor immunotherapy. *J Exp Med*. 2006 May 15;203(5):1259–71.
213. Lenis AT, Lec PM, Chamie K, Mshs M. Bladder Cancer: A Review. *JAMA*.

2020 Nov 17;324(19):1980.

214. Galsky MD, Hahn NM, Rosenberg J, Sonpavde G, Hutson T, Oh WK, et al. A consensus definition of patients with metastatic urothelial carcinoma who are unfit for cisplatin-based chemotherapy. *Lancet Oncol*. 2011 Mar;12(3):211–4.

215. Chen CH, Dickman KG, Moriya M, Zavadil J, Sidorenko VS, Edwards KL, et al. Aristolochic acid-associated urothelial cancer in Taiwan. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 May 22;109(21):8241–6.

216. Rouprêt M, Azzouzi AR, Cussenot O. Microsatellite instability and transitional cell carcinoma of the upper urinary tract. *BJU Int*. 2005 Sep;96(4):489–92.

217. Sfakianos JP, Cha EK, Iyer G, Scott SN, Zabor EC, Shah RH, et al. Genomic Characterization of Upper Tract Urothelial Carcinoma. *Eur Urol*. 2015 Dec;68(6):970–7.

218. Raman JD, Messer J, Sielatycki JA, Hollenbeck CS. Incidence and survival of patients with carcinoma of the ureter and renal pelvis in the USA, 1973-2005. *BJU Int*. 2011 Apr;107(7):1059–64.

219. Rouprêt M, Babjuk M, Compérat E, Zigeuner R, Sylvester RJ, Burger M, et al. European Association of Urology Guidelines on Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma: 2017 Update. *Eur Urol*. 2018;73(1):111–22.

220. Audenet F, Isharwal S, Cha EK, Donoghue MTA, Drill EN, Ostrovnaya I, et al. Clonal Relatedness and Mutational Differences between Upper Tract and Bladder Urothelial Carcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2019 01;25(3):967–76.

221. Fujii Y, Sato Y, Suzuki H, Kakiuchi N, Yoshizato T, Lenis AT, et al. Molecular classification and diagnostics of upper urinary tract urothelial carcinoma. *Cancer Cell*. 2021 Jun;39(6):793–809.e8.

222. McConkey DJ, Singla N, Pierorazio P, Lombardo K, Matoso A, Hoffman-Censits J. Molecular subtypes of upper tract urothelial cancer: Setting the stage for precision therapy. *Cancer Cell*. 2021 14;39(6):745–7.

223. Nassar AH, Umeton R, Kim J, Lundgren K, Harshman L, Van Allen EM, et al. Mutational Analysis of 472 Urothelial Carcinoma Across Grades and Anatomic Sites. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2019 15;25(8):2458–70.

224. van Oers JMM, Zwarthoff EC, Rehman I, Azzouzi AR, Cussenot O, Meuth M, et al. FGFR3 mutations indicate better survival in invasive upper urinary tract and bladder tumours. *Eur Urol*. 2009 Mar;55(3):650–7.

225. Moss TJ, Qi Y, Xi L, Peng B, Kim TB, Ezzedine NE, et al. Comprehensive Genomic Characterization of Upper Tract Urothelial Carcinoma. *Eur Urol*. 2017;72(4):641–9.

226. Necchi A, Madison R, Pal SK, Ross JS, Agarwal N, Sonpavde G, et al. Comprehensive Genomic Profiling of Upper-tract and Bladder Urothelial Carcinoma. *Eur Urol Focus [Internet]*. 2020 Aug [cited 2021 Jul 26]; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405456920302145>

227. Bagrodia A, Cha EK, Sfakianos JP, Zabor EC, Bochner BH, Al-Ahmadie HA, et al. Genomic Biomarkers for the Prediction of Stage and Prognosis of Upper Tract Urothelial Carcinoma. *J Urol*. 2016;195(6):1684–9.

228. Robinson BD, Vlachostergios PJ, Bhinder B, Liu W, Li K, Moss TJ, et al. Upper tract urothelial carcinoma has a luminal-papillary T-cell depleted contexture and activated FGFR3 signaling. *Nat Commun [Internet]*. 2019 Dec [cited 2021 Jun 23];10(1). Available from: <http://www.nature.com/articles/s41467-019-10873-y>

229. Robertson AG, Kim J, Al-Ahmadie H, Bellmunt J, Guo G, Cherniack AD, et al. Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cell*.

2017 Oct;171(3):540–556.e25.

230. Bajorin DF, Dodd PM, Mazumdar M, Fazzari M, McCaffrey JA, Scher HI, et al. Long-term survival in metastatic transitional-cell carcinoma and prognostic factors predicting outcome of therapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1999 Oct;17(10):3173–81.

231. Geller NL, Sternberg CN, Penenberg D, Scher H, Yagoda A. Prognostic factors for survival of patients with advanced urothelial tumors treated with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin chemotherapy. *Cancer*. 1991 Mar 15;67(6):1525–31.

232. Bellmunt J, Choueiri TK, Fougerey R, Schutz FAB, Salhi Y, Winquist E, et al. Prognostic Factors in Patients With Advanced Transitional Cell Carcinoma of the Urothelial Tract Experiencing Treatment Failure With Platinum-Containing Regimens. *J Clin Oncol*. 2010 Apr 10;28(11):1850–5.

233. Sonpavde G, Pond GR, Fougerey R, Choueiri TK, Qu AQ, Vaughn DJ, et al. Time from Prior Chemotherapy Enhances Prognostic Risk Grouping in the Second-line Setting of Advanced Urothelial Carcinoma: A Retrospective Analysis of Pooled, Prospective Phase 2 Trials. *Eur Urol*. 2013 Apr;63(4):717–23.

234. Sonpavde G, Pond GR, Rosenberg JE, Bajorin DF, Choueiri TK, Necchi A, et al. Improved 5-Factor Prognostic Classification of Patients Receiving Salvage Systemic Therapy for Advanced Urothelial Carcinoma. *J Urol*. 2016 Feb;195(2):277–82.

235. De Santis M, Bellmunt J, Mead G, Kerst JM, Leahy M, Maroto P, et al. Randomized phase II/III trial assessing gemcitabine/carboplatin and methotrexate/carboplatin/vinblastine in patients with advanced urothelial cancer who are unfit for cisplatin-based chemotherapy: EORTC study 30986. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012 Jan 10;30(2):191–9.

236. Loehrer PJ, Einhorn LH, Elson PJ, Crawford ED, Kuebler P, Tannock I, et al. A randomized comparison of cisplatin alone or in combination with methotrexate, vinblastine, and doxorubicin in patients with metastatic urothelial carcinoma: a cooperative group study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1992 Jul;10(7):1066–73.

237. Kaufman D, Raghavan D, Carducci M, Levine EG, Murphy B, Aisner J, et al. Phase II trial of gemcitabine plus cisplatin in patients with metastatic urothelial cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2000 May;18(9):1921–7.

238. Moore MJ, Winquist EW, Murray N, Tannock IF, Huan S, Bennett K, et al. Gemcitabine plus cisplatin, an active regimen in advanced urothelial cancer: a phase II trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1999 Sep;17(9):2876–81.

239. Bamias A, Dafni U, Karadimou A, Timotheadou E, Aravantinos G, Psyrri A, et al. Prospective, open-label, randomized, phase III study of two dose-dense regimens MVAC versus gemcitabine/cisplatin in patients with inoperable, metastatic or relapsed urothelial cancer: a Hellenic Cooperative Oncology Group study (HE 16/03). *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2013 Apr;24(4):1011–7.

240. Bellmunt J, von der Maase H, Mead GM, Skoneczna I, De Santis M, Daugaard G, et al. Randomized phase III study comparing paclitaxel/cisplatin/gemcitabine and gemcitabine/cisplatin in patients with locally advanced or metastatic urothelial cancer without prior systemic therapy: EORTC Intergroup Study 30987. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012 Apr 1;30(10):1107–13.

