



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΟΛΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΓΟΥΤΑΣ

*Ειδικευόμενος ιατρός Παθολογικής Ανατομικής*

ΤΙΤΛΟΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ / ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

«Μελέτη μοριακών δεικτών που σχετίζονται με τις οδούς καρκινογένεσης και  
εξέλιξης του ουροθηλιακού καρκινώματος της ουροδόχου κύστεως»

ΑΘΗΝΑ 2023



**Ημερομηνία αίτησης για εκπόνηση διδακτορικής διατριβής:** Μάρτιος 2019

**Ημερομηνία ορισμού τριμελούς επιτροπής:** Απρίλιος 2019

**Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή:**

Ανδρέας Χ. Λάζαρης, Καθηγητής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Παθολογοανατόμος  
(επιβλέπον μέλος)

Χαρίκλεια Γακιοπούλου, Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Παθολογοανατόμος

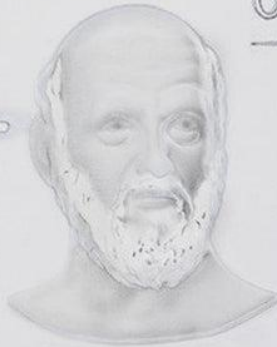
Δημήτριος Βλαχοδημητρόπουλος, Καθηγητής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ,  
Παθολογοανατόμος

**Επιβλέπων Καθηγητής:** Ανδρέας Χ. Λάζαρης, Καθηγητής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ,  
Παθολογοανατόμος

**Ημερομηνία ορισμού θέματος:** Ιούνιος 2019

**Ημερομηνία κατάθεσης διατριβής:** Ιούνιος 2023

## Ὁρκὸς Ἱπποκράτους



ΘΕΟΥΣ ΑΠΟΛΑΣΜΑ ΠΥΤΤΩΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΩΝ  
ΚΑΙ ΥΓΙΕΩΣ ΚΑΙ ΠΙΣΤΑΤΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΙΣΤΑΣ  
ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΛΑΣ ΠΥΤΩΔΑΣ ΠΟΙΟΥΜΕΝΟΣ,  
ΕΠΙΣΤΑΣΑ ΠΟΙΗΣΑΙ ΚΑΤΑ ΣΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΟΙΝΗ  
ΛΟΓΩΝ ΟΡΚΩΝ ΤΟΝΟΣ, ΗΓΥΜΑΣΘΑΙ ΜΕΣ ΤΩΝ  
ΔΙΔΑΧΟΝΤΩΝ ΜΕ ΤΩΝ ΤΕΧΝΩΝ ΤΑΥΤΩΝ ΕΝΑ  
ΓΕΝΕΤΗΡΙΩΝ ΑΝΘΩΝ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΙΣΤΩΝ ΚΑΙ  
ΧΡΕΩΣ ΧΡΗΣΕΩΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ ΚΑΙ  
ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΑΘ ΑΥΤΩΝ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΜΟΝ  
ΑΠΙΣΤΕΥΣΑΙΝ ΑΡΡΩΣ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΧΕΣ ΤΩΝ  
ΤΕΧΝΩΝ ΤΑΥΤΩΝ, ΜΗ ΚΟΙΝΩΣΕΙ ΜΑΝΘΡΑΝΕΙ,  
ΑΝΩΥ ΑΝΩΟΥ ΚΑΙ ΚΥΤΤΡΑΝΗ. ΠΑΡΑΤΤΕΛΕΣ

ΤΕ ΚΑΙ ΔΙΔΟΜΕΝΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΣΘΕΙΑΣ ΑΣΙΑΣ  
ΜΑΝΘΡΑΝΕΙ ΜΕΤΑΒΟΛΗΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ ΤΩΝ ΤΕ  
ΛΟΓΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΤΩΝ ΑΝΩ ΔΙΔΑΧΟΝΤΩΝ ΚΑΙ  
ΜΑΝΤΡΑΝ ΕΥΤΕΡΩΤΑΡΧΩΝ ΤΑ ΚΑΙ  
ΕΠΙΜΑΝΕΣ ΝΕΩΣ ΕΥΤΕΡΩ ΑΛΛΑ ΔΕ ΟΥΔΕΙ  
ΔΙΔΟΜΕΝ ΤΕ ΧΡΗΣΕΩΣ ΑΓΡΟΛΑΕΩΝ ΚΑΝΟΝΕΣ  
ΚΑΤΑ ΣΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΟΙΝΗ ΛΟΓΩ, ΕΠΙ ΑΝΩΜΑΙ ΔΕ  
ΚΑΙ ΛΟΓΩΝ ΑΣΘΕΙΑΣ ΟΥ ΔΕΙΧΕ ΔΕ ΟΥΔΕ ΔΑΡΑΝΟΝ  
ΟΥΔΕΙ ΑΣΘΕΙΑΣ ΟΜΑΝΕΣ, ΟΥΔΕ ΥΟΝΤΩΜΑΙ  
ΚΥΒΕΡΝΑΝ ΤΩΝ ΔΕ ΟΜΕΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΩΜΑΙ  
ΠΕΜΕΝ ΕΘΕΡΩΝ ΔΕΙΧΕ. ΑΠΡΟΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΜΕΩΣ  
ΔΕΙΧΕΝ ΤΩΝ ΔΕΙΧΕ ΤΩΝ ΛΟΓΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΤΩΝ  
ΛΟΓΩΝ ΤΑΜΕΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΑΝΩ ΑΝΩΤΑΣ,  
ΑΣΘΕΙΑΣ ΔΕ ΑΣΤΕΙΑΣ ΑΣΘΕΙΑΣ ΠΕΜΕΝ ΤΩΝ  
ΑΙ ΟΜΕΩΣ ΔΕ ΟΜΕΩΣ ΑΝ ΑΝΩ, ΑΣΘΕΙΑΣ ΑΣΤ  
ΟΜΕΩΣ ΚΑΝΟΝΕΣ, ΑΣΤΕΙΑΣ ΑΝΩ ΑΣΘΕΙΑΣ  
ΑΣΘΕΙΑΣ ΚΑΙ ΕΘΕΡΩΣ ΤΩΣ ΤΕ ΑΛΛΩ ΚΑΙ  
ΑΠΡΟΣΕΩΝ ΑΣΤΕΙΑΣ ΑΣΤΕΙΑΣ ΤΕ ΓΥΩΜΑΣ ΚΑΝΟΝΕΣ  
ΚΑΙ ΑΝΩΤΑΣ, ΔΑΡΑΝΟΝ ΤΕ ΚΑΙ ΑΣΤΕΙΑΣ Α ΑΝΩ  
ΑΝ ΔΕΙΧΕΝ Η ΛΩ Η ΑΣΤΕΙΑ, Η ΚΑΙ ΑΣΤΕΙΑ  
ΔΑΡΑΝΟΝ ΚΑΤΑ ΝΕΩΣ ΑΝΩΤΑΣ, Α ΑΣΤΕΙΑΣ  
ΑΣΤΕΙΑΣ ΑΝΩ ΑΣΤΕΙΑΣ, ΑΣΤΕΙΑΣ ΑΣΤΕΙΑΣ  
ΑΝΩ ΤΕ ΑΣΤΕΙΑΣ ΟΜΕΩΣ ΑΝ ΟΥΝ ΑΝΩ ΤΩΝ  
ΕΠΙΣΤΑΣΑ ΠΟΙΗΣΑΙ ΚΑΙ ΑΝ ΚΥΤΤΕΩΣ ΑΝ  
ΑΠΙΣΤΕΥΣΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΩΝ, ΔΙΔΑΧΟΝΤΩΣ  
ΠΑΡΑ ΠΑΝΩ ΑΝΩΤΕΡΩΣ Α ΤΩΝ ΑΝΩ ΤΩΝ  
ΠΑΡΑΜΕΝΤΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΑΠΙΣΤΕΥΣΑΙ, ΤΑΡΑΝΤΑ  
ΤΟΥΤΑΣ



*Στην αγαπημένη μου σύζυγο και  
στα παιδιά μου για την αμέριστη  
κατανόηση και στήριξη*

*Στους αγαπημένους μου γονείς για  
τη στήριξη και καθοδήγησή τους*

## Περιεχόμενα

<b>I. ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b> .....	9
<b>II. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ</b> .....	11
<b>III. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	17
<b>IV. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	18
<b>A. Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης</b>	
1. Επιδημιολογία .....	19
2. Παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου ουροδόχου κύστης .....	21
3. Επιβίωση .....	24
4. Εμβρυολογία .....	25
5. Ανάλυση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης ανά ανατομική περιοχή .....	27
6. Ιστολογική ταξινόμηση των καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης .....	28
7. Μέθοδοι απεικόνισης .....	31
8. Προσυμπτωματικός έλεγχος ανίχνευσης καρκίνου ουροδόχου κύστης .....	32
9. Θεραπευτική αντιμετώπιση .....	33
<b>B. Μοριακή τυποποίηση των καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης</b>	
1. Μοριακός χαρακτηρισμός .....	39
1.1 Μη μυοδιηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα (NMIBC) .....	40
1.2 Μυοδιηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα (MIBC) .....	41
2. Μοριακοί υπότυποι .....	43
3. Consensus μοριακής ταξινόμησης .....	46
4. Συσχέτιση μοριακών υπότυπων και μορφολογίας .....	47
5. Κλινικές προεκτάσεις του consensus μοριακής ταξινόμησης .....	49
6. Σύννοψη .....	50
<b>V. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	52
<b>A. Εισαγωγή</b> .....	53
<b>B. Σκοπός</b> .....	55
<b>Γ. Υλικό και μέθοδος</b> .....	57
1. Συλλογή και χαρακτηρισμός των ασθενών .....	58
2. Διαδικασία και αξιολόγηση ανοσοϊστοχημείας .....	58
3. Στατιστική ανάλυση .....	61
4. Βάση δεδομένων και ανάλυση του The Cancer Genome Atlas .....	61
<b>Δ. Αποτελέσματα</b> .....	63
1. Μοριακή ταξινόμηση .....	63
2. Ανεπάρκεια του συστήματος επιδιόρθωσης των βλαβών του DNA .....	70
3. Αξιολόγηση PD-L1 .....	73
4. Συζήτηση .....	108
<b>E. Συμπεράσματα</b> .....	112
<b>VI. ABSTRACT</b> .....	114

<b>VII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....</b>	<b>115</b>
<b>VIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>117</b>



## I. ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών υπό την επίβλεψη του Καθηγητή κου Ανδρέα Χ. Λάζαρη τον οποίο και επιθυμώ να ευχαριστήσω θερμά για τη δυνατότητα που μου παρείχε να ασχοληθώ με το αντικείμενο που με ενδιέφερε και για τη καθοδήγηση που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια.

Ιδιαίτερα θέλω, επίσης, να αναφερθώ στη Καθηγήτρια κα Χαρά Γακιοπούλου η οποία από την έναρξη της εκπόνησης της διδακτορικής διατριβής και για όλη τη διάρκειά της στάθηκε δίπλα μου συμβάλλοντας καθοριστικά σε όλα τα στάδιά της. Χωρίς τη συνεισφορά της η ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής θα ήταν αδύνατη.

Τέλος, να ευχαριστήσω θερμά και να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον Καθηγητή κο Δημήτρη Βλαχοδημητρόπουλο ο οποίος μου παρείχε την αμέριστη συμπαράστασή του και καθοδήγηση όποτε την χρειάστηκα.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή ξεκινάει με ένα εισαγωγικό κείμενο για τις νεοπλασίες της ουροδόχου κύστης και συνεχίζει με το γενικό μέρος όπου περιγράφονται τα εν γένει χαρακτηριστικά των ουροθηλιακών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης ως προς την επιδημιολογία, την εμβρυολογία, την ιστολογία, τον τρόπο διάγνωσης και τη θεραπευτική αντιμετώπιση. Στη συνέχεια αναλύονται οι ομάδες μοριακών υπότυπων, όπως αυτές προέκυψαν από το τελευταίο Consensus μοριακής ταξινόμησης των ουροθηλιακών νεοπλασμάτων, καθώς και οι συσχετίσεις τους με την ιστομορφολογία και τις κλινικές προεκτάσεις.

Στο ειδικό μέρος περιγράφονται ο σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής, το υλικό και η μέθοδος, και τα αποτελέσματα της μελέτης τα οποία και συζητούνται και συγκρίνονται με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, καταλήγοντας στα συμπεράσματά μας. Τέλος, παρουσιάζεται η περίληψη της εργασίας στην Ελληνική και Αγγλική γλώσσα.

## **Π. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ:** Δημήτριος Γούτας  
**ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ:** 21 Μαΐου 1993  
**ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ:** Αθήνα  
**e-mail:** [dimgoutas@med.uoa.gr](mailto:dimgoutas@med.uoa.gr)  
**ΙΔΙΟΤΗΤΑ:** Ειδικευόμενος Παθολογοανατόμος

### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ**

2012 – 2018: Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Comenius, Μπρατισλάβα, Σλοβακία  
2018: Παρουσίαση Διπλωματικής Εργασίας, με τίτλο: “Morphological Changes in Neurodegeneration”  
2020: Πρόγραμμα E-learning του ΕΚΠΑ με τίτλο “Stem Cells and Regenerative Medicine”

### **ΕΚΠΟΝΗΣΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

2019 – σήμερα: Εκπόνηση διδακτορικής διατριβής στο Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Διευθυντής: Καθηγητής Νικόλαος Καβαντζάς) με θέμα: «Μελέτη μοριακών δεικτών που σχετίζονται με τις οδούς καρκινογένεσης και εξέλιξης του ουροθηλιακού καρκινώματος της ουροδόχου κύστεως».

**Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:** 1) Α. Χ. Λάζαρης, Καθηγητής, 2) Χαρίκλεια Γακιοπούλου, Καθηγήτρια, 3) Δημήτριος Βλαχοδημητρόπουλος, Καθηγητής

### **ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ**

Σεπτέμβριος 2018 - Ιούλιος 2019: **Στρατιωτική θητεία ως Ιατρός**

Σεπτέμβριος 2019 - σήμερα: **Ειδικευόμενος Παθολογοανατόμος (4<sup>ο</sup> έτος)**

**Συμμετογή σε Συνέδρια** (Εθνικά, Διεθνή): 5 Εθνικά, 3 Διεθνή

### **Ανακοινώσεις σε συνέδρια:**

1. Dimitrios Goutas<sup>1</sup>, Nikolaos Katsoulas<sup>1</sup>, Evangelos Felekouras<sup>2</sup>, Ilias Vagios<sup>2</sup>, Aphrodite Nonni. Gallbladder metastasis from clear cell renal cell carcinoma. 32<sup>nd</sup> Congress of the European Society of Pathology and XXXIII International Congress of the International Association of Pathology, 5-9 December 2020 Glasgow, Scotland
2. Dimitrios Goutas, Nikolaos Katsoulas, Andreas C. Lazaris, George Liapis. Ductal type of prostate adenocarcinoma is not always high-grade. 32<sup>nd</sup>

Congress of the European Society of Pathology and XXXIII International Congress of the International Association of Pathology, 5-9 December 2020 Glasgow, Scotland

3. Goutas D, Savvidou K, Vrettou K, Meletis E, Levis P, Constantinides C, Lazaris AC, Mikou P. Comparison of conventional and liquid-based cytology using The Paris System for Reporting Urinary Cytology. 33<sup>rd</sup> European Congress of the European Society of Pathology, 29-31 August 2021 Gothenburg, Sweden
4. Pergaris, A., Georgantzoglou, N., Sarantis, P., Tsourouflis, G., Goutas, D., Klijanienko, J., Theocharis, S., The Clinical Impact of PROX-1 expression in salivary gland tumours. 33<sup>rd</sup> European Congress of the European Society of Pathology, 29-31 August 2021 Gothenburg, Sweden
5. Γούτας Δ. Ανοσοϊστοχημική Μελέτη Έκφρασης των Δεικτών PD-L1 και MMR στα Ουροθηλιακά Καρκινώματα της Ουροδόχου Κύστης: Σύσχέτιση με Κλινικοπαθολογοανατομικές Παραμέτρους και το Μοριακό Προφίλ των Όγκων. Συνέδριο: Η Μοριακή Ιατρική από το Εργαστήριο στην Πράξη: Προκλήσεις και Ερωτήματα VI, 30.06-02.07 2022
6. N. Katsoulas, D. Goutas, A. Sykaras, I. Zyli, I.S. Papanikolaou, E. Politi. Metastatic malignant mixed germ cell tumor of the epigastrium as a primary incidental finding: a rare case presentation. 34<sup>th</sup> European Congress of the European Society of Pathology, 3-7 September 2022 Basel, Switzerland
7. I. Zyli, A. Sykaras, N. Katsoulas, D. Goutas, I.S. Papanikolaou, E. Politi. Pancreatic metastasis of multiple myeloma diagnosed by EUS-FNA: report of a rare case. 34<sup>th</sup> European Congress of the European Society of Pathology, 3-7 September 2022 Basel, Switzerland
8. A. Sykaras, I. Zyli, D. Goutas, N. Katsoulas, I.S. Papanikolaou, E. Politi. Immunocytochemistry-assisted diagnosis of solid pseudopapillary neoplasm of the pancreas in a young man. 34<sup>th</sup> European Congress of the European Society of Pathology, 3-7 September 2022 Basel, Switzerland
9. Stofas, A., Patereli, A., Goutas, D., Gakiopoulou, H., Korkolopoulou, P. Esophageal Schwannoma: a rare case report. 34<sup>th</sup> European Congress of the European Society of Pathology, 3-7 September 2022 Basel, Switzerland
10. Γούτας Δ. Η Διάγνωση του Ουρογεννητικού Καρκίνου στην Εποχή της Εξατομικευμένης Ιατρικής. Ελληνική Ομοσπονδία Καρκίνου (ΕΛΛΟΚ): Διαδικτυακή Ημερίδα για τους Καρκίνους του Ουροποιητικού Συστήματος, 11 Οκτωβρίου 2022
11. D. Goutas, A. C. Lazaris. Slide seminar: Interesting Cases and Diagnostic Challenges in Urinary Tract. Courses in Pathology, IUCP 2023, 31.03-02.04 2023, Ioannina, Greece
12. D. Goutas, A. Stofas, E. Lakiotaki. Slide seminar: Diagnostic Challenges in Kidney Tumors. Courses in Pathology, IUCP 2023, 31.03-02.04 2023, Ioannina, Greece

### **Μέλος Εταιρειών:**

- Ευρωπαϊκή Εταιρεία Παθολογικής Ανατομικής
- Ελληνική Εταιρεία Παθολογικής Ανατομικής
- Διεθνής Εταιρεία Δερματοσκόπησης

#### **Ομάδες Εργασίας:**

1. Μαστού - Ευρωπαϊκή Εταιρεία Παθολογικής Ανατομικής
2. Δέρματος - Ευρωπαϊκή Εταιρεία Παθολογικής Ανατομικής
3. Μαστού – Ελληνική Εταιρεία Παθολογικής Ανατομικής
4. Δέρματος - Ελληνική Εταιρεία Παθολογικής Ανατομικής
5. Μοριακής Παθολογικής Ανατομικής - Ελληνική Εταιρεία Παθολογικής Ανατομικής

#### **Κριτής για χρηματοδότηση επιστημονικής μελέτης (Grant Reviewer):**

Μελέτη Νέμεσις/Project NEMESIS (French National Research Agency)

#### **Κριτής σε διεθνή περιοδικά:**

1. Disease Markers
2. Discover Oncology (Springer Nature)
3. Environmental Toxicology (Wiley)
4. World Journal of Surgical Oncology
5. Journal of Men's Health

#### **Ειδικές εκδόσεις (Special Issues):**

- 1) Current Cancer Drug Targets (IF: 3.428) – Title: “The Role of Autophagy in Cancer”
- 2) Journal of Men's Health (IF: 0.537) – Title: “Bladder Cancer and its Molecular Landscape”

#### **Δημοσιεύσεις:**

- 1) Goutas D, Tzortzis A, Gakiopoulou H, Vlachodimitropoulos D, Giannopoulou I, Lazaris AC. Contemporary Molecular Classification of Urinary Bladder Cancer. In Vivo. 2021 Jan-Feb;35(1):75-80
- 2) Goutas D, Palamaris K, Stofas A, Politakis N, Despotidi A, Giannopoulou I, Goutas N, Vlachodimitropoulos D, Kavantzias N, Lazaris AC, Gakiopoulou H. Immunohistochemical Study of Bladder Cancer Molecular Subtypes and Their

- Association with PD-L1 Expression. *Cancers (Basel)*. 2022 Dec 28;15(1):188. doi: 10.3390/cancers15010188.
- 3) Goutas, D.; Pergaris, A.; Goutas, N.; Theocharis, S. Utilizing Exosomal-EPHs/Ephrins as Biomarkers and as a Potential Platform for Targeted Delivery of Therapeutic Exosomes. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 3551. <https://doi.org/10.3390/ijms23073551>
  - 4) Goutas D, Goutas N, Theocharis S. Divulging the Critical Role of HuR in Pancreatic Cancer as a Therapeutic Target and a Means to Overcome Chemoresistance. *Cancers (Basel)*. 2021 Sep 15;13(18):4634. doi: 10.3390/cancers13184634.
  - 5) Goutas D, Theocharis S, Tsourouflis G. Unraveling the Epigenetic Role and Clinical Impact of Histone Deacetylases in Neoplasia. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Jul 26;11(8):1346.
  - 6) Goutas D, Pergaris A, Giaginis C, Theocharis S. HuR as Therapeutic Target in Cancer: What the Future Holds. *Curr Med Chem*. 2021 Jun 28.
  - 7) Goutas D, Savvidou K, Vrettou K, Meletis E, Levis P, Constantinides C, Lazaris AC, Mikou P. Comparison of conventional and liquid-based cytology using The Paris System for Reporting Urinary Cytology. *Cytopathology*. 2021 Jul 21
  - 8) Voulgari, O.\*, Goutas, D.\*, Pergaris, A., Belogiannis, K., Thymara, E., Kavantzias, N., Lazaris, A.C. Correlations of PTEN and ERG Immunoexpression in Prostate Carcinoma and Lesions Related to Its Natural History: Clinical Perspectives. *Curr. Issues Mol. Biol.* **2023**, 45, 2767-2781. doi.org/10.3390/cimb45040181
  - 9) Spinos T, Georgiou A, Voulgari O, Goutas D, Lazaris AC, Thymara I, Kavantzias N, Thomopoulou GE. Association Between *ERG/PTEN* Genes and Pathologic Parameters of Prostate Cancer With an Emphasis on Gleason Score: A Literature Review. *Cancer Diagn Progn.* 2023 May 3;3(3):291-296.
  - 10) Ismene A. Dontas, Pavlos Lelovas, Sofia Parara, Antonios Galanos, Georgios Agrogiannis, Dimitris Goutas, Georgios Charalambidis, Vasilis Nikolaou, Georgios Landrou, Chrysoula Kokotidou, Chrysanthi – Pinelopi Apostolidou, Anna Mitraki, Athanassios G. Coutsoulelos. Delivery of Porphyrins through Self-Assembling Peptide Hydrogels for Accelerated Healing of Experimental Skin Defects In Vivo. *Cureus ()*: e. doi:10.7759/cureus
  - 11) Pergaris A, Danas E, Goutas D, Sykaras AG, Soranidis A, Theocharis S. The Clinical Impact of the EPH/Ephrin System in Cancer: Unwinding the Thread. *Int J Mol Sci.* 2021 Aug 5;22(16):8412.
  - 12) Palamaris K, Alexandris D, Stylianou K, Giatras I, Stofas A, Kaitatzoglou C, Migkou M, Goutas D, Psimenou E, Theodoropoulou E, Theocharis S, Alevizopoulos N, Kastritis E, Gerakis A, Gakiopoulou H. Immune Checkpoint

Inhibitors' Associated Renal Toxicity: A Series of 12 Cases. J Clin Med. 2022 Aug 16;11(16):4786. doi: 10.3390/jcm11164786.

- 13) Gkoufa A, Goutas D, Sakellariou S, Cholongitas E. A Case of Daptomycin-Induced Acute Cholestatic Hepatic Injury with Fatal Outcomes. Am J Ther. 2021 Apr 7.
- 14) Milionis V, Goutas D, Vlachodimitropoulos D, Katsoulas N, Kyriazis ID, Liatsikos EN, Marinakis N, Joanne TS, Lazaris AC, Goutas N. SDH-deficient renal cell carcinoma: A case report associated with a novel germline mutation. Clin Case Rep. 2021 Oct 18;9(10):e04605. doi: 10.1002/ccr3.4605.
- 15) Milionis V, Vlachodimitropoulos D, Goutas D, Goutas N. Acrometastases in Renal Cell Carcinoma: A Case Report and Review of Literature. Case Report, Clin Oncol Case Rep. 2020 Vol: 3 Issue: 4
- 16) Papalampros A, Davakis S, Syllaios A, Vagios I, Diamantopoulou P, Kyros E, Karydakakis L, Goutas D, Nonni A, Felekouras E. Late onset metastasis from renal cell carcinoma masquerading as a gallbladder polyp. Ann R Coll Surg Engl. 2021 Jan;103(1):e13-e16.

### **Γνώσεις Πληροφορικής**

- Εργασία σε δικτυακό περιβάλλον Windows
- Εργασία σε περιβάλλον Microsoft Office (Word, Excel, Power Point)
- Λογισμικά επεξεργασίας εικόνας (Digital Pathology)

### **Ξένες Γλώσσες**

- Αγγλικά – Άριστα (Επίπεδο C2)
- Γερμανικά – Αποδεκτά (Επίπεδο B2)





## Εισαγωγή

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης αποτελεί τη δέκατη (10<sup>η</sup>) συχνότερη μορφή καρκίνου παγκοσμίως, την τέταρτη (4<sup>η</sup>) συχνότερη στους άνδρες και τη δέκατη έβδομη (17<sup>η</sup>) συχνότερη στις γυναίκες. Παρουσιάζει πολύ υψηλά ποσοστά υποτροπών και εξέλιξης, συνιστώντας, ως εκ τούτου, σημαντική επιβάρυνση για τα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης. Η αιματοουρία, αποτελεί το κυριότερο πρωτοεμφανιζόμενο σύμπτωμα, καθιστώντας έτσι την αυτογνωσία βασικό παράγοντα για την έγκαιρη αναγνώριση της νόσου και την έγκαιρη έναρξη της κατάλληλης θεραπείας. Για τον μυροδιηθητικό καρκίνο της ουροδόχου κύστης χρησιμοποιείται η μια θεραπεία τριών σημείων (trimodal therapy-TMT), η οποία συμπεριλαμβάνει τη διουρηθρική εκτομή του όγκου της ουροδόχου κύστης, ακολουθούμενη από ακτινοθεραπεία και ενδοκυστική χημειοθεραπεία. Η τεχνική αυτή επιτρέπει τη διατήρηση της ουροδόχου κύστης. Για τα μυροδιηθητικά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης, η ριζική κυστεκτομή παραμένει ο βασικός πυλώνας της θεραπείας, αν και υπάρχουν συγκρίσιμα οφέλη μεταξύ της TMT και της ριζικής κυστεκτομής. Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στη ταξινόμηση των ασθενών με καρκινώματα της ουροδόχου κύστης με βάση τους μοριακούς υποτύπους τους και στη διερεύνηση κατά πόσον ορισμένοι μοριακοί φαινότυποι ενδέχεται να εμφανίζουν ισχυρότερη συσχέτιση με την έκφραση του PD-L1, έτσι ώστε οι ασθενείς αυτοί να μπορούν να επιλεγθούν για θεραπεία κατά του PD-L1. Επιπλέον, εξετάσαμε την ανοσοϊστοχημική έκφραση των πρωτεϊνών MMR (*MLH1*, *MSH2*, *PMS2*, *MSH6*) και προσπαθήσαμε να καθορίσουμε το ρόλο τους ως βιοδείκτες για την ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία των ουροθηλιακών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης.

