

Aproximación multidisciplinar e integral del cáncer de vejiga

A. FONT¹, V. RUIZ DE PORRAS², J. C. PARDO¹

¹Servicio de Oncología Médica. Institut Català d'Oncologia de Badalona, B-ARGO. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona. ²Servicio de Oncología Médica. Institut Germans Trias i Pujol (IGTP). B-ARGO. Badalona, Barcelona

RESUMEN

El cáncer de vejiga es uno de los tumores más frecuentes en nuestro medio asociado a una tasa de mortalidad significativa. En las últimas décadas se han producido escasos avances en el tratamiento de este tumor debido a la falta de tratamientos efectivos más allá de las combinaciones de quimioterapia basadas en platinos que aportan un beneficio limitado en la supervivencia y se asocian a una toxicidad importante que contraindica su administración en pacientes frágiles con comorbilidades. En los últimos años esta situación ha cambiado con la incorporación de nuevos tratamientos activos en el cáncer de vejiga, especialmente la inmunoterapia. Por otro lado, el mejor conocimiento de la biología del cáncer de vejiga ha permitido identificar nuevos biomarcadores pronósticos y predictivos y también potenciales dianas terapéuticas que pueden permitir seleccionar el tratamiento más adecuado para cada paciente en función de la presencia de alteraciones genéticas específicas. En la actualidad sabemos que mediante el análisis de perfiles de expresión genómica podemos clasificar el cáncer de vejiga en diferentes subtipos tumorales que se correlacionan con características clínico-patológicas específicas y con sensibilidad o resistencia a determinados tratamientos. Asimismo, la secuenciación del ADN ha permitido identificar mutaciones, especialmente en los genes implicados en las vías de reparación del ADN, que se correlacionan con la respuesta a los tratamientos basados en platinos. Por tanto, el objetivo en el futuro inmediato debe ser poder aplicar estos avances en la práctica clínica habitual para seleccionar el tratamiento más eficaz para cada paciente.

PALABRAS CLAVE: Biomarcadores. Cáncer de vejiga. Clasificación molecular. Terapias dirigidas. Inmunoterapia.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de vejiga es el cuarto tumor más frecuente en el varón y el undécimo en mujeres en el mundo. Anualmente se diagnostican alrededor de 430.000 nuevos casos a nivel mundial (1). En España la incidencia

ABSTRACT

Bladder cancer is one of the most frequent tumors worldwide and is associated with a significantly high mortality rate. In recent decades, there has been little progress in the treatment of this tumor due to the lack of effective treatments, apart from combinations of platinum-based chemotherapy, which provide limited survival benefit and are associated with important toxicity that contraindicates its administration in fragile patients with comorbidities. In recent years, this situation has changed with the incorporation of new active treatments in bladder cancer, especially immunotherapy.

On the other hand, a better knowledge of the biology of bladder cancer has allowed us to identify new prognostic and predictive biomarkers, as well as potential therapeutic targets, that can allow us to select the most appropriate treatment for each patient based on the presence of specific genetic alterations. At present, we know that by analyzing genomic expression profiles we can classify bladder cancer into different tumor subtypes that correlate with specific clinical-pathological characteristics and with sensitivity or resistance to certain treatments. Likewise, DNA sequencing has allowed the identification of mutations, especially in the genes involved in DNA repair pathways, which correlate with the response to platinum-based treatments. Therefore, the objective in the immediate future is to be able to apply these advances to everyday clinical practice in order to select the most effective treatment for each patient.

KEY WORDS: Biomarkers. Bladder cancer. Molecular classification. Targeted therapies. Immunotherapy.

de cáncer de vejiga es especialmente significativa. En el año 2019 se estima que se diagnosticaran 23.800 nuevos casos lo que representa el quinto tumor en incidencia por detrás del cáncer colorrectal, el cáncer de próstata, el cáncer de mama y el cáncer de pulmón (fuente: Red Española de Registros de Cáncer REDECAN). Respecto

a la tasa de mortalidad, el cáncer de vejiga es la séptima causa de muerte por cáncer en España. Concretamente, en el año 2017 fallecieron más de 4.600 pacientes debido a este tumor.

El cáncer de vejiga se clasifica en no músculo-invasivo (CVNMI) y músculo-invasivo (CVMI). Esta clasificación viene determinada por las dos vías clásicas de progresión del cáncer de vejiga que son la forma papilar y no papilar definidas por unas características clínicas, histológicas y genómicas específicas con importantes implicaciones en la evolución, el pronóstico, el tratamiento y el seguimiento de estos pacientes. Los tumores no músculo-invasivos representan el 75% de todos los nuevos casos diagnosticados. Suelen presentar una morfología papilar y se caracterizan desde el punto de vista genético por la presencia de mutaciones del gen del receptor tipo 3 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR3), la activación de la vía de señalización de Ras, la ausencia de mutaciones de TP53 y con la estabilidad del genoma. Estos tumores, aunque no suelen ser letales, se asocian con frecuencia a recurrencias locales y en un 10-20% de casos pueden progresar a CVMI. Por su parte, los tumores de vejiga músculo-invasivo representan entre el 20-25% de los nuevos casos diagnosticados. Los pacientes con CVMI presentan un riesgo de muerte significativamente superior al CVNMI puesto que en el 50% de casos desarrollarán metástasis a distancia. El carcinoma *in situ* se considera la lesión precursora en el CVMI no papilar. Los tumores no papilares se caracterizan por presentar inactivación (por mutaciones o pérdidas alélicas) en los genes supresores tumorales RB1 y TP53 y por la inestabilidad genómica (1-3).