241. De Santis M, Wiechno PJ, Bellmunt J, Lucas C, Su WC, Albiges L, et al. Vinflunine-gemcitabine versus vinflunine-carboplatin as first-line chemotherapy in cisplatin-unfit patients with advanced urothelial carcinoma: results of an international

- randomized phase II trial (JASINT1). *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2016 Mar;27(3):449–54.
242. Holmsten K, Jensen NV, Mouritsen LS, Jonsson E, Mellnert C, Agerbæk M, et al. Vinflunine/gemcitabine versus carboplatin/gemcitabine as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with advanced urothelial carcinoma: A randomised phase II trial (VINGEM). *Eur J Cancer*. 2020 Mar;127:173–82.
243. Balar AV, Galsky MD, Rosenberg JE, Powles T, Petrylak DP, Bellmunt J, et al. Atezolizumab as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Lond Engl*. 2017 07;389(10064):67–76.
244. Balar AV, Castellano D, O'Donnell PH, Grivas P, Vuky J, Powles T, et al. First-line pembrolizumab in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and unresectable or metastatic urothelial cancer (KEYNOTE-052): a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2017;18(11):1483–92.
245. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tecentriq-epar-product-information_en.pdf.
246. Vuky J, Balar AV, Castellano D, O'Donnell PH, Grivas P, Bellmunt J, et al. Long-Term Outcomes in KEYNOTE-052: Phase II Study Investigating First-Line Pembrolizumab in Cisplatin-Ineligible Patients With Locally Advanced or Metastatic Urothelial Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2020 10;38(23):2658–66.
247. <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-restricts-use-keytruda-tecentriq-bladder-cancer>.
248. Powles T, Csösz T, Özgüroğlu M, Matsubara N, Géczi L, Cheng SYS, et al. Pembrolizumab alone or combined with chemotherapy versus chemotherapy as first-line therapy for advanced urothelial carcinoma (KEYNOTE-361): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2021 Jul;22(7):931–45.
249. 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.
250. Grimm MO, Schmitz-Dräger BJ, Zimmermann U, Grün CB, Baretton GB, Schmitz M, et al. Tailored Immunotherapy Approach With Nivolumab in Advanced Transitional Cell Carcinoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2022 Mar 11;JCO2102631.
251. Galsky MD, Mortazavi A, Milowsky MI, George S, Gupta S, Fleming MT, et al. Randomized Double-Blind Phase II Study of Maintenance Pembrolizumab Versus Placebo After First-Line Chemotherapy in Patients With Metastatic Urothelial Cancer. *J Clin Oncol*. 2020 Jun 1;38(16):1797–806.
252. Powles T, Sridhar SS, Loriot Y, Bellmunt J, Mu XJ, Ching KA, et al. Avelumab maintenance in advanced urothelial carcinoma: biomarker analysis of the phase 3 JAVELIN Bladder 100 trial. *Nat Med*. 2021 Dec;27(12):2200–11.
253. Oing C, Rink M, Oechsle K, Seidel C, von Amsberg G, Bokemeyer C. Second Line Chemotherapy for Advanced and Metastatic Urothelial Carcinoma: Vinflunine and Beyond-A Comprehensive Review of the Current Literature. *J Urol*. 2016 Feb;195(2):254–63.
254. Dreicer R. Second-line chemotherapy for advanced urothelial cancer: because we should or because we can? *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2009 Sep 20;27(27):4444–5.
255. Bellmunt J, Théodore C, Demkov T, Komyakov B, Sengelov L, Daugaard G, et al. Phase III trial of vinflunine plus best supportive care compared with best supportive care alone after a platinum-containing regimen in patients with advanced transitional

cell carcinoma of the urothelial tract. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2009 Sep 20;27(27):4454–61.

256. McCaffrey JA, Hilton S, Mazumdar M, Sadan S, Kelly WK, Scher HI, et al. Phase II trial of docetaxel in patients with advanced or metastatic transitional-cell carcinoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1997 May;15(5):1853–7.

257. Papamichael D, Gallagher CJ, Oliver RT, Johnson PW, Waxman J. Phase II study of paclitaxel in pretreated patients with locally advanced/metastatic cancer of the bladder and ureter. *Br J Cancer*. 1997;75(4):606–7.

258. Vaughn DJ, Broome CM, Hussain M, Gutheil JC, Markowitz AB. Phase II trial of weekly paclitaxel in patients with previously treated advanced urothelial cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2002 Feb 15;20(4):937–40.

259. Ko YJ, Canil CM, Mukherjee SD, Winquist E, Elser C, Eisen A, et al. Nanoparticle albumin-bound paclitaxel for second-line treatment of metastatic urothelial carcinoma: a single group, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2013 Jul;14(8):769–76.

260. Galsky MD, Mironov S, Iasonos A, Scattergood J, Boyle MG, Bajorin DF. Phase II trial of pemetrexed as second-line therapy in patients with metastatic urothelial carcinoma. *Invest New Drugs*. 2007 Jun;25(3):265–70.

261. Bambury RM, Benjamin DJ, Chaim JL, Zabor EC, Sullivan J, Garcia-Grossman IR, et al. The safety and efficacy of single-agent pemetrexed in platinum-resistant advanced urothelial carcinoma: a large single-institution experience. *The Oncologist*. 2015 May;20(5):508–15.

262. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, van der Heijden MS, Balar AV, Necchi A, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Lond Engl*. 2016 May 7;387(10031):1909–20.

263. Sharma P, Callahan MK, Bono P, Kim J, Spiliopoulou P, Calvo E, et al. Nivolumab monotherapy in recurrent metastatic urothelial carcinoma (CheckMate 032): a multicentre, open-label, two-stage, multi-arm, phase 1/2 trial. *Lancet Oncol*. 2016 Nov;17(11):1590–8.

264. Bellmunt J, de Wit R, Vaughn DJ, Fradet Y, Lee JL, Fong L, et al. Pembrolizumab as Second-Line Therapy for Advanced Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med*. 2017 Mar 16;376(11):1015–26.

265. Apolo AB, Infante JR, Balmanoukian A, Patel MR, Wang D, Kelly K, et al. Avelumab, an Anti-Programmed Death-Ligand 1 Antibody, in Patients With Refractory Metastatic Urothelial Carcinoma: Results From a Multicenter, Phase Ib Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2017 Jul 1;35(19):2117–24.

266. Powles T, O'Donnell PH, Massard C, Arkenau HT, Friedlander TW, Hoimes CJ, et al. Efficacy and Safety of Durvalumab in Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma: Updated Results From a Phase 1/2 Open-label Study. *JAMA Oncol*. 2017 Sep 14;3(9):e172411.

267. Powles T, Durán I, van der Heijden MS, Loriot Y, Vogelzang NJ, De Giorgi U, et al. Atezolizumab versus chemotherapy in patients with platinum-treated locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (IMvigor211): a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2018 24;391(10122):748–57.

268. www.drugs.com/history/tecentriq.html.

269. Roche provides update on Tecentriq US indication in prior-platinum treated metastatic bladder cancer. News Release. Roche March 8, 2021. Accessed March 8, 2021. shorturl.at/dkpA5.