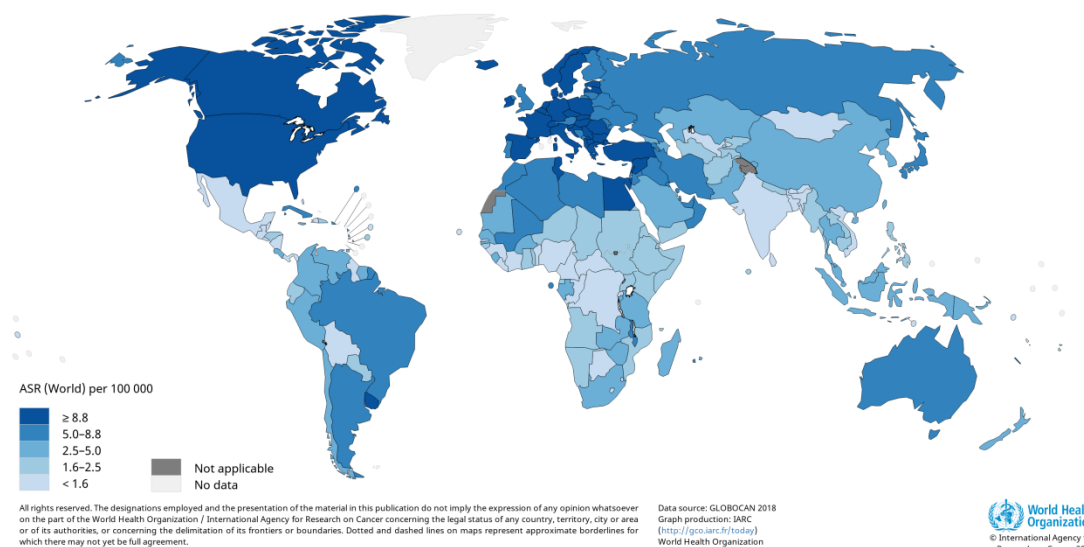
## *IV. Γενικό μέρος*

## **A. Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης**

### **1. Επιδημιολογία**

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης αντιπροσωπεύει σχεδόν το 3% όλων των νέων διαγνώσεων καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Πιο συγκεκριμένα, η GLOBOCAN ανέφερε ότι το 2018, 550.000 άτομα παγκοσμίως διαγνώστηκαν με καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Η Ελλάδα φαίνεται να διατηρεί τα υψηλότερα ποσοστά στους άνδρες, και ο Λίβανος στις γυναίκες. Ωστόσο, η Νότια Ευρώπη είναι η περιοχή με τα υψηλότερα ποσοστά καρκίνου της ουροδόχου κύστης τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες, όπου τα ποσοστά επίπτωσης ανά ηλικία (age standardized incidence-ASI) είναι 26,5 ανά 100.000 άνδρες και 5,5 ανά 100.000 γυναίκες. Τα έθνη που απαρτίζουν τη Μέση Αφρική, τη Δυτική Αφρική και την Κεντρική Αμερική βρίσκονται κάτω από το μέσο όρο στο δείκτη ανθρώπινης ανάπτυξης (human development index-HDI) και έχουν τη χαμηλότερη επίπτωση καρκίνου της ουροδόχου κύστης, πιθανώς λόγω της μειωμένης έκθεσης σε χημικές ουσίες και καπνό (1). Από την άλλη πλευρά, τα ποσοστά περιστατικών αυξάνονται σταθερά στην Ευρώπη, πιθανώς λόγω της αυξημένης επικράτησης του γηράσκοντος πληθυσμού και του καπνίσματος (2) (Εικόνα 1).

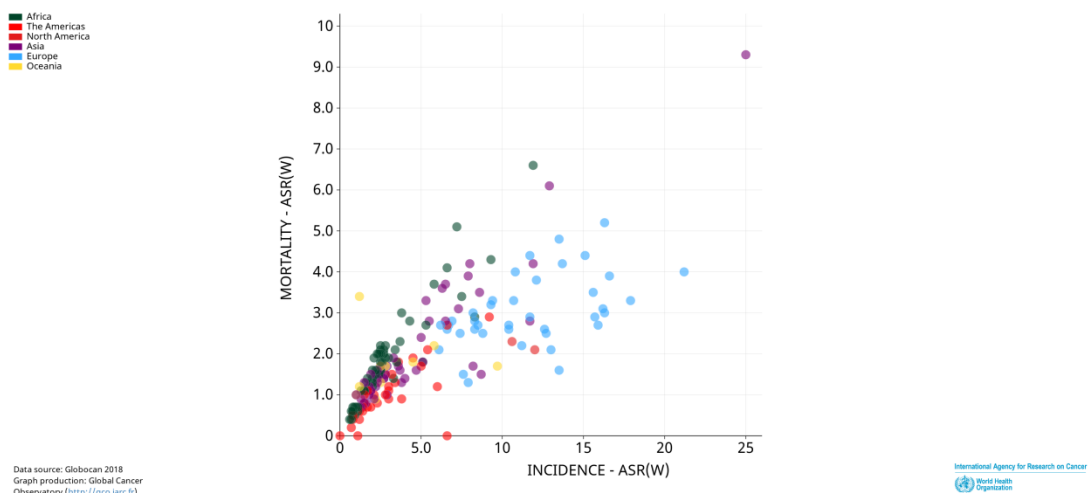
Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2018, bladder, both sexes, all ages



**Εικόνα 1:** Προτυποποιημένα κατά ηλικία ποσοστά επίπτωσης (ASR) για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης παγκοσμίως το 2018 (Globocan 2018) (1)

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης αποτελεί το 13<sup>ο</sup> πιο θανατηφόρο τύπο καρκίνου και το 10<sup>ο</sup> πιο συχνό παγκοσμίως. Τα ποσοστά θνησιμότητας είναι υψηλότερα στη Βόρεια και Ανατολική Αφρική και στη Μέση Ανατολή λόγω των συχνών λοιμώξεων από σχιστοσωμίαση, ενώ ταυτόχρονα παρουσιάζουν σημαντική ανισότητα μεταξύ των δύο φύλων, με τη θνησιμότητα στους άνδρες να είναι 4 φορές μεγαλύτερη από εκείνη στις γυναίκες (μέσος όρος 3,2/100.000 άνδρες και 0,9/100.000 γυναίκες) (1). Τα ποσοστά θνησιμότητας έχουν μειωθεί τις τελευταίες δεκαετίες, σε 1,9/100.000 (Εικόνα 2), εν μέρει λόγω των προηγμένων νέων τεχνικών που επιτρέπουν την έγκαιρη διάγνωση καθώς και τις στοχευμένες θεραπευτικές μεθόδους. Ωστόσο, σε ορισμένες χώρες, όπως ο Ισημερινός, οι Φιλιππίνες και η Ισλανδία, παρατηρείται αύξηση των ποσοστών θνησιμότητας (3).

Mortality - ASR(W) vs Incidence - ASR(W), bladder, in 2018, both sexes, all ages



**Εικόνα 2:** Προτυποποιημένα κατά ηλικία ποσοστά επίπτωσης και θνησιμότητας για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης παγκοσμίως το 2018. Δεδομένα που ελήφθησαν από το Globocan 2018 (1)

## 2. Παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου ουροδόχου κύστης

Ωστόσο, οι παράγοντες κινδύνου συμβάλλουν στην αύξηση των πιθανοτήτων εμφάνισης κακοήθειας.

Το φύλο αποτελεί έναν από αυτούς, καθώς οι άνδρες έχουν 4 φορές περισσότερες πιθανότητες να διαγνωστούν με καρκίνο της ουροδόχου κύστης από ό,τι οι γυναίκες (1). Η διαφορά αυτή έχει αποδοθεί στα διαφορετικά ποσοστά καπνίσματος μεταξύ των δύο φύλων, καθώς και στην επαγγελματική έκθεση σε χημικές ουσίες, στην κατανάλωση αλκοόλ και κόκκινου κρέατος (4).

Η ηλικία φαίνεται επίσης να αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου, καθώς η μέση ηλικία διάγνωσης του καρκίνου της ουροδόχου κύστης στις ΗΠΑ είναι τα 73 έτη, ενώ το 90% των διαγνώσεων γίνεται σε άτομα άνω των 55 ετών (5).

Το κάπνισμα αποτελεί τον μεγαλύτερο παράγοντα κινδύνου, καθώς εκτιμάται ότι ευθύνεται κατά μέσο όρο για το 57,5% των νέων περιπτώσεων κάθε χρόνο και ότι

αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου της ουροδόχου κύστης κατά τρεις έως τέσσερις φορές (6). Ο καπνός του τσιγάρου περιέχει ορισμένα σωματίδια, τα οποία είναι γνωστά καρκινογόνα, όπως η β-ναφθυλαμίνη, που προάγουν τη φλεγμονή και τον μεταβολισμό τους στην ουροδόχο κύστη, οδηγώντας σε γενετικές μεταλλάξεις. Οι μεταλλάξεις αυτές προάγουν την καρκινογένεση καταστέλλοντας ογκοκατασταλτικά γονίδια ή ενεργοποιώντας ογκογονίδια (7).

*Η γενετική προδιάθεση έχει προσφάτως συσχετιστεί με την ανάπτυξη καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Μελέτες του γονιδιώματος έχουν αποκαλύψει πολλούς γενετικούς τόπους (genetic loci) που συνδέονται στενά με διάφορους τύπους καρκινώματος της ουροδόχου κύστης. Πιο συγκεκριμένα, ο NAT2, ένας αργός ακετυλιωτής που αποτοξινώνει τις αρωματικές αμίνες (8), ο GSTM1, ένα ένζυμο που αποτοξινώνει διάφορες περιβαλλοντικές καρκινογόνες ουσίες (9) και ο MYC, ένα κυτταρικό σηματοδοτικό μόριο και ογκογονίδιο, είναι μερικοί από αυτούς που συνδέονται με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης (10). Επιπλέον, υπάρχουν μερικά καρκινικά σύνδρομα που προδιαθέτουν ένα άτομο στην ανάπτυξη νεοπλασιών της ουροδόχου κύστης- αυτά περιλαμβάνουν το σύνδρομο Lynch, που σχετίζεται με τον μη πολυποδιακό καρκίνο του παχέος εντέρου αλλά αυξάνει την πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου της ουροδόχου κύστης (11) και το σύνδρομο Cowden, το οποίο προδιαθέτει σε ποικίλες νεοπλασίες, συμπεριλαμβανομένου του ουροθηλιακού και πλακώδους καρκινώματος της ουροδόχου κύστης (12). Ασθενείς που παρουσιάζουν υποτροπιάζοντα καρκίνο της ουροδόχου κύστης έχουν συσχετιστεί με μεταλλάξεις του υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών (FGFR), οπότε αντιμετωπίζονται με τον αναστολέα της τυροσινικής κινάσης, erdafitinib (13).*

*Η επαγγελματική έκθεση σε καρκινογόνους παράγοντες έχει επίσης συσχετιστεί με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου της ουροδόχου κύστης- ο μεγαλύτερος από αυτούς*

συναντάται σε βιομηχανικές περιοχές που επεξεργάζονται χρώματα, πετρέλαιο και καουτσούκ, ενώ η μεγαλύτερη ειδική θνησιμότητα από καρκίνο της ουροδόχου κύστης παρατηρείται σε εργαζόμενους σε ηλεκτρολογικές και χημικές διεργασίες (14). Η αστικοποίηση του 21ου αιώνα έχει κάνει πολλούς κατασκευαστές να μεταφέρουν τις επιχειρήσεις τους σε λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες, αυξάνοντας έτσι την τοπική επαγγελματική έκθεση. Ωστόσο, λιγότερο από το 8% των περιπτώσεων καρκίνου της ουροδόχου κύστης μπορεί να αποδοθεί σε τέτοιες εκθέσεις (15) (29). Επίσης, η ατμοσφαιρική ρύπανση του όζοντος, η έκθεση σε αρσενικό, ένα φυσικά απαντώμενο μεταλλοειδές στον αέρα, το έδαφος και το νερό, τα υποπροϊόντα απολύμανσης ή τα νιτρικά άλατα, καθώς και τα μέταλλα στη διατροφή, όπως το σελήνιο και ο ψευδάργυρος, μπορούν επίσης να αυξήσουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου της ουροδόχου κύστης (16) (17).

*Το πρωτόζωο σχιστόσωμα* μολύνει 240 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως κάθε χρόνο, αποτελώντας έναν από τους μεγαλύτερους παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με το πλακώδες καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης (18). Η σχιστοσωμίαση προάγει τη μόλυνση από βακτήρια που παράγουν καρκινογόνες ουσίες όπως οι N-νιτροζώδεις ενώσεις. Οδηγεί επίσης στη σύνθεση N-νιτροζαμινών και ελεύθερων ριζών του οξυγόνου που καταστρέφουν το DNA (19). Το γεγονός αυτό καθιστά το πλακώδες καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης τον δεύτερο πιο συχνό τύπο καρκίνου στις περιοχές της Μέσης Ανατολής και της Αφρικής όπου ενδημεί η σχιστοσωμίαση (20).

*Το αλκοόλ, το κόκκινο κρέας και η παχυσαρκία* έχουν επίσης συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου της ουροδόχου κύστης μέσω διαφορετικών βιολογικών μηχανισμών που δεν έχουν ακόμη κατανοηθεί καλά.

### 3. Επιβίωση

Το ποσοστό 5ετούς επιβίωσης εκτιμάται σε 77% για τους ασθενείς με καρκίνο της ουροδόχου κύστης, με βάση τη βάση δεδομένων Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER), κατηγοριοποιώντας τους ως εντοπισμένους (localized) με ποσοστό επιβίωσης 69,5%, επιχώριους (regional) με ποσοστό επιβίωσης 36,3% ή μεταστατικούς όπου το ποσοστό 5ετούς επιβίωσης είναι μικρότερο από 5% (Πίνακας 1), ενώ οι ασθενείς που διαγιγνώσκονται με καρκίνωμα in situ έχουν ποσοστό επιβίωσης 95,8% (21). Τα στατιστικά αυτά στοιχεία αποκαλύπτουν τη σημασία της έγκαιρης διάγνωσης και της έγκαιρης έναρξης της θεραπείας.

**Πίνακας 1:** Ποσοστό 5ετούς επιβίωσης με βάση τη βάση δεδομένων Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER)

<b>Στάδιο SEER</b>	<b>5ετές σχετικό ποσοστό επιβίωσης</b>
In situ	96%
Τοπικά	70%
Επιχώρια	36%
Μεταστατικά	5%
Συνδυασμός όλων των σταδίων SEER	77%



#### 4. Εμβρυολογία

Η ουροδόχος κύστη σχηματίζεται από τον αρχέγονο ουρογεννητικό κόλπο πάνω από τη συμβολή με τους Wolffian (μεσονεφρικούς) πόρους, ο οποίος χρησιμεύει ως οριοθέτηση μεταξύ του κρανιακού κυστεοουρηθρικού πόρου και του ουραίου "ουρογεννητικού κόλπου". Δυστυχώς, η ορολογία είναι λίγο συγκεχυμένη. Όταν η κλοάκα διαιρείται στον "αρχέγονο" ουρογεννητικό κόλπο και στον ανορθωτικό σωλήνα, ο αρχέγονος ουρογεννητικός κόλπος βρίσκεται σε συνέχεια με το αλλαντοειδές που εκτείνεται κρανιακά προς τα πάνω στο πρόσθιο τοίχωμα του σώματος για να καταλήξει τυφλά στον ομφάλιο λώρο. Το κρανιακό τμήμα του αρχέγονου ουρογεννητικού κόλπου πάνω από τη συμβολή με τους Wolffian (μεσονεφρικούς) πόρους σχηματίζει την ουροδόχο κύστη. Το ουραίο ή πυελικό τμήμα του αρχέγονου ουρογεννητικού κόλπου στα αρσενικά σχηματίζει τον προστάτη, την προστατική ουρήθρα, τους βολβοουρηθρικούς αδένες και τη μεμβρανώδη ουρήθρα. Αυτό το ουραίο τμήμα του αρχέγονου ουρογεννητικού κόλπου αναφέρεται απλώς ως "ουρογεννητικός κόλπος". Συνεπώς, πρέπει να γνωρίζει κανείς αυτή τη δυστυχώς συγκεχυμένη ορολογία. Στα θηλυκά ο ουρογεννητικός κόλπος σχηματίζει την ουρήθρα κάτω από τον αυχένα της ουροδόχου κύστης και στο έμβρυο σχηματίζει επίσης τους κόλπους του κόλπου που συμπίπτουν με τον ουροκολπικό σωλήνα. Έτσι, στον άνθρωπο, το επιθήλιο του ουρογεννητικού κόλπου φαίνεται να σχηματίζει τον παρθενικό υμένα και να συμβάλλει στον κολπικό προθάλαμο. Η ουροδόχος κύστη αναπτύσσεται από ενδοδερμικά επιθηλιακά κύτταρα και μεσόδερμα που προέρχεται από μεσέγγυμα. Το Foxa1 είναι γνωστός δείκτης των ενδοδερμικών επιθηλιακών κυττάρων εντός της πυέλου και αλλού. Όπως πολλά όργανα του σώματος, συμπεριλαμβανομένων του εντέρου, του περιβλήματος, των αρσενικών και

θηλυκών εσωτερικών γεννητικών οργάνων και των δοντιών, η ανάπτυξη των επιθηλιακών και ινομυϊκών στρωμάτων της ουροδόχου κύστης εξαρτάται από αμοιβαίες επιθηλιακές-μεσεγγυματικές αλληλεπιδράσεις. Πειράματα που έγιναν σε μοντέλα αρουραίων δείχνουν ότι το μεσέγγυμα της ουροδόχου κύστης δεν αναπτύσσεται ούτε διαφοροποιείται σε λείο μυ *in vivo*, ενώ μοσχεύματα που περιέχουν τόσο μεσέγγυμα ουροδόχου κύστης όσο και επιθήλιο ουροδόχου κύστης έχουν ως αποτέλεσμα τη φυσιολογική ανάπτυξη του επιθηλίου καθώς και τη διαφοροποίηση του μεσέγγυματος σε λείο μυ. Η κατάλληλη επιθηλιακή διαφοροποίηση στην ουροδόχο κύστη επηρεάζεται από το μεσέγγυμα με το οποίο συνδέεται κατά την ανάπτυξη. Το εμβρυϊκό επιθήλιο της ουροδόχου κύστης που αναπτύσσεται σε συσχέτιση με το μεσέγγυμα της ουροδόχου κύστης υφίσταται φυσιολογική ουροθηλιακή διαφοροποίηση, ενώ το εμβρυϊκό ή ενήλικο επιθήλιο της ουροδόχου κύστης που αναπτύσσεται σε συσχέτιση με το προστατικό μεσέγγυμα υφίσταται προστατική διαφοροποίηση. Αρχικά, ο αυλός της ουροδόχου κύστης είναι συνεχής στην κορυφή του με το ανοιχτό αλλαντοειδές, το οποίο στη συνέχεια υποστρέφεται σε έναν παχύ ινώδη λώρο που ονομάζεται ουραχός στο έμβρυο και μεταγενέστερα ονομάζεται μέσος ομφαλικός σύνδεσμος. Η επίμονη διαπερατότητα αυτής της ουραχικής οδού εκδηλώνεται αργότερα στη ζωή ως ουραχικές κύστες ή ως ανοικτός ουραχός, οι οποίες είναι επιρρεπείς σε λοιμώξεις και αντιμετωπίζονται με χειρουργική αφαίρεση.

Η περιοχή του τριγώνου της ουροδόχου κύστης είναι μια τριγωνική περιοχή στη λεγόμενη βάση της ουροδόχου κύστης που ορίζεται από τις ουρητηροβραχιόνιες συνδέσεις κρανιακά και το στόμιο της ουρήθρας ουραία. Η τριγωνική κύστη των ενηλίκων έχει λεία επιθηλιακή επιφάνεια και είναι ζωτικής σημασίας για τη φυσιολογική κένωση της ουροδόχου κύστης και την εγκράτεια. Η

ουρητηροβλεννογόνια συμβολή στη φυσιολογική κατάσταση επιτρέπει τη μονόδρομη ροή των ούρων από τους ουρητήρες στην ουροδόχο κύστη χωρίς απόφραξη. Αυτό προστατεύει τους νεφρούς από την πίεση ή την παλινδρόμηση ούρων ή βακτηρίων. Η ανάπτυξη του ουρητηρικού και τριγωνικού μυϊκού συστήματος είναι σημαντική για αυτή τη μονόδρομη ροή. Το πάχος του ουρητηρικού μυϊκού συστήματος και το μήκος του ουρητήρα κατά τη διέλευσή του από το τοίχωμα της ουροδόχου κύστης αυξάνονται με γραμμικό τρόπο καθ' όλη τη διάρκεια της ανθρώπινης ανάπτυξης.

### **5. Ανάλυση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης ανά ανατομική περιοχή**

Σε μια ανάλυση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης ανά ανατομική περιοχή, που έγινε από τους W.T Stephenson και συνεργάτες., μελετήθηκαν 914 περιπτώσεις, μεταξύ των οποίων το 37,1% εντοπίστηκε στα πλευρικά τοιχώματα, το 17,9% στο οπίσθιο τοίχωμα, το 12,6% στην τριγωνική ζώνη, το 11,1% στον αυχένα, το 9,8% στα ουρητηρικά στόμια, το 7,8% στον θόλο και το 3,8% στο πρόσθιο τοίχωμα. Κάθε ανατομική περιοχή αναλύθηκε για διαφορές στην ιστολογία, το φύλο, τον βαθμό κακοήθειας, την ηλικία διάγνωσης και την επιβίωση. Οι κακοήθειες που εμφανίζονταν στον αυχένα της ουροδόχου κύστης είχαν τη χειρότερη πρόγνωση. Από την άλλη πλευρά, εκείνα που εμφανίζονταν στον θόλο ήταν υψηλότερου βαθμού κακοήθειας κατά τη διάγνωση, ενώ τα καρκινώματα των πλευρικών τοιχωμάτων και των ουρητηρικών στομίων ήταν χαμηλότερου βαθμού. Επιπλέον, τα καρκινώματα του θόλου και του πρόσθιου τοιχώματος παρατηρήθηκαν σε μεγαλύτερη ηλικιακή ομάδα, ενώ εκείνα που αναπτύχθηκαν στην τριγωνική ζώνη και στα ουρητηρικά στόμια εμφανίστηκαν σε νεότερο πληθυσμό. Η ιστολογική αξιολόγηση των ανωτέρω αποκάλυψε υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης πλακώδους καρκινώματος στην περιοχή του τριγώνου, ενώ δεν διαπιστώθηκε διαφορά κατανομής με βάση το φύλο

(22).

## 6. Ιστολογική ταξινόμηση των καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης

Με βάση την ταξινόμηση του 2022 του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) (23), τα νεοπλάσματα της ουροδόχου κύστης διακρίνονται σε επίπεδα ή θηλώδη και τα θηλώδη νεοπλάσματα αξιολογούνται περαιτέρω ως προς τον βαθμό, με βάση την αρχιτεκτονική και την κυτταρολογία και το εύρος διήθησης.

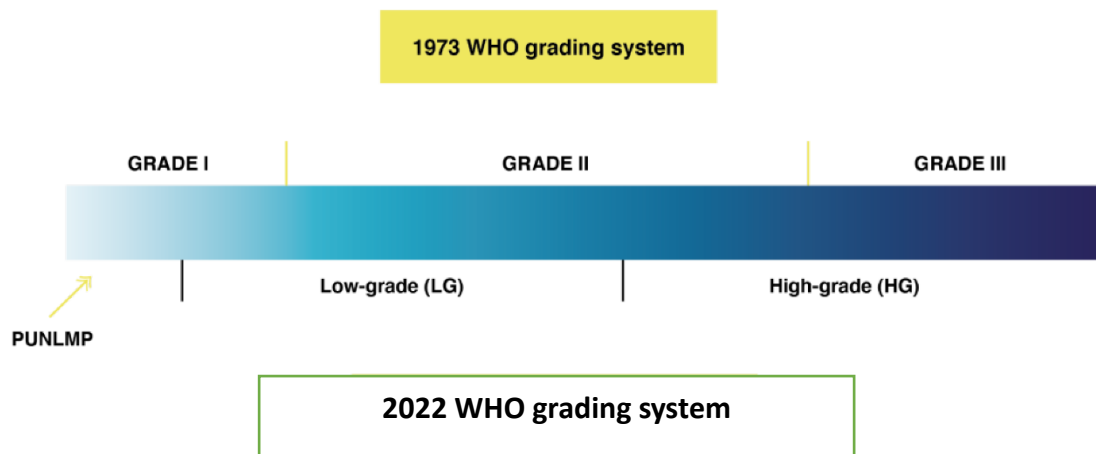
Τα θηλώδη νεοπλάσματα διακρίνονται σε ουροθηλιακό θηλώμα, θηλώδες ουροθηλιακό νεόπλασμα χαμηλόβαθμης κακοήθειας (PUNLMP), θηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα χαμηλόβαθμης κακοήθειας και θηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα υψηλόβαθμης κακοήθειας. Οι κύριες αλλαγές που έγιναν στο αρχικό σύστημα ταξινόμησης του ΠΟΥ του 1973 ήταν η επισήμανση των όγκων χαμηλότερης επικινδυνότητας ως "θηλώματα" και "PUNLMP", προκειμένου να αποφευχθεί ο όρος καρκίνωμα, που χρησιμοποιούνταν προηγουμένως, και η μείωση του ορίου για τα υψηλόβαθμα καρκινώματα. Ένα υποσύνολο των περιπτώσεων που ταξινομούσαν ως βαθμού 2. ταξινομούνται τώρα ως υψηλού βαθμού. Αυτό είναι σημαντικό για τη θεραπεία, διότι ορισμένοι όγκοι βαθμού 2 μπορούν τώρα να λάβουν ενδοκυστική θεραπεία (Πίνακας 2).

Καθώς η ταξινόμηση των ουροθηλιακών νεοπλασμάτων αποτελεί τον σημαντικότερο προγνωστικό παράγοντά τους, προκύπτει πως τα θηλώματα έχουν τη χαμηλότερη συχνότητα υποτροπής ή ταυτόχρονης *in situ* ή διηθητικής συνιστώσας. Από την άλλη πλευρά, τα νεοπλάσματα υψηλότερου βαθμού εμφανίζουν μεγαλύτερες πιθανότητες υποτροπής και εξέλιξης (24).

Η σταδιοποίηση των νεοπλασιών της ουροδόχου κύστης γίνεται σύμφωνα με το σύστημα Tumor Nodes Metastasis (TNM) (Πίνακας 3). Οι όγκοι με θηλώδη διαμόρφωση, που περιορίζονται στον βλεννογόνο ή που έχουν διηθήσει το χαλαρό

υπόστρωμα ταξινομούνται ως Ta ή T1, αντίστοιχα. Το καρκίνωμα in situ περιορίζεται στον βλεννογόνο και είναι ένας επίπεδος, χαμηλά διαφοροποιημένος όγκος (CIS, Tis στο σύστημα TNM). Οι όγκοι παθολογοανατομικού σταδίου pT2 έχουν διηθήσει τον εξωστήρα μυ της ουροδόχου κύστης και μπορούν να υποκατηγοριοποιηθούν περαιτέρω στα στάδια pT2a, όταν η διήθηση αφορά το άνω ήμισυ του μυός, ή σε στάδιο pT2b όταν διηθούν όλο το πάχος του μυός. Οι όγκοι σταδίου pT3 έχουν διηθήσει όλο το πάχος του τοιχώματος της κύστης και έχουν εξέλθει στον περικυστικό λιπώδη ιστό (pT3a εάν η διήθηση μπορεί να φανεί μόνο μικροσκοπικά, pT3b εάν η διήθηση είναι μακροσκοπικά εμφανής). Οι όγκοι σταδίου pT4 επεκτείνονται διηθητικά στα παρακείμενα όργανα (pT4a όταν διηθούν τη μήτρα, τον προστάτη ή το έντερο- pT4b όταν διηθούν το πυελικό ή κοιλιακό τοίχωμα) (Εικ. 3). Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται όταν το καρκίνωμα επεκτείνεται ενδοεπιθηλιακώς μέσω της ουρήθρας, καθώς τότε σταδιοποιείται σύμφωνα με το σύστημα σταδιοποίησης της ουρήθρας. Όσον αφορά την ανάπτυξη καρκινώματος σε εκκόλπωμα ουροδόχου κύστης και λόγω του γεγονότος ότι τα εκκόλπωμα στερούνται μυϊκού χιτώνα, το στάδιο pT2 απουσιάζει. Οι όγκοι που προκύπτουν σε υπολείμματα του ουραχού δεν έχουν συγκεκριμένο σύστημα σταδιοποίησης κατά AJCC, αλλά μπορούν να σταδιοποιηθούν σύμφωνα με διάφορα προτεινόμενα συστήματα (25).

## **Πίνακας 2: Διαβάθμιση κακοήθειας των θηλωδών ουροθηλιακών νεοπλασιών**



Τα τελευταία χρόνια έχουν περιγραφεί διάφοροι "υπότυποι" του ουροθηλιακού καρκινώματος της ουροδόχου κύστης (Πίνακας 4). Αυτές οι ιστολογικές παραλλαγές έχουν κλινική σημασία σε διάφορα επίπεδα, καθώς η γνώση της μορφολογίας τους μπορεί να βοηθήσει στη διαστρωμάτωση του κινδύνου των ασθενών, καθώς και στο θεραπευτικό μέτωπο, όπου η διαγνωστική απόδοση μιας συγκεκριμένης παραλλαγής μπορεί να οδηγήσει στη χορήγηση διαφορετικού θεραπευτικού πρωτοκόλλου από αυτό που χρησιμοποιείται στο συμβατικό ουροθηλιακό καρκίνωμα. Πιο συγκεκριμένα, το μικροθηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα, το lymphoepithelioma-like καρκίνωμα, το μικροκυτταρικό καρκίνωμα και το σαρκωματοειδές καρκίνωμα αποτελούν ορισμένες από τις παραλλαγές που απαιτούν διαφορετική θεραπευτική προσέγγιση από τη συνήθη (26).