En las últimas décadas se han producido escasos avances en el tratamiento del cáncer de vejiga, por lo que las tasas de curación no han experimentado cambios significativos en los últimos 30 años. La incorporación de la quimioterapia basada en cisplatino a mediados de la década de los 80 representó el avance más significativo en el tratamiento sistémico de los pacientes con esta patología. Si bien es cierto que los esquemas con platinos han mejorado de manera discreta las tasas de supervivencia de los pacientes con cáncer de vejiga avanzado, desafortunadamente menos del 50% de pacientes responden al tratamiento con quimioterapia y la mayoría de ellos desarrollarán resistencias al tratamiento progresando en un periodo limitado de meses. En los pacientes resistentes a platinos, los tratamientos de quimioterapia de 2.^a línea aportan unas pobres expectativas de supervivencia.

A pesar de las limitaciones del tratamiento sistémico en el cáncer de vejiga, desde hace más de una década la quimioterapia se ha incorporado en el tratamiento multidisciplinario del CVMI en combinación con los tratamientos locales (cistectomía o radioterapia). Sin embargo, el beneficio limitado en la supervivencia y la ausencia de marcadores predictivos que indiquen que pacientes pueden beneficiarse de un tratamiento combinado han promovido las reticencias en la comunidad científica para

incorporar determinadas estrategias en el manejo habitual de los pacientes con cáncer de vejiga. El paradigma de esta situación se pone de manifiesto respecto al tratamiento con quimioterapia neoadyuvante en el CVMI. Las diferentes guías nacionales e internacionales (4,5) recomiendan el tratamiento preoperatorio con esquemas basados en cisplatino con el máximo nivel de evidencia. En cambio, en la práctica clínica habitual menos del 20% de pacientes con CVMI reciben dicho tratamiento (6). Existen diversas razones que explican este hecho; por un lado, las contraindicaciones de la quimioterapia basada en cisplatino en más del 50% de pacientes debido a la presencia de comorbilidades (especialmente insuficiencia renal) o deterioro del estado general, y por otro lado, la ausencia de marcadores clínicos y/o patológicos que permitan definir que pacientes se beneficiaran del tratamiento preoperatorio. Todo ello conlleva a que en pacientes resistentes a la quimioterapia el retraso en el tratamiento local con finalidad curativa puede tener un impacto negativo en su pronóstico.

Este panorama desalentador afortunadamente ha cambiado de manera significativa en los últimos años, debido fundamentalmente a dos aspectos. En primer lugar, la caracterización molecular del cáncer de vejiga ha permitido identificar potenciales biomarcadores pronóstico y predictivos, así como nuevas dianas terapéuticas que permiten tratar a estos pacientes con terapias biológicas dirigidas más eficaces y con menor toxicidad. En los estudios del TCGA de 2014 (7) se evidenció que un 69% de pacientes con cáncer de vejiga presentaban alteraciones genómicas que podían ser potenciales dianas terapéuticas. Entre estas alteraciones destacan las alteraciones en la vía PI3K/AKT/mTOR en el 42% de tumores vesicales incluyendo un 17% de tumores con mutaciones activadoras de PI3KA, sobreexpresión de AKT en un 10% de tumores y un 9% de mutaciones o deleciones en los genes TSC1 y TSC2. Asimismo, un 44% de tumores presentan alteraciones en la vía del receptor tirosin-quinasa/Ras, entre las que destacan la activación de FGFR3 en un 17% de tumores, amplificación de EGFR en un 9% y mutaciones en ERBB2 y ERBB3 en el 9% y el 6% de pacientes, respectivamente.

Por otro lado, la reciente introducción de nuevas terapias activas, especialmente la inmunoterapia, ha permitido ampliar el arsenal terapéutico en el cáncer de vejiga más allá de la quimioterapia basada en platinos. Sin embargo, a pesar de las expectativas que han generado los nuevos tratamientos inmunoterápicos, en la actualidad únicamente uno de cada 5 pacientes responde a estos tratamientos. La utilidad del análisis inmunohistoquímico de PD-L1 como potencial biomarcador predictivo resulta cuestionable dada la heterogeneidad de los resultados publicados hasta la actualidad. En el futuro inmediato, resultará fundamental disponer de biomarcadores que nos permitan conocer que pacientes pueden beneficiarse del tratamiento con inmunoterapia sola o combinada con

otras terapias (quimioterapia y/o terapias biológicas) para evitar la administración de tratamientos ineficaces que pueden comportar toxicidades innecesarias, retrasos en la administración de tratamientos más efectivos y costes económicos excesivos. Estudios de secuenciación del ADN y del ARN han demostrado la heterogeneidad de los tumores de vejiga a nivel molecular y genético. Estos análisis han evidenciado perfiles de expresión específicos, diferencias en el tipo y frecuencia de las mutaciones, en el número de copias y en los patrones de metilación que nos pueden ayudar a definir el pronóstico de estos tumores y la sensibilidad a determinados tratamientos. A pesar de los avances en el mejor conocimiento del perfil molecular del cáncer de vejiga, en la actualidad aunque alrededor del 40% de estos tumores presentan alteraciones genómicas potencialmente tratables con terapias dirigidas, todavía no disponemos de ningún biomarcador aprobado en la práctica clínica habitual, muy por debajo de otros tumores como melanoma, cáncer de mama, GIST o cáncer de pulmón en los que entre un 20 a un 60% de pacientes pueden ser tratados con terapias biológicas seleccionadas mediante análisis de biomarcadores específicos (8). Por tanto, es necesario trasladar con la máxima rapidez y eficiencia posible los avances de la biología molecular a la práctica asistencial para mejorar la supervivencia de los pacientes con cáncer de vejiga.

