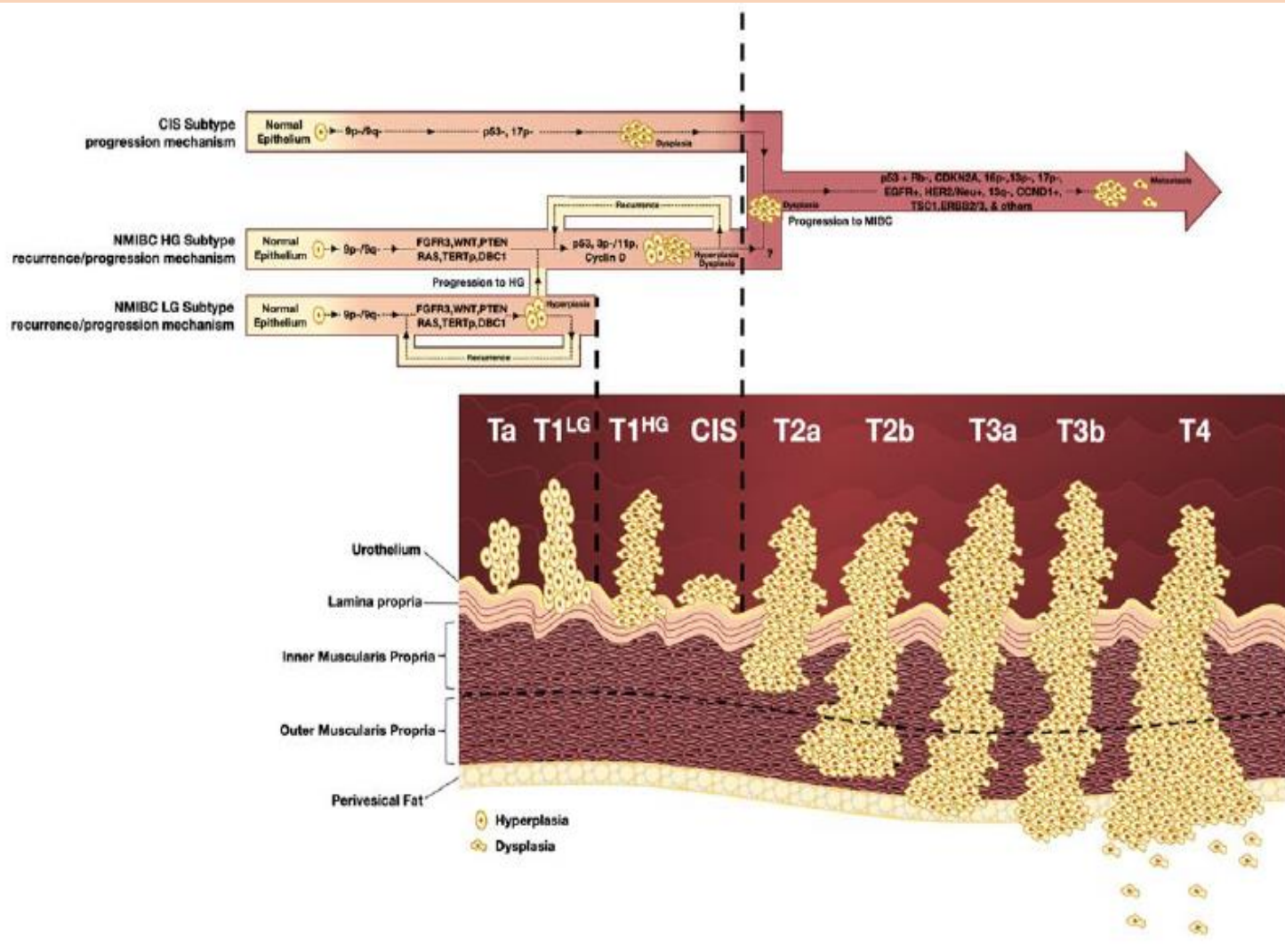


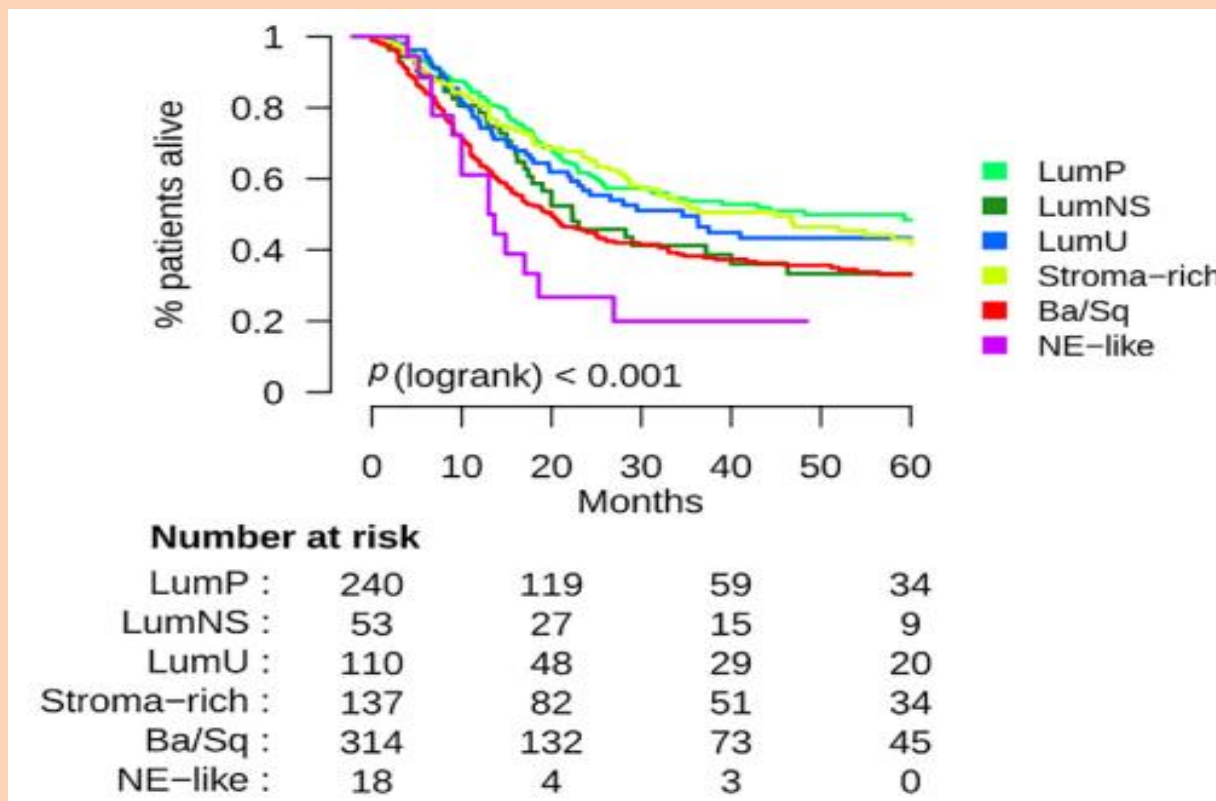
Молекулярни подтипове при мускулоинвазирац уротелен карцином – прогностични и предиктивни аспекти

Милка Георгиева



Молекулярна и хистологична прогресия на уротелен карцином. Характеризира се от два отделни субтипа - мускул-неинвазиращ уротелен карцином (NMIBC) и мускул-инвазиращ уротелен карцином (MIBC) в зависимост от това дали не инвазира или инвазира мускулния слой.

Катон, А. и съавт. стратифицира луминалните и базални категории в 6 отделни консенсусни субтипа: луминално-папиларен (LumP), луминален неопределен (LumNS), луминален нестабилен (LumU), стромален (Stroma-rich), базално/плоскоклетъчен (Ba/Sq), и невроендокринно-подобен (NE-like)



Общата преживяемост силно се асоциира с консенсусните класове ($p < 0.001$)

Молекулярни характеристики, риск от прогресия и чувствителност към специфична системна терапия

Lum P подтип (24%) - среща се най-много при неинвазивния (pTa) фенотип (папиларна морфология с нисък риск за прогресия).

Характеризира се с FGFR3 геномни промени - 55%, ($p < 0.001$), т.е. висока експресия на FGFR3 гена, FGFR3 мутации, амплификация на брой копия и FGFR3-TACC3 фузии/транслокации.

Добра прогноза.

Тези тумори могат да са чувствителни към неoadювантна базирана на цисплатина терапия, както и към ran-FGFR инхибитори, т.е. *infigratinib*, независимо от мутационния или транслокационен статус на FGFR3. Нови FGFR3 инхибитори са с доказана клинична полза при 20% MIBC пациенти с мутирал или транслоциран FGFR3 тирозинкиназен рецептор и 40% MIBC пациенти с тумори, свръхекспресиращи FGFR3.

Lum NS (Luminal NonSpecified) подтип (8%) - с висока стромално-инфилтрационна сигнатура, основно миофибробластна.