---

**Πίνακας 3: Υπότυποι διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (Προσαρμοσμένο από την ταξινόμηση των όγκων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO 2022).**

---

- *Πλακώδη διαφοροποίηση*
  - *Αδενική διαφοροποίηση*
  - *Φωλεακό (nested)*
  - *Μικροκυτταρικό*
-

- 
- *Μικροθηλώδες*
  - *Δίκην-λεμφοεπιθηλιώματος*
  - *Πλασματοκυτταροειδές*
  - *Σαρκωματοειδές*
  - *Giant cell*
  - *Τροφοβλαστική διαφοροποίηση*
  - *Διαυγοκυτταρικό*
  - *Πλούσιο σε λιπίδια (lipid-rich)*
  - *Αδιαφοροποίητο*
- 

## **7. Μέθοδοι απεικόνισης**

Οι απεικονιστικές μέθοδοι αποτελούν σημαντικό στοιχείο της εκτίμησης της έκτασης του καρκίνου της ουροδόχου κύστης, για την οποία χρησιμοποιούνται υπερηχογράφημα (US), αξονική τομογραφία (CT), μαγνητική τομογραφία (MRI) και τεχνικές όπως η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων/αξονική τομογραφία (PET/CT) και η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων/μαγνητική τομογραφία (PET/MRI) (πίνακας 6) (27, 28).

Αν και οι απεικονιστικές μέθοδοι έχουν εξελιχθεί τα τελευταία χρόνια, συνεχίζουν να υπολείπονται σε ευαισθησία και ειδικότητα στην ανίχνευση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης και των μεταστατικών βλαβών. Η κυστεοσκόπηση συνιστάται σε ασθενείς με ανώδυνη αιματουρία, παρόλο που είναι μέθοδος χαμηλής ακρίβειας στην ανίχνευση κακοηθειών και καρκινώματος in situ (CIS). Ωστόσο, μερικές νέες τεχνικές κυστεοσκόπησης υπόσχονται πολλά για την ανίχνευση νεοπλασιών της ουροδόχου κύστης. Από την άλλη πλευρά, για τους συμπτωματικούς ασθενείς, το

υπερηχογράφημα είναι η προτεινόμενη μέθοδος, προκειμένου να αποκλειστούν ανωμαλίες του ουροποιητικού συστήματος. Για σκοπούς σταδιοποίησης χρησιμοποιείται η αξονική τομογραφία, χωρίς ωστόσο να είναι ικανή να διαφοροποιήσει τους όγκους T1 από τους όγκους T2, σε αντίθεση με τη μαγνητική τομογραφία που έχει τη δυνατότητα να υποδεικνύει τις μυοδιηθητικές περιπτώσεις καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Το μειονέκτημα είναι ότι δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί από ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια. Μέθοδος εκλογής για την εκτίμηση των λεμφαδένων είναι η PET/CT, η οποία συμβάλλει επίσης στην εκτίμηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης. Η PET/MRI αποτελεί μια νέα μέθοδο στην απεικόνιση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης και φαίνεται να έχει μεγαλύτερη ειδικότητα από την PET/CT στην αναγνώριση παθολογικών δομών (28).

## **8. Προσυμπτωματικός έλεγχος ανίχνευσης καρκίνου της ουροδόχου κύστης**

Ο προσυμπτωματικός έλεγχος για την έγκαιρη ανίχνευση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης είναι σημαντικά λιγότερο ακριβής σε σύγκριση με τον προσυμπτωματικό έλεγχο του καρκίνου του προστάτη και του μαστού. Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν μερικές μέθοδοι προκειμένου να ανιχνεύονται και να γίνεται προσπάθεια πρόληψης των νεοπλασιών της ουροδόχου κύστης, είτε με την ανίχνευση αίματος στα ούρα είτε με τη χρήση καρκινικών δεικτών στα ούρα, όπως η πρωτεΐνη πυρηνικού σκελετού 22 (NMP22), που καταδεικνύει τη μιτωτική δραστηριότητα, καθώς και με την κυτταρολογία (29, 33). Αρκετές μετα-αναλύσεις έχουν προσπαθήσει να αξιολογήσουν την ευαισθησία των καρκινικών δεικτών όγκου στα ούρα. Συγκρίνοντας την κυτταρολογία με την ανίχνευση του δείκτη NMP22, καθώς και με άλλους δείκτες, η ανίχνευση δεικτών εμφάνισε σημαντικά υψηλότερη ευαισθησία στην ανίχνευση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η κυτταρολογία στερείται ευαισθησίας για τους χαμηλόβαθμους καρκίνους



της ουροδόχου κύστης, η ανίχνευση καρκινικών δεικτών στα ούρα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν με μεγαλύτερη επιτυχία. Η κυτταρολογία εμφανίζει μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα στα υψηλόβαθμα καρκινώματα της ουροδόχου κύστης και σε ασθενείς με καρκίνωμα *in situ* (CIS) (30). Ωστόσο, τα χαμηλά ποσοστά ανίχνευσής της καθιστούν τη χρήση της στο κλινικό περιβάλλον περιορισμένη (31). Παρ' όλα αυτά, οι ασθενείς με αυξημένη έκθεση σε παράγοντες κινδύνου, όπως οι καπνιστές, είναι υποψήφιοι για έλεγχο.

## **9. Θεραπευτική αντιμετώπιση**

Η διουρηθρική εκτομή του όγκου της ουροδόχου κύστης (TURBT) εκτελείται σε όλους τους νεοδιαγνωσθέντες όγκους της ουροδόχου κύστης, και η οποία θα πρέπει να περιλαμβάνει τμήματα του μυός της κύστης (detrusor muscle) για ακριβέστερη ιστοπαθολογική διάγνωση και σταδιοποίηση. Η διουρηθρική εκτομή του όγκου, ακολουθούμενη από ενδοκυστική χημειοθεραπεία ή ανοσοθεραπεία με βάκιλο Calmette-Guérin (BCG), αποτελεί το σημείο-κλειδί στη διαχείριση του μη μυοδιηθητικού καρκίνου της ουροδόχου κύστης (NMIBC) (32). Ένα ενδοσκόπιο διέρχεται από την ουρήθρα, υπό γενική ή επισκληρίδιο αναισθησία- οι μικροί όγκοι μπορούν να αφαιρεθούν *en bloc* με τον ηλεκτροφόρο συρμάτινο βρόχο του ενδοσκοπίου, ενώ οι μεγαλύτεροι όγκοι μπορούν να αφαιρεθούν σε πολλαπλά τμήματα. Οι ασθενείς με μη μυοδιηθητικά καρκινώματα μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις ομάδες κινδύνου ανάλογα με το μέγεθος του όγκου, την υποτροπή, τον βαθμό κακοήθειας, την ταυτόχρονη συνύπαρξη καρκινώματος *in situ* και το στάδιο του όγκου (πίνακας 4) (33). Μέχρι σήμερα, η διουρηθρική εκτομή του όγκου είναι συνήθως ανεπαρκής στην εξασφάλιση ακριβούς διάγνωσης και πλήρους αφαίρεσης του όγκου. Πιο συγκεκριμένα, περίπου το 45% των όγκων T1G3 κατά την TURBT θα καταλήξει να είναι pT2 στο δείγμα της ριζικής κυστεκτομής και το 50% θα έχει

ατελή εκτομή λόγω της πολλαπλότητας, της θέσης και του μεγέθους των όγκων (33). Επομένως, θα πρέπει να διενεργείται δεύτερη TURBT εντός 2-6 εβδομάδων από την πρώτη εκτομή, εάν αυτή ήταν ατελής ή/και σε περιπτώσεις υψηλόβαθμων όγκων ουροδόχου κύστης σταδίου pT1 (32).

**Πίνακας 4:** Διαβάθμιση των ασθενών με μη μυοδιηθητικό καρκίνο σε ομάδες κινδύνου

Διαβάθμιση ομάδων κινδύνου	Χαρακτηριστικά
Όγκοι χαμηλού κινδύνου	Πρωτοπαθής, μονήρης, TaG1 (PUNLMP, LG*), <3 cm, χωρίς CIS
Όγκοι ενδιάμεσου κινδύνου	Όλοι οι όγκοι που δεν αναγνωρίστηκαν στις δύο γειτονικές κατηγορίες (μεταξύ των κατηγοριών χαμηλού και υψηλού κινδύνου)
Όγκοι υψηλού κινδύνου	Οποιοδήποτε από τα ακόλουθα: 1) Όγκοι σταδίου pT1 2) Όγκοι υψηλόβαθμης κακοήθειας 3) Καρκίνωμα in situ (Cis) 4) Πολλαπλοί, υποτροπιάζοντες και μεγάλοι (>3 cm) όγκοι TaG1G2/LG (όλα τα χαρακτηριστικά πρέπει να είναι παρόντα).
Υποομάδα όγκων υψηλότερου κινδύνου	T1G3/HG σε συνδυασμό με ταυτόχρονο Cis στην ουροδόχο κύστη, πολλαπλοί

	<p>ή/και ευμεγέθεις όγκοι T1G3/HG ή/και υποτροπιάζοντα νεοπλάσματα T1G3/HG, T1G3/HG με Cis στην προστατική μοίρα της ουρήθρας, ορισμένοι υπότυποι ουροθηλιακού καρκινώματος, λεμφαγγειακά έμβολα.</p>
--	---

*Η επικουρική ενδοκυστική χημειοθεραπεία* συνιστάται για ασθενείς που ανήκουν στην ομάδα υψηλού και ενδιάμεσου κινδύνου. Η ενδοκυστική ανοσοθεραπεία με BCG μπορεί να μειώσει την υποτροπή και την εξέλιξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστης και έχει βρεθεί ότι είναι πιο αποτελεσματική από τη χημειοθεραπεία (34). Εκτιμάται ότι η συντήρηση με BCG μπορεί να μειώσει την εξέλιξη της νόσου κατά 37%. Οι ασθενείς με νόσο ενδιάμεσου κινδύνου θα πρέπει να υποβάλλονται σε θεραπεία συντήρησης, μετά από επικουρική θεραπεία, για ένα έτος και για έως και τρία έτη, οι ασθενείς με νόσο υψηλού κινδύνου (35). Οι ασθενείς που λαμβάνουν ενδοκυστική χημειοθεραπεία (μιτομυκίνη C, αδριαμυκίνη, επιρουβικίνη, πιραρουβικάνη) εντός 24 ωρών μετά την TURBT έχουν 40% μικρότερο κίνδυνο υποτροπής κατά το πρώτο έτος και 15% στα πέντε έτη (36). Ωστόσο, οι ασθενείς με νόσο ενδιάμεσου και υψηλού κινδύνου διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο υποτροπής και είναι πιθανό να χρειαστούν περαιτέρω επικουρική θεραπεία σε αντίθεση με τους ασθενείς με όγκους χαμηλού κινδύνου.

*Η ριζική κυστεκτομή* αποτελεί τη θεραπεία εκλογής σε ασθενείς με μυοδιηθητικά και σε ασθενείς με μη μυοδιηθητικά καρκινώματα που απέτυχαν στην ενδοκυστική θεραπεία (37). Στους άνδρες η ριζική κυστεκτομή περιλαμβάνει τον προστάτη, τις

σπερματοδόχες κύστεις και τους σπερματοδόχους πόρους και στις γυναίκες μπορεί να περιλαμβάνει υστερεκτομή μαζί με τμήμα του πρόσθιου κόλπου και της ουρήθρας. Εξακολουθεί να υφίσταται μια συνεχιζόμενη συζήτηση, σχετικά με το αν η ολική ουρηθρεκτομή πρέπει να αποτελεί μέρος της διαδικασίας στους άνδρες (40). Η πρώιμη κυστεκτομή μπορεί να εφαρμοστεί σε ασθενείς με ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου, όπως το μικροθηλώδες καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης, πολλαπλοί ή μεγάλοι (>3 cm) όγκοι, ταυτόχρονο ή εκτεταμένο καρκίνωμα *in situ*, λεμφαγγειακά έμβολα ή και και προχωρημένοι όγκοι pT1 (38, 39).

*Η εκτομή των πυελικών λεμφαδένων (PLND) έχει κρίσιμο ρόλο στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης παρέχοντας σημαντικό πλεονέκτημα επιβίωσης μαζί με ακριβή λεμφαδενική σταδιοποίηση. Οι Leissner και συνεργάτες (41), πρότειναν ένα σύστημα εκτομής των πυελικών λεμφαδένων σε τρία επίπεδα (επίπεδο I, II και III), το καθένα με πιο εκτεταμένα όρια. Το επίπεδο I περιλαμβάνει λεμφαδένες εγγύς της κοινής λαγόνιας αρτηρίας, οι λεμφαδένες του επιπέδου II βρίσκονται πλευρικά των κοινών λαγόνιων αγγείων και εκτείνονται εγγύς της λαγόνιας αρτηρίας, ενώ οι λεμφαδένες του επιπέδου III βρίσκονται μεταξύ των ουρητήρων και των μεγάλων αγγείων και εκτείνονται εγγύς της κάτω μεσεντέριας αρτηρίας (42). Ένα άλλο σύστημα προτύπων που χρησιμοποιείται αποτελείται από περιορισμένα, τυπικά (standard), εκτεταμένα και υπερεκτεταμένα πρότυπα, καθένα από τα οποία αναφέρεται σε διαφορετικά ανατομικά όρια (42). Έχει αποδειχθεί ότι η εκτεταμένη εκτομή των πυελικών λεμφαδένων παρέχει βελτιωμένη επιβίωση χωρίς υποτροπή σε σύγκριση με τα πιο περιορισμένα πρότυπα λεμφαδενεκτομής. Ωστόσο, η υπερεκτεταμένη πυελική λεμφαδενεκτομή, δεν παρέχει πρόσθετα οφέλη (43).*

Μετά την ολοκλήρωση της ριζικής κυστεκτομής απαιτείται *εκτροπή ούρων*, προκειμένου να αναδρομολογηθεί η ροή των ούρων (44). Υπάρχουν διάφοροι τύποι

εκτροπής της ούρησης, όπως οι μη συνεχείς δερματικές εκτροπές που αποτελούνται από τον ειλείκό αγωγό (ileal conduit), ο οποίος αποτελεί και τη συχνότερη μέθοδο εκτροπής λόγω των χαμηλών ποσοστών επιπλοκών και της ευκολίας κατασκευής και η ορθοτοπική νεοκύστη που μοιάζει πολύ με την ουροδόχο κύστη και αναστομώνεται απευθείας στην ουρήθρα, βασιζόμενη στον εξωτερικό γραμμωτό σφιγκτήρα για τη διατήρηση της εγκράτειας (45, 46).

*Η νεοεπικουρική χημειοθεραπεία* μπορεί να προσφέρει έως και 5% βελτιωμένη επιβίωση στα 5 έτη, με βάση μια μετα-ανάλυση 11 μελετών (47). Ως εκ τούτου, θα πρέπει να προσφέρεται σε όλους τους ασθενείς με προχωρημένη νόσο (MIBC), εκτός από εκείνους που δεν μπορούν να ανεχθούν τη χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα. Αυτοί οι ασθενείς θα πρέπει να προχωρούν άμεσα σε ριζική κυστεκτομή, καθώς μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα που να υποστηρίζουν μια θεραπεία χωρίς βάση τη σισπλατίνη.

*Η επικουρική θεραπεία* μετά από ριζική κυστεκτομή έχει σημαντικό πλεονέκτημα σε σχέση με τους ασθενείς που δεν τη λαμβάνουν. Μια μετα-ανάλυση, που πραγματοποιήθηκε από τους Leow J.J. και συνεργάτες σε εννέα τυχαιοποιημένες μελέτες ελέγχου (RCT) που περιλάμβαναν 945 ασθενείς, κατέδειξε μείωση του κινδύνου θανάτου κατά 23% με τη συμπληρωματική θεραπεία (γεμισιταβίνη-σισπλατίνη) (48).

*Οι στοχευμένες θεραπείες* αποτελούν ένα ευρύ πεδίο έρευνας από την πρόοδο της κατανόησης των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στην ανάπτυξη του ουροθηλιακού καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Λίγες μελέτες αξιολογούν αναστολείς που είναι αποτελεσματικοί σε άλλους τύπους καρκίνου, όπως οι αναστολείς του υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2

(HER2)/neu , του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) και του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) (79). Άλλες μελέτες εξετάζουν παράγοντες που στοχεύουν σε μονοπάτια που αναφέρθηκαν προηγουμένως και περιλαμβάνουν αναστολείς του FGFR3 (80) και αναστολείς του PI3K/mTOR (81). Παρόλο που το HER2/neu υπερεκφράζεται σε πάνω από το 50% των ουροθηλιακών καρκινωμάτων με ανοσοϊστοχημεία, οι γονιδιωματικές αλλοιώσεις είναι λιγότερο συχνές και παρατηρούνται σε λιγότερο από το 20% των περιπτώσεων. Ο μικροθελώδης υπότυπος του ουροθηλιακού καρκινώματος, που σχετίζεται με κακή πρόγνωση, συνδέεται με σημαντικά υψηλότερα ποσοστά ενίσχυσης του HER2/neu ανοσοϊστοχημικά και αυξημένο επιπολασμό γονιδιωματικών αλλοιώσεων του ERBB2, αποτελώντας επομένως έναν πιθανό θεραπευτικό στόχο (82, 83).

*Ανοσοθεραπευτικοί παράγοντες.* Για αρκετές δεκαετίες το BCG χρησιμοποιήθηκε ως ανοσοθεραπευτικός παράγοντας σε υψηλόβαθμα μη μυοδιηθητικά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης (NMIBC). Ωστόσο, επί του παρόντος εξετάζονται ανοσοτροποποιητικοί παράγοντες που φαίνεται να είναι αποτελεσματικοί σε άλλους τύπους συμπαγών όγκων. Η πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1 (PD-1) δρα στα ενεργοποιημένα T κύτταρα μεταδίδοντας ανασταλτικό σήμα στο T κύτταρο όταν συνδέεται με τον προσδέτη του PD-L1. Η υπερέκφραση του PD-L1 σε ορισμένους τύπους καρκίνου μπορεί να αντιμετωπιστεί με τη χορήγηση ενός μονοκλωνικού αντισώματος κατά του PD-L1 (anti-PD-L1), επιτρέποντας έτσι στα T-κύτταρα να διατηρήσουν την ικανότητά τους να αναγνωρίζουν και να επιτίθενται στα καρκινικά κύτταρα. Ένας άλλος παράγοντας, το κυτταροτοξικό T-λεμφοκυτταρικό αντιγόνο-4 (CTLA-4) αποτελεί ένα μόριο επιφανείας T-κυττάρων το οποίο συνδέεται με το B7 στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και ρυθμίζει την ενεργοποίηση των T-κυττάρων, ανακόπτοντας έτσι την κλωνική τους επέκταση. Με τον αποκλεισμό του

CTLA-4, χρησιμοποιώντας ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, τα κυτταροτοξικά T-κύτταρα μπορούν να διατηρήσουν την αντικαρκινική τους δράση. Και οι δύο αυτοί ανοσοθεραπευτικοί παράγοντες αξιολογούνται στον πρωτοπαθή και μεταστατικό ουροθηλιακό καρκίνο (79).

## **B. Μοριακή τυποποίηση των ουροθηλιακών καρκινωμάτων ουροδόχου κύστης**

### **1. Μοριακός χαρακτηρισμός**

Ο κίνδυνος καρκίνου της ουροδόχου κύστης καθορίζεται από διάφορους γενετικούς παράγοντες. Ο μη μυοδιηθικός και ο μυοδιηθικός καρκίνος της ουροδόχου κύστης παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές σε επίπεδο μεταλλάξεων μαζί με διαφορετικά πρότυπα των μεταλλαγμένων γονιδίων τους (49). Αν και, το κάπνισμα αποτελεί σημαντικό παράγοντα που σχετίζεται με τον όγκο, δεν έχει βρεθεί άμεση συσχέτιση μιας μετάλλαξης που να συνδέεται με την έκθεση στον καπνό. Αντιθέτως, οι APOBEC απαμινάσες της κυτιδίνης (cytidine deaminases) φαίνεται να συμβάλλουν σημαντικά στις μεταλλάξεις τόσο των μη μυοδιηθικών όσο και των μυοδιηθικών καρκινωμάτων (50). Συχνά, τα μη μυοδιηθικά καρκινώματα έχουν διπλοειδή ή σχεδόν διπλοειδή καρυότυπο και αλλοιώσεις του αριθμού αντιγράφων, ενώ τα μυοδιηθικά καρκινώματα συνήθως ανευπλοειδή με αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, παραλλαγές του αριθμού αντιγράφων και αναδιατάξεις (50).

**1.1. Μη μυοδιηθικά ουροθηλιακά καρκινώματα (NMIBC).** Η πιο συχνή παραλλαγή του αριθμού αντιγράφων είναι η διαγραφή του χρωμοσώματος 9, το οποίο προκύπτει στο 50% περίπου των όγκων της ουροδόχου κύστης. Οι πρωτεΐνες p16 και p14, οι οποίες κωδικοποιούνται από τον γονίδιο CDKN2A (9p21), αποτελούν αρνητικούς ρυθμιστές (negative regulators) του μονοπατιού RB και p53. Επίσης, η διαγραφή του χρωμοσώματος 9 εμπλέκει έναν ογκοκατασταλτικό παράγοντα (TSC1)

που ρυθμίζει τη σηματοδότηση του στόχου της ραπαμυκίνης (mTOR). Η διαγραφή των χρωμοσωμικών βραχιόνων 10q, 11p, 11q, 17p, 18q, 19p και 19q έχει επίσης εντοπιστεί με αναλύσεις αριθμού αντιγράφων σε όλο το γονιδίωμα σε σχεδόν 20% των περιπτώσεων (50, 51).

Τα μοριακά μονοπάτια που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του μη μυοδιηθητικού καρκίνου περιλαμβάνουν το μονοπάτι της ενεργοποιούμενης από μιτογόνα πρωτεϊνικής κινάσης (MAPK), το οποίο είναι υπεύθυνο για την κυτταρική ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την απόπτωση, και το μονοπάτι της φωσφοϊνοσιτιδικής 3-κινάσης (PI3K), το οποίο ελέγχει τα μονοπάτια (downstream pathways) της πρωτεϊνικής κινάσης B (AKT) και του mTOR (52, 53). Το HRAS είναι ένα πρωτοογκογονίδιο της οικογένειας RAS GTPase, όπου έχουν ανακαλυφθεί ανωμαλίες· οι πιο συχνές είναι σημειακές μεταλλάξεις στα κωδικόνια 12 και 13. Οι μεταλλάξεις αυτές ενεργοποιούν την πρωτεΐνη RAS, εξαλείφουν τη δραστικότητα της GTPάσης και την καθιστούν ανίκανη να υδρολύσει την GTP σε GDP (54). Αυτό είναι αρκετό για να ενεργοποιηθούν τα μονοπάτια MAPK και PI3K.

Οι περισσότερες περιπτώσεις μη μυοδιηθητικών καρκινωμάτων χαρακτηρίζονται από ενεργοποιητικές σημειακές μεταλλάξεις στον υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών 3 (FGFR3) (55). Ο FGFR3 είναι ένας υποδοχέας της τυροσινικής κινάσης στον οποίο οι συνδέτες που φυσιολογικά προσδένονται σε αυτόν είναι αυξητικοί παράγοντες ινοβλαστών, οι οποίοι εκκρίνονται από γλυκοπρωτεΐνες στο εξωκυττάριο δίκτυο και επηρεάζουν τη μεταφωσφορυλίωση, τον διμερισμό και την ενεργοποίηση του μονοπατιού (downstream) MAPK και του υποδοχέα (56). Στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης υπάρχουν διάφορες μεταλλάξεις που επιτρέπουν την ενεργοποίηση του FGFR3 χωρίς απαραίτητη προϋπόθεση τη σύνδεση στον προσδέτη. Λόγω του γεγονότος ότι τα μονοπάτια (downstream) που επηρεάζονται από τον



FGFR3 είναι πανομοιότυπα με εκείνα που ενεργοποιούνται από τις μεταλλάξεις HRAS, έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι οι μεταλλάξεις HRAS και FGFR3 αλληλοαποκλείονται (57). Στην πραγματικότητα, οι μεταλλάξεις HRAS και FGFR3 έχουν εντοπιστεί σε ποσοστό έως και 82% των NMIBC (57).

Εμφανίζονται επίσης χρωμοσωμικές ανωμαλίες που επηρεάζουν τη δραστηριότητα του FGFR3. Ειδικότερα, η σύντηξη του N-τελικού άκρου του FGFR3 με το TACC3 (transforming acid coiled coil 3) ή με την BAI1-associated protein 2-like 1, ενεργοποιεί το μονοπάτι MAPK (53). Έχει αποδειχθεί ότι οι κυτταρικές σειρές που περιέχουν αυτές τις συγχωνεύσεις είναι ευαίσθητες στους αναστολείς του FGFR, εντάσσοντας επομένως τους ασθενείς με αυτές τις μεταβολές, πιθανούς υποψήφιους για μοριακά στοχευμένη θεραπεία (58).

**1.2. Μυοδιηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα (MIBC).** Οι αλλαγές στον αριθμό αντιγράφων και οι αναδιατάξεις αποτελούν τις πιο συχνές γονιδιακές μεταβολές των μυοδιηθητικών καρκινωμάτων. Έχουν αναφερθεί αρκετές περιοχές γονιδιωματικών ενισχύσεων, ορισμένες από τις οποίες αποτελούνται από γονίδια με γνωστή ογκογόνο λειτουργία, όπως τα MDM2, E2F3 και HER2. Οι περιοχές ομοζυγωτικής διαγραφής (homozygous deletion) περιλαμβάνουν τις περιοχές 9q21 (p16 και p14), 4q35, 2q36, 10q23 (PTEN) και 13q14 (RB1) (51, 59, 33).

Πολλά από τα μοριακά χαρακτηριστικά των μυοδιηθητικών καρκινωμάτων είναι παρόμοια με άλλα συμπαγή είδη καρκίνου· συγκεκριμένα η απώλεια της λειτουργίας των ογκοκατασταλτικών παραγόντων που τους επιτρέπει να ξεφεύγουν από τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και η δυσλειτουργία σημαντικών σηματοδοτικών μονοπατιών. Οι πρωτεΐνες RB1 και TP53 μεταλλάσσονται συχνά. Γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες του μονοπατιού PI3K και μεταλλάσσονται συχνά περιλαμβάνουν τα AKT1, TSC1 και PIK3CA (60). Σπάνια προκύπτουν μεταλλάξεις

του HER2 (50), ιδίως στο μικροθηλώδη ιστολογικό υπότυπο του ουροθηλιακού καρκινώματος της ουροδόχου κύστης (61).

Τα μυοδιηθητικά καρκινώματα παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση του FGFR3 σε ποσοστό έως και 40% των περιπτώσεων. Παρ' όλα αυτά, εμφανίζονται με μικρότερη συχνότητα από ότι στα μη μυοδιηθητικά καρκινώματα. Η εναλλαγή των ισομορφών (isoform switching) του FGFR3 και του FGFR1 συμβαίνει συχνά στα μυοδιηθητικά καρκινώματα (62, 63), επηρεάζοντας τη σύνδεση στον προσδέτη και ενισχύοντας την αυτοκρινή ή παρακρινή σηματοδότηση. Επίσης, η ενεργοποίηση του FGFR1 προάγει την επιθηλιομεσεγχυματική μετατροπή (epithelial mesenchymal transition-EMT), αυξάνοντας συνεπώς τη δυνατότητα των κυττάρων να δίνουν μεταστάσεις (64).

Τα υψηλόβαθμα μυοδιηθητικά, καθώς και τα μη μυοδιηθητικά, καρκινώματα συχνά περιέχουν μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, κυρίως εκείνες του σημείου ελέγχου G1/S (53). Το γονίδιο TP53 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p53 και βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17p13.1. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η p53 θα ρύθμιζε το σημείο ελέγχου G1/S επιτρέποντας τη μεταγραφή του γονιδίου CDKN1A για τη δημιουργία της πρωτεΐνης p21, ενός αναστολέα της κυκλινο-εξαρτώμενης κινάσης (65). Η απώλεια ενός σημειακού αλληλόμορφου του 17p μαζί με μεταλλάξεις στο δεύτερο αλληλόμορφο που περιέχει το TP53 μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια της δραστηριότητας του p53 καθιστώντας τα κύτταρα ανίκανα να ελέγξουν τη μετάβαση του κυτταρικού κύκλου G1/S (66). Οι μεταλλαγμένες πρωτεΐνες p53 συσσωρεύονται στον πυρήνα, γεγονός που καθιστά την ανοσοϊστοχημική εξέταση ένα χρήσιμο εργαλείο για την αξιολόγηση της κατάστασης p53 του νεοπλάσματος. Πράγματι, η πυρηνική υπερέκφραση της p53 έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί αρνητικό προγνωστικό παράγοντα στο ουροθηλιακό καρκίνωμα (67).

Τέλος, έχει αναφερθεί ότι ορισμένες μοριακές μεταβολές στο μυοδιηθητικό

ουροθλιακό καρκίνωμα σχετίζονται με την ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία, για παράδειγμα όγκοι με μεταλλάξεις του HER2 έχουν καλή ανταπόκριση στη νεοεπικουρική χημειοθεραπεία (68). Επίσης, η παρουσία μεταλλάξεων ERCC2 έχει συσχετιστεί με καλύτερη ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία με βάση τη σισπλατίνη (69).