En los siguientes apartados se describen las potenciales aplicaciones de la biología molecular en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de vejiga basado en el concepto de medicina de precisión.

BIOMARCADORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA BASADA EN CISPLATINO

Las combinaciones de quimioterapia basadas en cisplatino siguen siendo un tratamiento de referencia en el cáncer de vejiga tanto en el contexto de enfermedad avanzada como en el tratamiento perioperatorio o conservador del cáncer de vejiga localizado. El mecanismo de acción antitumoral del cisplatino se basa en la formación de aductos que causan daño en el ADN e impiden la replicación celular provocando la muerte celular. Sin embargo, las células disponen de diversos mecanismos que permiten reparar el daño causado sobre la célula. El análisis de los genes implicados en las diferentes vías de reparación del daño sobre el ADN (DDR) puede ser de gran interés para identificar potenciales biomarcadores predictivos de respuesta a cisplatino. Entre las vías implicadas en la DDR, destaca la vía de reparación por escisión de nucleótidos (NER) de la que forman parte los genes ERCC (*excision repair cross complementing*) 1 y 2. Niveles elevados de ERCC1 indican un aumento de la función de la vía NER y, por lo tanto, una mayor reparación del daño causado por el cisplatino que implicaría una menor eficacia de este fármaco. En un

estudio de Bellmunt y cols., en pacientes con cáncer de vejiga metastásico tratados con una combinación basada en cisplatino la expresión elevada de ERCC1 se asoció a un peor pronóstico respecto a los pacientes con niveles bajos de expresión de este gen (9). Por otro lado, diversos estudios han analizado el papel de las mutaciones de ERCC2 como biomarcador predictivo en cáncer de vejiga. Las mutaciones de ERCC2 se encuentran en un 12% de tumores de vejiga mayoritariamente en el dominio helicasa del gen y se asocian a una pérdida de función de la vía NER tal como se ha demostrado en análisis preclínicos en líneas celulares y modelos animales. Es interesante destacar que las mutaciones de ERCC2 confieren sensibilidad tanto a cisplatino como a carboplatino, pero no a los tratamientos con doxorubicina, radiación ionizante o con inhibidores PARP (10).

En el estudio inicial de Van Allen (11) mediante el análisis por secuenciación completa del exoma (WES) de 50 pacientes con CVMI tratados con quimioterapia neoadyuvante basada en cisplatino, se evidenció que las mutaciones de ERCC2 se asociaban significativamente con la respuesta a la quimioterapia. En el 36% de pacientes que presentaron respuesta a la quimioterapia (\leq pT1) se detectaron mutaciones de ERCC2, mientras que no se detectaron mutaciones en los pacientes no respondedores (\geq pT2). Estos resultados se confirmaron en un estudio de validación posterior (12). En el análisis conjunto de estas dos series se encontraron mutaciones de ERCC2 en un 38% (17/45) de los pacientes respondedores a cisplatino y únicamente en un 6% (3/53) de pacientes no respondedores (10). Estos datos sugieren que ERCC2 puede ser un potencial biomarcador predictivo de respuesta a la quimioterapia basada en cisplatino. En este sentido es interesante destacar el estudio del MSKCC publicado recientemente en el que se compara el perfil genómico de pacientes con CVMI primarios vs. secundarios (progresión de tumores no músculo-invasivos) tratados con quimioterapia neoadyuvante. En este estudio se evidencia que el beneficio de la quimioterapia neoadyuvante se limita a los tumores “primarios” y se observa un enriquecimiento de mutaciones de ERCC2 en los tumores primarios respecto a los secundarios (12% vs. 1,2%) lo que podría explicar la ausencia de beneficio de la quimioterapia neoadyuvante en los tumores secundarios. Los autores sugieren que en los tumores no músculo-invasivos las clonas celulares con mutaciones de ERCC2 serían sensibles al tratamiento con BCG y por tanto no se detectarían en las fases posteriores de la enfermedad (13).

Otros estudios han correlacionado también las mutaciones en los genes reparadores ATM, RB1 y FANCC con la eficacia de la quimioterapia neoadyuvante en el CVMI. En el estudio de Plimack y cols. (14), en la serie inicial, 13 de 15 respondedores (87%) presentaban mutaciones en alguno de estos genes, mientras que en ninguno de los no respondedores se encontraron dichas mutaciones ($p > 0,001$). En la serie de validación,

el 64% de respondedores presentaban alguna de estas mutaciones comparado con el 15% de los no respondedores ($p = 0,003$). La presencia de mutaciones en ATM, RB1 o FANNC se asoció también a una mejor supervivencia.