270. Fradet Y, Bellmunt J, De Wit R, Vaughn DJ, Lee JL, Fong L, et al. Pembrolizumab (pembro) versus investigator's choice (paclitaxel, docetaxel, or vinflunine) in recurrent, advanced urothelial cancer (UC): 2-year follow-up from the phase 3 KEYNOTE-045 trial. *J Clin Oncol*. 2018 May 20;36(15_suppl):4521–4521.
271. www.drugs.com/history/keytruda.html.
272. www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/keytruda-epar-product-information_en.pdf.
273. Sharma P, Retz M, Siefker-Radtke A, Baron A, Necchi A, Bedke J, et al. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (CheckMate 275): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(3):312–22.
274. Galsky MD, Sazi A, Szabo PM, Han GC, Grossfeld G, Collette S, et al. Nivolumab in Patients with Advanced Platinum-resistant Urothelial Carcinoma: Efficacy, Safety, and Biomarker Analyses with Extended Follow-up from CheckMate 275. *Clin Cancer Res*. 2020 Oct 1;26(19):5120–8.
275. www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/125554s0581bl.pdf.
276. www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/opdivo-epar-product-information_en.pdf.
277. Massard C, Gordon MS, Sharma S, Rafii S, Wainberg ZA, Luke J, et al. Safety and Efficacy of Durvalumab (MEDI4736), an Anti-Programmed Cell Death Ligand-1 Immune Checkpoint Inhibitor, in Patients With Advanced Urothelial Bladder Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2016 10;34(26):3119–25.
278. www.drugs.com/history/bavencio.html.
279. Sheng X, Chen H, Hu B, Yao X, Liu Z, Yao X, et al. Safety, Efficacy, and Biomarker Analysis of Toripalimab in Patients with Previously Treated Advanced Urothelial Carcinoma: Results from a Multicenter Phase II Trial POLARIS-03. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2022 01;28(3):489–97.
280. Rosenberg JE, O'Donnell PH, Balar AV, McGregor BA, Heath EI, Yu EY, et al. Pivotal Trial of Enfortumab Vedotin in Urothelial Carcinoma After Platinum and Anti-Programmed Death 1/Programmed Death Ligand 1 Therapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2019 10;37(29):2592–600.
281. McGregor B, O'Donnell PH, Balar A, Petrylak D, Rosenberg J, Yu EY, et al. Health-related Quality of Life of Patients with Locally Advanced or Metastatic Urothelial Cancer Treated with Enfortumab Vedotin after Platinum and PD-1/PD-L1 Inhibitor Therapy: Results from Cohort 1 of the Phase 2 EV-201 Clinical Trial. *Eur Urol*. 2022;81(5):515–22.
282. Yu EY, Petrylak DP, O'Donnell PH, Lee JL, van der Heijden MS, Loriot Y, et al. Enfortumab vedotin after PD-1 or PD-L1 inhibitors in cisplatin-ineligible patients with advanced urothelial carcinoma (EV-201): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2021;22(6):872–82.
283. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-regular-approval-enfortumab-vedotin-ejfv-locally-advanced-or-metastatic-urothelial-cancer>.
284. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/padcev>.
285. Powles T, Rosenberg JE, Sonpavde GP, Loriot Y, Durán I, Lee JL, et al. Enfortumab Vedotin in Previously Treated Advanced Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med*. 2021 Feb 12;
286. Tagawa ST, Petrylak DP, Grivas P, Agarwal N, Sternberg CN, Siemon-Hryczyk P, et al. TROPHY-u-01: A phase II open-label study of sacituzumab govitecan (IMMU-132) in patients with advanced urothelial cancer after progression on platinum-based chemotherapy and/or anti-PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitor therapy. *J Clin Oncol*. 2019

Mar 1;37(7_suppl):TPS495-TPS495.

287. Tagawa ST, Balar AV, Petrylak DP, Kalebastay AR, Loriot Y, Fléchon A, et al. TROPHY-U-01: A Phase II Open-Label Study of Sacituzumab Govitecan in Patients With Metastatic Urothelial Carcinoma Progressing After Platinum-Based Chemotherapy and Checkpoint Inhibitors. *J Clin Oncol*. 2021 Aug 1;39(22):2474–85.
288. Helsten T, Elkin S, Arthur E, Tomson BN, Carter J, Kurzrock R. The FGFR Landscape in Cancer: Analysis of 4,853 Tumors by Next-Generation Sequencing. *Clin Cancer Res*. 2016 Jan 1;22(1):259–67.
289. Tomlinson DC, Baldo O, Harnden P, Knowles MA. FGFR3 protein expression and its relationship to mutation status and prognostic variables in bladder cancer. *J Pathol*. 2007 Sep;213(1):91–8.
290. Nogova L, Sequist LV, Perez Garcia JM, Andre F, Delord JP, Hidalgo M, et al. Evaluation of BGJ398, a Fibroblast Growth Factor Receptor 1-3 Kinase Inhibitor, in Patients With Advanced Solid Tumors Harboring Genetic Alterations in Fibroblast Growth Factor Receptors: Results of a Global Phase I, Dose-Escalation and Dose-Expansion Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2017 Jan 10;35(2):157–65.
291. Pal SK, Rosenberg JE, Hoffman-Censits JH, Berger R, Quinn DI, Galsky MD, et al. Efficacy of BGJ398, a Fibroblast Growth Factor Receptor 1-3 Inhibitor, in Patients with Previously Treated Advanced Urothelial Carcinoma with FGFR3 Alterations. *Cancer Discov*. 2018;8(7):812–21.
292. Pal SK, Bajorin D, Dizman N, Hoffman-Censits J, Quinn DI, Petrylak DP, et al. Infigratinib in upper tract urothelial carcinoma versus urothelial carcinoma of the bladder and its association with comprehensive genomic profiling and/or cell-free DNA results. *Cancer*. 2020 Jun 1;126(11):2597–606.
293. Loriot Y, Necchi A, Park SH, Garcia-Donas J, Huddart R, Burgess E, et al. Erdafitinib in Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med*. 2019 Jul 25;381(4):338–48.
294. Siefker-Radtke AO, Necchi A, Park SH, García-Donas J, Huddart RA, Burgess EF, et al. Efficacy and safety of erdafitinib in patients with locally advanced or metastatic urothelial carcinoma: long-term follow-up of a phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2022;23(2):248–58.
295. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-targeted-therapy-metastatic-bladder-cancer>.
296. Powles T et al. Erdafitinib (ERDA) or ERDA Plus Cetrelimab (CET) for Patients With Metastatic or Locally Advanced Urothelial Carcinoma (mUC) and Fibroblast Growth Factor Receptor Alterations (FGFRa): First Phase (Ph) 2 Results From the NORSE Study. 2021 European Society for Medical Oncology. September 16-21, 2021.
297. Necchi A, Lo Vullo S, Raggi D, Gloghini A, Giannatempo P, Colecchia M, et al. Prognostic Effect of FGFR Mutations or Gene Fusions in Patients with Metastatic Urothelial Carcinoma Receiving First-line Platinum-based Chemotherapy: Results from a Large, Single-institution Cohort. *Eur Urol Focus [Internet]*. 2018 Mar [cited 2019 Mar 21]; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405456918300750>
298. Necchi A, Pouessel D, Leibowitz-Amit R, Flechon A, Gupta S, Barthelemy P, et al. Interim results of fight-201, a phase II, open-label, multicenter study of INCB054828 in patients (pts) with metastatic or surgically unresectable urothelial carcinoma (UC) harboring fibroblast growth factor (FGF)/FGF receptor (FGFR) genetic alterations (GA). *Ann Oncol*. 2018 Oct;29:viii319-viii320.
299. Grünewald S, Politz O, Bender S, Héroult M, Lustig K, Thuss U, et al. Rogaratinib: A potent and selective pan-FGFR inhibitor with broad antitumor activity in