## **2. Μοριακοί υπότυποι**

Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Lindgren και συνεργάτες., πραγματοποιήθηκε ανάλυση γονιδιακής έκφρασης και συγκριτικός γονιδιωματικός υβριδισμός σε 144 καρκινώματα, εντοπίζοντας δύο μοριακούς υποτύπους, τους MS1 και MS2 (70,71), που αντιπροσωπεύουν σε μεγάλο βαθμό τα μη μυοδιηθητικά και μυοδιηθητικά καρκινώματα, αντίστοιχα. Ο υποτύπος MS2/MIBC εμφανίζει σημαντική γονιδιωματική αστάθεια, ανεξάρτητη από την απενεργοποίηση του γονιδίου TP53, και αυξημένη συχνότητα αλλαγών του ομόλογου *TP53/Mouse double minute 2*, ενισχύσεων του μεταγραφικού παράγοντα E2F 3 (E2F3) και απωλειών του ρετινοβλαστώματος 1 (RB1) σε σχέση με την κατηγορία όγκων MS1/NMIBC (71). Από την άλλη πλευρά, στην υποομάδα MS2/NMIBC επικράτησαν μεταλλάξεις ενεργοποίησης του αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών 3 (FGFR3), καθώς και μεταλλάξεις ενεργοποίησης της καταλυτικής υπομονάδας άλφα της φωσφατιδυλινοσιτόλης-4,5-διφωσφορικής 3-κινάσης (PIK3CA), οι οποίες συνδέονται με την ενεργοποίηση (downstream) της πρωτεϊνικής κινάσης B, γνωστής και ως οδού AKT (3). Η ομάδα Lund των Sjobahl και συνεργατών χρησιμοποίησε στη συνέχεια προφίλ γονιδιακής έκφρασης από 308 όγκους για να υποδιαιρέσει περαιτέρω τις MS1 και MS2 ομάδες όγκων (4). Από τη διαδικασία αυτή προέκυψαν επτά ομάδες όγκων, οι οποίες στη συνέχεια ενσωματώθηκαν σε πέντε κύριους μοριακούς υποτύπους, με βάση τον βιολογικό τους χαρακτηρισμό και την κατανομή

των μεταλλάξεων των γονιδίων *PIK3CA*, *FGFR3* και *TP53*. Αυτοί οι πέντε μείζονες μοριακοί υπότυποι ουροθηλιακού καρκίνου ονομάστηκαν urobasal A (MS1a και MS1b), γονιδιωματικά ασταθείς (genomically unstable) (MS2a που υποδιαιρείται σε MS2a1 και MS2a2) urobasal B (MS2b2.1), δίκην πλακώδους καρκινώματος [SCC-like (MS2b2.2)] και ένας υποτύπος με υψηλή διήθηση από μη καρκινικά κύτταρα (MS2b1). Μεταξύ αυτών, οι υπότυποι urobasal B και SCC-like είχαν τη χειρότερη πρόγνωση, ο urobasal A είχε καλή πρόγνωση, ενώ οι γονιδιωματικά ασταθείς (genomically unstable) όγκοι είχαν ενδιάμεση πρόγνωση (4). Οι όγκοι urobasal A βρέθηκε να αφορούν κυρίως χαμηλόβαθμα θηλώδη μη μυοδιηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα, με μεταλλάξεις στο *FGFR3* και σπάνιες μεταλλάξεις του *TP53*. Οι όγκοι Urobasal B ήταν ως επί το πλείστον σταδίου T1 ή υψηλότερου, εμφάνιζαν μεταλλάξεις του *TP53* και εξέφραζαν δείκτες βασικού (basal) μοριακού υπότυπου. Παρουσίαζαν επίσης ομοζυγωτικές διαγραφές του αναστολέα της κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης 2A (*CDKN2A*) και ενεργοποίηση του *FGFR3* (active *FGFR3* pathway signature). Οι γονιδιακά ασταθείς όγκοι ήταν εξίσου κατανεμημένοι μεταξύ μυοδιηθητικών και υψηλόβαθμης κακοήθειας μη μυοδιηθητικών ουροθηλιακών καρκινωμάτων, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτός ο υπότυπος μπορεί να εξελιχθεί ταχέως και χαρακτηρίζεται από γονιδιακή αστάθεια, υψηλούς ρυθμούς πολλαπλασιασμού και συχνές μεταλλάξεις του *TP53*. Ο δίκην πλακώδους καρκινώματος υποτύπος εξέφραζε δείκτες πλακώδους διαφοροποίησης και είχε συχνές μεταλλάξεις του *TP53*. Τέλος, ο “infiltrated” υπότυπος χαρακτηριζόταν από την παρουσία στρωματικών και ανοσοποιητικών κυττάρων- ως εκ τούτου, αυτή η ομάδα όγκων δεν θεωρήθηκε ως εγγενής υπότυπος του ουροθηλιακού καρκινώματος, ενώ η ανοσοϊστοχημική αξιολόγηση ανέδειξε την έκφραση δεικτών που χαρακτηρίζουν τους άλλους υπότυπους (72). Επιπλέον, οι Sjodahl και συνεργάτες

απέδειξαν ότι οι ανωτέρω μοριακοί υπότυποι υπάρχουν ανεξάρτητα από την παθολογοανατομική ταξινόμηση. Πιο συγκεκριμένα, ορισμένες από τις γονιδιακές υπογραφές εμφάνισαν συντονισμένη έκφραση, ανεξάρτητα από το παθολογοανατομικό στάδιο και τον βαθμό κακοήθειας, προσδίδοντας στους μοριακούς υποτύπους ως εγγενή χαρακτηριστικά του όγκου. Ως εκ τούτου, ο μοριακός φαινότυπος έχει σημαντική επίδραση στη συμπεριφορά και τη θεραπευτική ανταπόκριση του όγκου σε σύγκριση με την παθολογοανατομική κατηγοριοποίηση (73). Το 2015, η ίδια ομάδα από το Πανεπιστήμιο του Lund χρησιμοποίησε ένα ανεξάρτητο σύνολο δεδομένων 234 μυοδιηθητικών ουροθηλιακών καρκινωμάτων από το TCGA, όπου αφού αναπαρήγαγε τους αρχικούς πέντε υποτύπους, παρατήρησε την εμφάνιση μιας νέας υποκατηγορίας όγκων με νευροενδοκρινική διαφοροποίηση καθώς και ενός νέου υποτύπου “infiltrated mesenchymal subtype” (73). Στη συνέχεια, οι Sjodahl και συνεργάτες πραγματοποίησαν μια συνολική ανάλυση έκφρασης του mRNA (74) για τη φαινοτυπική σκιαγράφηση των όγκων, η οποία χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των μοριακών υπότυπων για όλους σχεδόν τους κύριους τύπους όγκων. Στη συνέχεια, ανέλυσαν ανοσοϊστοχημικώς 307 δείγματα από εγχειρητικά παρασκευάσματα κυστεκτομής, προχωρημένου σταδίου, χρησιμοποιώντας αντισώματα για 28 πρωτεΐνες, ενώ πραγματοποίησαν επιπλέον ανάλυση της γονιδιακής τους έκφρασης. Κατέληξαν σε πέντε διαφορετικούς ανοσοφαινότυπους μυοδιηθητικών καρκινωμάτων : Urothelial-like, genomically unstable, basal/SCC-like, mesenchymal-like και small-cell/neuroendocrine-like. Επιπλέον μελέτες πραγματοποιήθηκαν από διάφορες ομάδες (75-77), συμπεριλαμβανομένων του Πανεπιστημίου της Βόρειας Καρολίνας, του MD Anderson και του TCGA (78-80), αλλά αφορούσαν μόνο τα μυοδιηθητικά καρκινώματα. Οι τρεις ομάδες παρατήρησαν ότι ορισμένοι βιοδείκτες, οι οποίοι είχαν

παλαιότερα συνδεθεί με τους βασικούς (basal) και αυλικούς (luminal) υποτύπους του καρκίνου του μαστού και οι οποίοι σχετίζονται με τη διαφοροποίηση, παρουσιάζουν αμοιβαία έκφραση στα μυοδιηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα, συμπεραίνοντας έτσι ότι και όλα τα μυοδιηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα μπορούν να χωριστούν στις δύο ευρείες κατηγορίες του βασικού και αυλικού τύπου (78-80). Όλοι οι τελευταίοι υπότυποι που αναγνωρίστηκαν από τις ομάδες εμφάνισαν σημαντική ομοιότητα μεταξύ τους (79, 81).

### 3. Consensus μοριακής ταξινόμησης

Το 2019, έγινε μια προσπάθεια επίτευξης διεθνούς συναίνεσης σχετικά με τα μυοδιηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα χρησιμοποιώντας ιστούς από 1.750 περιστατικά μυοδιηθητικών καρκινωμάτων από 16 διαθέσιμες βάσεις δεδομένων και από δύο επιπλέον μελέτες κοόρτης (82), προκειμένου να συγκριθούν έξι μοριακά συστήματα ταξινόμησης. Οι Kamoun και συνεργάτες, όρισαν έξι μοριακούς υπότυπους (Πίνακας I), οι οποίοι χαρακτηρίστηκαν ως luminal papillary (LumP), luminal nonspecified (LumNS), luminal unstable (LumU), stroma-rich, basal/squamous (Ba/Sq) και neuroendocrine-like (NE-like). Στη συνέχεια ανέλυσαν περαιτέρω επτά γονίδια που μεταλλάσσονται συχνότερα στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης [*CDKN2A*, *FGFR3*, *PPARG*, *HER2- ERBB2*, *TP53*, *E2F3* και *RBI*] και δημιούργησαν ολοκληρωμένα προφίλ των γονιδιωματικών τους μεταβολών για κάθε έναν από τους παραπάνω υποτύπους. Παρατήρησαν ότι: Ο υπότυπος LumP παρουσίασε κυρίως μεταλλάξεις του *FGFR3* σε ποσοστό έως και 40% των περιπτώσεων, μεταλλάξεις του *KDM6A* σε ποσοστό 38% και ομοζυγωτικές διαγραφές του *CDKN2A* στο 33% των περιπτώσεων (82). Η κατηγορία όγκων LumNS ανέδειξε μεταβολές κυρίως του *PPARG* (76% των όγκων) και του *ELF3* (35%), το οποίο ενεργοποιείται από το *PPARG* και αποτελεί έναν πρώιμο ρυθμιστή

της ουροθηλιακής διαφοροποίησης (82, 83). Από την άλλη πλευρά, οι όγκοι LumU εμφάνισαν το υψηλότερο ποσοστό μεταβολών του αριθμού αντιγράφων (copy-number alterations), σωματικών μεταλλάξεων και μεταλλάξεων που προκαλούνται από το ένζυμο επεξεργασίας APOBEC (apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like) σε σχέση με οποιαδήποτε άλλη κατηγορία. Πιο συγκεκριμένα, κατέδειξαν συχνές μεταλλάξεις του *TP53* (76%) και του *ERCC2* (22%), μεταβολές του *PPARG* (89%) και ενισχύσεις στην περιοχή 6p22.3 που περιέχει το *E2F3* και το *SRY*-σχετιζόμενο HMG-box 4 (*SOX4*) (76%). Τέλος, το *HER2* (39%) ήταν υπερεκφρασμένο σε αυτή την κατηγορία όγκων, χωρίς ωστόσο να εμφανίζει κανενός είδους συσχέτιση με τις άλλες κατηγορίες όγκων (82). Οι stroma-rich όγκοι εμφάνισαν υπερέκφραση των γονιδίων λείων μυών, μυοϊνοβλαστών, ινοβλαστών και ενδοθηλίων και ενδιάμεση (intermediate) ουροθηλιακή διαφοροποίηση (82). Οι όγκοι Ba/Sq εμφάνισαν αυξημένο φορτίο μεταλλάξεων στα γονίδια *TP53* (61%) και *RBI* (25%) και συνδέθηκαν με γονιδιακές διαγραφές του 3p14.2 στο 49% των περιπτώσεων (82). Τέλος, οι NE-like όγκοι ανέδειξαν μεταλλάξεις του *TP53* που εμφανίζονταν ταυτόχρονα με μεταβολές του *RBI* (94%), είτε αυτές αφορούσαν μεταλλάξεις είτε διαγραφές (82).

#### **4. Συσχέτιση μοριακών υπότυπων και μορφολογίας**

Οι Kamoun και συν. (82) επιχείρησαν να συσχετίσουν τις ιστολογικές παραλλαγές του ουροθηλιακού καρκινώματος με καθεμία από τις παραπάνω μοριακές κατηγορίες. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι LumP όγκοι παρουσίαζαν κυρίως θηλώδη διαμόρφωση στο 59% των περιπτώσεων- ωστόσο, αυτή η μορφολογία παρατηρήθηκε και σε άλλες υποκατηγορίες του αυλικού (luminal) φαινότυπου, όπως στα LumU και LumNS, αλλά σε μικρότερο βαθμό. Οι όγκοι LumNS, για παράδειγμα, εμφάνισαν μικροθηλώδη αρχιτεκτονική στο 36% των περιπτώσεων και συσχετίστηκαν

σημαντικά με τη συνύπαρξη *in situ* καρκινώματος στο 80% των όγκων. Ο νευροενδοκρινικός υπότυπος του ουροθηλιακού καρκινώματος παρατηρήθηκε κυρίως στην κατηγορία όγκων NE-like, με το 72% των περιπτώσεων να παρουσιάζει νευροενδοκρινική διαφοροποίηση. Παρομοίως, η κατηγορία όγκων Ba/Sq εμφάνιζαν στοιχεία πλακώδους διαφοροποίησης σε σημαντικό ποσοστό των περιπτώσεων (79%), επιβεβαιώνοντας έτσι τον μοριακό τους φαινότυπο. Οι stroma-rich όγκοι παρουσίαζαν επικράτηση των λείων μυϊκών κυττάρων, χωρίς ωστόσο να συνδέονται με κάποιο συγκεκριμένο ιστολογικό υπότυπο (81). Μέχρι σήμερα, η μόνη έγκυρη ανοσοϊστοχημική μέθοδος που έχει πραγματοποιηθεί αφορά τη διάκριση των βασικών (basal) όγκων που εκφράζουν CK5/6 στα καρκινικά κύτταρα από τους αυλικούς (luminal) όγκους που είναι GATA3- θετικοί. Πράγματι, οι Dadhania και συν. (84) απέδειξαν ότι η CK5/6 και το GATA3 αρκούν για τη διαφοροποίηση των βασικών από τους αυλικούς όγκους με ακρίβεια άνω του 90%. Επομένως, δεδομένου ότι η ταξινόμηση έχει εξελιχθεί σε μεγάλο βαθμό, η περαιτέρω συσχέτιση και η ανάπτυξη ενός κατάλληλου ανοσοϊστοχημικού πάνελ που είναι σε θέση να προβλέψει κάθε μοριακή κατηγορία θα μπορούσε να βοηθήσει στην ενσωμάτωση της μοριακής υποτυποποίησης του καρκίνου της ουροδόχου κύστης στην ρουτίνα του παθολογοανατόμου και να υποδείξει τόσο τη κατάλληλη θεραπεία όσο και τη πρόγνωση.

## **5. Κλινικές προεκτάσεις του consensus της μοριακής ταξινόμησης**

Η ομάδα επιστημόνων που συμμετείχε στο γκρουπ για την επίτευξη διεθνούς συναίνεσης στη μοριακή ταξινόμηση των ουροθηλιακών καρκινωμάτων προσπάθησε περαιτέρω να συσχετίσει τις μοριακές κατηγορίες με τις κλινικές επιπτώσεις, την πρόγνωση και τις θεραπευτικές προοπτικές, χρησιμοποιώντας την ηλικία, το φύλο και το στάδιο του όγκου για συγκριτικούς σκοπούς. Πιο συγκεκριμένα, οι όγκοι Ba/Sq



παρατηρήθηκαν κυρίως σε προχωρημένα στάδια της νόσου, με γυναικεία υπεροχή και σημαντικά κακή πρόγνωση. Οι όγκοι αυτοί ανέδειξαν αυξημένα επίπεδα έκφρασης του EGFR και του προσδέτη του, προσδιορίζοντάς τον, ως εκ τούτου, ως πιθανό θεραπευτικό στόχο. Ανακάλυψαν επίσης μια πιθανή προοπτική αντιμετώπισης των όγκων αυτών με ανοσοθεραπευτικούς παράγοντες, καθώς οι όγκοι αυτοί εξέφραζαν γονίδια του μηχανισμού επεξεργασίας (processing) και παρουσίασης αντιγόνων, καθώς και δεικτών σημείων ανοσολογικού ελέγχου (immune checkpoint markers). Οι ασθενείς με όγκους “LumP” ήταν σχεδόν αποκλειστικά ηλικίας κάτω των 60 ετών και είχαν την καλύτερη προγνωστική έκβαση, μαζί με τους ασθενείς με “stroma-rich” όγκους. Επιπλέον, οι όγκοι “LumP” και “LumU” ήταν συνήθως χαμηλότερου σταδίου (pT2), σε αντίθεση με τους άλλους τύπους όγκων, ενώ οι όγκοι “LumNS” παρατηρήθηκαν κυρίως σε ασθενείς άνω των 80 ετών, με διάμεση επιβίωση τα 1,8 έτη. Από την άλλη πλευρά, οι ασθενείς με όγκους “LumU” είχαν ελαφρώς χειρότερη πρόγνωση και οι ασθενείς με “NE-like” παρουσίασαν τη χειρότερη πρόγνωση από όλες τις μοριακές κατηγορίες (82). Επιπλέον, η ανάλυση των υπογραφών mRNA (mRNA signatures) με στοιχεία από τις αποκρίσεις στη θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου (PD1/PD-L1) ανέδειξε τη συσχέτιση των όγκων αυτών με αυξημένα επίπεδα ιντερφερόνης- $\gamma$ , CD8<sup>+</sup> T-κύτταρα και μειωμένη δραστηριότητα της οδού του TGF- $\beta$ . Παρ' όλα αυτά, καμία από τις μοριακές κατηγορίες δεν συσχετίστηκε είτε με επιθυμητή, είτε όχι, ανταπόκριση στους αναστολείς των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος. Τέλος, οι συγγραφείς επιχείρησαν να συσχετίσουν τα αποτελέσματα κάθε μοριακής κατηγορίας μετά από εισαγωγική χημειοθεραπεία ή θεραπεία με anti-PD-L1. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι ασθενείς με όγκους Ba/Sq και LumNS επωφελήθηκαν από την

εισαγωγική χημειοθεραπεία και οι ασθενείς με LumNS, LumU και NE-like από τη στοχευμένη θεραπεία με anti-PD-L1 (85).

## **Σύνοψη**

Περαιτέρω ανάλυση της νέας μοριακής ταξινόμησης του καρκίνου της ουροδόχου κύστης, μπορεί να δώσει λύση στο ζήτημα της ετερογένειας των όγκων (86) καθώς και στην ανεύρεση στοχευμένης θεραπείας για κάθε υπότυπο, παρέχοντας, ως εκ τούτου, το καταλληλότερο σχήμα (87). Η υπερέκφραση του FGFR3 ή οι μετατοπίσεις και μεταλλάξεις στην περιοχή της τυροσινικής κινάσης του FGFR3 έχουν παρατηρηθεί στην πλειονότητα των ασθενών με μυοδιηθητικά καρκινώματα και, ως εκ τούτου, έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον των επιστημόνων για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών με αναστολείς του FGFR3, οι οποίες και έχουν ήδη συσχετιστεί με κλινικό όφελος στους ασθενείς (88-90). Άλλες μελέτες έχουν δείξει οφέλη από τη χρήση του αναστολέα του VEGFR-2 παράγοντα (ramucirumab), που στοχεύει το αγγειακό σύστημα του όγκου σε ασθενείς με ανθεκτικούς στην πλατίνα προχωρημένα ή μεταστατικά ουροθηλιακά καρκινώματα (91). Επιπλέον, η θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου (anti-PD1/PD-L1) έχει επίσης ενσωματωθεί στη θεραπεία του προχωρημένου ή μεταστατικού καρκίνου της ουροδόχου κύστης και χρησιμοποιείται ήδη ευρέως για πολλούς τύπους συμπαγών όγκων. Τέλος, οφείλει να επισημανθεί η ανάγκη για την ανάπτυξη ενός ανοσοϊστοχημικού πάνελ που να προβλέπει με όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ακρίβεια τους μοριακούς υποτύπους του τρέχοντος σχήματος ταξινόμησης, ώστε να μπορεί να ενσωματωθεί στην καθημερινή πράξη των παθολογοανατόμων και να παρέχει μια πιο οικονομικά αποδοτική προσέγγιση.



## *V. Ειδικό μέρος*

## A. Εισαγωγή

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης είναι η 12<sup>η</sup> πιο συχνή κακοήθεια και ο πιο συχνός κακοήθης όγκος του ουροποιητικού συστήματος, με πάνω από 500.000 περιπτώσεις να διαγιγνώσκονται κάθε χρόνο (92) . Ενώ τα πρωτοπαθή καρκινώματα της ουροδόχου κύστης χαρακτηρίζονται από κάποια ιστολογική ετερογένεια, η πλειονότητά τους εμφανίζει ουροθηλιακή διαφοροποίηση (92) . Με βάση το βάθος διήθησής τους στο τοίχωμα της ουροδόχου κύστης, διακρίνονται είτε σε μη-μυοδιηθητικά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης είτε σε μυοδιηθητικά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης. Τα μη-μυοδιηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα αντιπροσωπεύουν παραπάνω από το 70% όλων των νεοδιαγνωσθέντων ουροθηλιακών καρκινωμάτων (92), συμπεριλαμβανομένων των μη-μυοδιηθητικών θηλώδων ουροθηλιακών καρκινωμάτων (στάδιο pTa), του in situ καρκινώματος (CIS) και των διηθητικών καρκινωμάτων που περιορίζονται στο χαλαρό υπόστρωμα της ουροδόχου κύστης (στάδιο pT1) (92). Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις για τα μη-μυοδιηθητικά καρκινώματα περιλαμβάνουν συνήθως την διουρηθρική εκτομή του όγκου ακολουθούμενη από ενδοκυστική θεραπεία με Bacillus Calmette-Guerin (BCG) όταν ο όγκος περιέχει χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου, όπως υψηλόβαθμης κακοήθειας νεόπλασμα ή διήθηση του χορίου (92). Τα μυοδιηθητικά ουροθηλιακά περιλαμβάνουν καρκινώματα που διηθούν τον εξωστήρα μυ και πέραν αυτού, με τη θεραπεία να συνίσταται σε κυστεκτομή που προηγείται εισαγωγικής χημειοθεραπείας (NAC) ή χημειοακτινοβολίας (92). Όπως και στη περίπτωση άλλων συμπαγών όγκων, η ανοσοθεραπεία με τη χρήση αναστολέων σημείων ελέγχου (ICPIs), έχει επίσης αρχίσει να υιοθετείται, κυρίως ως θεραπευτική επιλογή δεύτερης γραμμής. σε περιπτώσεις όπου οι ασθενείς δεν ανταποκρίνονται στα συμβατικά σχήματα BCG/χημειοθεραπείας, καθώς και σε ασθενείς, που δεν επιθυμούν ή δεν μπορούν να

υποβληθούν σε χειρουργική εκτομή του όγκου. Στην πραγματικότητα, σήμερα υπάρχουν πέντε αναστολείς του PD-1/PD-L1 που έχουν εγκριθεί για τη θεραπεία του τοπικά προχωρημένου ή μεταστατικού ουροθηλιακού καρκινώματος της ουροδόχου κύστης και του ανώτερου ουροποιητικού (92).

Οι πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της μοριακής βιολογίας, έχουν επιτρέψει περισσότερο εμπεριστατωμένες αναλύσεις μεγάλης κλίμακας, συμβάλλοντας έτσι στην περαιτέρω υποτυποποίηση συγκεκριμένων όγκων σε διακριτούς μοριακούς υποτύπους, οι οποίοι αποτελούν ξεχωριστές οντότητες, με μοναδικές γονιδιακές μεταλλάξεις, ανωμαλίες του αριθμού αντιγράφων, μεθυλίωση του DNA και πρότυπα έκφρασης RNA. Σε αυτό το πλαίσιο, η αποτύπωση του μεταγραφώματος (transcriptional profiling) των πρωτοπαθών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης έχει ταξινομηθεί σε "ενδογενείς" (intrinsic) βασικούς και αυλικούς μοριακούς υποτύπους (92). Οι luminal όγκοι έχουν θηλώδη διαμόρφωση και εκφράζουν δείκτες ουροθηλιακής διαφοροποίησης (ουροπλακίνες, κυτταροκερατίνη 20), GATA-3, FGFR3, E-cadherin και γονίδια πρώιμου κυτταρικού κύκλου (92). Αντίθετα, οι βασικοί όγκοι εκφράζουν δείκτες της βασικής στιβάδας του ουροθηλίου [cluster of differentiation 44 (CD44), κυτταροκερατίνη 5/6 (CK5/6) και κυτταροκερατίνη 14 (CK14)], ενώ ορισμένοι παρουσιάζουν πλακώδη διαφοροποίηση (92). Περαιτέρω μελέτες, με στόχο την ακριβή ταξινόμηση των ουροθηλιακών καρκινωμάτων σε μοριακούς υποτύπους, έχουν πραγματοποιηθεί από διάφορες ερευνητικές ομάδες (92-98]. Όλοι οι υπότυποι που αναγνωρίστηκαν από τις ομάδες ανέδειξαν σημαντική συμφωνία μεταξύ τους. Το 2019, έγινε μια προσπάθεια επίτευξης διεθνούς συναίνεσης για τα μυοδιηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα, χρησιμοποιώντας 1.750 μυοδιηθητικούς όγκους από 16 δημοσιευμένες βάσεις δεδομένων και δύο πρόσθετες ομάδες για τη σύγκριση έξι μοριακών συστημάτων ταξινόμησης [99]. Οι Kamoun

και συνεργάτες. (99) όρισαν τα μυοδιηθητικά καρκινώματα με έξι μοριακούς υπότυπους, οι οποίοι χαρακτηρίστηκαν ως luminal papillary (LumP), luminal nonspecified (LumNS), luminal unstable (LumU), stroma-rich, basal/squamous (Ba/Sq) και neuroendocrine-like (NE-like). Ανέλυσαν περαιτέρω επτά γονίδια του καρκίνου της ουροδόχου κύστης με τις περισσότερες μεταλλάξεις [CDKN2A, FGFR3, PPARG), HER2- ERBB2, TP53, E2F3 και RB1] και δημιούργησαν ολοκληρωμένα προφίλ των γονιδιωματικών τους μεταβολών για κάθε έναν από τους παραπάνω υποτύπους (99). Οι διακριτοί μοριακοί υπότυποι του καρκίνου της ουροδόχου κύστης συνδέονται με σημαντικές διαφορές στην ανταπόκρισή τους σε στοχευμένες και μη στοχευμένες θεραπείες και στατιστικά σημαντικές αποκλίσεις στην κλινική τους έκβαση. Η χειρότερη πρόγνωση παρατηρείται στους όγκους των υπότυπων NE-like και Ba/Sq, ενώ μεταξύ των υπόλοιπων τεσσάρων μοριακών κατηγοριών, η LumU χαρακτηρίζεται από τη χειρότερη πρόγνωση. Οι LumP, LumNS και οι stroma-rich όγκοι έχουν παρόμοια ποσοστά επιβίωσης. Όσον αφορά την ανταπόκριση στη συστηματική θεραπεία, δεν παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ της ανταπόκρισης στην εισαγωγική χημειοθεραπεία ή στους αναστολείς σημείων ελέγχου και των μοριακών υπότυπων.

Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι οι σημερινοί ανοσοθεραπευτικοί παράγοντες είναι αποτελεσματικοί μόνο σε ένα περιορισμένο φάσμα ασθενών, απαιτείται επειγόντως ο προσδιορισμός συγκεκριμένων παραμέτρων που μπορούν να χρησιμεύσουν ως πιθανοί δείκτες πρόβλεψης της ανταπόκρισης στη θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου. Τα μέχρι τώρα δεδομένα από άλλους τύπους συμπαγών όγκων έχουν προσδιορίσει τα επίπεδα έκφρασης του PD-L1 και την ανεπάρκεια επιδιόρθωσης των βλαβών του DNA (MMR-d) ως καίριους βιοδείκτες, ικανούς να υποδείξουν το επίπεδο ευαισθησίας στους αναστολείς σημείων ελέγχου (103). Επί

του παρόντος, τέσσερις κλώνοι PD-1/PD-L1 χρησιμοποιούνται σε κλινικές δοκιμές: 28-8 PD-1 pharmDx (Nivolumab), 22C3 PD-1 pharmDx (Pembrolizumab), Ventana PD-L1 SP142 (Atezolizumab) και Ventana PD-L1 SP263 δοκιμασίες (Durvalumab) (110). Ενώ η έκφραση του PD-L1 θεωρείται απαραίτητη προϋπόθεση για την αποτελεσματική χρήση των αναστολέων σημείων ελέγχου, δεν μπορεί να θεωρηθεί αξιόπιστο κριτήριο για την επιλογή των ασθενών που θα επωφεληθούν από αυτή τη θεραπεία. Οι περιορισμοί της χρησιμότητας του PD-L1 ως προγνωστικού βιοδείκτη μπορούν να αποδοθούν σε διάφορους παράγοντες, όπως η ανακολουθία στον ορισμό της θετικότητας του PD-L1 και οι διαφοροποιήσεις που παρατηρούνται μεταξύ διαφορετικών τυποποιημένων δοκιμασιών για την έκφραση διαφορετικών κλώνων του PD-L1, οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την αξιοσημείωτη ετερογένεια των δεδομένων (109). Επιπλέον, η αξιοποίηση του ελέγχου ποσοστού της έκφρασης του PD-L1 ως εργαλείο επιλογής στην κλινική πράξη θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη τη χρονική ετερογένεια, η οποία μπορεί να παρατηρηθεί μεταξύ διαφορετικών σταδίων του όγκου. Για παράδειγμα, έχει παρατηρηθεί σημαντική ασυμφωνία μεταξύ της έκφρασης PD-L1 σε μεταστατικές εστίες λεμφαδένων και σε αντίστοιχα δείγματα κυστεκτομής. Κατά συνέπεια, η αξιολόγηση του PD-L1 σε υποψήφιους για ανοσοθεραπεία θα πρέπει να διεξάγεται σε δείγματα που συλλέγονται αμέσως πριν από την έναρξη της θεραπείας και όχι σε αρχειοθετημένα δείγματα ιστού. Το σύστημα επιδιόρθωσης βλαβών του DNA (MMR) είναι ζωτικής σημασίας για τη διόρθωση των αναντιστοιχιών της αλληλουχίας του DNA κατά την αντιγραφή του, με αποτέλεσμα η απώλεια της λειτουργίας μιας από τις πρωτεΐνες MMR (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) να οδηγεί σε υψηλά ποσοστά μεταλλάξεων που συσσωρεύονται σε επαναλαμβανόμενες νουκλεοτιδικές περιοχές (microsatellites) (103). Η μικροδορυφορική αστάθεια (MSI), που ονομάζεται επίσης ανεπάρκεια του MMR



(MMR-d), συχνά θα μπορούσε να εμφανίσει ογκογόνο δυναμικό όταν πρόκειται για κωδικοποιητικές περιοχές γονιδίων που εμπλέκονται σε κρίσιμες κυτταρικές λειτουργίες (105) . Η επιγενετική απενεργοποίηση των *MLH1* και *MSH2* αντιπροσωπεύει την πλειονότητα των σποραδικών όγκων MSI (106,107) . Επιπλέον, οι MMR-d όγκοι έχουν 10-100 φορές περισσότερες σωματικές μεταλλάξεις από τους μικροδορυφορικά σταθερούς (MSS) όγκους, οδηγώντας σε αυξημένο φορτίο νεοαντιγόνων και ανοσογονικότητα (108) . Ως αποτέλεσμα, οι όγκοι MMR-d είναι γνωστό ότι ανταποκρίνονται στα αντισώματα έναντι των (PD)-1/(PD-L)-1 (109). Στα καρκινώματα της ουροδόχου κύστης, η ανεπάρκεια του συστήματος επιδιόρθωσης των βλαβών του DNA (MMR-d) συναντάται μόνο σε ένα μικρό ποσοστό των περιπτώσεων, που συχνά αναπτύσσονται σε υπόβαθρο συνδρόμου Lynch (106), και φαίνεται να αποτελεί ένα πρώιμο γεγονός στην πολυεπίπεδη διαδικασία της καρκινογένεσης, καθώς τα δείγματα εμφανίζουν διάχυτα ομοιογενείς βλάβες των πρωτεϊνών MMR, κυρίως των PMS2,MLH1 και MSH2 (107).

## **B. Σκοπός**

Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στη ταξινόμηση των ασθενών με καρκινώματα της ουροδόχου κύστης με βάση τους μοριακούς υποτύπους τους και στη διερεύνηση κατά πόσον ορισμένοι μοριακοί φαινότυποι ενδέχεται να εμφανίζουν ισχυρότερη συσχέτιση με την έκφραση του PD-L1, έτσι ώστε οι ασθενείς αυτοί να μπορούν να προωθηθούν για θεραπεία κατά του PD-L1. Επιπλέον, εξετάσαμε την ανοσοϊστοχημική έκφραση των πρωτεϊνών MMR (*MLH1*, *MSH2*, *PMS2*, *MSH6*) και προσπαθήσαμε να καθορίσουμε το ρόλο τους ως βιοδείκτες για την ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία των ουροθηλιακών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης.

## **Γ. Υλικό και μέθοδοι**

## *1. Συλλογή και χαρακτηρισμός των ασθενών*

Το υλικό αφορά σε 77 δείγματα καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης τα οποία εξαιρέθηκαν με τη μέθοδο της διουρηθρικής εκτομής του όγκου (TURBT), σταδίων pTa, pT1 και pT2, και ανακτήθηκαν από τα αρχεία του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του Λαϊκού Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών. Οι γυναίκες αντιπροσώπευαν το 20,8% των δειγμάτων μας και οι άνδρες το 79,2%. Τα στάδια του όγκου ήταν 23,4% pTa, 36,4% pT1 και 40,3% pT2, ενώ το 31,2% ήταν όγκοι χαμηλόβαθμης κακοήθειας (LG) και το 68,8% όγκοι υψηλόβαθμης κακοήθειας (HG).

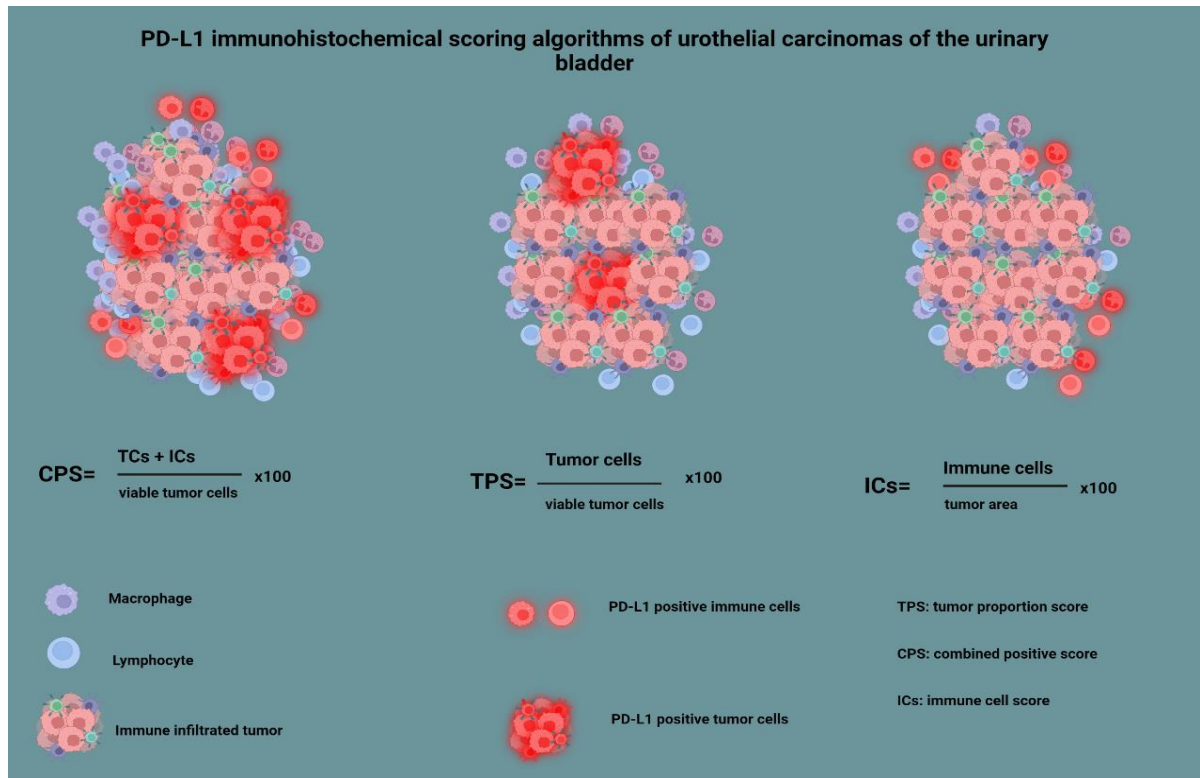
## *2. Διαδικασία και αξιολόγηση ανοσοϊστοχημείας*

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη πραγματοποιήθηκε και στα 77 δείγματα ιστού. Οι τομές χρώσθηκαν με τα ακόλουθα μονοκλωνικά αντισώματα σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή: CK5/6 (κλώνος D5/16 B4, Dako/αραίωση 1:150, Carpinteria, CA, ΗΠΑ) και GATA3 (κλώνος L50-823, Dako/αραίωση 1:500, Carpinteria, CA, ΗΠΑ). Μετά από βιβλιογραφική ανασκόπηση, χρησιμοποιήσαμε έναν απλό αλγόριθμο για την υποκατηγοριοποίηση των NMIBC και MIBC στους μοριακούς υποτύπους τους με βάση τη μορφολογία τους και δύο κοινά αντισώματα: GATA3 και CK5/692,98,99,111-114). Το cut-off ορίστηκε στο 20% με τουλάχιστον μέτρια ένταση χρώσης, όπως συνιστάται από τους Dadhania και συνεργάτες. (115), ενώ τα δείγματα θεωρήθηκαν αρνητικά εάν η ανοσοϊστοχημική έκφραση των πρωτεϊνών-στόχων ήταν μικρότερη ή ίση με 20% και θετικά εάν η έκφρασή τους ήταν μεγαλύτερη από 20%.

Επιπλέον, οι τομές χρώσθηκαν με αντισώματα έναντι των MLH1 (κλώνος ab92312, AbCam/σε αρραίωση 1:200, Ηνωμένο Βασίλειο), PMS2 (κλώνος ab110638, AbCam/σε αρραίωση 1:200, Ηνωμένο Βασίλειο), MSH6 (κλώνος ab92471, AbCam/σε

αραίωση 1:200, Ηνωμένο Βασίλειο) και MSH2 (κλώνος 227941, AbCam/σε αραιώση 1:200, Ηνωμένο Βασίλειο). Η ανάκτηση του αντιγόνου πραγματοποιήθηκε σε pH 6. Χρησιμοποιήθηκε το σύστημα απεικόνισης Envision (Dako). Χρησιμοποιήθηκε DAB (3,3-διαμινοβενζιδίνη) ως χρωμογόνο και αιματοξυλίνη ως αντίχρωση.

Τέλος, οι τομές χρώστηκαν με μονοκλωνικό αντίσωμα (rabbit) έναντι του PD-L1 (κλώνος ZR1, Zeta Corporation, αραιώση 1:100, Southern California). Η ανοσοϊστοχημική εκτίμηση του PD-L1 έγινε με τη χρήση των τριών καθιερωμένων διαθέσιμων μεθόδων (109,114) : α) με τον υπολογισμό του ποσοστού της θετικής μεμβρανικής χρώσης των ανοσοκυττάρων ανά περιοχή όγκου (IC score), β) με τον υπολογισμό του ποσοστού της θετικής μεμβρανικής χρώσης των κυττάρων του όγκου ανά αριθμό βιώσιμων κυττάρων του όγκου (tumor proportion score-TPS) και γ) με τον υπολογισμό του ποσοστού της θετικής μεμβρανικής χρώσης τόσο στα ανοσοκύτταρα όσο και στα κύτταρα του όγκου διαιρούμενο με τον αριθμό των βιώσιμων κυττάρων του όγκου (combined positive score-CPS). Ως φλεγμονώδη κύτταρα του όγκου αξιολογούμε τόσο τα ανοσοκύτταρα που υπάρχουν στο στρώμα του όγκου (intratumoral stroma) όσο και στο παρακείμενο στρώμα (contiguous peritumoral stroma), με τη χρώση να αναδεικνύει έναν ετερογενή πληθυσμό κυττάρων, η πλειονότητα των οποίων είναι λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα και κοκκιοκύτταρα (109,114). Η μέθοδος της ανοσοϊστοχημικής ερμηνείας συνοψίζεται στην Εικόνα 3. Καθώς οι περισσότερες μελέτες που οδήγησαν στην έγκριση από τον Αμερικανικό Οργανισμό Φαρμάκων (FDA) των αντι-PD-L1 παραγόντων για τα ουροθηλιακά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης χρησιμοποίησαν ως τιμή αποκοπής (cut-off) το 1%, χρησιμοποιήσαμε επίσης αυτή την τιμή για σκοπούς στατιστικής ανάλυσης (117-119). Επιπλέον, μελετήσαμε τις στατιστικές συσχετίσεις που προέκυπταν και για τιμή αποκοπής το 5%.



**Εικόνα 3.** Αλγόριθμοι ανοσοϊστοχημικής ερμηνείας της έκφρασης του PD-L1 των ουροθηλιακών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης.

### 3. Στατιστική ανάλυση

Η αρχική στατιστική ανάλυση βασίστηκε σε περιγραφική στατιστική. Οι κατηγορικές μεταβλητές περιγράφηκαν με απόλυτες και σχετικές συχνότητες, ενώ για τις συνεχείς μεταβλητές δόθηκαν ο μέσος όρος, η τυπική απόκλιση, η διάμεσος, το ελάχιστο και το μέγιστο. Η συσχέτιση του υποτύπου με το φύλο, το στάδιο και τον βαθμό βασίστηκε στο Pearson Chi-Square Test χωρίς διόρθωση συνέχειας. Τα ανοσοκύτταρα PD-L1 (%), PD-L1 TPS και PD-L1 CPS, κατηγοριοποιήθηκαν ως θετική και αρνητική έκφραση λαμβάνοντας υπόψη το όριο 1% με βάση προηγούμενα δημοσιευμένα δεδομένα (117-119). Το Chi-Square Test χωρίς διόρθωση συνέχειας χρησιμοποιήθηκε επίσης για τη συσχέτιση των θετικών και αρνητικών εκφράσεων με τον υπότυπο, το φύλο, τον βαθμό και το στάδιο. Για την αποφυγή πιθανών συγχυτικών παραγόντων, χρησιμοποιήθηκε πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση για τα ανοσοκύτταρα PD-L1 (%), PD-L1 TPS και PD-L1 CPS. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε στο SPSS Version 20 και η στατιστική σημαντικότητα ορίστηκε σε  $p \leq 0,05$ .

### 4. Βάση δεδομένων και ανάλυση του *The Cancer Genome Atlas (TCGA)*

Χρησιμοποιήσαμε το cBioPortal για τον εντοπισμό γενετικών αλλαγών (διαγραφή) του γονιδίου PMS2 και για την ανίχνευση της υπερέκφρασής του CD274 (PD-L1) στη βάση δεδομένων καρκινωμάτων ουροδόχου κύστης του *The Cancer Genome Atlas (TCGA)*. Χρησιμοποιήσαμε επίσης τη Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA), μια βάση δεδομένων που ανακτά δεδομένα από δείγματα όγκων του TCGA, προκειμένου να εντοπίσουμε πιθανές συσχετίσεις των επιπέδων έκφρασης του PD-L1 με βασικού και αυλικού τύπου γονιδιακές υπογραφές. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση επιβίωσης της βάσης δεδομένων GEPIA2 για

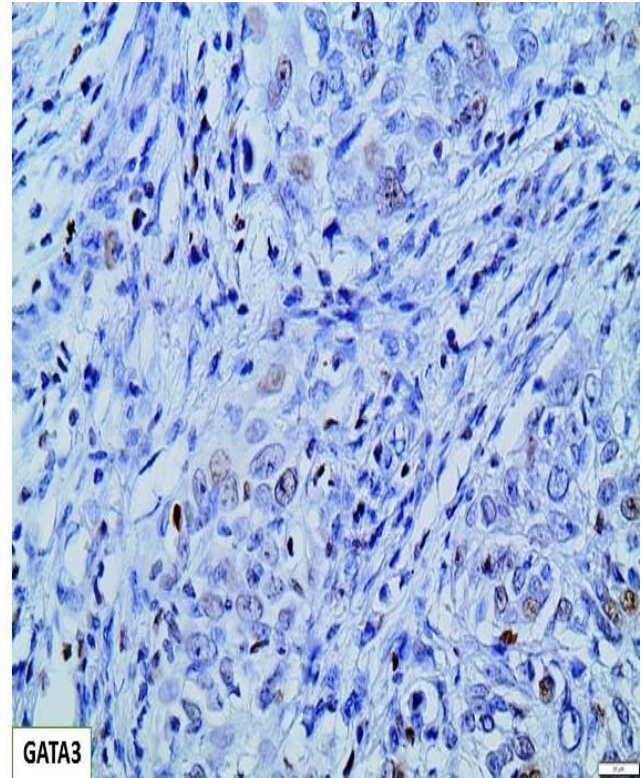
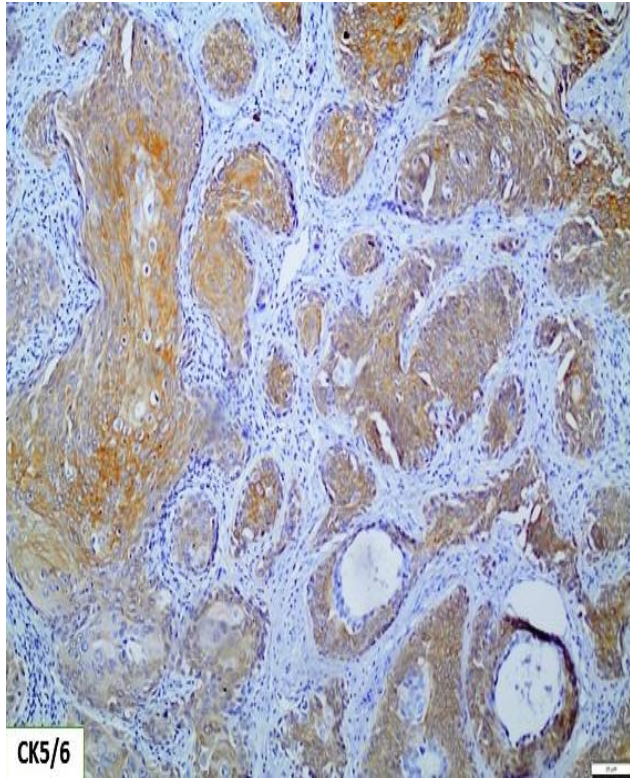
να διερευνηθεί η συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του PMS2 και της συνολικής επιβίωσης (overall survival) καθώς και της ελεύθερας νόσου επιβίωσης των ασθενών (disease free survival). Δημιουργήθηκαν καμπύλες Kaplan-Meier με βάση τη διάμεση τιμή επιβίωσης της ομάδας μελέτης και υπολογίστηκε η τιμή *p-value* log-rank.

## **Δ. Αποτελέσματα**

### *1. Μοριακή ταξινόμηση*

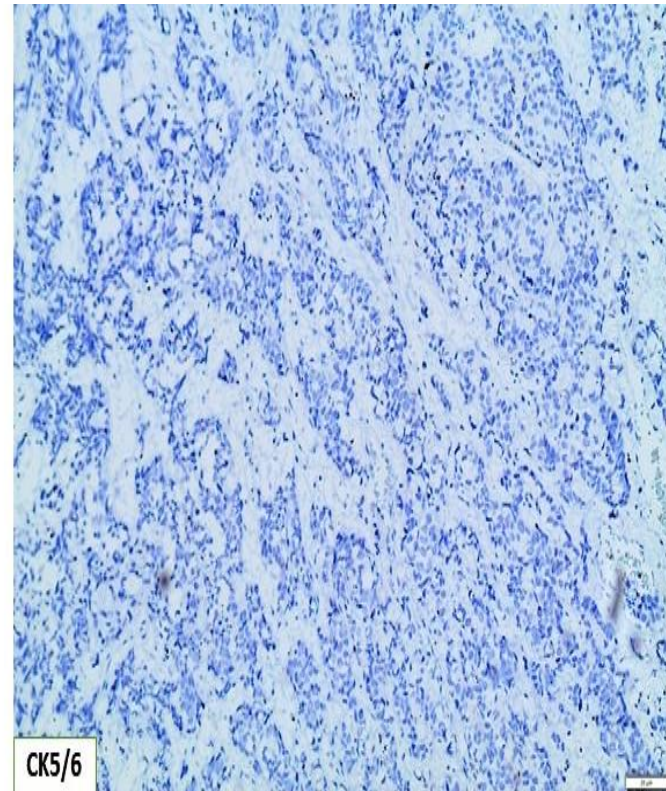
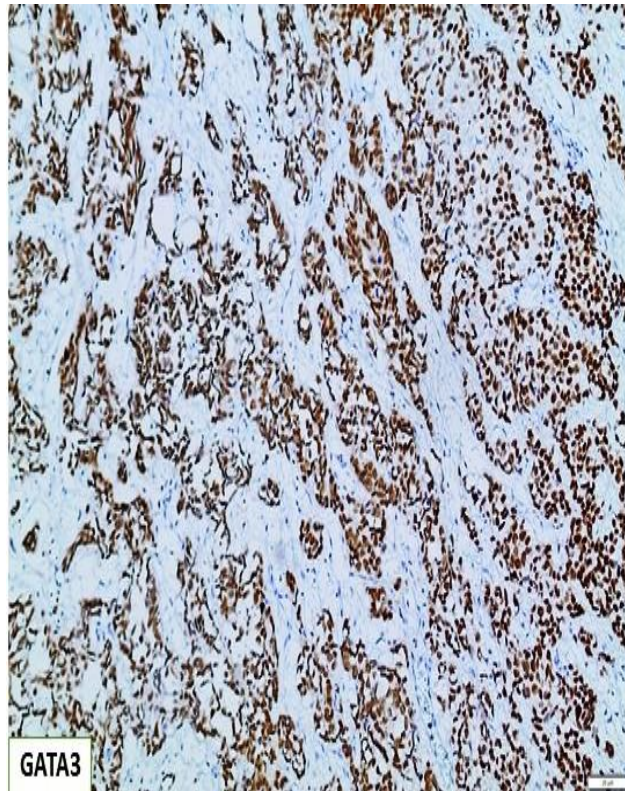
Οι ασθενείς που ήταν CK5/6 θετικοί και GATA3 αρνητικοί ταξινομήθηκαν ως βασικού τύπου, αποτελώντας το 29,9% της ομάδας μας (Πίνακας 5) (Εικόνα 4), και οι ασθενείς που ήταν CK5/6 αρνητικοί και GATA3 θετικοί ταξινομήθηκαν ως αυλικού τύπου, αποτελώντας το 70,1% της ομάδας μας (Πίνακας 5) (Εικόνα 5) [24].

Όσον αφορά τις στατιστικές συσχετίσεις των βασικών και των αυλικών όγκων με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους, προέκυψαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του βασικού φαινότυπου και του ιστολογικού σταδίου ( $p < 0,001$ ) καθώς και του βαθμού κακοήθειας του όγκου ( $p = 0,025$ ). Ειδικότερα, οι ασθενείς με βασικού τύπου όγκους είχαν σχεδόν 17 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν όγκους της ουροδόχου κύστης pT2 και 4,24 φορές υψηλότερο κίνδυνο για καρκινώματα ουροδόχου κύστης υψηλόβαθμης κακοήθειας σε σύγκριση με τους ασθενείς με αυλικού τύπου όγκους (Πίνακας 6).



**Εικόνα 4.** Μοριακός υπότυπος βασικού τύπου ουροθηλιακού καρκινώματος με πλακώδη διαφοροποίηση και ισχυρή έκφραση της CK5/6 και ασθενή εστιακή έκφραση του GATA3 (x100).





**Εικόνα 5.** Μοριακή ταξινόμηση των όγκων ουροδόχου κύστης με βάση τον ανοσοϊστοχημικό αλγόριθμο GATA3(+)/CK5/6(-) (x100) / αυλικού τύπου όγκος

**Πίνακας 5.** Κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά των ασθενών με καρκίνο ουροδόχου κύστης .

Μεταβλητή μελέτης	Συχνότητα (N=77)	Ποσοστό (%)
<b>Υπότυπος</b>		
Βασικός (Basal)	23	29,9
Αυλικός (Luminal)	54	70,1
<b>Φύλο</b>		
Γυναίκα	16	20,8
Ανδρας	61	79,2
<b>Βαθμός Ιστολογικής Κακοήθειας / Grade (ΠΟΥ 2022)</b>		
Χαμηλός (Low grade)	24	31,2
Υψηλός (High grade)	53	68,8
<b>Στάδιο</b>		
pTa	18	23,4
pT1	28	36,4
pT2	31	40,3
<b>PD-L1 Ανοσοκύτταρα (%) ≥ 1%</b>		
Αρνητική έκφραση PD-L1	27	35,1
Θετική έκφραση PD-L1	50	64,9
<b>PD-L1 Ανοσοκύτταρα (%) ≥ 5%</b>		
Αρνητική έκφραση PD-L1	44	57,1
Θετική έκφραση PD-L1	33	42,9
<b>PD-L1 TPS ≥ 1%</b>		
Αρνητική έκφραση PD-L1	41	53,2
Θετική έκφραση PD-L1	36	46,8
<b>PD-L1 TPS ≥ 5%</b>		
Αρνητική έκφραση PD-L1	58	75,3
Θετική έκφραση PD-L1	19	24,7
<b>PD-L1 CPS ≥ 1%</b>		
Αρνητική έκφραση PD-L1	36	46,8
Θετική έκφραση PD-L1	41	53,2
<b>PD-L1 CPS ≥ 5%</b>		
Αρνητική έκφραση PD-L1	53	68,8
Θετική έκφραση PD-L1	24	31,2

**Πίνακας 6 .** Συσχετίσεις των μοριακών υπότυπων των ουροθηλιακών καρκινωμάτων με τον βαθμό κακοήθειας (Grade).

<p><b>p-value=0,025</b> OR=4,24, 95% CI: (1,12,16,06)</p>			<p><b>Grade</b> <b>(WHO 2022)</b></p>		<p>Σύνολο</p>
			<p>Low</p>	<p>High</p>	
<p><b>Υπότυπος</b></p>	<p>Basal</p>	<p>n</p>	<p>3</p>	<p>20</p>	<p>23</p>
		<p>%</p>	<p>13,0%</p>	<p>87,0%</p>	<p>100,0%</p>
	<p>Luminal</p>	<p>n</p>	<p>21</p>	<p>33</p>	<p>54</p>
		<p>%</p>	<p>38,9%</p>	<p>61,1%</p>	<p>100,0%</p>
<p>Σύνολο</p>		<p>n</p>	<p>24</p>	<p>24</p>	<p>77</p>
		<p>%</p>	<p>31,2%</p>	<p>68,8%</p>	<p>100,0%</p>

**Πίνακας 7.** Συσχετίσεις των μοριακών υπότυπων των ουροθηλιακών καρκινωμάτων με το στάδιο.

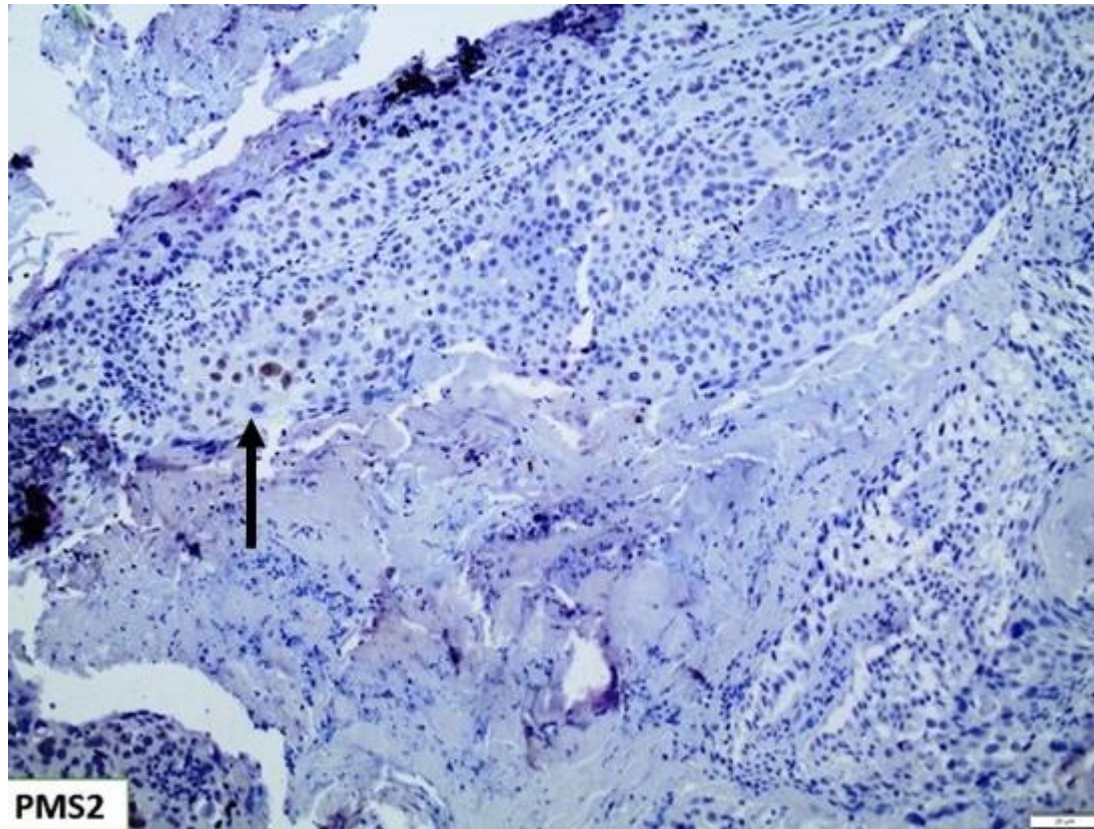
<b>p-value&lt;0.001</b> OR=16,63, 95% CI: (4,74,58,3)			<b>Στάδιο</b>		Σύνολο
			pTα/pT1	pT2	
<b>Υπότυπος</b>	Basal	n	4	19	23
		%	17,4%	82,6%	100,0%
	Luminal	n	42	12	54
		%	77,8%	22,2%	100,0%
<b>Σύνολο</b>	n	46	31	77	
	%	59,7%	40,3%	100,0%	