Otra vía importante implicada en el DDR es la de la recombinación homóloga (HR). La HR es la vía de reparación más utilizada por las células para reparar el daño producido en la doble cadena del ADN. En un análisis del perfil molecular mediante secuenciación de más de 52.000 tumores se detectaron mutaciones en genes de la vía de HR en un 17% de todos ellos. El cáncer de vejiga fue el tercer tumor en incidencia con un 23% de mutaciones. Los genes más frecuentemente mutados fueron ARID1A, ATM, BRCA1 y BRCA2 (15). La expresión de BRCA 1 se ha asociado con la respuesta a cisplatino. Concretamente, en un estudio de 57 pacientes con CVMI tratados con quimioterapia neoadyuvante, la expresión elevada de BRCA1 se correlacionó negativamente con la respuesta patológica y con la supervivencia (16).

El estudio de estas alteraciones abre la puerta a definir nuevos biomarcadores pronóstico y predictivos en el cáncer de vejiga y brinda la posibilidad de incorporar nuevas terapias biológicas como los inhibidores PARP dada la eficacia demostrada por estos tratamientos en pacientes con cáncer de ovario o mama que presentan alteraciones en la vía HR.

El proceso de reparación del daño causado en el ADN tanto por platinos como por otras causas es un proceso complejo en el que interviene múltiples proteínas implicadas en las diferentes vías de reparación del ADN. Por tanto, para determinar el valor predictivo y pronóstico de los genes implicados en el DDR es necesario analizar paneles más amplios de genes para definir el papel de las vías de reparación del ADN como mecanismos de resistencia a cisplatino. En este sentido, el estudio del MSKCC analizó, dentro de la plataforma MSK-IMPACT, un panel de 34 genes implicados en diferentes vías de reparación del ADN en 100 pacientes con cáncer de vejiga avanzado tratados con platinos. En 47 pacientes se detectó como mínimo una alteración en alguno de los genes reparadores. En estos pacientes la mediana de supervivencia fue significativamente superior que en los pacientes que no presentaban alteraciones en ninguno de estos genes (23,7 vs. 13,0 meses, $p = 0,006$). Es interesante destacar que el beneficio en la supervivencia se objetivó tanto en pacientes tratados con cisplatino como con carboplatino. En el análisis multivariante únicamente el *performance status* y la presencia de alteraciones en las vías reparadoras fueron factores pronósticos independientes (17). En un reciente estudio fase II en pacientes tratados con quimioterapia neoadyuvante con un esquema de *dose-dense* con cisplatino/gemcitabina se analizó un panel de 29 genes implicados en la DDR. La presencia de mutaciones deletéreas incluyendo mutaciones en ERCC2, se asociaron con la respuesta a la quimioterapia con un valor predictivo positivo del 89% y una supervivencia libre de recaída a 2 años del 100% (18).

En resumen, numerosas evidencias indican el papel que el análisis de alteraciones en las vías de reparación del ADN puede tener como factor pronóstico y predictivo de respuesta a la quimioterapia basada en cisplatino; sin embargo, se requieren estudios prospectivos incluyendo un mayor número de pacientes tanto en pacientes con enfermedad loco-regional como en enfermedad diseminada para confirmar estas evidencias. Asimismo, dado que cerca del 50% de pacientes presentan contraindicaciones para recibir cisplatino es importante analizar también estos biomarcadores en pacientes tratados con carboplatino.

CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE VEJIGA: IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS

A partir del modelo desarrollado en el cáncer de mama se han identificado diferentes subtipos moleculares del cáncer de vejiga definidos mediante perfiles de expresión genómica. Diferentes grupos han propuesto clasificaciones moleculares basadas en los dos subtipos de referencia, luminal y basal. El grupo de Lund en un análisis de tumores no músculo invasivo y músculo-invasivo definió 5 subgrupos: urobasal A, urobasal B, genómicamente inestable (GI), infiltrado y escamoso (SCC)-like (19). Los subtipos urobasal A y B se caracterizan por la expresión de biomarcadores que se expresan en el urotelio normal, mientras que el subtipo SCC-like expresa las citoqueratinas 5, 6 y 14 (KRT5, KRT6 y KRT14) específicas de la diferenciación escamosa. El subtipo infiltrado se caracteriza por infiltrado estromal y de células inmunes. Por otro lado, el grupo de la Universidad de Carolina del Norte (UNC) propuso una clasificación en pacientes con CVMI basada en los subtipos luminal y basal parecida a los subtipos establecidos en el cáncer de mama (20). El fenotipo basal presenta características sarcomatoides y expresa niveles elevados tanto del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) como de sus ligandos, mientras que el luminal expresa marcadores epiteliales (E-caderina/CDH1 y miR-200) y alteraciones en el FGFR3 (20). En la clasificación del MD Anderson, se define un tercer subtipo denominado *p53-like* y que se caracteriza por la presencia de marcadores estromales y la activación de la expresión de la firma de p53 (21). Por último, el TCGA mediante el análisis por RNA-seq en 131 tumores de vejiga propone una clasificación basada en 4 subtipos moleculares que denominan *clusters* (I-IV). En esta clasificación, los tumores incluidos en el *cluster* I presentan características propias de los tumores papilares y se corresponderían con el fenotipo luminal, mientras que los *cluster* III y IV se corresponderían mayoritariamente con el subtipo basal definido en la clasificación de la UNC y del MD Anderson. El *cluster* II incluye tumores con fenotipo luminal, pero con un predominio de las características propias del subtipo *p53-like* (7).