Характеризира се с мутации в ELF3 гена (35%) - ранен регулатор на уротелна диференциация и се активира от PPAR γ гена, като промените в него са или амплификация или фузии (76% $p = 0.006$)

Сходна на Lum P прогноза

Експресираща също CD274 (PD-L1) и CTLA4 маркери, като определя фенотип, чувствителен към имунна чекпойнт терапия (*atezolizumab*). Пациенти с тези тумори могат да имат полза от неoadювантна химиотерапия (NAC)

Lum U (Luminal Unstable) подтип (15%) - наскоро дефинирана категория, характеризираща се с експресия на луминални маркери (уроплакини), както и от KRT20 и SNX31. Тъй като е нова категория засега няма информация за чувствителност към определена терапия.

По-лоша прогноза







Потенциален отговор към лъчетерапия поради увеличена активност на клетъчния цикъл и ниски хипоксични сигнали.

Молекулярни характеристики, риск от прогресия и чувствителност към специфична системна терапия

Стромалният субтип (15%) със средни нива на уротелна диференциация. Характеризира се със стромална инфилтрация, свръхекспресия на сигнатури за гладка мускулатура, ендотелни фибробласти и миофибробласти, както и за свръхекспресия главно на В и Т-клетъчни маркери. Не се повлиява от адювантна ХТ (NAC)
Добра прогноза.

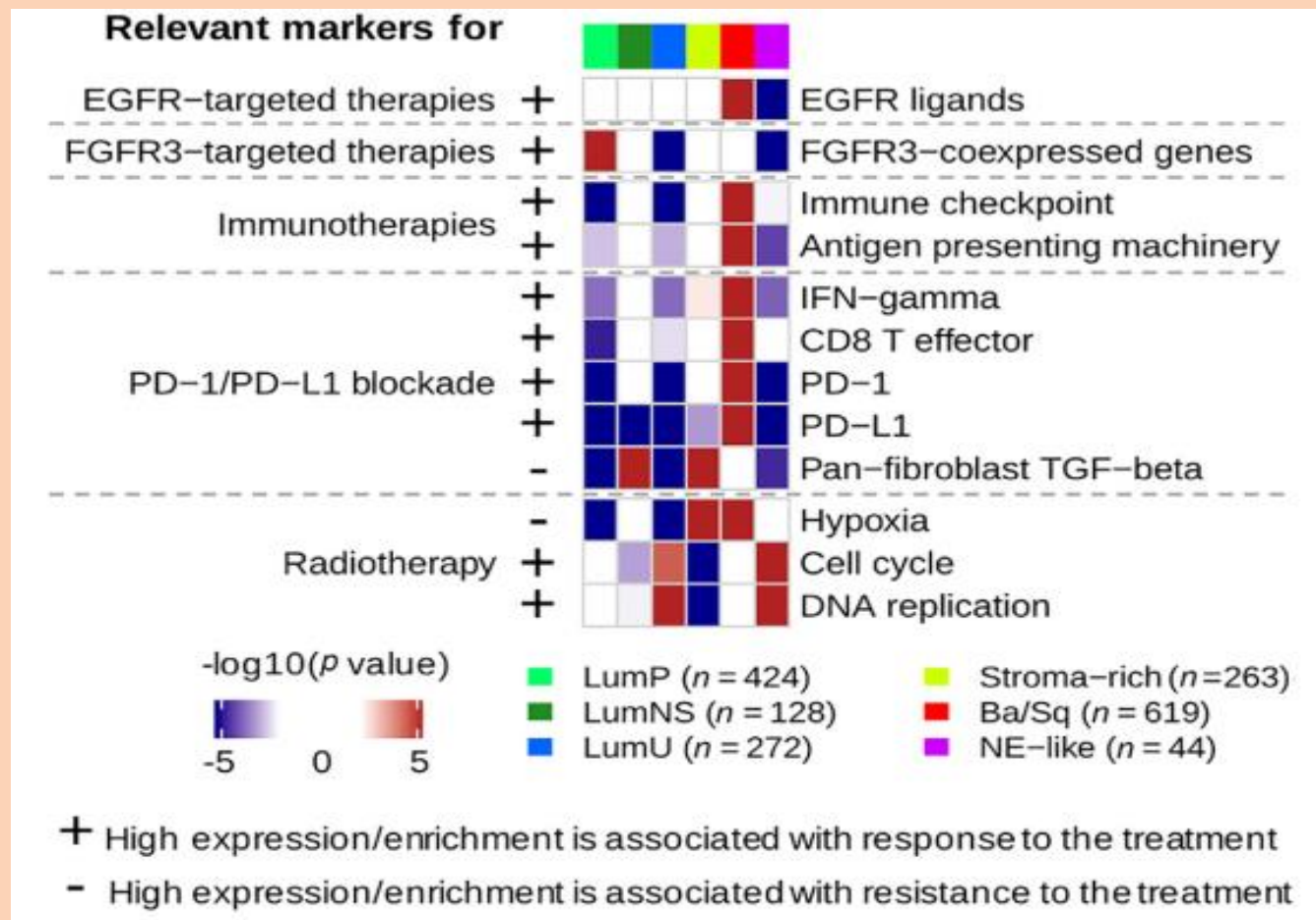
Bas/Sq (Basal/Squamous) (35%) - по-често срещан при жени, показва плоскоклетъчна диференциация, експресира базални кератини и имунни маркери за цитотоксични лимфоцити и NK клетки. Подходящо за този субтип е приложението на цисплатина- базирана неoadювантна ХТ (NAC) и имунотерапия. Не е чувствителен към лъчетерапия. Bas/Sq туморите експресират също и високи нива на EGFR и лигандите му ($p < 0.001$), като това може да се свърже с чувствителност към EGFR таргетни терапии.
Лоша прогноза.