**Πίνακας 8.** Συσχετίσεις των μοριακών υπότυπων των ουροθηλιακών καρκινωμάτων με το φύλο.

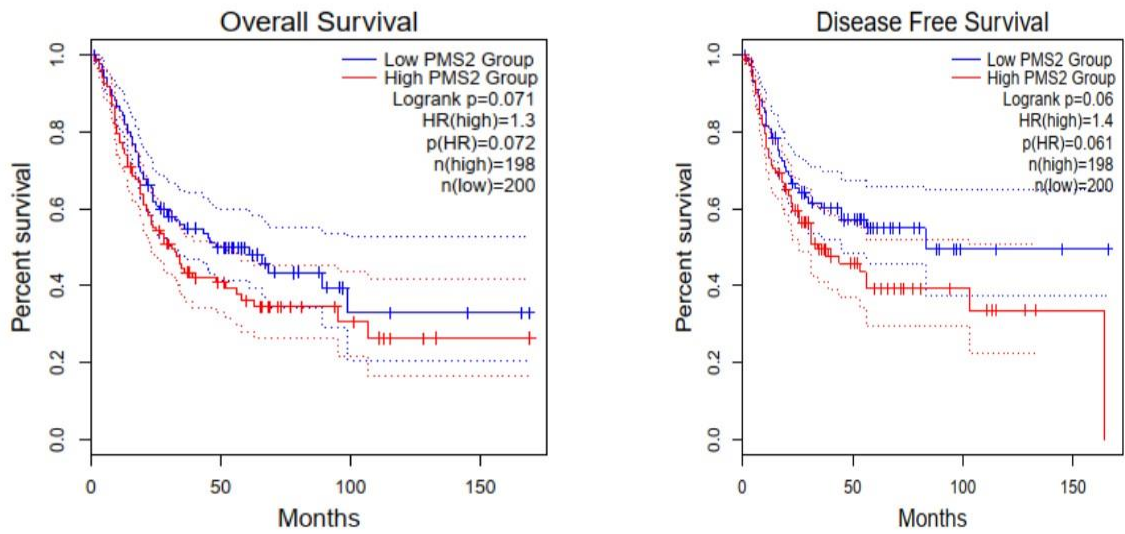
p-value=0,633			Φύλο		Σύνολο
			Θήλυ	Άρρεν	
Υπότυπος	Basal	n	4	19	23
		%	17,4%	82,6%	100,0%
	Luminal	n	12	42	54
		%	22,2%	77,8%	100,0%
Σύνολο		n	16	61	77
		%	20,8%	79,2%	100,0%

## 2. Ανεπάρκεια του συστήματος επιδιόρθωσης βλαβών του DNA (MMR-d)

Η ανοσοϊστοχημική ερμηνεία της έκφρασης των πρωτεϊνών MMR στις περιπτώσεις μας αποκάλυψε ισχυρή και ομοιόμορφη έκφραση σε όλα τα δείγματα ιστού, εκτός από ένα (n=77). Πιο συγκεκριμένα, μία περίπτωση παρουσίασε ετερογενή απώλεια έκφρασης του PMS2 (Εικόνα 6), ενώ το MLH1 είχε διατηρήσει την έκφρασή του. Η χαμηλή συχνότητα της απώλειας του PMS2 επιβεβαιώθηκε και στη βάση δεδομένων ουροθηλιακών καρκινωμάτων ουροδόχου κύστης του The Cancer Genome Atlas (TCGA), καθώς η διαγραφή του, εμφανίστηκε μόλις σε 2/408 περιπτώσεις. Και στα δύο δείγματα, η διαγραφή ήταν ομοζυγωτική. Όσον αφορά τη συσχέτιση του PMS2 με την πρόγνωση, τα μειωμένα επίπεδα έκφρασης του PMS2 συσχετίστηκαν με μεγαλύτερη συνολική επιβίωση (OS) και επιβίωση χωρίς νόσο (DFS) (Εικόνα 6), αν και η συσχέτιση δεν ήταν στατιστικά σημαντική ( $p$  - value 0,071 και 0,06 αντίστοιχα).



**Εικόνα 6.** Το *PMS2* παρουσιάζει εκτεταμένη απώλεια έκφρασης με λίγους μόνο πυρήνες να διατηρούν την έκφρασή του (βέλος) ( x100).



**Εικόνα 7.** Οι περιπτώσεις με χαμηλά επίπεδα έκφρασης του PMS2 χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη συνολική επιβίωση (OS) και μεγαλύτερη ελεύθερα νόσου επιβίωση (DFS), ωστόσο οι συσχετίσεις αυτές ανέδειξαν οριακή στατιστική σημαντικότητα ( $p$ -value 0,071 και 0,06 αντίστοιχα).



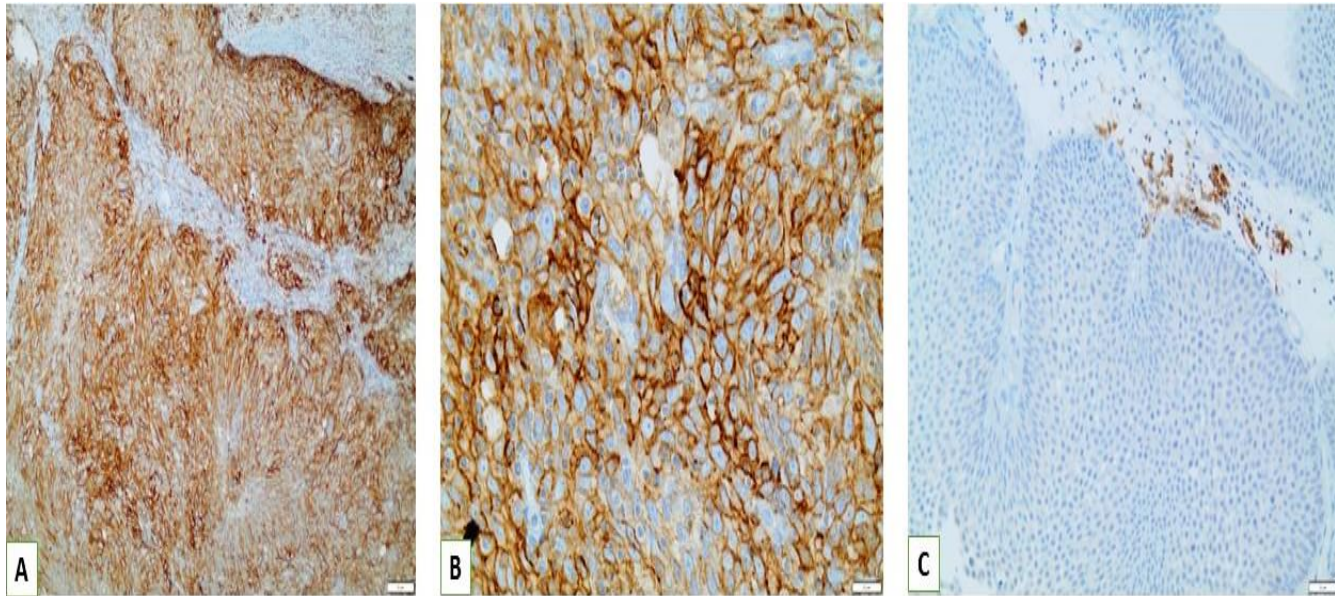
### 3. Αξιολόγηση PD-L1

Ενδιαφέρον εύρημα αποτελεί ότι η θετική έκφραση του PD-L1 παρουσίασε ισχυρή και σταθερή συσχέτιση με τους ασθενείς που είχαν όγκους βασικού τύπου (Εικόνα 8,9). Επιπλέον, μια άλλη ενδιαφέρουσα συσχέτιση ήταν το ποσοστό θετικής έκφρασης του PD-L1 (με τη χρήση του αλγορίθμου IC score) σε ασθενείς με όγκους σταδίων pT<sub>a</sub>/pT<sub>1</sub> (Εικόνα 10). Τέλος, η αξιολόγηση όλων των αλγορίθμων βαθμολόγησης παρείχε σημαντικές συσχετίσεις τόσο με το στάδιο του όγκου (pT<sub>2</sub>) όσο και με τον βαθμό κακοήθειας (HG) (Εικόνα 11). Στην πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση οι μεταβλητές βαθμού κακοήθειας και σταδίου παραμένουν στατιστικά σημαντικά συνδεδεμένες με την έκφραση του TPS PD-L1, με Odds Ratios 3,83 και 4,95 αντίστοιχα και *p-values* 0,049 και 0,024 αντίστοιχα. Ο Πίνακας 9 συνοψίζει τα βασικά στατιστικά στοιχεία των παραμέτρων αξιολόγησης του PD-L1. Τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασης του PD-L1 σε basal όγκους σε σύγκριση με τους luminal επιβεβαιώθηκαν στη βάση δεδομένων του TCGA. Η συσχέτιση του PD-L1 με basal και luminal όγκους βασίστηκε στις υπογραφές τεσσάρων γονιδίων που αποτελούνται από καθιερωμένους δείκτες που ορίζουν τους δύο κύριους μοριακούς υπότυπους: οι luminal όγκοι ορίστηκαν από το GATA3, την ουροπλάκινη 1A (UPK1A), την ουροπλάκινη 3 (UPK3) και την κυτταροκερατίνη 20 (KRT20), ενώ οι basal όγκοι από την κυτταροκερατίνη 5, την κυτταροκερατίνη 6B, την κυτταροκερατίνη 14 και το CD44 [21]. Πράγματι, η γονιδιακή υπογραφή των basal όγκων συσχετίστηκε με αυξημένη έκφραση του PD-L1 ( $R=0,26$ ,  $p\text{-value} < 0,01$ ), ενώ παρατηρήθηκε αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ του PD-L1 και της γονιδιακής υπογραφής των luminal όγκων ( $R= - 0,36$ ,  $p\text{-value} < 0,01$ ) (Εικόνα 12). Οι Πίνακες

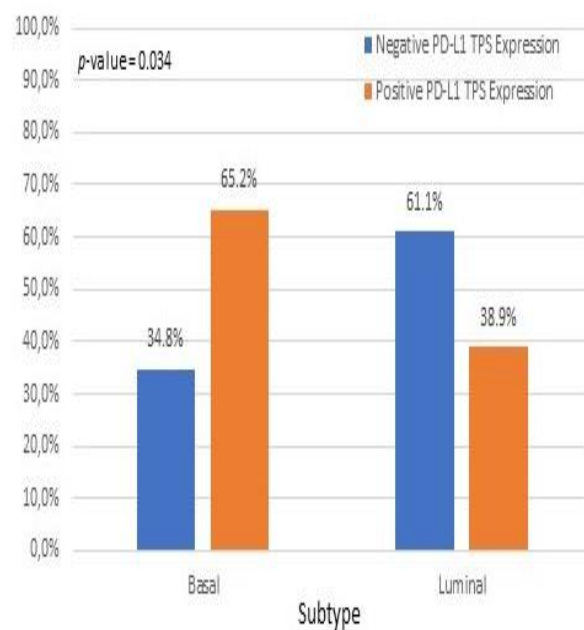
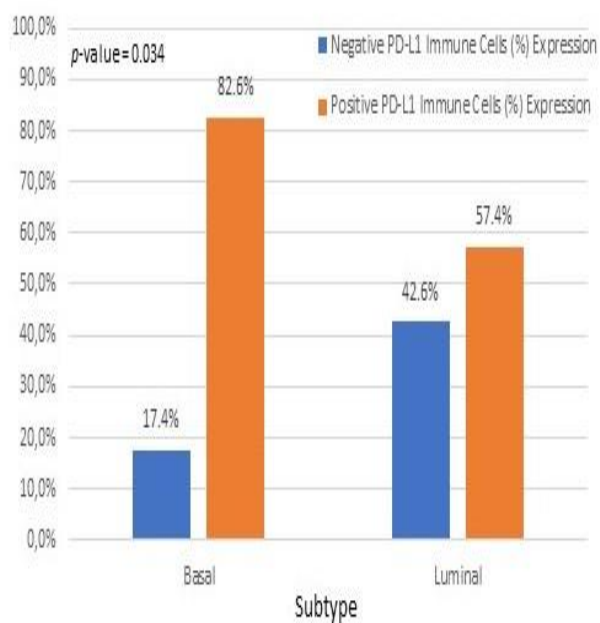
10-15 αφορούν όλες τις στατιστικές συσχετίσεις που δημιουργήθηκαν μετά την αξιολόγηση του PD-L1 και των διαφόρων μεταβλητών της μελέτης μας.

Πίνακας 9. Συνοπτικά στατιστικά στοιχεία για PD-L1 ICs (%), PD-L1 TPS, PD-L1 CPS.

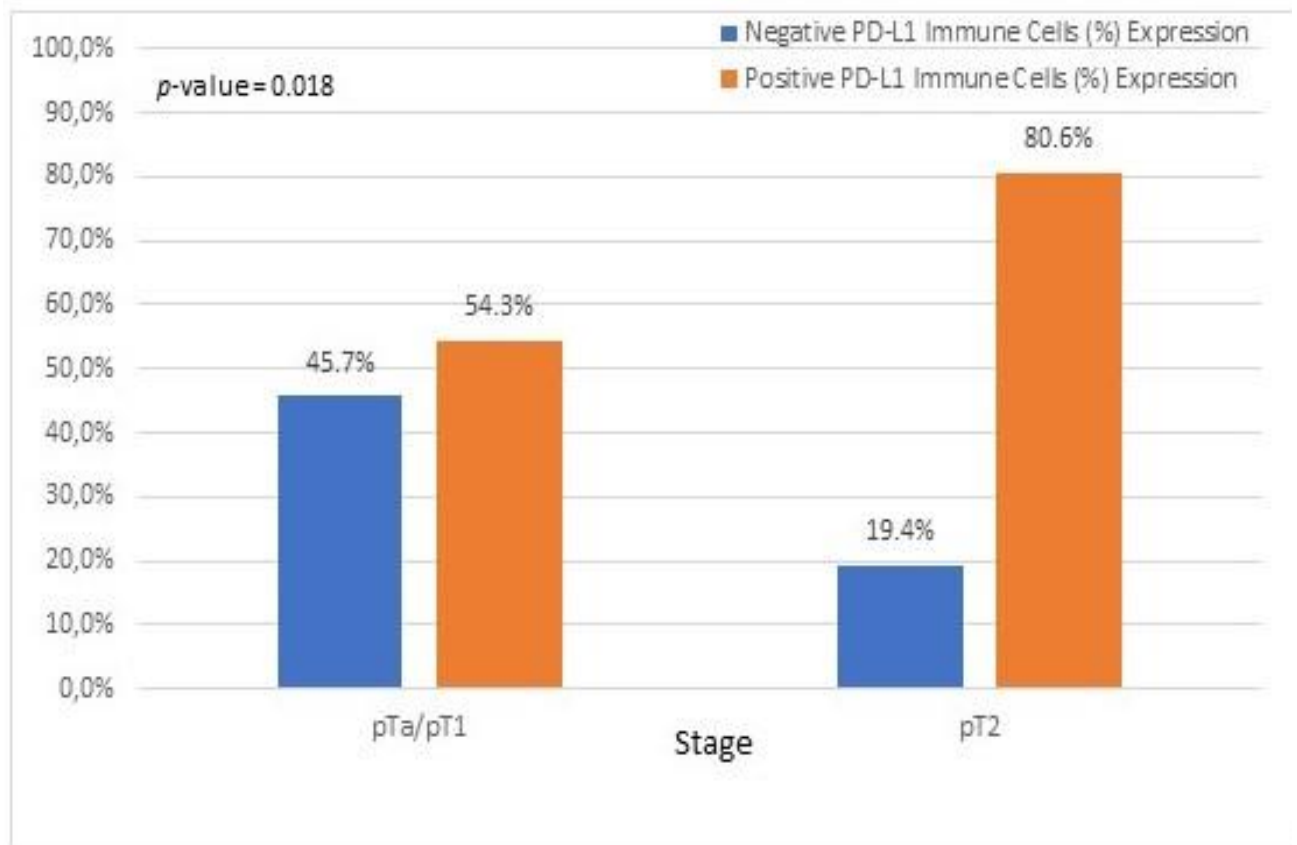
	PD-L1 ICs (%)	PD-L1 TPS	PD-L1 CPS
n	77	77	77
Μέσος όρος	5,35	7,82	6,65
Διάμεσος	2,00	0,00	2,00
Std. Deviation	8,468	16,950	12,956
Ελάχιστο	0	0	0
Μέγιστο	60	75	70



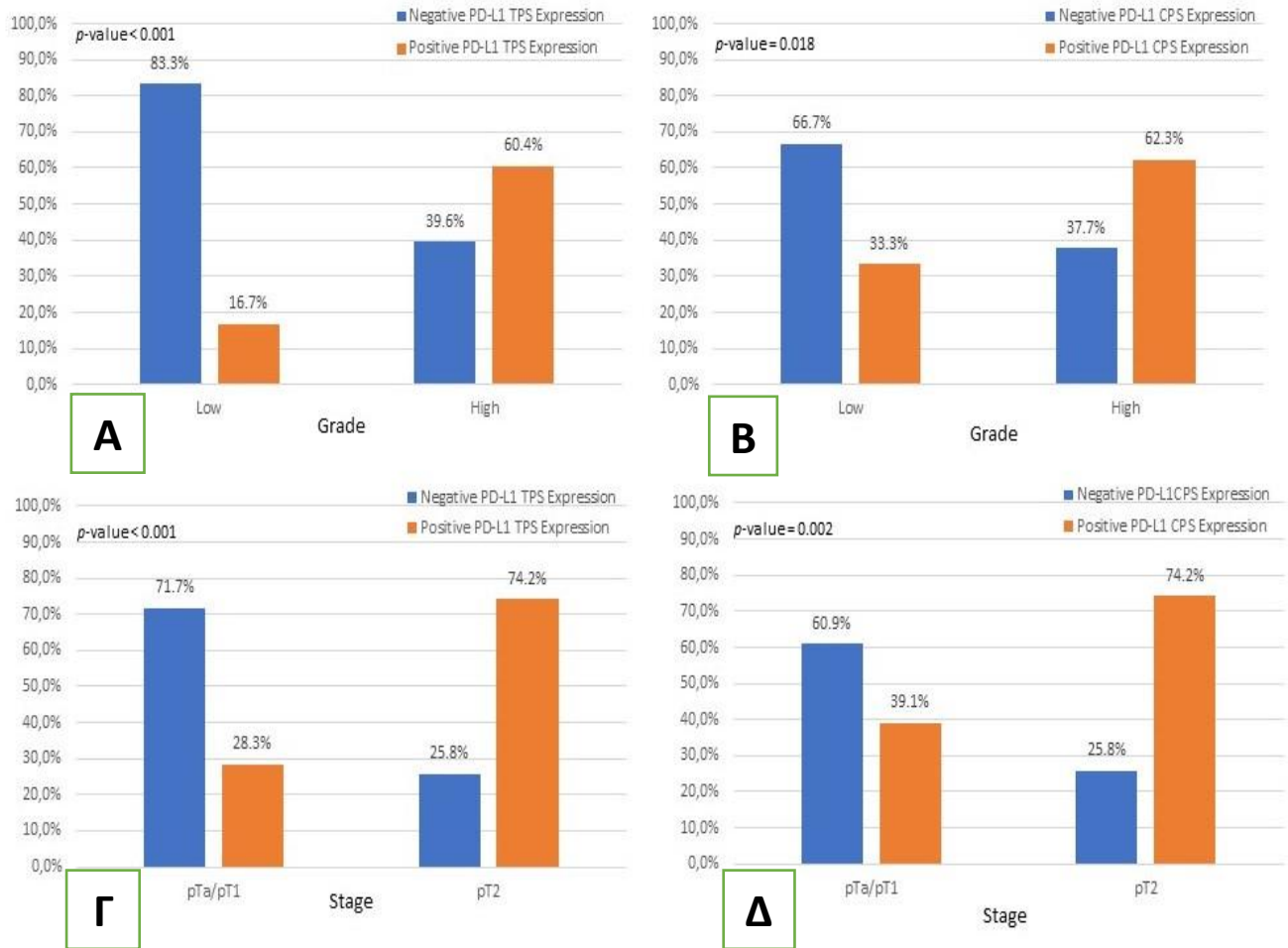
**Εικόνα 8.** A, B) Ισχυρή θετική μεμβρανική έκφραση του PD-L1 σε καρκινικά κύτταρα ενός βασικού τύπου μυοδιηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (*x200*, *x400*)- C) Ισχυρή θετική μεμβρανική έκφραση του PD-L1 σε ανοσοκύτταρα που υπάρχουν στο παρακείμενο του όγκου στρώμα ενός σταδίου pTα μη-μυοδιηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (*x200*).



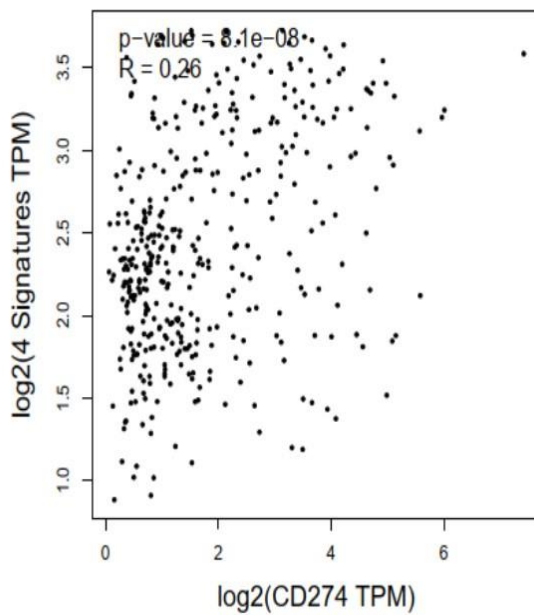
**Εικόνα 9.** Συσχετίσεις των ICs και TPS PD-L1 scores με τους μοριακούς υποτύπους ουροθηλιακών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης.



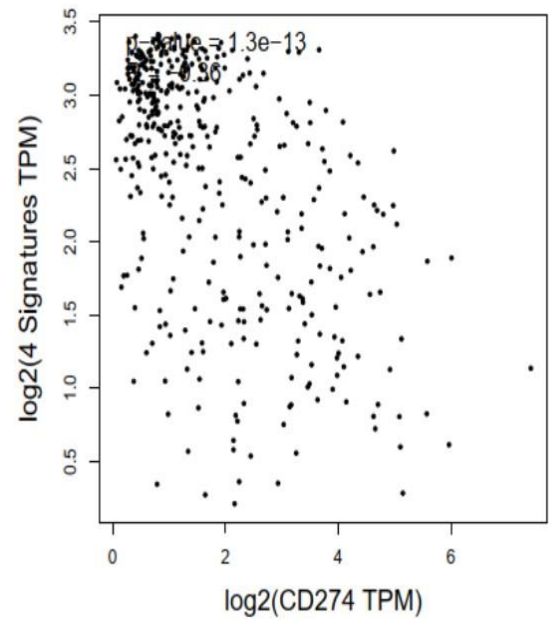
**Εικόνα 10.** Συσχετίσεις ασθενών με όγκους pT0a/pT1 με το PD-L1 IC score.



**Εικόνα 11.** Συσχετίσεις μεταξύ ασθενών με όγκους υψηλόβαθμης κακοήθειας (Α,Β) και ασθενών σταδίου pT2 (Γ,Δ) με την έκφραση του PD-L1 με βάση τα CPS και TPS scores.



**Basal gene signature:** Cytokeratin 5, Cytokeratin 6B, Cytokeratin 14, CD44



**Luminal gene signature:** Gata3, Uroplakin 1A, Uroplakin 2, Cytokeratin 20

**Εικόνα 12.** Στη βάση δεδομένων του TCGA για τα καρκινώματα ουροδόχου κύστης, τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου PD-L1 (CD274) συσχετίστηκαν θετικά με δείκτες basal όγκων ( $R = 0,26$ ,  $p\text{-value} < 0,01$ ) και αντιστρόφως ανάλογα με την γονιδιακή υπογραφή των luminal όγκων ( $R = - 0,36$ ,  $p\text{-value} < 0,01$ ).

➤ **Συσχέτιση μεταξύ των PD-L1 ICs (%) με cut-off το 1% και των μεταβλητών της μελέτης**

**Πίνακας 10.1** Συσχέτιση ICs PD-L1 (%) και φύλου

p-value=0,343			PD-L1 ICs (%) ≥ 1%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Φύλο</b>	Θήλυ	n	4	12	16
		%	25,0%	75,0%	100,0%
	Άρρεν	n	23	38	61
		%	37,7%	62,3%	100,0%
<b>Σύνολο</b>		n	27	50	77
		%	35,1%	64,9%	100,0%



**Πίνακας 10.2.** Συσχέτιση ICs PD-L1 (%) και βαθμού κακοήθειας

p-value=0,183			PD-L1 Immune Cells (%) ≥ 1%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>GRADE (WHO 2022)</b>	Low	n	11	13	24
		%	45,8%	54,2%	100,0%
	High	n	16	37	53
		%	30,2%	69,8%	100,0%
Σύνολο		n	27	50	77

**Πίνακας 10.3.** Πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση των PD-L1 Immune Cells (%)

Παράμετρος	Estimate	OR	Standard Error	95% CI for OR	p-value
Υπότυπος Luminal (reference)	0	1	-	-	-
Υπότυπος Basal	0.82	2.27	0.72	(0.55,9.29)	0.254
Φύλο: Άρρεν (reference)	0	1	-	-	-
Φύλο: Θήλυ	0.67	1.95	0.66	(0.53,7.17)	0.313
Grade: Low (reference)	0	1	-	-	-
Grade: High	0.14	1.16	0.59	(0.37,3.64)	0.805
Στάδιο: pTa/pT1 (reference)	0	1	-	-	-
Στάδιο: pT2	0.8	2.21	0.7	(0.57,8.59)	0.25

Μετά την προσαρμογή του μοντέλου πολυπαραγοντικής στατιστικής ανάλυσης, οι μεταβλητές υπότυπου και σταδίου δεν σχετίζονται ανεξάρτητα με το PD-L1 ICs (%). Όλες οι άλλες μεταβλητές παραμένουν μη σημαντικές.

➤ **Συσχέτιση μεταξύ των PD-L1 ICs (%) με cut-off το 5% και των μεταβλητών της μελέτης**

**Πίνακας 11.1** Συσχέτιση ICs PD-L1 (%) και υπότυπου

p-value=0,114			PD-L1 ICs (%) ≥ 5%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Υπότυπος</b>	Basal	n	10	13	23
		%	43,5%	56,5%	100,0%
	Luminal	n	34	20	54
		%	63,0%	37,0%	100,0%
<b>Σύνολο</b>		n	n	33	77
		%	%	42,9%	100,0%

**Πίνακας 11.2** Συσχέτιση ICs PD-L1 (%) και φύλου

p-value=0,074			PD-L1 ICs (%) ≥ 5%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Φύλο</b>	Θήλυ	n	6	10	16
		%	37,5%	62,5%	100,0%
	Άρρεν	n	38	23	61
		%	62,3%	37,7%	100,0%
Σύνολο		n	n	33	77
		%	%	42,9%	100,0%

**Πίνακας 11.3** Συσχέτιση ICs PD-L1 (%) και βαθμού

p-value=0,102			PD-L1 ICs (%) ≥ 5%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>GRADE (WHO 2022)</b>	High	n	17	7	24
		%	70,8%	29,2%	100,0%
	Low	n	27	26	53
		%	50,9%	49,1%	100,0%
Σύνολο		n	44	33	77
		%	57,1%	42,9%	100,0%

**Πίνακας 11.4** Συσχέτιση των ICs PD-L1 (%) και του σταδίου

<p><b>p-value=0,007</b> OR=3,62, 95% CI: (1,39,9,43)</p>			<p><b>PD-L1 ICs (%) ≥ 5%</b></p>		<p>Σύνολο</p>
			<p>Αρνητική έκφραση PD-L1</p>	<p>Θετική έκφραση PD-L1</p>	
<p><b>Στάδιο</b></p>	<p>pTa/pT1</p>	<p>n</p>	<p>32</p>	<p>14</p>	<p>46</p>
		<p>%</p>	<p>69,6%</p>	<p>30,4%</p>	<p>100,0%</p>
	<p>pT2</p>	<p>n</p>	<p>12</p>	<p>19</p>	<p>31</p>
		<p>%</p>	<p>38,7%</p>	<p>61,3%</p>	<p>100,0%</p>
<p>Σύνολο</p>		<p>n</p>	<p>44</p>	<p>33</p>	<p>77</p>
		<p>%</p>	<p>57,1%</p>	<p>42,9%</p>	<p>100,0%</p>

Οι ασθενείς σταδίου pT2 έχουν 3,62 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να παρουσιάσουν θετική έκφραση PD-L1 σε σύγκριση με τους ασθενείς σταδίου pTa/pT1.