En la reciente actualización del estudio del TCGA llevado a cabo en 412 pacientes con CVMI estadio T2-4, N0-3, M0-1 no tratados previamente con quimioterapia, se definen 5 subtipos moleculares: luminal-papilar (35% de casos), luminal infiltrado (19%), luminal (6%), basal-SCC (35%) y un nuevo subtipo que denominan neuronal y se detecta en un 5% de tumores. En esta clasificación los subtipos luminales se caracterizan por una elevada expresión de marcadores de diferenciación urotelial como FOXA1, GATA3 y PPAR γ . El tipo luminal puro presenta una elevada expresión de KRT 20, mientras que en el subtipo luminal-papilar se encuentran alteraciones de FGFR3 en la mayoría de los casos, incluyendo mutaciones, amplificaciones, sobre-expresión y fusiones FGFR3-TACC3. Asimismo, el subtipo luminal-infiltrado, que se correspondería al *cluster* II en la clasificación previa del TCGA (7), se caracteriza por la elevada expresión de marcadores relacionados con la transición epitelio-mesénquima (EMT) como TWIST1 y ZEB1 y una expresión moderada de marcadores inmunes (PD-L1 y CTLA4). Por último, los tumores del subtipo neuronal muestran una elevada expresión de marcadores neuroendocrinos y neuronales, mientras que el subtipo basal-SCC se caracteriza por la expresión de CD44, KRT5, KRT6, KRT14; un enriquecimiento en mutaciones de TP53 y es el subtipo con una mayor expresión de marcadores de respuesta inmune, como PD-L1, PD-1 y CTLA4 (22). Recientemente, el Bladder Cancer Molecular Taxonomy Group ha propuesto un consenso basado en el análisis de 1750 perfiles transcriptómicos de las 6 clasificaciones publicadas hasta la actualidad (23), en la que se establece una clasificación basada en seis subtipos: luminal papilar (24%), luminal no especificado (8%), luminal inestable (15%), rico en estroma (15%), basal/escamoso (35%) y neuroendocrino-like (3%). Este modelo se encuentra disponible en una aplicación web que permite clasificar las muestras tumorales de forma individual y anónima según este consenso (<http://consensusMIBC.curie.fr>).

Los diferentes subtipos tumorales en el cáncer de vejiga se han asociado a características clínico-patológicas específicas y a diferentes perfiles de sensibilidad a diferentes tratamientos. Los tumores basales/SCC identificados en las clasificaciones de la UNC, MD Anderson y el TCGA predominan en mujeres y se asocian a tumores más agresivos, estadios más avanzados con un peor pronóstico y con diferenciación escamosa en el análisis histopatológico. En el estudio de consenso del Bladder Cancer Molecular Taxonomy Group (23), únicamente el 42% de tumores clasificados como basales/SCC presentan rasgos escamosos en el análisis histológico, por lo que pone en evidencia que la clasificación molecular puede aportar información adicional a la clasificación histológica para una mejor caracterización de los tumores vesicales.

Diversos estudios indican que mediante técnicas de inmunohistoquímica es posible clasificar los tumores ve-

sicales en basales y luminales. En un reciente meta-análisis se demuestra que mediante el análisis únicamente de dos marcadores (GATA3 y KRT 5/6) es posible identificar el subtipo basal y luminal con una fiabilidad del 91% (24). Sin duda, la posibilidad de identificar los subtipos tumorales mediante técnicas sencillas de inmunohistoquímica, en comparación con análisis transcriptómicos mucho más complejos, podría facilitar la aplicabilidad de la clasificación molecular del CVMI en la práctica asistencial habitual.

En relación con el tratamiento, los diferentes subtipos tumorales se han correlacionado con la respuesta a la quimioterapia. Los tumores basales se asocian a una mejor respuesta a la quimioterapia basada en cisplatino, mientras que los tumores clasificados con *p53-like* o incluidos en el *cluster* II en la clasificación inicial del TCGA (7) se han asociado a la resistencia a la quimioterapia y a un enriquecimiento de este fenotipo detectado en la cistectomía de los pacientes resistentes a la quimioterapia neoadyuvante (21). En el estudio del MD Anderson llevado a cabo en 60 pacientes con CVMI tratados con un régimen neoadyuvante de *dose-dense* M-VAC con bevacizumab, se evidencia un incremento de las respuestas patológicas completas y una mejor supervivencia en pacientes con tumores basales, respecto a los pacientes con tumores luminales o los tumores *p53-like* con una supervivencia a 5 años del 91%, 73% y 36%, respectivamente. Los autores sugieren que la asociación de la firma de angiogénesis y HIF-1 α con el perfil basal podría explicar la eficacia demostrada por esta combinación en los tumores basales. Asimismo, este estudio aporta dos observaciones adicionales de interés, por un lado el aumento del subtipo *p53-like* en la pieza de cistectomía respecto a la RTU, especialmente en los tumores con perfil luminal en el diagnóstico. Por otro lado, los autores observaron una correlación significativa entre la probabilidad de presentar metástasis óseas y el subtipo tumoral, puesto que únicamente los pacientes con tumores *p53-like* presentaron metástasis óseas durante la evolución (25). En un estudio posterior del grupo canadiense se analizó también la asociación entre subtipo tumoral y la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante según una clasificación basada en 4 subtipos tumorales: basal, luminal, luminal-infiltrado y *claudin-low*. El subtipo *claudin-low* presenta características propias del subtipo basal asociado con la expresión de marcadores de EMT y de infiltración inmune. Este subtipo se correspondería predominantemente con los tumores del *cluster* IV en la clasificación del TCGA. En este estudio, los pacientes con subtipo basal la supervivencia fue superior en los pacientes tratados con quimioterapia neoadyuvante respecto a los tratados con cistectomía sola. Los tumores luminales presentaron el mejor pronóstico independientemente de la administración de quimioterapia neoadyuvante, mientras que en el tipo luminal infiltrado el pronóstico fue peor. Por el contrario, el subtipo