NE-сходен (Neuroendocrine-like) (3%) - експресира невроендокринни и невронни гени и високи нива на пролиферация. Едновременно инактивиране на TP53 и RB1 е често срещано при NE-сходните тумори. Както при невроендокринните неоплазми възникващи на други места, тези тумори се повлияват от комбинирана терапия с etoposide и cisplatin (NAC).
Най-лоша прогноза.

% of MIBC	24%	8%	15%	15%	35%	3%
Class Name	Luminal Papillary (LumP)	Luminal Non-Specified (LumNS)	Luminal Unstable (LumU)	Stroma-rich	Basal/Squamous (Ba/Sq)	Neuroendocrine-like (NE-like)
						
Differentiation	Urothelial / Luminal				Basal	Neuroendocrine
Oncogenic mechanisms	FGFR3 + PPARG + CDKN2A -	PPARG +	PPARG + E2F3 +, ERBB2 + Genomic instability Cell cycle +		EGFR +	TP53 -, RB1 -, Cell cycle +
Mutations	<i>FGFR3</i> (40%), <i>KDM6A</i> (38%)	<i>ELF3</i> (35%)	<i>TP53</i> (76%), <i>ERCC2</i> (22%) TMB +, APOBEC +		<i>TP53</i> (61%), <i>RB1</i> (25%)	<i>TP53</i> (94%) <i>RB1</i> (39%)*
Stromal infiltrate		Fibroblasts		Smooth muscle Fibroblasts Myofibroblasts	Fibroblasts Myofibroblasts	
Immune infiltrate				B cells	CD8 T cells NK cells	
Histology	Papillary morphology (59%)	Micropapillary variant (36%)			Squamous differentiation (42%)	Neuroendocrine differentiation (72%)
Clinical	T2 stage +	Older patients + (80+)			Women + T3/T4 stage +	
Median overall survival (years)	4	1.8	2.9	3.8	1.2	1

* 94% of these tumors present either RB1 mutation or deletion

Обобщение на основните характеристики на консенсусните субтипове - графично представяне на туморните клетки и техните микросреда (имунни клетки, фибробласти и гладкомускулни клетки); цветна скала на диференциацията - луминално-базален градиент и невроендокринна диференциация; показани са и характеристиките - онкогенни мутации, стромални инфилтрати, имунни инфилтрати, хистология, клинични характеристики и средна обща преживяемост.



Избрана е група клинично приложими сигнатури - анализирани са гените във всяка отделна серия като е тествано значението на **диференциалната експресия** на всеки консенсусен клас по отношение на другите. **Heatmaps** показват комбинираните p стойности за всички данни. **Плюс/минус** показва връзката на висока генна експресия с чувствителност/резистентност към съответната терапия.

Изводи:



- Молекулярните подтипове са прогностични
- Клиничната полза от подтиповете като предиктивни биомаркери за отговор към АХТ (НАС) подсказват, че базалните тумори могат да имат полза от АХТ, но тези резултати изискват валидиране в проспективни проучвания.
- Необходими са изследвания за субтип-специфични отговори към имунотерапия



За момента няма достатъчно доказателства за практическото приложение на молекулярни или фенотипни субтипове уротелни тумори.