- FGFR-overexpressing preclinical cancer models. *Int J Cancer*. 2019 Sep;145(5):1346–57.
300. Rosenberg JE, Gajate P, Morales-Barrera R, Lee JL, Necchi A, Penel N, et al. Safety and preliminary efficacy of rogaratinib in combination with atezolizumab in a phase Ib/II study (FORT-2) of first-line treatment in cisplatin-ineligible patients (pts) with locally advanced or metastatic urothelial cancer (UC) and *FGFR* mRNA overexpression. *J Clin Oncol*. 2020 May 20;38(15_suppl):5014–5014.
301. Hall TG, Yu Y, Eathiraj S, Wang Y, Savage RE, Lapierre JM, et al. Preclinical Activity of ARQ 087, a Novel Inhibitor Targeting FGFR Dysregulation. Tan MH, editor. *PLOS ONE*. 2016 Sep 14;11(9):e0162594.
302. Zhu Y, Knolhoff BL, Meyer MA, Nywening TM, West BL, Luo J, et al. CSF1/CSF1R blockade reprograms tumor-infiltrating macrophages and improves response to T-cell checkpoint immunotherapy in pancreatic cancer models. *Cancer Res*. 2014 Sep 15;74(18):5057–69.
303. Meric-Bernstam F, Bahleda R, Hierro C, Sanson M, Bridgewater J, Arkenau HT, et al. Futibatinib, an Irreversible FGFR1-4 Inhibitor, in Patients with Advanced Solid Tumors Harboring FGF/FGFR Aberrations: A Phase I Dose-Expansion Study. *Cancer Discov*. 2022;12(2):402–15.
304. Nakanishi Y, Akiyama N, Tsukaguchi T, Fujii T, Sakata K, Sase H, et al. The fibroblast growth factor receptor genetic status as a potential predictor of the sensitivity to CH5183284/Debio 1347, a novel selective FGFR inhibitor. *Mol Cancer Ther*. 2014 Nov;13(11):2547–58.
305. Necchi A, Castellano DE, Mellado B, Pang S, Urun Y, Park SH, et al. Fierce-21: Phase II study of vofatmab (B-701), a selective inhibitor of FGFR3, as salvage therapy in metastatic urothelial carcinoma (mUC). *J Clin Oncol*. 2019 Mar 1;37(7_suppl):409–409.
306. Marandino L, Raggi D, Calareso G, Alessi A, Colecchia M, Martini A, et al. Cabozantinib Plus Durvalumab in Patients With Advanced Urothelial Carcinoma After Platinum Chemotherapy: Safety and Preliminary Activity of the Open-Label, Single-Arm, Phase 2 ARCADIA Trial. *Clin Genitourin Cancer*. 2021;19(5):457–65.
307. Rhode PR, Egan JO, Xu W, Hong H, Webb GM, Chen X, et al. Comparison of the Superagonist Complex, ALT-803, to IL15 as Cancer Immunotherapeutics in Animal Models. *Cancer Immunol Res*. 2016 Jan;4(1):49–60.
308. Tassinari E, Mollica V, Nuvola G, Marchetti A, Rosellini M, Massari F. Treatment Options for Metastatic Urothelial Carcinoma After First-Line Chemotherapy. *Cancer Manag Res*. 2022;14:1945–60.
309. Xue WJ, Li MT, Chen L, Sun LP, Li YY. Recent developments and advances of FGFR as a potential target in cancer. *Future Med Chem*. 2018 Sep 1;10(17):2109–26.
310. Dieci MV, Arnedos M, Andre F, Soria JC. Fibroblast growth factor receptor inhibitors as a cancer treatment: from a biologic rationale to medical perspectives. *Cancer Discov*. 2013 Mar;3(3):264–79.
311. Itoh N, Ornitz DM. Fibroblast growth factors: from molecular evolution to roles in development, metabolism and disease. *J Biochem (Tokyo)*. 2011 Feb;149(2):121–30.
312. Beenken A, Mohammadi M. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nat Rev Drug Discov*. 2009 Mar;8(3):235–53.
313. Fernandes-Freitas I, Owen BM. Metabolic roles of endocrine fibroblast growth factors. *Curr Opin Pharmacol*. 2015 Dec;25:30–5.
314. Gotoh N. Regulation of growth factor signaling by FRS2 family docking/scaffold adaptor proteins. *Cancer Sci*. 2008 Jul;99(7):1319–25.
315. Fearon AE, Grose RP. Grb-ing receptor activation by the tail. *Nat Struct Mol*

- Biol. 2014 Feb;21(2):113–4.
316. Hart KC, Robertson SC, Kanemitsu MY, Meyer AN, Tynan JA, Donoghue DJ. Transformation and Stat activation by derivatives of FGFR1, FGFR3, and FGFR4. *Oncogene*. 2000 Jul 6;19(29):3309–20.
317. Babina IS, Turner NC. Advances and challenges in targeting FGFR signalling in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(5):318–32.
318. Turner N, Grose R. Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. *Nat Rev Cancer*. 2010 Feb;10(2):116–29.
319. Czyz M. Fibroblast Growth Factor Receptor Signaling in Skin Cancers. *Cells*. 2019 Jun 4;8(6):540.
320. Mertens F, Johansson B, Fioretos T, Mitelman F. The emerging complexity of gene fusions in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2015 Jun;15(6):371–81.
321. The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature*. 2014 Mar 20;507(7492):315–22.
322. Singh D, Chan JM, Zoppoli P, Niola F, Sullivan R, Castano A, et al. Transforming fusions of FGFR and TACC genes in human glioblastoma. *Science*. 2012 Sep 7;337(6099):1231–5.
323. Hood FE, Royle SJ. Pulling it together: The mitotic function of TACC3. *Bioarchitecture*. 2011 May;1(3):105–9.
324. Williams SV, Hurst CD, Knowles MA. Oncogenic FGFR3 gene fusions in bladder cancer. *Hum Mol Genet*. 2013 Feb 15;22(4):795–803.
325. Nakanishi Y, Akiyama N, Tsukaguchi T, Fujii T, Satoh Y, Ishii N, et al. Mechanism of Oncogenic Signal Activation by the Novel Fusion Kinase FGFR3-BAIAP2L1. *Mol Cancer Ther*. 2015 Mar;14(3):704–12.
326. Yue S, Li Y, Chen X, Wang J, Li M, Chen Y, et al. FGFR-TKI resistance in cancer: current status and perspectives. *J Hematol Oncol* [Internet]. 2021 Dec [cited 2022 May 9];14(1). Available from: <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-021-01040-2>
327. Chell V, Balmanno K, Little AS, Wilson M, Andrews S, Blockley L, et al. Tumour cell responses to new fibroblast growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors and identification of a gatekeeper mutation in FGFR3 as a mechanism of acquired resistance. *Oncogene*. 2013 Jun 20;32(25):3059–70.
328. Byron SA, Chen H, Wortmann A, Loch D, Gartside MG, Dehkhoda F, et al. The N550K/H Mutations in FGFR2 Confer Differential Resistance to PD173074, Dovitinib, and Ponatinib ATP-Competitive Inhibitors. *Neoplasia*. 2013 Aug;15(8):975–IN30.
329. Zhitomirsky B, Assaraf YG. Lysosomes as mediators of drug resistance in cancer. *Drug Resist Updat*. 2016 Jan;24:23–33.
330. Da Silva CG, Peters GJ, Ossendorp F, Cruz LJ. The potential of multi-compound nanoparticles to bypass drug resistance in cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2017 Nov;80(5):881–94.
331. Datta J, Damodaran S, Parks H, Ocrainiciuc C, Miya J, Yu L, et al. Akt Activation Mediates Acquired Resistance to Fibroblast Growth Factor Receptor Inhibitor BGJ398. *Mol Cancer Ther*. 2017 Apr;16(4):614–24.
332. Wang L, Šuštić T, Leite de Oliveira R, Lieftink C, Halonen P, van de Ven M, et al. A Functional Genetic Screen Identifies the Phosphoinositide 3-kinase Pathway as a Determinant of Resistance to Fibroblast Growth Factor Receptor Inhibitors in FGFR Mutant Urothelial Cell Carcinoma. *Eur Urol*. 2017;71(6):858–62.
333. Wang J, Mikse O, Liao RG, Li Y, Tan L, Janne PA, et al. Ligand-associated ERBB2/3 activation confers acquired resistance to FGFR inhibition in FGFR3-