claudin-low se correlacionó con el peor pronóstico tanto en los pacientes tratados con quimioterapia como en los tratados exclusivamente con cistectomía (26).

Estos estudios aportan evidencias del papel que puede tener la clasificación molecular de los tumores vesicales en diferentes subtipos según perfiles de expresión génica en la elección del tratamiento más eficaz. Los pacientes con subtipo basal son los que se beneficiarían en mayor medida del tratamiento con quimioterapia, mientras que los tumores luminales se asociarían a un mejor pronóstico y una peor respuesta a la quimioterapia con cisplatino y, por tanto, la cistectomía como tratamiento inicial podría ser la mejor opción de tratamiento.

En los últimos años, diversos estudios han intentado establecer una correlación entre la eficacia de la inmunoterapia y los subtipos tumorales con el objetivo de definir que pacientes pueden beneficiarse de los tratamientos con inmunoterapia. En la última clasificación del TCGA (22) se sugiere que los pacientes del tipo luminal infiltrando (*cluster II*) y especialmente los tumores basales son los que se podrían beneficiar en mayor medida de tratamientos con inmunoterapia. Sin embargo, hay que tener en cuenta que en el estudio del TCGA los pacientes presentaban tumores localizados y no habían recibido ningún tratamiento previo por lo que las estrategias de tratamiento que se proponen en función del perfil molecular de los tumores requieren validación en futuros estudios. En el estudio IMvigor 210 (27) en pacientes tratados con atezolizumab tras platino, se observa un mayor beneficio de la inmunoterapia en los pacientes clasificados como *cluster II* según la clasificación del TCGA (7); sin embargo en el estudio CheckMate 275 (28) los tumores basales son los que se benefician en mayor medida del tratamiento con Nivolumab. Por el contrario, los tumores clasificados como *claudin-low* a pesar de presentar una elevada infiltración inmune demuestran una baja respuesta a la inmunoterapia (27,28). Esta aparente paradoja podría explicarse por el hecho de que a pesar de la elevada infiltración linfocitaria en los tumores en el *cluster IV* existe una supresión más efectiva de las células T en estos tumores respecto a los tumores en el *cluster II* (29). Esta evidencia podría plantear la hipótesis de la eficacia de la inmunoterapia y la quimioterapia en poblaciones complementarias de pacientes. En los pacientes con tumores luminal-infiltrado (*cluster II*) son los que podrían beneficiarse de manera más significativa al tratamiento con inmunoterapia, mientras que en los tumores basales (*cluster IV*) la quimioterapia sería el tratamiento de elección. En un análisis reciente del IMvigor 210 se evidencia que los pacientes incluidos en el subtipo neuronal según la clasificación del TCGA del 2017 son los que presentan una mejor respuesta a atezolizumab (respuestas parciales o completas en todos los pacientes) (30). Estos resultados son en gran medida sorprendentes considerando que los pacientes con el subtipo neuronal se asocian a un peor pronóstico y en esta serie no se evi-

denció que estos tumores se asociaran a los parámetros relacionados con la respuesta a la inmunoterapia. Por ejemplo, la carga mutacional de los tumores (TMB) y la carga de neoantígenos tumorales en el subtipo neuronal fue inferior al resto de subtipos y ninguno de estos tumores se clasificaron como inmuno-inflamados y el 72% de casos se consideraron inmuno-excluidos (según la clasificación de Mariathasan). Por el contrario, el subtipo neuronal presentaba niveles bajos de *transforming growth factor beta 1* (TGFB1) y TGFBR1 que se han asociado con la respuesta a la inmunoterapia (31). Estos datos sugieren que la clasificación molecular puede ayudar a seleccionar los pacientes que pueden beneficiarse de un tratamiento tumoral, aunque probablemente se requerirá complementar la información disponible con los datos aportados por la caracterización molecular de los tumores para ayudar a seleccionar el mejor tratamiento posible en cada paciente.

BIOMARCADORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA A LA INMUNOTERAPIA

La aparición de la inmunoterapia como un tratamiento fundamental en el cáncer de vejiga ha puesto de manifiesto la importancia de disponer de biomarcadores que puedan ayudar a seleccionar los pacientes que se beneficiaran de estas terapias. En la actualidad, el papel de la inmunoterapia en el tratamiento de 2.^a línea en pacientes previamente tratados con platinos está bien establecido, aunque únicamente entre el 15-25% de pacientes se benefician de estos tratamientos (32). Asimismo, la posibilidad de incorporar estas terapias en estadios más precoces de la enfermedad, donde actualmente ya existen tratamientos disponibles, pone en evidencia la necesidad de poder identificar que terapia será la más eficaz para cada paciente. Puesto que la mayoría de los tratamientos con inmunoterapia actualmente disponibles son inhibidores de PD-1/PD-L1, el análisis e la expresión de PD-L1 mediante inmunohistoquímica como potencial biomarcador de respuesta ha despertado un especial interés. La expresión de PD-L1 se detecta en el 20-30% de tumores de vejiga y se asocia a estadios más avanzados de la enfermedad con un peor pronóstico (33). Sin embargo, hasta la fecha, los estudios publicados en carcinoma urotelial vesical avanzado han demostrado resultados contradictorios respecto al papel de PD-L1 como biomarcador predictivo de respuesta a la inmunoterapia, especialmente en pacientes previamente tratados con quimioterapia. Es importante tener en cuenta que PD-L1 es un marcador tumoral dinámico en el espacio y en el tiempo. El análisis de un fragmento de tumor en una biopsia puede no ser representativo de la expresión de PD-L1 en la totalidad del tumor y, asimismo, los tratamientos administrados previamente al paciente pueden condicionar también la expresión.

Estas evidencias indican que PD-L1 de forma individual tiene un valor predictivo limitado y, por tanto, resulta necesario estudiar paneles más amplios de biomarcadores para definir qué pacientes se beneficiaran del tratamiento con inmunoterapia. En este sentido, numerosos estudios sugieren el valor pronóstico y predictivo de diferentes biomarcadores en relación con la respuesta a la inmunoterapia; desde algunos de fácil aplicación en la práctica clínica como la determinación de la ratio de neutrófilos/linfocitos y los niveles de albumina, a otros más complejos como firmas de expresión génica (34,35). En el apartado anterior se ha descrito la potencial utilidad de la clasificación molecular para predecir la respuesta a la inmunoterapia. El estudio de las vías reparadoras del ADN puede tener especial interés puesto que los defectos en la DDR se han asociado a un incremento de la carga mutacional del tumor y, por tanto, a una mayor respuesta inmune. En el estudio del grupo del MSKCC se analizó un panel de 34 genes reparadores del ADN en pacientes con cáncer de vejiga avanzado tratados con atezolizumab o nivolumab. En este estudio se evidencia un beneficio significativo del tratamiento con inmunoterapia en los pacientes con mutaciones deletéreas en los genes reparadores (36). Asimismo, recientemente se ha demostrado una elevada eficacia de pembrolizumab en pacientes con tumores que presentan defectos en la vía de *mismatch repair*/inestabilidad de microsatélites (37). Este aspecto puede resultar especialmente relevante en los carcinomas uroteliales dada la elevada frecuencia de defectos en esta vía de reparación en los carcinoma del tracto urotelial superior. En un esfuerzo para englobar los diferentes biomarcadores que pueden estar relacionados con la respuesta en la inmunoterapia, recientemente se ha propuesto un inmunograma que incorpora en siete ejes principales los diferentes parámetros relacionados con la respuesta a la inmunoterapia y que pueden ayudar a predecir de forma individual la eficacia de estos tratamientos en los pacientes con cáncer de vejiga (38).

CONCLUSIÓN

En los últimos años hemos asistido a un avance espectacular en el conocimiento de la biología molecular de los tumores de vejiga que ha permitido identificar nuevos biomarcadores pronóstico y predictivos y, al mismo tiempo, nuevas dianas terapéuticas para terapias dirigidas que pueden permitir mejorar la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes con cáncer de vejiga. Sin embargo, en la actualidad todavía no disponemos de ningún biomarcador aprobado en la práctica clínica. Por todo ello, es prioritario incorporar con la máxima eficiencia y rapidez los conocimientos que nos aportan los avances en el campo de la biología molecular y poderlos trasladar a la práctica aplicar para aplicar una medicina de precisión que permita seleccionar el tratamiento más eficaz para cada paciente.

CORRESPONDENCIA:

Albert Font
Servicio de Oncología Médica
Institut Català d'Oncologia de Badalona, B-ARGO
Hospital Universitario Germans Trias i Pujol
Ctra. de Canyet, s/n
08916 Badalona, Barcelona
e-mail: afont@iconcologia.net