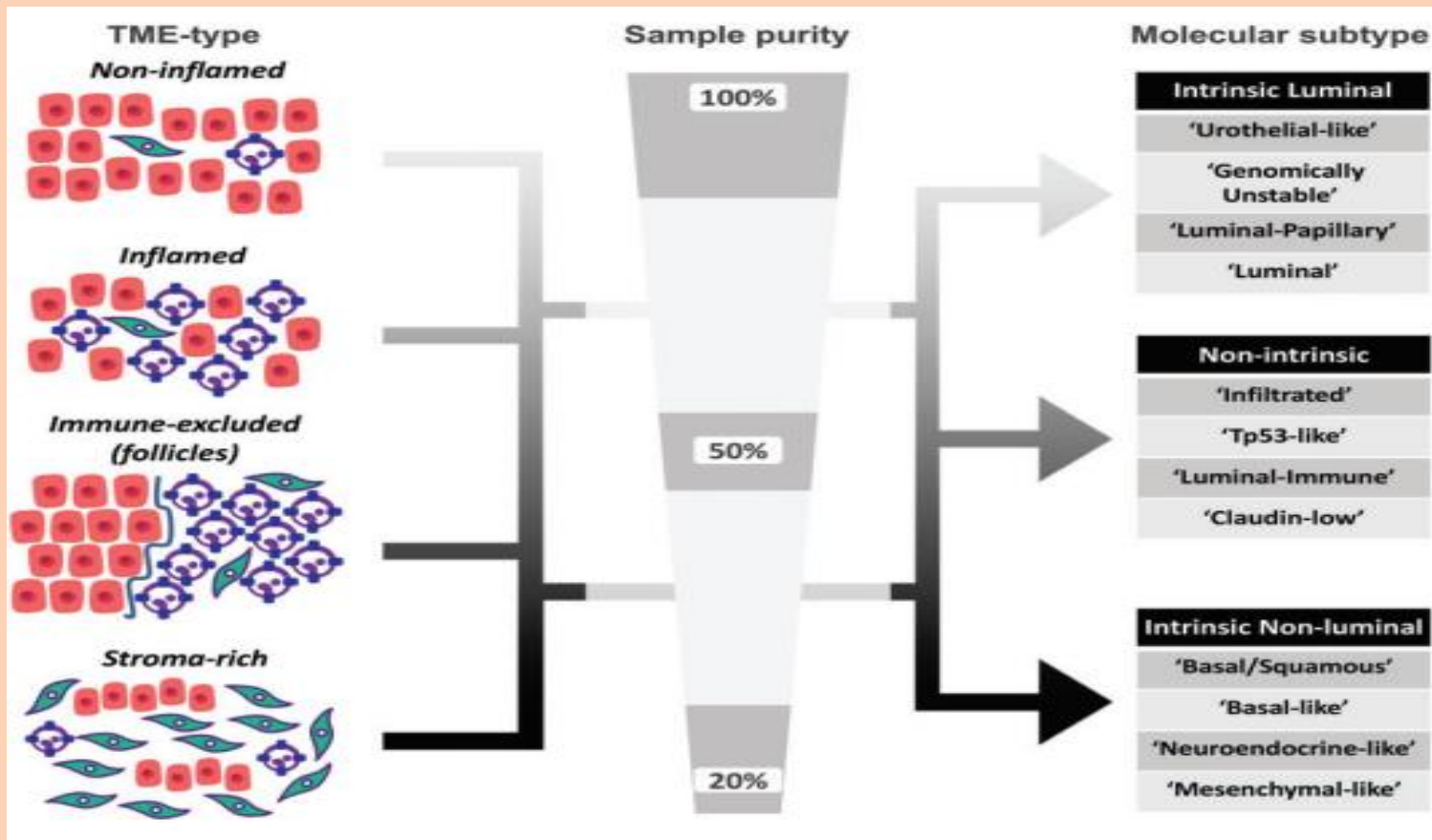


Схема на влиянието на различните микросреди върху чистотата на пробите и РНК молекулярната класификация

(Адаптирано от Sjödahl,G., Jackson,C.L., Bartlett, JMS et al. 2019)