- dependent cancer cells. *Oncogene*. 2015 Apr 23;34(17):2167–77.
334. Lee S young, Na YJ, Jeong YA, Kim JL, Oh SC, Lee DH. Upregulation of EphB3 in gastric cancer with acquired resistance to a FGFR inhibitor. *Int J Biochem Cell Biol*. 2018 Sep;102:128–37.
335. Tomlinson DC, L'Hôte CG, Kennedy W, Pitt E, Knowles MA. Alternative splicing of fibroblast growth factor receptor 3 produces a secreted isoform that inhibits fibroblast growth factor-induced proliferation and is repressed in urothelial carcinoma cell lines. *Cancer Res*. 2005 Nov 15;65(22):10441–9.
336. The AACR Project GENIE Consortium. AACR Project GENIE: Powering Precision Medicine through an International Consortium. *Cancer Discov*. 2017 Aug;7(8):818–31.
337. Ross JS, Wang K, Khaira D, Ali SM, Fisher HAG, Mian B, et al. Comprehensive genomic profiling of 295 cases of clinically advanced urothelial carcinoma of the urinary bladder reveals a high frequency of clinically relevant genomic alterations. *Cancer*. 2016 Mar 1;122(5):702–11.
338. Tomlinson DC, Hurst CD, Knowles MA. Knockdown by shRNA identifies S249C mutant FGFR3 as a potential therapeutic target in bladder cancer. *Oncogene*. 2007 Aug;26(40):5889–99.
339. Garje R, An J, Obeidat M, Kumar K, Yasin HA, Zakharia Y. Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR) Inhibitors in Urothelial Cancer: Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR) Inhibitors in Urothelial Cancer. *The Oncologist [Internet]*. 2020 Aug 13 [cited 2020 Oct 19]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1634/theoncologist.2020-0334>
340. Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*. 2003 Oct 20;22(47):7265–79.
341. Brough R, Frankum JR, Costa-Cabral S, Lord CJ, Ashworth A. Searching for synthetic lethality in cancer. *Curr Opin Genet Dev*. 2011 Feb;21(1):34–41.
342. Mollica V, Maggio I, Lopez-Beltran A, Montironi R, Cimadamore A, Cheng L, et al. Combination therapy in advanced urothelial cancer: the role of PARP, HER-2 and mTOR inhibitors. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2020;20(9):755–63.
343. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature*. 2014 Mar 20;507(7492):315–22.
344. Abbosh PH, Plimack ER. Molecular and Clinical Insights into the Role and Significance of Mutated DNA Repair Genes in Bladder Cancer. *Bladder Cancer*. 2018 Jan 20;4(1):9–18.
345. Van Allen EM, Mouw KW, Kim P, Iyer G, Wagle N, Al-Ahmadie H, et al. Somatic ERCC2 mutations correlate with cisplatin sensitivity in muscle-invasive urothelial carcinoma. *Cancer Discov*. 2014 Oct;4(10):1140–53.
346. Liu D, Plimack ER, Hoffman-Censits J, Garraway LA, Bellmunt J, Van Allen E, et al. Clinical Validation of Chemotherapy Response Biomarker ERCC2 in Muscle-Invasive Urothelial Bladder Carcinoma. *JAMA Oncol*. 2016 Aug 1;2(8):1094–6.
347. Plimack ER, Dunbrack RL, Brennan TA, Andrade MD, Zhou Y, Serebriiskii IG, et al. Defects in DNA Repair Genes Predict Response to Neoadjuvant Cisplatin-based Chemotherapy in Muscle-invasive Bladder Cancer. *Eur Urol*. 2015 Dec;68(6):959–67.
348. Groenendijk FH, de Jong J, Fransen van de Putte EE, Michaut M, Schlicker A, Peters D, et al. ERBB2 Mutations Characterize a Subgroup of Muscle-invasive Bladder Cancers with Excellent Response to Neoadjuvant Chemotherapy. *Eur Urol*. 2016 Mar;69(3):384–8.
349. Shiloh Y. ATM and related protein kinases: safeguarding genome integrity. *Nat*

Rev Cancer. 2003 Mar;3(3):155–68.

350. Yin M, Grivas P, Wang Q, Mortazavi A, Enamekhoo H, Holder SL, et al. Prognostic Value of DNA Damage Response Genomic Alterations in Relapsed/Advanced Urothelial Cancer. *The Oncologist*. 2020 Aug;25(8):680–8.

351. Mouw K. DNA Repair Pathway Alterations in Bladder Cancer. *Cancers*. 2017 Mar 27;9(12):28.

352. Teo MY, Bambury RM, Zabor EC, Jordan E, Al-Ahmadie H, Boyd ME, et al. DNA Damage Response and Repair Gene Alterations Are Associated with Improved Survival in Patients with Platinum-Treated Advanced Urothelial Carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2017 Jul 15;23(14):3610–8.

353. Haslam A, Prasad V. Estimation of the Percentage of US Patients With Cancer Who Are Eligible for and Respond to Checkpoint Inhibitor Immunotherapy Drugs. *JAMA Netw Open*. 2019 03;2(5):e192535.

354. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, van der Heijden MS, Balar AV, Necchi A, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Lond Engl*. 2016 May 7;387(10031):1909–20.

355. Zhu L, Sun J, Wang L, Li Z, Wang L, Li Z. Prognostic and Clinicopathological Significance of PD-L1 in Patients With Bladder Cancer: A Meta-Analysis. *Front Pharmacol [Internet]*. 2019 Aug 30 [cited 2021 Sep 13];10. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2019.00962/full>

356. Galsky MD, Banchereau R, Hamidi HR, Leng N, Harris W, O'Donnell PH, et al. Tumor, immune, and stromal characteristics associated with clinical outcomes with atezolizumab (atezo) + platinum-based chemotherapy (PBC) or atezo monotherapy (mono) versus PBC in metastatic urothelial cancer (mUC) from the phase III IMvigor130 study. *J Clin Oncol*. 2020 May 20;38(15_suppl):5011–5011.

357. Zajac M, Scott M, Ratcliffe M, Scorer P, Barker C, Al-Masri H, et al. Concordance among four commercially available, validated programmed cell death ligand-1 assays in urothelial carcinoma. *Diagn Pathol [Internet]*. 2019 Dec [cited 2021 Sep 13];14(1). Available from:

<https://diagnosticpathology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13000-019-0873-6>

358. Powles T, Eder JP, Fine GD, Braithel FS, Loriot Y, Cruz C, et al. MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer. *Nature*. 2014 Nov 27;515(7528):558–62.

359. Powles T, O'Donnell PH, Massard C, Arkenau HT, Friedlander TW, Hoimes CJ, et al. Efficacy and Safety of Durvalumab in Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma: Updated Results From a Phase 1/2 Open-label Study. *JAMA Oncol*. 2017 Sep 14;3(9):e172411.

360. Marabelle A, Fakih M, Lopez J, Shah M, Shapira-Frommer R, Nakagawa K, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study. *Lancet Oncol*. 2020 Oct;21(10):1353–65.

361. Vestergaard LK, Oliveira DNP, Poulsen TS, Høgdall CK, Høgdall EV. OncoPrint™ Comprehensive Assay v3 vs. OncoPrint™ Comprehensive Assay Plus. *Cancers*. 2021 Oct 18;13(20).

362. Milbury CA, Creeden J, Yip WK, Smith DL, Pattani V, Maxwell K, et al. Clinical and analytical validation of FoundationOne®CDx, a comprehensive genomic profiling assay for solid tumors. *PLoS One*. 2022;17(3):e0264138.