**Table 11.5** Πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση των PD-L1 Immune Cells (%)

Παράμετρος	Estimate	OR	Standard Error	95% CI for OR	p-value
Υπότυπος Luminal (reference)	0	1	-	-	-
Υπότυπος Basal	0.18	1.19	0.65	(0.34,4.23)	0.785
Φύλο: Άρρεν (reference)	0	1	-	-	-
Φύλο: Θήλυ	1.09	2.96	0.62	(0.88,9.91)	0.079
Grade: Low (reference)	0	1	-	-	-
Grade: High	0.27	1.32	0.63	(0.36,4.49)	0.66
Στάδιο: pTa/pT1 (reference)	0	1	-	-	-
Στάδιο: pT2	1.1	2.99	0.67	(0.81,11.05)	0.1

Μετά την προσαρμογή του μοντέλου πολυπαραγοντικής στατιστικής ανάλυσης, οι μεταβλητές υπότυπου και σταδίου δεν σχετίζονται ανεξάρτητα με το PD-L1 ICs (%).

Όλες οι άλλες μεταβλητές παραμένουν μη σημαντικές.

➤ **Συσχέτιση μεταξύ του PD-L1 TPS με cutoff 1% και των μεταβλητών της μελέτης**

**Πίνακας 12.1** Συσχέτιση του PD-L1 TPS και του υπότυπου

<b>p-value=0,034</b> OR=2,95, 95% CI: (1,06,8,13)			<b>PD-L1 TPS≥ 1%</b>		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Υπότυπος</b>	Basal	n	8	15	23
		%	34,8%	65,2%	100,0%
	Luminal	n	33	21	54
		%	61,1%	38,9%	100,0%
<b>Σύνολο</b>		n	41	36	77
		%	53,2%	46,8%	100,0%

Οι ασθενείς με βασικό υπότυπο έχουν 2,95 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα θετικής έκφρασης του PD-L1 TPS σε σύγκριση με τους ασθενείς με αυλικό υπότυπο.



**Πίνακας 12.2** Συσχέτιση του PD-L1 TPS και του φύλου

p-value=0,405			PD-L1 TPS $\geq$ 1%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Φύλο</b>	Θήλυ	n	10	6	16
		%	62,5%	37,5%	100,0%
	Άρρεν	n	31	30	61
		%	50,8%	49,2%	100,0%
Σύνολο		n	41	36	77
		%	53,2%	46,8%	100,0%

**Πίνακας 12.3** Συσχέτιση του PD-L1 TPS και του Grade

<b>p-value&lt;0.001</b> OR=7,62, 95% CI: (2,28,25,64)			<b>PD-L1 TPS ≥ 1%</b>		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>GRADE (WHO 2022)</b>	Low	n	20	4	24
		%	83,3%	16,7%	100,0%
	High	n	21	32	53
		%	39,6%	60,4%	100,0%
Σύνολο		n	41	36	77
		%	53,2%	46,8%	100,0%

Οι ασθενείς με υψηλόβαθμης κακοήθειας όγκους έχουν 7,62 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να παρουσιάσουν θετική έκφραση PD-L1 TPS σε σύγκριση με τους ασθενείς με χαμηλόβαθμης κακοήθειας όγκους.

**Πίνακας 12.4** Συσχέτιση του PD-L1 TPS και του σταδίου

<p><b>p-value&lt;0.001</b> OR=7,3, 95% CI: (2,62,20,41)</p>			<p><b>PD-L1 TPS ≥ 1%</b></p>		<p>Σύνολο</p>
			<p>Αρνητική έκφραση PD-L1</p>	<p>Θετική έκφραση PD-L1</p>	
<p><b>Στάδιο</b></p>	<p>pTa/pT1</p>	<p>n</p>	<p>33</p>	<p>13</p>	<p>46</p>
		<p>%</p>	<p>71,7%</p>	<p>28,3%</p>	<p>100,0%</p>
	<p>pT2</p>	<p>n</p>	<p>8</p>	<p>23</p>	<p>31</p>
		<p>%</p>	<p>25,8%</p>	<p>74,2%</p>	<p>100,0%</p>
<p>Σύνολο</p>		<p>n</p>	<p>41</p>	<p>36</p>	<p>77</p>
		<p>%</p>	<p>53,2%</p>	<p>46,8%</p>	<p>100,0%</p>

Οι ασθενείς με καρκινώματα σταδίου pT2 έχουν 7,3 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα θετικής έκφρασης του PD-L1 TPS σε σύγκριση με τους ασθενείς με στάδιο pTa/pT1.

**Πίνακας 12.5** Πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση του PD-L1 TPS

Παράμετρος	Estimate	OR	Standard Error	95% CI for OR	p-value
Υπότυπος Luminal (reference)	0	1	-	-	-
Υπότυπος Basal	-0.12	0.86	0.71	(0.22,3.53)	0.86
Φύλο: Άρρεν (reference)	0	1	-	-	-
Φύλο: Θήλυ	-0.75	0.47	0.68	(0.13,1.79)	0.27
Grade: Low (reference)	0	1	-	-	-
Grade: High	1.34	3.83	0.68	(1,14.58)	0.049
Στάδιο: pTa/pT1 (reference)	0	1	-	-	-
Στάδιο: pT2	1.6	4.95	0.71	(1.23,19.86)	0.024

Μετά την εφαρμογή του πολυπαραγοντικού μοντέλου στατιστικής ανάλυσης, οι μεταβλητές βαθμού κακοηθείας και σταδίου παραμένουν στατιστικά σημαντικές με Odds Ratios 3,83 και 4,95 αντίστοιχα. Οι μεταβλητές υπότυπου και φύλου δεν σχετίζονται ανεξάρτητα με το PD-L1 TPS.

➤ Συσχέτιση μεταξύ του PD-L1 TPS με cut-off 5% και των μεταβλητών της μελέτης

**Πίνακας 13.1** Συσχέτιση του PD-L1 TPS και του υπότυπου

p-value=0,055			PD-L1 TPS≥ 5%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
Υπότυπος	Basal	n	14	9	23
		%	60,9%	39,1%	100,0%
	Luminal	n	44	10	54
		%	81,5%	18,5%	100,0%
Σύνολο		n	58	19	77
		%	75,3%	24,7%	100,0%

**Πίνακας 13.2** Συσχέτιση του PD-L1 TPS και του φύλου

p-value=0,204			PD-L1 TPS≥ 5%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Φύλο</b>	Θήλυ	n	14	2	16
		%	87,5%	12,5%	100,0%
	Άρρεν	n	44	17	61
		%	72,1%	27,9%	100,0%
<b>Σύνολο</b>		n	58	19	77
		%	75,3%	24,7%	100,0%

**Πίνακας 13.3** Συσχέτιση του PD-L1 TPS και του βαθμού κακοήθειας (grade) των όγκων

<b>p-value=0,005</b> OR=11,76, 95% CI: (1,47,90,9)			<b>PD-L1 TPS ≥ 5%</b>		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>GRADE (WHO 2022)</b>	Low	n	23	1	53
		%	95,8%	4,2%	100,0%
	High	n	35	18	24
		%	66%	34%	100,0%
Σύνολο		n	58	19	77
		%	75,3%	24,7%	100,0%

Οι ασθενείς με υψηλόβαθμης κακοήθειας όγκους έχουν 11,76 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να παρουσιάσουν θετική έκφραση PD-L1 TPS σε σύγκριση με τους ασθενείς με χαμηλόβαθμης κακοήθειας όγκους.

**Πίνακας 13.4** Συσχέτιση του PD-L1 TPS και του σταδίου

<p><b>p-value&lt;0.001</b> OR=4,81, 95% CI: (1,58,14,71)</p>			<p><b>PD-L1 TPS ≥ 5%</b></p>		<p>Σύνολο</p>
			<p>Αρνητική έκφραση PD-L1</p>	<p>Θετική έκφραση PD-L1</p>	
<p><b>Στάδιο</b></p>	<p>pTa/pT1</p>	<p>n</p>	<p>40</p>	<p>6</p>	<p>46</p>
		<p>%</p>	<p>87%</p>	<p>13%</p>	<p>100,0%</p>
	<p>pT2</p>	<p>n</p>	<p>18</p>	<p>13</p>	<p>31</p>
		<p>%</p>	<p>58,1%</p>	<p>41,9%</p>	<p>100,0%</p>
<p>Σύνολο</p>		<p>n</p>	<p>58</p>	<p>19</p>	<p>77</p>
		<p>%</p>	<p>75,3%</p>	<p>24,7%</p>	<p>100,0%</p>

Οι ασθενείς με καρκινώματα σταδίου pT2 έχουν 4,81 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να παρουσιάσουν θετική έκφραση PD-L1 TPS σε σύγκριση με τους ασθενείς με όγκους σταδίων pTa/pT1.



**Πίνακας 13.5.** Πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση του PD-L1 TPS

Παράμετρος	Estimate	OR	Standard Error	95% CI for OR	p-value
Υπότυπος Luminal (reference)	0	1	-	-	-
Υπότυπος Basal	0.24	1.27	0.69	(0.33,4.88)	0.726
Φύλο: Άρρεν (reference)	0	1	-	-	-
Φύλο: Θήλυ	-1.2	0.3	0.86	(0.06,1.62)	0.162
Grade: Low (reference)	0	1	-	-	-
Grade: High	1.97	7.19	1.12	(0.8,64.71)	0.078
Στάδιο: pTa/pT1 (reference)	0	1	-	-	-
Στάδιο: pT2	0.94	2.56	0.72	(0.62,10.48)	0.193

Μετά την εφαρμογή του πολυπαραγοντικού μοντέλου στατιστικής ανάλυσης, οι μεταβλητές βαθμού κακοήθειας και σταδίου δεν σχετίζονται ανεξάρτητα με το PD-L1 TPS. Όλες οι άλλες μεταβλητές παραμένουν μη σημαντικές.

➤ **Συσχέτιση μεταξύ του PD-L1 CPS με cutoff 1% και των παραμέτρων της μελέτης**

**Πίνακας 14.1** Συσχέτιση του CPS PD-L1 και του υποτύπου

p-value=0,169			PD-L1 CPS≥ 1%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Υπότυπος</b>	Basal	n	8	15	23
		%	34,8%	65,2%	100,0%
	Luminal	n	28	26	54
		%	51,9%	48,1%	100,0%
<b>Σύνολο</b>		n	36	41	77
		%	46,8%	53,2%	100,0%

**Πίνακας 14.2** Συσχέτιση του PD-L1 CPS και του φύλου

p-value=0,405			PD-L1 CPS ≥ 1%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Φύλο</b>	Θήλυ	n	6	10	16
		%	37,5%	62,5%	100,0%
	Άρρεν	n	30	31	61
		%	49,2%	50,8%	100,0%
Σύνολο		n	n	41	77
		%	46,8%	53,2%	100,0%

**Πίνακας 14.3** Συσχέτιση του PD-L1 CPS και του βαθμού κακοήθειας (grade) των όγκων

<p><b>p-value=0,018</b> OR:3.3, 95% CI: (1.2,9.1)</p>			PD-L1 CPS≥ 1%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>GRADE (WHO 2022)</b>	Low	n	16	8	53
		%	66,7%	33,3%	100,0%
	High	n	20	33	24
		%	37,7%	62,3%	100,0%
Σύνολο		n	36	41	77
		%	46,8%	53,2%	100,0%

Οι ασθενείς με υψηλόβαθμης κακοήθειας καρκινώματα έχουν 3,3 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να παρουσιάσουν θετική έκφραση PD-L1 CPS σε σύγκριση με τους ασθενείς με χαμηλόβαθμης κακοήθειας όγκους.

**Πίνακας 14.4** Συσχέτιση του PD-L1 CPS και του σταδίου

<p><b>p-value=0,002</b> OR=4,46, 95% CI: (1,65,12,2)</p>			<p><b>PD-L1 CPS ≥ 1%</b></p>		<p>Σύνολο</p>
			<p>Αρνητική έκφραση PD-L1</p>	<p>Θετική έκφραση PD-L1</p>	
<p><b>Στάδιο</b></p>	<p>pTa/pT1</p>	<p>n</p>	<p>28</p>	<p>18</p>	<p>46</p>
		<p>%</p>	<p>60,9%</p>	<p>39,1%</p>	<p>100,0%</p>
	<p>pT2</p>	<p>n</p>	<p>8</p>	<p>23</p>	<p>31</p>
		<p>%</p>	<p>25,8%</p>	<p>74,2%</p>	<p>100,0%</p>
<p>Σύνολο</p>		<p>n</p>	<p>36</p>	<p>41</p>	<p>77</p>
		<p>%</p>	<p>46,8%</p>	<p>53,2%</p>	<p>100,0%</p>

Οι ασθενείς με καρκινώματα σταδίου pT2 έχουν 4,46 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να παρουσιάσουν θετική έκφραση PD-L1 CPS σε σύγκριση με τους ασθενείς σταδίων pTa/pT1.

**Πίνακας 14.5** Πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση του PD-L1 CPS

Παράμετρος	Estimate	OR	Standard Error	95% CI for OR	p-value
Υπότυπος Luminal (reference)	0	1	-	-	-
Υπότυπος Basal	-0.23	0.8	0.69	(0.21,3.07)	0.74
Φύλο: Άρρεν (reference)	0	1	-	-	-
Φύλο: Θήλυ	0.48	1.61	0.62	(0.48,5.46)	0.443
Grade: Low (reference)	0	1	-	-	-
Grade: High	0.61	1.83	0.59	(0.58,5.83)	0.304
Στάδιο: pTa/pT1 (reference)	0	1	-	-	-
Στάδιο: pT2	1.35	3.86	0.7	(0.99,15.09)	<b>0.052</b>

Μετά την εφαρμογή πολυπαραγοντικού μοντέλου στατιστικής ανάλυσης, το στάδιο είναι οριακά στατιστικά σημαντικό. Η βαθμός κακοήθειας δεν σχετίζεται ανεξάρτητα με το PD-L1 CPS. Όλες οι άλλες μεταβλητές παραμένουν μη σημαντικές.

➤ **Συσχέτιση μεταξύ του PD-L1 CPS με cutoff 5% και των παραμέτρων της μελέτης**

**Πίνακας 15.1** Συσχέτιση του CPS PD-L1 και του υπότυπου

<p><b>p-value=0,009</b> OR=3,82, 95% CI: (1,35,10,75)</p>			PD-L1 CPS≥ 5%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Υπότυπος</b>	Basal	n	11	12	23
		%	47,8%	52,2%	100,0%
	Luminal	n	42	12	54
		%	77,8%	22,2%	100,0%
<b>Σύνολο</b>		n	53	24	77
		%	68,8%	31,2%	100,0%

Οι ασθενείς με βασικό ανοσοφαινότυπο έχουν 3,82 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να παρουσιάσουν θετική έκφραση του CPS PD-L1 σε σύγκριση με τους ασθενείς με αυλικό ανοσοφαινότυπο.

**Πίνακας 15.2** Συσχέτιση του PD-L1 CPS και του φύλου

p-value=0,549			PD-L1 CPS≥ 5%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Φύλο</b>	Θήλυ	n	12	4	16
		%	75,0%	25,0%	100,0%
	Άρρεν	n	41	20	61
		%	67,2%	32,8%	100,0%
Σύνολο		n	n	24	77
		%	68,8%	31,2%	100,0%



**Πίνακας 15.3** Συσχέτιση του PD-L1 CPS και του βαθμού κακοήθειας (grade)

<p><b>p-value=0,004</b> OR=7,81, 95% CI: (1,66,37,03)</p>			<p><b>PD-L1 CPS ≥ 5%</b></p>		<p>Σύνολο</p>
			<p>Αρνητική έκφραση PD-L1</p>	<p>Θετική έκφραση PD-L1</p>	
<p><b>GRADE (WHO 2022)</b></p>	<p>Low</p>	<p>n</p>	<p>22</p>	<p>2</p>	<p>53</p>
		<p>%</p>	<p>91,7%</p>	<p>8,3%</p>	<p>100,0%</p>
	<p>High</p>	<p>n</p>	<p>31</p>	<p>22</p>	<p>24</p>
		<p>%</p>	<p>58,5%</p>	<p>41,5%</p>	<p>100,0%</p>
<p>Σύνολο</p>		<p>n</p>	<p>53</p>	<p>24</p>	<p>77</p>
		<p>%</p>	<p>68,8%</p>	<p>31,2%</p>	<p>100,0%</p>

Οι ασθενείς με υψηλόβαθμης κακοήθειας όγκους έχουν 7,81 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να παρουσιάσουν θετική έκφραση PD-L1 CPS σε σύγκριση με τους ασθενείς με χαμηλόβαθμης κακοήθειας καρκινώματα.

**Πίνακας 15.4** Συσχέτιση του PD-L1 CPS και του σταδίου

<p><b>p-value&lt;0.001</b> OR=6,76, 95% CI: (2,32,19,61)</p>			PD-L1 CPS ≥ 5%		Σύνολο
			Αρνητική έκφραση PD-L1	Θετική έκφραση PD-L1	
<b>Στάδιο</b>	pTa/pT1	n	39	7	46
		%	84,8%	15,2%	100,0%
	pT2	n	14	17	31
		%	45,2%	54,8%	100,0%
<b>Σύνολο</b>		n	53	24	77
		%	68,8%	31,2%	100,0%

Οι ασθενείς με καρκινώματα σταδίου pT2 έχουν 6,76 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν θετική έκφραση PD-L1 CPS σε σύγκριση με τους ασθενείς με όγκους σταδίου pTa/pT1.

**Πίνακας 15.5** Πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση του PD-L1 CPS

Παράμετρος	Estimate	OR	Standard Error	95% CI for OR	p-value
Υπότυπος Luminal (reference)	0	1	-	-	-
Υπότυπος Basal	0.44	1.55	0.65	(0.43,5.59)	0.504
Φύλο: Άρρεν (reference)	0	1	-	-	-
Φύλο: Θήλυ	-0.54	0.58	0.72	(0.14,2.36)	0.447
Grade: Low (reference)	0	1	-	-	-
Grade: High	1.32	3.75	0.87	(0.69,20.58)	0.128
Στάδιο: pTa/pT1 (reference)	0	1	-	-	-
Στάδιο: pT2	1.26	3.52	0.69	(0.91,13.62)	0.068

Μετά την εφαρμογή του μοντέλου πολυμεταβλητής στατιστικής ανάλυσης, οι μεταβλητές υπότυπου, βαθμού κακοήθειας και σταδίου δεν σχετίζονται ανεξάρτητα με το PD-L1 CPS. Όλες οι άλλες μεταβλητές παραμένουν μη σημαντικές.

#### 4. Συζήτηση.

Τα καρκινώματα της ουροδόχου κύστης αποτελούν εξαιρετικά ετερογενείς όγκους με ανώμαλη πρωτεϊνική έκφραση των δεικτών τελικής διαφοροποίησης, γεγονός που υποδηλώνει ψευδο-διαφοροποίηση (pseudo-differentiation) (98). Ως εκ τούτου, στις αναλύσεις του mRNA μπορούμε να παρατηρήσουμε την ομαδοποίηση όγκων με διαφορετικούς φαινότυπους καρκινικών κυττάρων και την απόκλιση (cluster-apart) όγκων με ταυτόσημους φαινότυπους καρκινικών κυττάρων (98). Αυτή η απόκλιση/σύγκλιση συνηγορεί υπέρ του ότι μπορεί να υπάρχει καθολική ομοιότητα (global commonality) μεταξύ μυοδιηθητικών ουροθηλιακών καρκινωμάτων, ανεξάρτητα από τον ειδικό φαινότυπο των καρκινικών κυττάρων. Οι Sjodahl και συνεργάτες. (98) πρότειναν την ανάλυση του mRNA των όγκων σε συνδυασμό με τη μοριακή παθολογία για τη δημιουργία μιας επαρκούς ταξινόμησης των υπότυπων των μυοδιηθητικών ουροθηλιακών καρκινωμάτων.

Ωστόσο, η εφαρμογή αυτής της προσέγγισης στην καθημερινή ρουτίνα των παθολογοανατόμων δεν είναι ρεαλιστική, ενώ παράλληλα συνεπάγεται υψηλό κόστος, ιδιαίτερα, αν ληφθεί υπόψη η εκτεταμένη αλληλοεπικάλυψη που εμφανίζουν οι μοριακοί υπότυποι αυτών των όγκων. Όπως προτείνεται από τους Dadhanian και συνεργάτες. (115) οι όγκοι ασθενών που είναι CK5/6 θετικοί και GATA3 αρνητικοί μπορούν να ταξινομηθούν ως basal ενώ οι όγκοι εκείνοι που είναι CK5/6 αρνητικοί και GATA3 θετικοί μπορούν να ταξινομηθούν ως luminal. Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει τη δυνατότητα περαιτέρω υποτυποποίησης των παραπάνω μοριακών υπότυπων, όπως διαπιστώθηκε στο πρόσφατο consensus μοριακής ταξινόμησης των Kamoun και συνεργάτες. (99), τόσο με βάση την έκφραση των δεικτών p16 και FGFR3 όσο και με την ιστολογική τους εικόνα (112,113). Πιο συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε πως οι LumP όγκοι είναι p16(-) και FGFR3(+) με χαρακτηριστική

θηλώδη διαμόρφωση, ενώ οι LumNS είναι p16(+) και FGFR3(-) και αφορούν τα συμπαγή μυοδιηθητικά καρκινώματα. Τέλος, οι όγκοι LumU μοιράζονται τον ίδιο ανοσοφαινότυπο με την κατηγορία LumP, αλλά συνδέονται με τα μικροθηλώδη ουροθηλιακά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης (99). Στη μελέτη μας δεν προσπαθήσαμε να διακρίνουμε ανοσοϊστοχημικά τους luminal όγκους στις υποκατηγορίες τους, καθώς το ευρύ και πολύπλοκο μοριακό υπόβαθρο σε συνδυασμό με την εκτεταμένη μοριακή ετερογένεια των όγκων της ουροδόχου κύστης θα συνιστούσε την προσπάθειά μας ανακόλουθη.

Ως εκ τούτου, προτείνουμε τη χρήση ενός βασικού ανοσοϊστοχημικού πάνελ (111,114) που μπορεί να χρησιμοποιείται στη ρουτίνα των παθολοανατόμων όποτε αντιμετωπίζουν ουροθηλιακά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης. Η ανοσοϊστοχημική χρήση των CK5/6 και GATA3 για την ευρεία ταξινόμηση των ασθενών σε δύο κατηγορίες-ομπρέλα, τους basal και luminal όγκους, ταυτόχρονα με την συναξιολόγηση της ιστολογικής τους εικόνας μπορεί να με αρκετή ακρίβεια να προβλέψει τους υπότυπους τους. Επιπλέον, προσθέτοντας τους ανοσοϊστοχημικούς δείκτες p16 και FGFR3 μπορεί να προσφέρει μια πιο ακριβή μοριακή υποτυποποίηση (99,111).

Τα τελευταία χρόνια το τοπίο στα ουροθηλιακά καρκινώματα παρέμενε σχετικά αμετάβλητο όσον αφορά τη χρήση βιοδεικτών που θα μπορούσαν να προβλέψουν την ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία. Η μελέτη μας επιβεβαίωσε ότι οι όγκοι της ουροδόχου κύστης με ανεπάρκεια του συστήματος επιδιόρθωσης των βλαβών του DNA (MMR-d) υπάρχουν σε πολύ μικρό ποσοστό και ως εκ τούτου δεν μπορούσαν να γίνουν συσχετίσεις με την έκφραση του PD-L1. Παρ' όλα αυτά, σε αντίθεση με όσα ανέφεραν στην εργασία τους οι Fraune και συνεργάτες. (120) σχετικά με την ετερογενή έκφραση των πρωτεϊνών του MMR, αναφέροντας ότι η όποια ετερογενής

έκφραση του MMR οφείλεται είτε σε βιολογικούς λόγους (μονιμοποίηση κ.λπ.) είτε σε σφάλματα κατά την ανοσοϊστοχημεία και σε διάφορα άλλα τεχνικά ζητήματα, εμείς προτείνουμε ότι η απώλεια ετερογενούς έκφρασης οποιασδήποτε από τις MMR πρωτεΐνες δεν συνδέεται απαραίτητα με τεχνικούς ή βιολογικούς παράγοντες που παρεμβαίνουν στην έκφρασή τους, αλλά με ένα MSI-high status στις περιοχές αυτές. Σε αυτές τις περιπτώσεις, συνιστάται περαιτέρω διερεύνηση με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) ή αλληλούχιση επόμενης γενιάς (NGS).

Ορισμένες μελέτες έχουν προτείνει τη χρήση του φορτίου μεταλλάξεων του όγκου (TMB) ως δυνητικού βιοδείκτη για την ανοσοθεραπεία, με αντικρουόμενα ωστόσο αποτελέσματα, κυρίως όσον αφορά τις προκλήσεις στην ενοποίηση (unifying) και την τυποποίηση του ορισμού του φορτίου μεταλλάξεων (121). Είναι αυτονόητο ότι απαιτούνται τυποποιημένοι, αναπαραγώγιμοι βιοδείκτες για την καθοδήγηση των θεραπευτικών αποφάσεων, καθώς μέχρι σήμερα καμία εξέταση δεν έχει παράσχει επαναληψιμότητα για την πρόβλεψη της ανταπόκρισης στην ανοσοθεραπεία.

Στη μελέτη μας, η αξιολόγηση όλων των αλγορίθμων αξιολόγησης της έκφρασης του PD-L1 (ICs, TPS, CPS) παρείχε σημαντικές συσχετίσεις με το στάδιο του όγκου (pT2) και τον βαθμό κακοήθειας (HG) σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες (122-125). Επιπλέον, παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της θετικότητας του PD-L1 και των ασθενών με καρκίνο της ουροδόχου κύστης σταδίων pTa/pT1, με περισσότερους από τους μισούς ασθενείς να έχουν ICs score >1%. Ωστόσο, αν και η συσχέτιση δεν έφτασε σε στατιστική σημαντικότητα, το υψηλό ποσοστό των PD-L1 θετικών pTa/pT1 υποδηλώνει ότι οι ασθενείς με επιφανειακά ουροθηλιακά καρκινώματα θα μπορούσαν επίσης να επωφεληθούν από την ανοσοθεραπεία. Επί του παρόντος μόνο μία κλινική δοκιμή διεξάγεται για ασθενείς με καρκινώματα

σταδίου pTa, οι οποίοι δεν μπορούν να λάβουν ανοσοθεραπεία με BCG (ineligible) (125).

Διαφορετικές προγνώσεις και ευαισθησίες στη χημειοθεραπεία έχουν αναφερθεί ότι σχετίζονται με διαφορετικούς μοριακούς υπότυπους. Η κλινική δοκιμή CheckMate, φάσης III, ανέφερε διαφορετικές ανοσοθεραπευτικές αποκρίσεις στη θεραπεία με Nivolumab, κάθε μία από τις οποίες αντιστοιχεί σε ξεχωριστό μοριακό υπότυπο ασθενών με μεταστατικά ουροθηλιακά καρκινώματα, με την υψηλότερη ανταπόκριση να αναφέρεται στην ομάδα TCGA III που αντιστοιχεί στα basal τύπου καρκινώματα (119). Επιπλέον, οι Hodgson και συνεργάτες, (126) αφού απέδειξαν ότι τα μυοδιηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα μπορούν να ταξινομηθούν σε basal και luminal υπότυπους με βάση την έκφραση των CK5/6 και GATA3, μελέτησαν κάθε υπότυπο ως προς την έκφραση του PD-L1 (κλώνος SP263) (126). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι βασικού (basal) τύπου όγκοι είχαν υψηλότερη θετικότητα του PD-L1 σε σύγκριση με την κατηγορία των αυλικών (luminal) όγκων (126). Τα προαναφερθέντα ευρήματα συνάδουν με τα δικά μας αποτελέσματα που δείχνουν ότι οι όγκοι βασικού τύπου επιδεικνύουν υψηλότερη έκφραση του PD-L1.