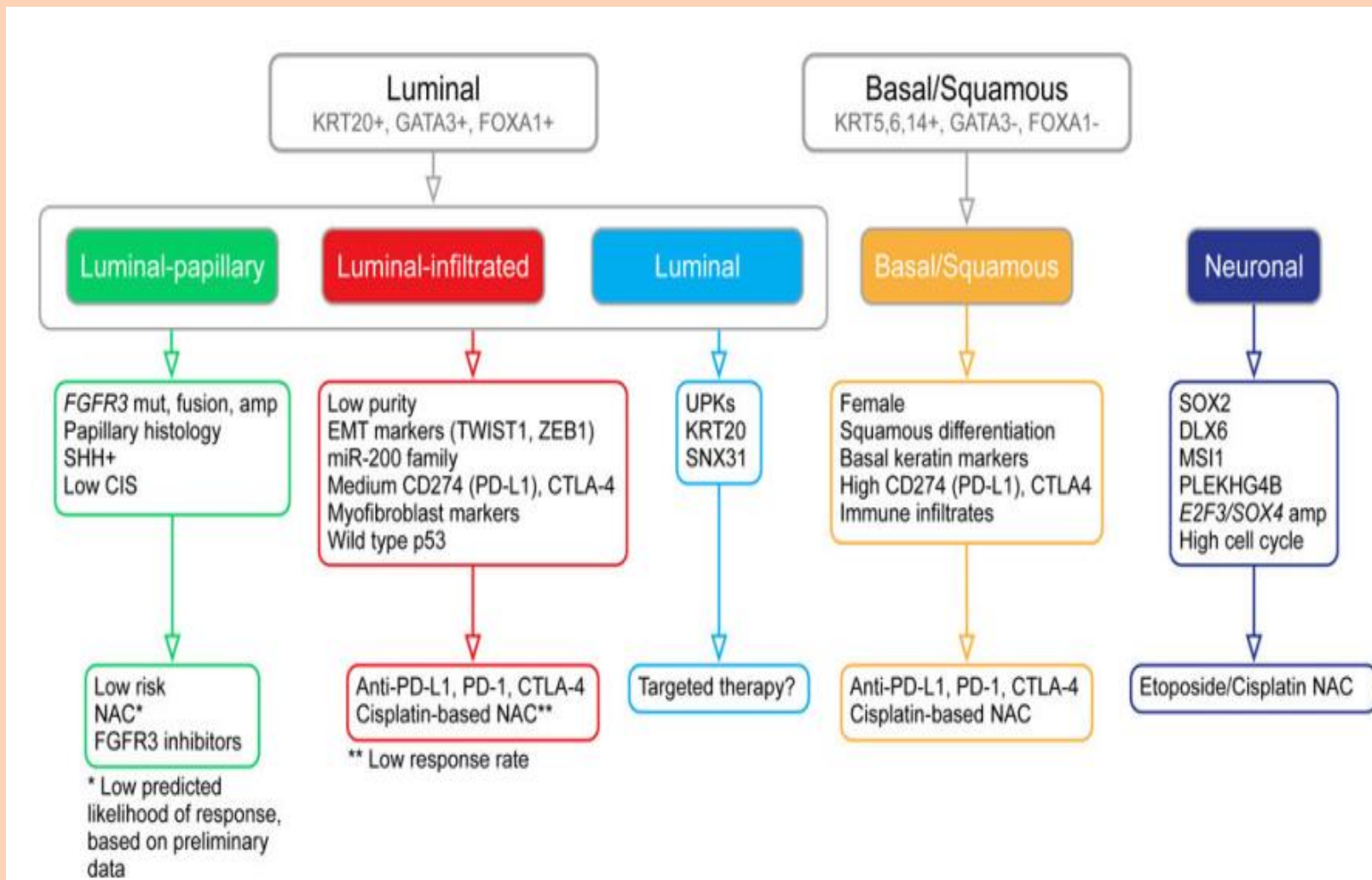
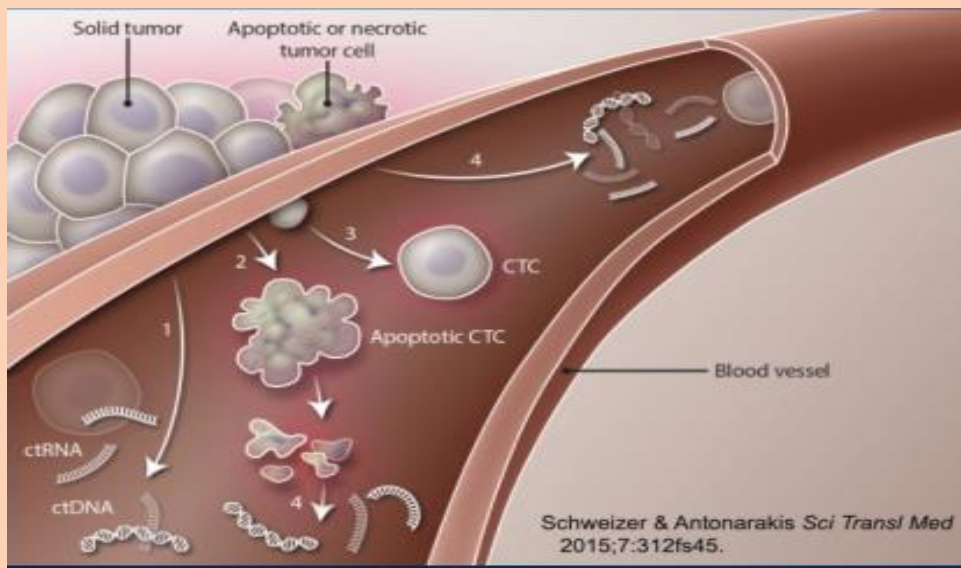


Схема за проспективно хипотетично тестване в клинични проучвания.
CIS = carcinoma in situ; NAC = neoadjuvant chemotherapy. а ниска вероятност за отговор основана на предварителни данни. б ниска честота на отговор.