363. Herráez Á, Luque Bazán JC. Texto ilustrado e interactivo de Biología molecular e ingeniería genética: Conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud [Internet]. 2012 [cited 2021 May 10]. Available from: <http://public.ebookcentral.proquest.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=3429899>
364. Green DA, Rink M, Xylinas E, Matin SF, Stenzl A, Roupret M, et al. Urothelial Carcinoma of the Bladder and the Upper Tract: Disparate Twins. *J Urol*. 2013 Apr;189(4):1214–21.
365. Munoz JJ, Ellison LM. Upper tract urothelial neoplasms: incidence and survival during the last 2 decades. *J Urol*. 2000 Nov;164(5):1523–5.
366. Tian Z, Meng L, Wang X, Diao T, Hu M, Wang M, et al. Predictive Nomogram and Risk Factors for Lymph Node Metastasis in Bladder Cancer. *Front Oncol*. 2021;11:690324.
367. Alqaisi HA, Stecca C, Veitch ZW, Riromar J, Kaiser J, Fallah-Rad N, et al. The prognostic impact of bone metastasis in patients with metastatic urothelial carcinoma treated with first-line platinum-based chemotherapy. *Ther Adv Med Oncol*. 2022;14:17588359221094880.
368. Raj GV, Karavadia S, Schlomer B, Arriaga Y, Lotan Y, Sagalowsky A, et al. Contemporary use of perioperative cisplatin-based chemotherapy in patients with muscle-invasive bladder cancer. *Cancer*. 2011 Jan 15;117(2):276–82.
369. Reardon ZD, Patel SG, Zaid HB, Stimson CJ, Resnick MJ, Keegan KA, et al. Trends in the use of perioperative chemotherapy for localized and locally advanced muscle-invasive bladder cancer: a sign of changing tides. *Eur Urol*. 2015 Jan;67(1):165–70.
370. Feld E, Harton J, Meropol NJ, Adamson BJS, Cohen A, Parikh RB, et al. Effectiveness of First-line Immune Checkpoint Blockade Versus Carboplatin-based Chemotherapy for Metastatic Urothelial Cancer. *Eur Urol*. 2019;76(4):524–32.
371. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-limits-use-tecentriq-and-keytruda-some-urothelial-cancer-patients>.
372. Teo MY, Mota JM, Whiting KA, Li HA, Funt SA, Lee CH, et al. Fibroblast Growth Factor Receptor 3 Alteration Status is Associated with Differential Sensitivity to Platinum-based Chemotherapy in Locally Advanced and Metastatic Urothelial Carcinoma. *Eur Urol*. 2020 Dec;78(6):907–15.
373. Krook MA, Reeser JW, Ernst G, Barker H, Wilberding M, Li G, et al. Fibroblast growth factor receptors in cancer: genetic alterations, diagnostics, therapeutic targets and mechanisms of resistance. *Br J Cancer*. 2021;124(5):880–92.
374. Krook MA, Silverman IM, Murugesan K, Ernst G, Reeser J, Wing M, et al. Pan-cancer analysis of FGFR1-3 genomic alterations to reveal a complex molecular landscape. *J Clin Oncol*. 2020 May 20;38(15_suppl):3620–3620.
375. Marandino L, Raggi D, Giannatempo P, Farè E, Necchi A. Erdafitinib for the treatment of urothelial cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2019 Oct 3;19(10):835–46.
376. Fischbach A, Rogler A, Erber R, Stoehr R, Poulson R, Heidenreich A, et al. Fibroblast growth factor receptor (FGFR) gene amplifications are rare events in bladder cancer. *Histopathology*. 2015 Apr;66(5):639–49.
377. Pearson A, Smyth E, Babina IS, Herrera-Abreu MT, Tarazona N, Peckitt C, et al. High-Level Clonal *FGFR* Amplification and Response to FGFR Inhibition in a Translational Clinical Trial. *Cancer Discov*. 2016 Aug;6(8):838–51.
378. Simeone JC, Nordstrom BL, Patel K, Mann H, Klein AB, Horne L. Treatment patterns and overall survival in metastatic urothelial carcinoma in a real-world, US setting. *Cancer Epidemiol*. 2019;60:121–7.
379. Tan TZ, Rouanne M, Tan KT, Huang RYJ, Thiery JP. Molecular Subtypes of

- Urothelial Bladder Cancer: Results from a Meta-cohort Analysis of 2411 Tumors. *Eur Urol*. 2019;75(3):423–32.
380. Mayr R, Eckstein M, Wirtz RM, Santiago-Walker A, Baig M, Sundaram R, et al. Prognostic and Predictive Value of Fibroblast Growth Factor Receptor Alterations in High-grade Non-muscle-invasive Bladder Cancer Treated with and Without Bacillus Calmette-Guérin Immunotherapy. *Eur Urol* [Internet]. 2022 Mar [cited 2022 May 9]; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283822016700>
381. Kardoust Parizi M, Margulis V, Lotan Y, Mori K, Shariat SF. Fibroblast growth factor receptor: A systematic review and meta-analysis of prognostic value and therapeutic options in patients with urothelial bladder carcinoma. *Urol Oncol Semin Orig Investig*. 2021 Jul;39(7):409–21.
382. Hernández S, López-Knowles E, Lloreta J, Kogevinas M, Amorós A, Tardón A, et al. Prospective study of FGFR3 mutations as a prognostic factor in nonmuscle invasive urothelial bladder carcinomas. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2006 Aug 1;24(22):3664–71.
383. Ipenburg NA, Koole K, Liem KS, van Kempen PMW, Koole R, van Diest PJ, et al. Fibroblast Growth Factor Receptor Family Members as Prognostic Biomarkers in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review. *Target Oncol*. 2016 Feb;11(1):17–27.
384. Tully KH, Jütte H, Wirtz RM, Jarczyk J, Santiago-Walker A, Zengerling F, et al. Prognostic Role of FGFR Alterations and FGFR mRNA Expression in Metastatic Urothelial Cancer Undergoing Checkpoint Inhibitor Therapy. *Urology*. 2021 Nov;157:93–101.
385. Robinson BD, Vlachostergios PJ, Bhinder B, Liu W, Li K, Moss TJ, et al. Upper tract urothelial carcinoma has a luminal-papillary T-cell depleted contexture and activated FGFR3 signaling. *Nat Commun*. 2019 05;10(1):2977.
386. Sonpavde G, Manitz J, Chen G, et al. 5-Factor prognostic model for survival of patients with metastatic urothelial carcinoma receiving three different post-platinum PD-L1 inhibitors. *J Clin Oncol* 2019;37(suppl):4552.
387. Galsky MD, Moshier E, Krege S, Lin CC, Hahn N, Ecke T, et al. Nomogram for predicting survival in patients with unresectable and/or metastatic urothelial cancer who are treated with cisplatin-based chemotherapy. *Cancer*. 2013 Aug 15;119(16):3012–9.
388. Apolo AB, Ostrovnaya I, Halabi S, Iasonos A, Philips GK, Rosenberg JE, et al. Prognostic Model for Predicting Survival of Patients With Metastatic Urothelial Cancer Treated With Cisplatin-Based Chemotherapy. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2013 Apr 3;105(7):499–503.
389. Nassar AH, Mouw KW, Jegede O, Shinagare AB, Kim J, Liu CJ, et al. A model combining clinical and genomic factors to predict response to PD-1/PD-L1 blockade in advanced urothelial carcinoma. *Br J Cancer*. 2020 Feb 18;122(4):555–63.
390. Ogihara K, Kikuchi E, Shigeta K, Okabe T, Hattori S, Yamashita R, et al. The pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is a novel biomarker for predicting clinical responses to pembrolizumab in platinum-resistant metastatic urothelial carcinoma patients. *Urol Oncol*. 2020;38(6):602.e1–602.e10.
391. Yamamoto Y, Yatsuda J, Shimokawa M, Fuji N, Aoki A, Sakano S, et al. Prognostic value of pre-treatment risk stratification and post-treatment neutrophil/lymphocyte ratio change for pembrolizumab in patients with advanced urothelial carcinoma. *Int J Clin Oncol*. 2021 Jan;26(1):169–77.
392. Kobayashi T, Ito K, Kojima T, Kato M, Kanda S, Hatakeyama S, et al. Risk stratification for the prognosis of patients with chemoresistant urothelial cancer treated with pembrolizumab. *Cancer Sci*. 2021 Feb;112(2):760–73.