BIBLIOGRAFÍA

- Kamat AM, Hahn NM, Efstathiou JA, et al. Bladder cancer. *Lancet* 2016;388:2796-810.
- Knowles MA, Hurst CD. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity. *Nat Rev Cancer* 2015;15:25-41.
- Dinney CP, McConkey DJ, Millikan RE, et al. Focus on bladder cancer. *Cancer Cell* 2004;6:111-6.
- Witjes JA, Lebre T, Comperat EM, et al. Updated 2016 EAU Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer. *Eur Urol* 2017;71:462-75.
- Font A, Luque R, Villa JC, et al. The challenge of managing bladder cancer and upper tract urothelial carcinoma: A review with treatment recommendations from the Spanish Oncology Genitourinary Group (SOGUG). *Target Oncol* 2019;14(1):15-32.
- Reardon ZD, Patel SG, Zaid HB, 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;67(1):165-70.
- Cancer Genome Atlas Research Network Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature* 2014;507:315-22.
- Hyman DM, Taylor BS, Baselga J. Implementing genome-driven oncology. *Cell* 2017;168:584-99.
- Bellmunt J, Paz-Ares L, Cuello M, et al. Gene expression of ERCC1 as a novel prognostic marker in advanced bladder cancer patients receiving cisplatin-based chemotherapy. *Ann Oncol* 2007;18:522-8.
- Li Q, Damish AW, Frazier Z, et al. ERCC2 helicase domain mutations confer nucleotide excision repair deficiency and drive cisplatin sensitivity in muscle-invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2019;25(3):977-88.
- Van Allen EM, Mouw KW, Kim P, et al. Somatic ERCC2 mutations correlate with cisplatin sensitivity in muscle-invasive urothelial carcinoma. *Cancer Discov* 2014;4:1140-53.
- Liu D, Plimack ER, Hoffman-Censits J, et al. Clinical validation of chemotherapy response biomarker ERCC2 in muscle-invasive urothelial bladder cancer. *JAMA Oncol* 2016;2:1094-6.
- Pietzak EJ, Zabor EC, Bagrodia A, et al. Genomic differences between "primary" and "secondary" muscle-invasive bladder cancer as a basis for disparate outcomes to cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy. *Eur Urol* 2019;75:231-9.
- Plimack ER, Dunbrack RL, Brennan TA, et al. Defects in DNA repair genes predict response to neoadjuvant cisplatin-based chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2015;68:959-67.
- Heeke AL, Pishvaian MJ, Lynce F, et al. Prevalence of homologous recombination-related gene mutations across multiple cancer types. *JCO Precis Oncol* 2018;2018. DOI: 10.1200/PO.17.00286
- Font A, Taron M, Gago JL, et al. BRCA1 mRNA expression and outcome to neoadjuvant-cisplatin-based chemotherapy in bladder cancer. *Ann Oncol* 2011;22(1):139-44.
- Teo MY, Bambrum RM, Zabor EC, 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;23(14):3610-8.
- Iyer G, Balar AV, Milowsky MI, et al. Multicenter prospective phase II trial of neoadjuvant dose-dense gemcitabine plus cis-

- platin in patients with muscle-invasive bladder cancer. *J Clin Oncol* 2018;36:1949-56.
19. Sjordahl G, Lauss M, Lovgren K, et al. A molecular taxonomy for urothelial carcinoma. *Clin Cancer Res* 2012;18:3377-86.
 20. Damrauer JS, Hoadley KA, Chism DD, et al. Intrinsic subtypes of high-grade bladder cancer reflect the hallmarks of breast cancer biology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111:3110-5.
 21. Choi W, Porten S, Kim S, et al. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. *Cancer Cell* 2014;25:152-65.
 22. Robertson AG, Kim J, Al-Ahmadie H, et al. Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder cancer. *Cell* 2017;171:540-56.
 23. Kamoun A, de Reyniès A, Allory Y, et al. A Consensus Molecular Classification of muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2019. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.09.006
 24. Dadhania V, Zhang M, Zhang L, et al. Meta-analysis of the luminal and basal subtypes of bladder cancer and the identification of signature immunohistochemical markers for clinicla use. *EBio-Medicine* 2016;12:105-17.
 25. McConkey DJ, Choi W, Shen Y, et al. A prognostic gen expression signature in the molecular classification of chemotherapy-naive 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;69:855-62.
 26. Seiler R, Ashab HAD, Erho N, et al. Impact of molecular subtypes in muscle-invasive bladder cancer on predicting response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Eur Urol* 2017;72:544-54.
 27. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, 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* 2016;387:1909-20.
 28. Sharma P, Retz M, Siefker-Radtke A, et al. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (CheckMate 275): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017;18:312-22.
 29. Kardos J, Chai S, Mose LE, et al. Claudin-low bladder tumors are immune infiltrated and actively immune suppressed. *JCI Insight* 2016;1:e85902.
 30. Kim J, Kwiatkowski D, McConkey DJ, 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;75:961-4.
 31. Mariathasan S, Turley SJ, Nickles D, et al. TGFbeta attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. *Nature* 2018;554:544-8.
 32. Bellmunt J, de Wit R, Vaughn DJ, et al. Pembrolizumab as second-line therapy for advanced urothelial carcinoma. *N Engl J Med* 2017;376:1015-26.
 33. Boorjian SA, Sheinin Y, Crispen PL, et al. T-cell coregulatory molecule expression in urothelial cell carcinoma: clinicopathologic correlations and association with survival. *Clin Cancer Res* 2008;14:4800-8.
 34. Powles T, Jin C, Zheng Y, et al. Tumor shrinkage and increased overall survival are associated with improved albumin, neutrophil lymphocyte ratio (NLR) and decreased durvalumab clearance in NSCLC and UC patients receiving durvalumab. *J Clin Oncol* 2017;35:3035.
 35. Ayers M, Luceford J, Nebozhyn M, et al. IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J Clin Invest* 2017;127:2930-40.
 36. Teo MY, Seier K, Ostrovnya I, et al. Alterations in DNA damage response and repair genes as potential marker of clinical benefit from PD-1/PD-L1 blockade in advanced urothelial cancers. *J Clin Oncol* 2018;36:1685-94.
 37. Le DT, Uram JM, Wang H, et al. PD-1 blockade in mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 2015;372:2509-201.
 38. Van Dijk N, Funt SA, Blank CU, et al. The Cancer Immunogram as a framework for personalized immunotherapy in urothelial cancer. *Eur Urol* 2019;435-44.