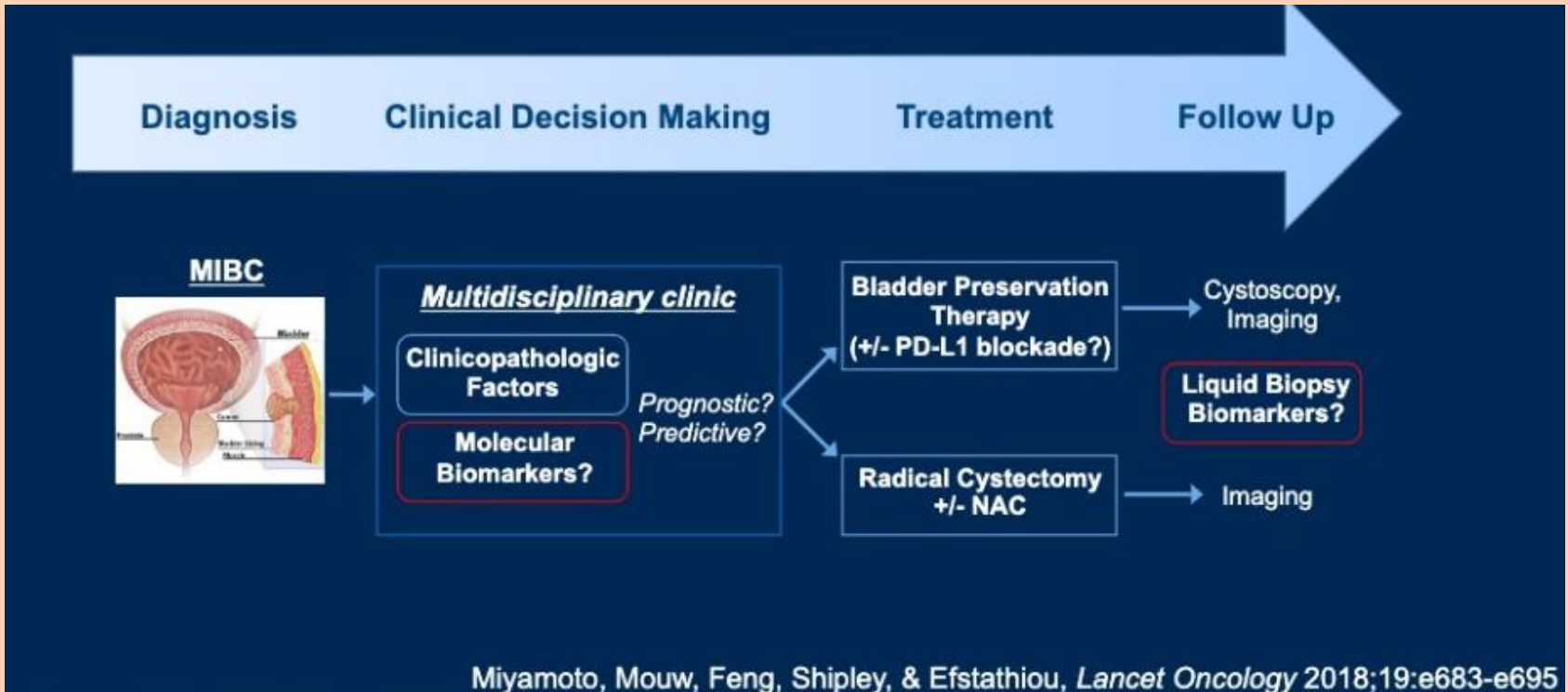
Течни биопсии - циркулиращи туморни клетки, циркулираща туморна ДНК



Оценката на ЦТК и цтДНК са биомаркери, които могат да бъдат тествани често преди, по време и след терапия на пациентите

1. Наличие на ЦТК (ЦТК+) при МIBC се асоциира с по-напреднал стадий, предиктор за лоша прогноза
2. Оценката на циркулираща туморна ДНК (цтДНК) е надежден биомаркер за прогноза, мониторинг на отговор към терапия и ранно откриване на рецидив защото:
 - може да служи като прогностичен биомаркер преди ХТ
 - цтДНК динамиката по време на ХТ отразява отговора към терапия
 - цтДНК открива рецидив след хирургична интервенция по-рано от образните методи
 - цтДНК оценката е неинвазивен, евтин и лесен метод
 - цтДНК фракцията (туморно съдържание) е силно вариабилна

цтДНК трябва спешно да се включи за изследване в клинични проучвания.