393. Pond GR, Niegisch G, Rosenberg JE, Dreicer R, Powles T, Necchi A, et al. New 6-factor prognostic model for patients (pts) with advanced urothelial carcinoma (UC) receiving post-platinum atezolizumab. *J. Clin. Oncol.* 2018;36:413.
394. Kardos J, Chai S, Mose LE, Selitsky SR, Krishnan B, Saito R, et al. Claudin-low bladder tumors are immune infiltrated and actively immune suppressed. *JCI Insight.* 2016 17;1(3):e85902.
395. Rose TL, Weir WH, Mayhew GM, Shibata Y, Eulitt P, Uronis JM, et al. Fibroblast growth factor receptor 3 alterations and response to immune checkpoint inhibition in metastatic urothelial cancer: a real world experience. *Br J Cancer.* 2021 Jul 22;
396. Wang L, Gong Y, Saci A, Szabo PM, Martini A, Necchi A, et al. Fibroblast Growth Factor Receptor 3 Alterations and Response to PD-1/PD-L1 Blockade in Patients with Metastatic Urothelial Cancer. *Eur Urol.* 2019 Nov;76(5):599–603.
397. Liu SB, Lu LF, Lu XB, Li S, Zhang YA. Zebrafish FGFR3 is a negative regulator of RLR pathway to decrease IFN expression. *Fish Shellfish Immunol.* 2019 Sep;92:224–9.
398. Balar AV, Galsky MD, Rosenberg JE, Powles T, Petrylak DP, Bellmunt J, et al. Atezolizumab as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Lond Engl.* 2017 07;389(10064):67–76.
399. Necchi A, Raggi D, Giannatempo P, Marandino L, Farè E, Gallina A, et al. Can Patients with Muscle-invasive Bladder Cancer and Fibroblast Growth Factor Receptor-3 Alterations Still Be Considered for Neoadjuvant Pembrolizumab? A Comprehensive Assessment from the Updated Results of the PURE-01 Study. *Eur Urol Oncol* [Internet]. 2020 May [cited 2021 Sep 13]; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2588931120300535>
400. Sweis RF, Spranger S, Bao R, Paner GP, Stadler WM, Steinberg G, et al. Molecular Drivers of the Non-T-cell-Inflamed Tumor Microenvironment in Urothelial Bladder Cancer. *Cancer Immunol Res.* 2016;4(7):563–8.
401. Rogaratinib in patients with advanced urothelial carcinomas prescreened for tumor FGFR mRNA expression and effects of mutations in the FGFR signaling pathway.
402. Subbiah V, Iannotti NO, Gutierrez M, Smith DC, Féliz L, Lihou CF, et al. FIGHT-101, a first-in-human study of potent and selective FGFR 1-3 inhibitor pemigatinib in pan-cancer patients with FGF/FGFR alterations and advanced malignancies. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2022;33(5):522–33.
403. Weickhardt AJ, Lau DK, Hodgson-Garms M, Lavis A, Jenkins LJ, Vukelic N, et al. Dual targeting of FGFR3 and ERBB3 enhances the efficacy of FGFR inhibitors in FGFR3 fusion-driven bladder cancer. *BMC Cancer.* 2022 May 2;22(1):478.
404. Powles T, Park SH, Voog E, Caserta C, Valderrama BP, Gurney H, et al. Maintenance avelumab + best supportive care (BSC) versus BSC alone after platinum-based first-line (1L) chemotherapy in advanced urothelial carcinoma (UC): JAVELIN Bladder 100 phase III interim analysis. *J Clin Oncol.* 2020 Jun 20;38(18_suppl):LBA1-LBA1.
405. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med.* 2000 Oct 2;192(7):1027–34.
406. Halbert B, Einstein DJ. Hot or Not: Tumor Mutational Burden (TMB) as a Biomarker of Immunotherapy Response in Genitourinary Cancers. *Urology.* 2021

Jan;147:119–26.

407. Bellmunt J, de Wit R, Vaughn DJ, Fradet Y, Lee JL, Fong L, et al. Pembrolizumab as Second-Line Therapy for Advanced Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med*. 2017 16;376(11):1015–26.

408. Zhu L, Sun J, Wang L, Li Z, Wang L, Li Z. Prognostic and Clinicopathological Significance of PD-L1 in Patients With Bladder Cancer: A Meta-Analysis. *Front Pharmacol*. 2019;10:962.

409. Powles T, Walker J, Andrew Williams J, Bellmunt J. The evolving role of PD-L1 testing in patients with metastatic urothelial carcinoma. *Cancer Treat Rev*. 2020 Jan;82:101925.

410. Galsky MD, Arija JÁA, Bamias A, Davis ID, De Santis M, Kikuchi E, et al. Atezolizumab with or without chemotherapy in metastatic urothelial cancer (IMvigor130): a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *The Lancet*. 2020 May;395(10236):1547–57.

411. Chen S, Zhang N, Shao J, Wang T, Wang X. Multi-omics Perspective on the Tumor Microenvironment based on PD-L1 and CD8 T-Cell Infiltration in Urothelial Cancer. *J Cancer*. 2019;10(3):697–707.

412. Grantzau T, Toft BG, Melchior LC, Elversang J, Stormoen DR, Omland LH, et al. PD-L1 expression and FGFR-mutations among Danish patients diagnosed with metastatic urothelial carcinoma: A retrospective and descriptive study. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand*. 2022 Aug;130(8):498–506.

413. Low KC, Tergaonkar V. Telomerase: central regulator of all of the hallmarks of cancer. *Trends Biochem Sci*. 2013 Sep;38(9):426–34.

414. Giedl J, Rogler A, Wild A, Riener MO, Filbeck T, Burger M, et al. TERT Core Promotor Mutations in Early-Onset Bladder Cancer. *J Cancer*. 2016;7(8):915–20.

415. Marchese PV, Mollica V, De Biase D, Giunchi F, Tassinari E, Marchetti A, et al. A hypothesis-generating analysis on the role of TERT promoter mutation in advanced urothelial carcinoma treated with immunotherapy. *Pathol Res Pract*. 2022 Aug;236:153983.

416. Carrasco R, Ingelmo-Torres M, Gómez A, Roldán FL, Segura N, Ribal MJ, et al. Prognostic implication of TERT promoter mutation and circulating tumor cells in muscle-invasive bladder cancer. *World J Urol*. 2022 Aug;40(8):2033–9.

417. Wan S, Liu X, Hua W, Xi M, Zhou Y, Wan Y. The role of telomerase reverse transcriptase (TERT) promoter mutations in prognosis in bladder cancer. *Bioengineered*. 2021;12(1):1495–504.

418. Borah S, Xi L, Zaug AJ, Powell NM, Dancik GM, Cohen SB, et al. Cancer. TERT promoter mutations and telomerase reactivation in urothelial cancer. *Science*. 2015 Feb 27;347(6225):1006–10.

419. Quelle DE, Ashmun RA, Hannon GJ, Rehberger PA, Trono D, Richter KH, et al. Cloning and characterization of murine p16INK4a and p15INK4b genes. *Oncogene*. 1995 Aug 17;11(4):635–45.

420. Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature*. 1993 Dec 16;366(6456):704–7.

421. Pomerantz J, Schreiber-Agus N, Liégeois NJ, Silverman A, Alland L, Chin L, et al. The Ink4a Tumor Suppressor Gene Product, p19Arf, Interacts with MDM2 and Neutralizes MDM2's Inhibition of p53. *Cell*. 1998 Mar 20;92(6):713–23.

422. Rebouissou S, Hérault A, Letouzé E, Neuzillet Y, Laplanche A, Ofualuka K, et al. CDKN2A homozygous deletion is associated with muscle invasion in FGFR3-mutated urothelial bladder carcinoma. *J Pathol*. 2012 Jul;227(3):315–24.

423. Worst TS, Weis CA, Stöhr R, Bertz S, Eckstein M, Otto W, et al. CDKN2A as

transcriptomic marker for muscle-invasive bladder cancer risk stratification and therapy decision-making. *Sci Rep* [Internet]. 2018 Dec [cited 2022 Mar 28];8(1). Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-018-32569-x>

424. Breyer J, Wirtz RM, Erben P, Worst TS, Stoehr R, Eckstein M, et al. High CDKN2A/p16 and Low FGFR3 Expression Predict Progressive Potential of Stage pT1 Urothelial Bladder Carcinoma. *Clin Genitourin Cancer*. 2018;16(4):248–256.e2.

425. Nassar A, Adib E, Akl EW, Abou Alaiwi S, Nuzzo PV, Mouhieddine TH, et al. *CDKN2A* alterations as markers of immune checkpoint blockade (ICB) resistance in urothelial carcinoma (UC). *J Clin Oncol*. 2021 Feb 20;39(6_suppl):475–475.

Anexo 1. Aprobación por el Comité de Ética e Investigación con medicamentos:



INFORME DEL CEIm de HM Hospitales

La Dra. Almudena Lage, Secretaria del Comité Ético de Investigación con medicamentos de HM Hospitales

CERTIFICA

Que el Comité HM Hospitales, ha evaluado en su reunión del 18 de septiembre de 2019, Acta nº 164, la propuesta de la Fundación de Investigación de HM, para que se realice el proyecto titulado:

Estudio sobre la eficacia del tratamiento con Inmunoterapia en paciente con tumores uroteliales avanzados portadores de mutaciones/translocaciones en los genes FGFR2-3 e identificación de mecanismos de resistencia y potenciales estrategias de sinergia.

Código CEIm HM Hospitales: 19.07.1433-GHM
Código del Promotor o Acrónimo: IMMUNO-FGFR

- Proyecto Tesis doctoral versión 2.0 de fecha 26 de agosto 2019
- Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado_ Consentimiento informado V.1_14 agosto 2019

Y habiendo valorado el proyecto desde un punto de vista ético y metodológico y la respuesta a las aclaraciones solicitadas, emite un **DICTAMEN FAVORABLE** para que se realice el proyecto en el servicio de Oncología, del Hospital Universitario HM Sanchinarro siendo el Investigador principal la Dra. Elena Sevillano.

Que el CEIm de HM Hospitales, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento

Anexo 2. Aprobación por la Comisión ejecutiva I+D+i

INFORME DE LA COMISIÓN EJECUTIVA I+D+i. FUNDACIÓN DE INVESTIGACIÓN HM HOSPITALES

D. Fernando Gómez Hermoso, Secretario de la Comisión Ejecutiva de I+D+i:

C E R T I F I C A

Que una vez reunido la Comisión Ejecutiva de I+D+i Fundación de Investigación HM Hospitales, ha evaluado, para que se realice el proyecto de investigación titulado:

"Estudio sobre la eficacia del tratamiento con Inmunoterapia en paciente con tumores uroteliales avanzados portadores de mutaciones/translocaciones en los genes FGFR2-3 e identificación de mecanismos de resistencia y potenciales estrategias de sinergia".

Código interno del proyecto: 52_19

Y habiendo valorado el proyecto desde un punto de vista científico y metodológico se emite un **DICTAMEN FAVORABLE** para que se realice el proyecto por la *Dra. Elena Sevillano* perteneciente a Unidad de Oncología Médica.

Miembros que pertenecen al Comité:

Dr. Jesús Peláez
Dr. Fernando López-Ríos
Dr. Ángel Ayuso
Dr. José María Castellano
Dra. Laura Rodríguez
Dra. Ledia Fernández
Dr. Jesús Rodríguez
Dr. Javier Muñiz
Dr. Juan Carpio
D. Fernando Gómez

Que, en dicha reunión, la Comisión Ejecutiva de I+D+i Fundación de Investigación HM Hospitales cumplió el quórum preceptivo legalmente establecido.

Que en caso de evaluar algún proyecto en el que un miembro es investigador/colaborador, éste se ausenta de la reunión durante la discusión del mismo.

Anexo 3. TNM cáncer de Vejiga

Table 1 - 2017 TNM classification of urinary bladder cancer.

T—primary tumour	
TX	Primary tumour cannot be assessed
T0	No evidence of primary tumour
Ta	Noninvasive papillary carcinoma
Tis	Carcinoma in situ: 'flat tumour'
T1	Tumour invades subepithelial connective tissue
T2	Tumour invades muscle
T2a	Tumour invades superficial muscle (inner half)
T2b	Tumour invades deep muscle (outer half)
T3	Tumour invades perivesical tissue
T3a	Microscopically
T3b	Macroscopically (extravesical mass)
T4	Tumour invades any of the following: prostate stroma, seminal vesicles, uterus, vagina, pelvic wall, abdominal wall
T4a	Tumour invades prostate stroma, seminal vesicles, uterus, or vagina
T4b	Tumour invades pelvic wall or abdominal wall
N—regional lymph nodes	
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
N0	No regional lymph node metastasis
N1	Metastasis in a single lymph node in the true pelvis (hypogastric, obturator, external iliac, or presacral)
N2	Metastasis in multiple regional lymph nodes in the true pelvis (hypogastric, obturator, external iliac, or presacral)
N3	Metastasis in common iliac lymph node(s)
M—distant metastasis	
M0	No distant metastasis
M1a	Nonregional lymph nodes
M1b	Other distant metastases

TNM = tumour, node, metastasis (classification).

Anexo 4. Relación entre escalas Karnofsky y ECOG Performance Status:

Karnofsky Status	Karnofsky Grade	ECOG Grade	ECOG Status
Normal, no complaints.	100	0	Fully active, able to carry on all pre-disease performance without restriction.
Able to carry on normal activities. Minor signs or symptoms of disease.	90	1	Restricted in physically strenuous activity but ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, e.g., light house work, office work.
Normal activity with effort.	80	1	Restricted in physically strenuous activity but ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, e.g., light house work, office work.
Care for self. Unable to carry on normal activity or to do active work.	70	2	Ambulatory and capable of all selfcare but unable to carry out any work activities. Up and about more than 50% of waking hours.
Requires occasional assistance, but able to care for most of his needs.	60	2	Ambulatory and capable of all selfcare but unable to carry out any work activities. Up and about more than 50% of waking hours.
Requires considerable assistance and frequent medical care.	50	3	Capable of only limited selfcare, confined to bed or chair more than 50% of waking hours.
Disabled. Requires special care and assistance.	40	3	Capable of only limited selfcare, confined to bed or chair more than 50% of waking hours.
Severely disabled. Hospitalisation indicated though death nonimminent.	30	4	Completely disabled. Cannot carry on any selfcare. Totally confined to bed or chair.
Very sick. Hospitalisation necessary. Active supportive treatment necessary.	20	4	Completely disabled. Cannot carry on any selfcare. Totally confined to bed or chair.
Moribund	10	4	Completely disabled. Cannot carry on any selfcare. Totally confined to bed or chair.