Поведение при MIBC насочвано от молекулярни биомаркери



БЛАГОДАРЯ



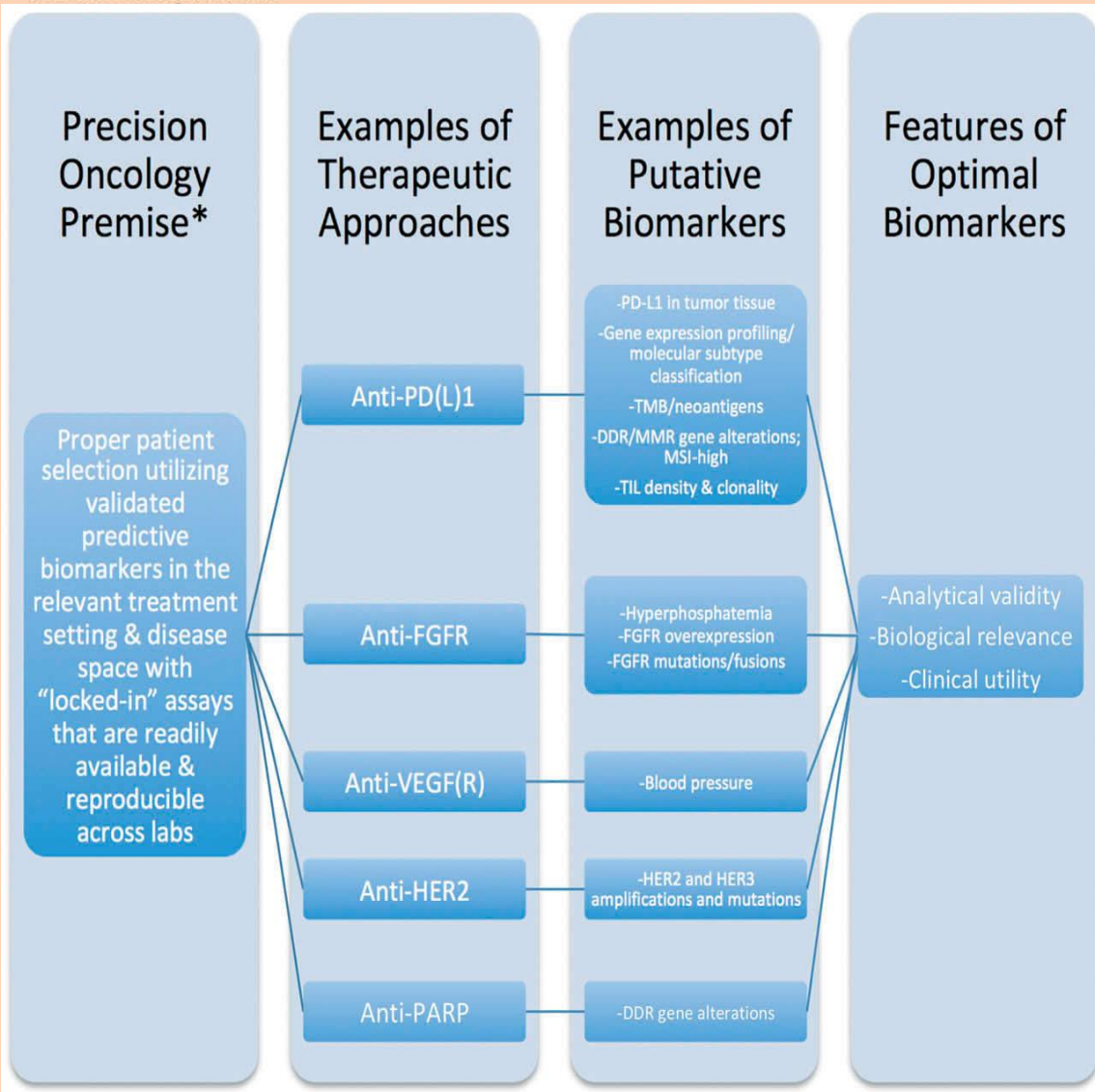


Figure 1. Examples of therapeutic approaches, putative biomarkers, and optimal features regarding the implementation of the Precision Oncology premise in urothelial carcinoma. These examples are not a comprehensive list. *: Note that these putative biomarkers are only attempts at achieving the Precision Oncology premise and may have not met the high bar. PD-1 = Programmed cell Death protein, PD-L1 = Programmed Death Ligand-1, FGFR = Fibroblast Growth Factor Receptor, VEGF(R) = Vascular Endothelial Growth Factor (Receptor), HER2 = Human Epidermal growth factor Receptor 2, HER3 = Human Epidermal growth factor Receptor 3, PARP = Poly (ADP-Ribose) Polymerase (PARP), TMB = tumor mutational burden, DDR = DNA damage response, MMR = mismatch repair, TIL = tumorinfiltrating cytotoxic T lymphocytes.

Adapted from Schiff JP, Barata PC, Yu EY, Grivas P. Precision therapy in advanced urothelial cancer. *Expert Rev Precis Med Drug Dev* 2019; 4: 81- 93