Συνοψίζοντας, τα στοιχεία που παρέχει η μελέτη μας σχετικά με το πρότυπο έκφρασης του PD-L1 στους basal και luminal ανοσοφαινοτύπους των ουροθηλιακών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης, συμφωνούν σε μεγάλο βαθμό με τα ευρήματα προηγούμενων αναλύσεων. Ωστόσο, ορισμένοι περιορισμοί απορρέουν κυρίως από το σχετικά μικρό μέγεθος του δείγματος μας και από το γεγονός ότι η αξιολόγησή μας βασίστηκε στην καθαρά ανοσοϊστοχημική μελέτη έκφρασης των πρωτεϊνών ενδιαφέροντος. Ειδικά στην περίπτωση του PD-L1 παρατηρούνται σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των διαφόρων ομάδων, οι οποίες μπορούν να αποδοθούν τόσο στους διαφορετικούς κλώνους αντισωμάτων όσο και στα διαφορετικά cut-offs που

χρησιμοποιήθηκαν και στα κριτήρια επιλογής τους. Επιπλέον, η έλλειψη μοριακής ανάλυσης των δειγμάτων μας, σημαίνει ότι η κατηγοριοποίησή τους σε luminal και basal όγκους βασίστηκε στην ανοσοϊστοχημική αντίχνευση των δύο δεικτών (GATA-3, CK5/6). Ως αποτέλεσμα, δεν ήμασταν σε θέση να ενσωματώσουμε την ακριβέστερη, μοριακή ταξινόμηση των έξι μοριακών υπότυπων ουροθηλιακών καρκινωμάτων. Τα δεδομένα από τις ανοσοϊστοχημικές μελέτες θα πρέπει να συμπληρωθούν από γονιδιακές/μεταγραφικές αναλύσεις, οι οποίες μπορούν να προσφέρουν μια πιο εμπεριστατωμένη εικόνα των συσχετίσεων ορισμένων γενετικών μεταβολών και γονιδιακών υπογραφών με το προφίλ έκφρασης του PD-L1. Αυτό θα μπορούσε να έχει μεγάλο αντίκτυπο τόσο από τη σκοπιά της βασικής έρευνας όσο και από την κλινική σκοπιά: θα μπορούσε να συμβάλει στην αποσαφήνιση των ενδοκυτταρικών δικτύων (intracellular networks) που ελέγχουν τα επίπεδα έκφρασης του PD-L1 και στον ακριβή προσδιορισμό πρόσθετων βιοδεικτών, με άμεσο αντίκτυπο στην έκφρασή του (PD-L1), προσφέροντας έτσι προγνωστικούς δείκτες ανταπόκρισης στην ανοσοθεραπεία.

## **E. Συμπεράσματα**

Μετά την επεξεργασία των ανωτέρω αποτελεσμάτων και σε συνδυασμό με τις κλινικοπαθολογοανατομικές συσχετίσεις μας με το PD-L1, προτείνουμε τη χρήση ενός ενιαίου και βασικού ανοσοϊστοχημικού πάνελ (CK5/6, GATA3) για την ανοσοφαινοτυπική ταξινόμηση των ουροθηλιακών καρκινωμάτων στους μοριακούς τους υπότυπους και την ενδεχόμενη κατηγοριοποίηση των ασθενών σε ομάδες πιθανώς-ανταποκρινόμενων και πιθανώς-μη-ανταποκρινόμενων στην ανοσοθεραπεία με PD-L1 με βάση τον μοριακό τους φαινότυπο. Η μελέτη μας ανέδειξε μια ισχυρή και σταθερή συσχέτιση της έκφρασης του PD-L1 με ασθενείς με βασικό ανοσοφαινότυπο, αυξάνοντας την πιθανότητα οι ασθενείς αυτοί να ανταποκρίνονται



στη θεραπεία με PD-L1. Περαιτέρω μελέτες, που θα περιέχουν μεγαλύτερες πληθυσμιακές ομάδες, πρέπει να διεξαχθούν προκειμένου να επιβεβαιωθεί η συσχέτιση μεταξύ των μοριακών υπότυπων των ουροθηλιακών καρκινωμάτων και της ανταπόκρισης στο PD-L1.

## **Abstract**

The significant heterogeneity in clinical outcomes among patients with bladder cancer has highlighted the existence of different biological subtypes of muscle-invasive bladder cancer (MIBC) and non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC).

Meanwhile, immune checkpoint proteins and their interference with tumor-related immune-evasive strategies has led to the development of several immunotherapeutic drugs targeting programmed death-1 (PD-1) or programmed death ligand-1 (PD-L1).

However, the lack of any known biomarker that could predict responses to immunotherapy has led to a more agnostic therapeutic approach. Here, we present a study conducted in 77 bladder cancer (BC) patients ( $n = 77$ ), ranging from stages pTa to pT2. Tumor specimens were resected via transurethral resection of bladder tumor (TURBT) and consisted of 24 low-grade (LG) and 53 high-grade (HG) tumors.

Patients' tumors were then categorized into molecular subtypes, via immunohistochemistry (CK5/6 and GATA3). Furthermore, all tumor specimens were stained with anti-PD-L1 and demonstrated significant correlations with basal immunophenotype, stage pT2 and HG tumors. As such, we attempted to stratify patients into groups of likely-responders and likely-not-responders to immunotherapy with anti-PD-L1, based on their molecular phenotype. Finally, in acknowledging the fact that there is a universal lack of biomarkers associated with predicting BC response to immunotherapeutic drugs, we tested all tumors for deficiency of mismatch repair proteins (MMR).

## Περίληψη

Η σημαντική ετερογένεια στην κλινική έκβαση μεταξύ των ασθενών με καρκίνο της ουροδόχου κύστης έχει αναδείξει την ύπαρξη διαφορετικών βιολογικών υπότυπων τόσο στα μυοδιηθητικά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης (MIBC) όσο και στα μη μυοδιηθητικά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης (NMIBC). Εν τω μεταξύ, η συμβολή των πρωτεϊνών σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος στην ικανότητα των νεοπλασμάτων να αποφεύγουν τους ανοσοποιητικούς μηχανισμούς έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη αρκετών ανοσοθεραπευτικών φαρμάκων που στοχεύουν στην πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θάνατο-1 (PD-1) ή στον συνδέτη της (PD-L1). Ωστόσο, η έλλειψη οποιουδήποτε γνωστού βιοδείκτη που θα μπορούσε να προβλέψει την ανταπόκριση των ασθενών στην ανοσοθεραπεία έχει οδηγήσει σε μια πιο αγνωστική θεραπευτική προσέγγιση. Εδώ, παρουσιάζουμε μια μελέτη που διεξήχθη σε 77 ασθενείς με καρκινώματα της ουροδόχου κύστης (BC) (n = 77), σταδίων pT<sub>a</sub> έως pT<sub>2</sub>. Η χειρουργική αφαίρεση των νεοπλασμάτων έγινε μέσω διουρηθρικής εκτομής (TURBT) και αποτελούνταν από 24 όγκους χαμηλόβαθμης κακοήθειας (LG) και 53 όγκους υψηλόβαθμης κακοήθειας (HG). Οι όγκοι των ασθενών κατηγοριοποιήθηκαν στη συνέχεια σε μοριακούς υποτύπους, μέσω ενός ανοσοϊστοχημικού αλγορίθμου (CK5/6 και GATA3). Επιπλέον, όλα τα δείγματα χρώσθηκαν με anti-PD-L1 επιδεικνύοντας σημαντική συσχέτιση με τον βασικό ανοσοφαινότυπο, τους όγκους σταδίου pT<sub>2</sub> και τα υψηλόβαθμης κακοήθειας καρκινώματα. Ως εκ τούτου, επιχειρήσαμε να κατηγοριοποιήσουμε τους ασθενείς σε ομάδες πιθανώς ανταποκρινόμενων και πιθανώς μη ανταποκρινόμενων στην ανοσοθεραπεία με anti-PD-L1, με βάση τον μοριακό τους φαινότυπο. Τέλος, αναγνωρίζοντας το γεγονός ότι υπάρχει καθολική έλλειψη βιοδεικτών που σχετίζονται με την πρόβλεψη της ανταπόκρισης των ουροθηλιακών καρκινωμάτων σε

ανοσοθεραπευτικούς παράγοντες, εξετάσαμε όλους τους όγκους για πιθανή ύπαρξη ανεπάρκειας του συστήματος ελέγχου επιδιόρθωσης αναντιστοιχιών του DNA (MMR).

## Βιβλιογραφικές αναφορές

- 1) Bray, F.; Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Siegel, R.L.; Torre, L.A.; Jemal, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer J. Clin.* 2018, 68, 394–424.
- 2) Silverman, D.T.; Koutros, S.; Figueroa, J.D.; Prokunina-Olsson, L.; Rothman, N. Bladder cancer. In *Cancer Epidemiology and Prevention*. Thun, M.J.; Linet, M.S.; Cerhan, J.R.; Haiman, C.A.; Schottenfeld, D.E. (Eds.). Oxford University Press: Oxford, UK. 2017.
- 3) Wong, M.C.; Fung, F.D.H.; Leung, C.; Cheung, W.W.L.; Goggins, W.B.; Ng, A.C.F. The global epidemiology of bladder cancer: a joinpoint regression analysis of its incidence and mortality trends and projection. *Sci. Rep.* 2018, 8, 1129
- 4) Saginala K, Barsouk A, Aluru JS, Rawla P, Padala SA, Barsouk A. Epidemiology of Bladder Cancer. *Med Sci (Basel)*. 2020;8(1):15. Published 2020 Mar 13. doi:10.3390/medsci8010015
- 5) Siegel, R. L.; Miller, K. D.; Jemal, A. Cancer statistics, 2019. *CA. Cancer J. Clin.* 2019, 69, 7–34.
- 6) Freedman, N.D.; Silverman, D.T.; Hollenbeck, A.R.; Schatzkin, A.; Abnet, C.C. Association Between Smoking and Risk of Bladder Cancer Among Men and Women. *JAMA* 2011, 306, 737–745
- 7) Centers for Disease Control and Prevention (US); National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (US); Office on Smoking and Health (US). *How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and*

Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease: A Report of the Surgeon General. Center for Disease Control, and Prevention: Atlanta, GE, USA; 2010. ISBN-13: 978-0-16-084078-4

- 8) Hein, D.W. Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 2002, 506, 65–77.
- 9) Garcia-Closas, M.; Malats, N.; Silverman, D.; Dosemeci, M.; Kogevinas, M.; Hein, D.W.; Tardon, A.; Serra, C.; Carrato, A.; García-Closas, R.; και συνεργάτες. NAT2 slow acetylation and GSTM1 null genotypes increase bladder cancer risk: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses. *Lancet* 2005, 366, 649–659.
- 10) Kiemenev, L.A.; Thorlacius, S.; Sulem, P.; Geller, F.; Aben, K.K.; Stacey, S.N.; Gudmundsson, J.; Jakobsdottir, M.; Bergthorsson, J.T.; Sigurdsson, A.; και συνεργάτες. Sequence variant on 8q24 confers susceptibility to urinary bladder cancer. *Nat. Genet.* 2008, 40, 1307–12.
- 11) Van Der Post, R.S.; Kiemenev, L.A.; Ligtenberg, M.J.L.; Witjes, J.A.; De Kaa, C.A.H.-V.; Bodmer, D.; Schaap, L.; Kets, C.M.; Van Krieken, J.H.J.M.; Hoogerbrugge, N. Risk of urothelial bladder cancer in Lynch syndrome is increased, in particular among MSH2 mutation carriers. *J. Med Genet.* 2010, 47, 464–470.
- 12) Riegert-Johnson, D.; Gleeson, F.; E Roberts, M.; Tholen, K.; Youngborg, L.; Bullock, M.; Boardman, L.A. Cancer and Lhermitte-Duclos disease are common in Cowden syndrome patients. *Hered. Cancer Clin. Pr.* 2010, 8, 6.

- 13) Casadei, C.; Dizman, N.; Schepisi, G.; Cursano, M.C.; Basso, U.; Santini, D.; Pal, S.K.; De Giorgi, U. Targeted therapies for advanced bladder cancer: new strategies with FGFR inhibitors. *Ther. Adv. Med Oncol.* 2019, 11.
- 14) Smith, N. D. και συνεργάτες. Bladder cancer mortality in the United States: a geographic and temporal analysis of socioeconomic and environmental factors. *J. Urol.* 195, 290–296 (2016).
- 15) Purdue, M. P., Hutchings, S. J., Rushton, L. & Silverman, D. T. The proportion of cancer attributable to occupational exposures.
- 16) Meliker, J. R.; Nriagu, J. O. Arsenic in drinking water and bladder cancer: Review of epidemiological evidence. *Trace Met. other Contam. Environ.* 2007, 9, 551–584.
- 17) Kurttio, P.; Pukkala, E.; Kahelin, H.; Auvinen, A.; Pekkanen, J. Arsenic concentrations in well water and risk of bladder and kidney cancer in Finland. *Environ. Health Perspect.* 1999, 107, 705–710.
- 18) Ross, A.G.; Inobaya, M.T.; Olveda, R.M.; Chau, T.N.; Olveda, D.U. Prevention and control of schistosomiasis: A current perspective. *Res. Rep. Trop. Med.* 2014, 2014, 65–75.
- 19) Zaghloul, M.S. Bladder cancer and schistosomiasis. *J. Egypt. Natl. Cancer Inst.* 2012, 24, 151–159.
- 20) Mostafa, M.H.; Sheweita, S.; O'Connor, P.J. Relationship between Schistosomiasis and Bladder Cancer. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999, 12, 97–111.
- 21) SEER\*Explorer. Available online: <https://seer.cancer.gov/explorer/> (accessed on 13 January 2020).
- 22) Stephenson WT, Holmes FF, Noble MJ, Gerald KB. Analysis of bladder carcinoma by subsite. Cystoscopic location may have prognostic

- value. *Cancer*. 1990;66(7):1630-1635. doi:10.1002/1097-0142(19901001)66:7<1630::aid-cnrcr2820660730>3.0.co;2-7
- 23) APA Epstein, Jonathan I. M.D.; Amin, Mahul B. M.D.; Reuter, Victor R. M.D.; Mostofi, Fathollah K. M.D. The Bladder Consensus Conference Committee The World Health Organization/International Society of Urological Pathology Consensus Classification of Urothelial (Transitional Cell) Neoplasms of the Urinary Bladder, *The American Journal of Surgical Pathology*: December 1998 - Volume 22 - Issue 12 - p 1435-1448
- 24) Cheng L, M Darson, JC Cheville, και συνεργάτες.: Urothelial papilloma of the bladder. Clinical and biologic implications. *Cancer*. 86 (10):2098-2101 1999
- 25) Sobin DH, Wittekind CH, editors. TNM classification of malignant tumours, 6th ed. New York, New York: WileyLiss; 2002. p. 199–202.
- 26) Amin, M. Histological variants of urothelial carcinoma: diagnostic, therapeutic and prognostic implications. *Mod Pathol* **22**, S96–S118 (2009). <https://doi.org/10.1038/modpathol.2009.26>
- 27) National Collaborating Center for Cancer. [Accessed 1 Nov 2017];Bladder Cancer: Diagnosis and Management. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305022/pdf/Bookshelf\\_NBK305022.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305022/pdf/Bookshelf_NBK305022.pdf).
- 28) Salmanoglu, E., Halpern, E., Trabulsi, E.J. και συνεργάτες. A glance at imaging bladder cancer. *Clin Transl Imaging* **6**, 257–269 (2018). <https://doi.org/10.1007/s40336-018-0284-9>
- 29) Lotan, Y. και συνεργάτες. Bladder cancer screening in a high risk asymptomatic population using a point of care urine based protein tumor marker. *J. Urol*. 182, 52–57 (2009)



- 30) Schmitz-Dräger B, J, Droller M, Lokeshwar V, B, Lotan Y, Hudson M, A, van Rhijn B, W, Marberger M, J, Fradet Y, Hemstreet G, P, Malmstrom P, -U, Ogawa O, Karakiewicz P, I, Shariat S, F: Molecular Markers for Bladder Cancer Screening, Early Diagnosis, and Surveillance: The WHO/ICUD Consensus. *Urol Int* 2015;94:1-24. doi: 10.1159/000369357
- 31) Lotan, Y. Analysis of genetics to identify susceptibility to secondary malignancies in patients with bladder cancer. *BJU Int.* 118, 12–13 (2016)
- 32) Babjuk M, Böhle A, Burger M, και συνεργάτες. EAU Guidelines on Non-Muscle-invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder: Update 2016. *Eur Urol* 2017;71:447-61. 10.1016/j.eururo.2016.05.041
- 33) Sanli, O., Dobrauch, J., Knowles, M. και συνεργάτες. Bladder cancer. *Nat Rev Dis Primers* 3, 17022 (2017). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.22>
- 34) Böhle, A., Jocham, D. & Bock, P. R. Intravesical bacillus Calmette–Guerin versus mitomycin C for superficial bladder cancer: a formal meta-analysis of comparative studies on recurrence and toxicity. *J. Urol.* 169, 90–95 (2003)
- 35) Lamm, D. L. και συνεργάτες. Maintenance bacillus Calmette–Guerin immunotherapy for recurrent TA, T1 and carcinoma in situ transitional cell carcinoma of the bladder: a randomized Southwest Oncology Group Study. *J. Urol.* 163, 1124–1129 (2000). A landmark study of the role of BCG in the management of NMIBC
- 36) Sylvester, R. J., Oosterlinck, W. & van der Meijden, A. P. M. A single immediate postoperative instillation of chemotherapy decreases the risk of recurrence in patients with stage Ta T1 bladder cancer: a meta-analysis of published results of randomized clinical trials. *J. Urol.* 171, 2186–2190 (2004)

- 37) Alfred Witjes, J. και συνεργάτες. Updated 2016 EAU guidelines on muscle-invasive and metastatic bladder cancer. *Eur. Urol.* 71, 462–475 (2017)
- 38) Willis, D. L. και συνεργάτες. Micropapillary bladder cancer: current treatment patterns and review of the literature. *Urol. Oncol.* 32, 826–832 (2014)
- 39) Martin-Doyle, W., Leow, J.J., Orsola, A., Chang, S.L. & Bellmunt, J. Improving selection criteria for early cystectomy in high-grade t1 bladder cancer: a meta-analysis of 15,215 patients. *J. Clin Oncol.* 33, 643–650 (2015)
- 40) AG Coutts, KM Grigor, JW Fowler: Urethral dysplasia and bladder cancer in cystectomy specimens. *Br J Urol.* 57 (5):535-541 1985
- 41) Leissner, J. και συνεργάτες. Extended radical lymphadenectomy in patients with urothelial bladder cancer: results of a prospective multicenter study. *J. Urol.* 171, 139–144 (2004)
- 42) Perera, M., McGrath, S., Sengupta, S. και συνεργάτες. Pelvic lymph node dissection during radical cystectomy for muscle-invasive bladder cancer. *Nat Rev Urol* 15, 686–692 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41585-018-0066-1>
- 43) Jensen, J. B., Ulhoi, B. P. & Jensen, K. M. Extended versus limited lymph node dissection in radical cystectomy: impact on recurrence pattern and survival. *Int. J. Urol.* 19, 39–47 (2012)
- 44) World Health Organization (WHO) Consensus Conference on Bladder Cancer και συνεργάτες. Urinary diversion. *Urology* 69, 17–49 (2007)
- 45) Lobo N, Mount C, Omar K, Nair R, Thurairaja R, Khan MS. Landmarks in the treatment of muscle-invasive bladder cancer. *Nat Rev Urol.* 2017;14(9):565-574. doi:10.1038/nrurol.2017.82
- 46) Lawrenstchuck, N. and Chang, D.T. *Urol. Ann.* 7, 1–7 (2015)

- 47) Advanced Bladder Cancer (ABC) Meta-analysis Collaboration. Neoadjuvant chemotherapy in invasive bladder cancer: update of a systematic review and meta-analysis of individual patient data: advanced bladder cancer (ABC) meta-analysis collaboration. *Eur. Urol.* 48, 202–205 (2005)
- 48) Leow, J. J. και συνεργάτες. Adjuvant chemotherapy for invasive bladder cancer: a 2013 updated systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Eur. Urol.* 66, 42–54 (2014)
- 49) Knowles, M. A. & Hurst, C. D. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity. *Nat. Rev. Cancer* 15, 25–41 (2015)
- 50) Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature* 507, 315–322 (2014).
- 51) Hurst, C. D., Platt, F. M., Taylor, C. F. & Knowles, M. A. Novel tumor subgroups of urothelial carcinoma of the bladder defined by integrated genomic analysis. *Clin. Cancer Res.* 18, 5865–5877 (2012).
- 52) Dueñas, M., Martínez-Fernández, M., García-Escudero, R., Villacampa, F., Marqués, M., Saiz-Ladera, C., Duarte, J., Martínez, V., Gómez, M.J., Martín, M.L., Fernández, M., Castellano, D., Real, F.X., Rodriguez-Peralto, J.L., De La Rosa, F. and Paramio, J.M. (2015), *PIK3CA* gene alterations in bladder cancer are frequent and associate with reduced recurrence in non-muscle invasive tumors. *Mol. Carcinog.*, 54: 566-576. doi:[10.1002/mc.22125](https://doi.org/10.1002/mc.22125)
- 53) Solomon, J. P., & Hansel, D. E. (2016). *The Emerging Molecular Landscape of Urothelial Carcinoma. Surgical Pathology Clinics*, 9(3), 391–404. doi:10.1016/j.path.2016.04.004

- 54) Reddy, E., Reynolds, R., Santos, E. και συνεργάτες. A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene. *Nature* **300**, 149–152 (1982).  
<https://doi.org/10.1038/300149a0>
- 55) Billerey, C. και συνεργάτες. Frequent FGFR3 mutations in papillary non-invasive bladder (pTa) tumors. *Am. J. Pathol.* **158**, 1955–1959 (2001)
- 56) Turner, N., Grose, R. Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. *Nat Rev Cancer* **10**, 116–129 (2010). <https://doi.org/10.1038/nrc2780>
- 57) Tomlinson, D., Baldo, O., Harnden, P. and Knowles, M. (2007), FGFR3 protein expression and its relationship to mutation status and prognostic variables in bladder cancer. *J. Pathol.*, **213**: 91-98. doi:[10.1002/path.2207](https://doi.org/10.1002/path.2207)
- 58) Sarah V. Williams, Carolyn D. Hurst, Margaret A. Knowles, Oncogenic FGFR3 gene fusions in bladder cancer, *Human Molecular Genetics*, Volume 22, Issue 4, 15 February 2013, Pages 795–803, <https://doi.org/10.1093/hmg/dds486>
- 59) Blaveri, E. και συνεργάτες. Bladder cancer stage and outcome by array-based comparative genomic hybridization. *Clin. Cancer Res.* **11**, 7012–7022 (2005).
- 60) Askham, J. M. και συνεργάτες. AKT1 mutations in bladder cancer: identification of a novel oncogenic mutation that can co-operate with E17K. *Oncogene* **29**, 150–155 (2010).
- 61) Ross, J. S. και συνεργάτες. A high frequency of activating extracellular domain ERBB2 (HER2) mutation in micropapillary urothelial carcinoma. *Clin. Cancer Res.* **20**, 68–75 (2014)

- 62) Tomlinson, D. C. & Knowles, M. A. Altered splicing of FGFR1 is associated with high tumor grade and stage and leads to increased sensitivity to FGF1 in bladder cancer. *Am. J. Pathol.* 177, 2379–2386 (2010).
- 63) Tomlinson, D. C., L'Hôte, C. G., Kennedy, W., Pitt, E. & Knowles, M. A. 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.* 65, 10441–10449 (2005)
- 64) Tomlinson, D. C., Baxter, E. W., Loadman, P. M., Hull, M. A. & Knowles, M. A. FGFR1-induced epithelial to mesenchymal transition through MAPK/PLC $\gamma$ /COX-2-mediated mechanisms. *PLoS ONE* 7, e38972 (2012).
- 65) Mitra AP, Hansel DE, Cote RJ. Prognostic value of cell-cycle regulation biomarkers in bladder cancer. *Semin Oncol* 2012;39(5):524–33
- 66) Dalbagni G, Presti JC, Reuter VE, και συνεργάτες. Molecular genetic alterations of chromosome 17 and p53 nuclear overexpression in human bladder cancer. *Diagn Mol Pathol* 1993;2(1):4–13.
- 67) Esrig D, Elmajian D, Groshen S, και συνεργάτες. Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *N Engl J Med* 1994;331(19):1259–64
- 68) Ching, C. B. και συνεργάτες. HER2 gene amplification occurs frequently in the micropapillary variant of urothelial carcinoma: analysis by dual-color in situ hybridization. *Mod. Pathol.* 24, 1111–1119 (2011)
- 69) Shinagare AB, Ramaiya NH, Jagannathan JP, Fennessy FM, Taplin ME, Van den Abbeele AD. Metastatic pattern of bladder cancer: Correlation with the

- characteristics of the primary tumor. *Am J Roentgenol*. 2011;196(1):117–122.  
doi: 10.2214/AJR.10.5036
- 70) Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL, Ulbright TM, Reuter VE. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur Urol*. 2016;70(1):106–119.  
doi: 10.1016/j.eururo.2016.02.028
- 71) Lindgren D, Frigyesi A, Gudjonsson S, Sjö Dahl G, Hallden C, Chebil G, Veerla S, Ryden T, Månsson W, Liedberg F, Höglund M. Combined gene expression and genomic profiling define two intrinsic molecular subtypes of urothelial carcinoma and gene signatures for molecular grading and outcome. *Cancer Res*. 2010;70(9):3463–3472. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4213
- 72) Sjö Dahl G, Lauss M, Lövgren K, Chebil G, Gudjonsson S, Veerla S, Patschan O, Aine M, Fernö M, Ringnér M, Månsson W, Liedberg F, Lindgren D, Höglund M. A molecular taxonomy for urothelial carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2012;18(12):3377–3386. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0077-T
- 73) Aine M, Eriksson P, Liedberg F, Sjö Dahl G, Höglund M. Biological determinants of bladder cancer gene expression subtypes. *Sci Rep*. 2015;5:10957. doi: 10.1038/srep10957
- 74) Sjö Dahl G, Eriksson P, Liedberg F, Höglund M. Molecular classification of urothelial carcinoma: Global mRNA classification versus tumour-cell phenotype classification. *J Pathol*. 2017;242(1):113–125.  
doi: 10.1002/path.4886
- 75) Marzouka NA, Eriksson P, Rovira C, Liedberg F, Sjö Dahl G, Höglund M. A validation and extended description of the Lund taxonomy for urothelial

- carcinoma using the TCGA cohort. *Sci Rep.* 2018;8(1):3737.  
doi: 10.1038/s41598-018-22126-x
- 76) Mo Q, Nikolos F, Chen F, Tramel Z, Lee YC, Hayashi K, Xiao J, Shen J, Chan KS. Prognostic power of a tumor differentiation gene signature for bladder urothelial carcinomas. *J Natl Cancer Inst.* 2018;110(5):448–459.  
doi: 10.1093/jnci/djx243
- 77) Damrauer JS, Hoadley KA, Chism DD, Fan C, Tiganelli CJ, Wobker SE, Yeh JJ, Milowsky MI, Iyer G, Parker JS, Kim WY. Intrinsic subtypes of high-grade bladder cancer reflect the hallmarks of breast cancer biology. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111(8):3110–3115. doi: 10.1073/pnas.1318376111
- 78) Tan TZ, Rouanne M, Tan KT, Huang RY, Thiery JP. Molecular subtypes of urothelial bladder cancer: Results from a meta-cohort analysis of 2411 tumors. *Eur Urol.* 2019;75(3):423–432. doi: 10.1016/j.eururo.2018.08.027
- 79) Choi W, Porten S, Kim S, Willis D, Plimack ER, Hoffman-Censits J, Roth B, Cheng T, Tran M, Lee IL, Melquist J, Bondaruk J, Majewski T, Zhang S, Pretzsch S, Baggerly K, Siefker-Radtke A, Czerniak B, Dinney CP, McConkey DJ. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. *Cancer Cell.* 2014;25(2):152–165.  
doi: 10.1016/j.ccr.2014.01.009
- 80) Cancer Genome Atlas Research Network Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature.* 2014;507(7492):315–322. doi: 10.1038/nature1296
- 81) McConkey DJ, Choi W. Molecular subtypes of bladder cancer. *Curr Oncol Rep.* 2018;20(10):77. doi: 10.1007/s11912-018-0727-5

- 82) Kamoun A, de Reyniès A, Allory Y, Sjö Dahl G, Robertson AG, Seiler R, Hoadley KA, Groeneveld CS, Al-Ahmadie H, Choi W, Castro MAA, Fontugne J, Eriksson P, Mo Q, Kardos J, Zlotta A, Hartmann A, Dinney CP, Bellmunt J, Powles T, Malats N, Chan KS, Kim WY, McConkey DJ, Black PC, Dyrskjöt L, Höglund M, Lerner SP, Real FX, Radvanyi F, Bladder Cancer Molecular Taxonomy Group A consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol.* 2020;77(4):420–433. doi: 10.1016/j.eururo.2019.09.006
- 83) Böck M, Hinley J, Schmitt C, Wahlicht T, Kramer S, Southgate J. Identification of ELF3 as an early transcriptional regulator of human urothelium. *Dev Biol.* 2014;386(2):321–330. doi: 10.1016/j.ydbio.2013.12.028
- 84) Dadhania V, Zhang M, Zhang L, Bondaruk J, Majewski T, Siefker-Radtke A, Guo CC, Dinney C, Cogdell DE, Zhang S, Lee S, Lee JG, Weinstein JN, Baggerly K, McConkey D, Czerniak B. Meta-analysis of the luminal and basal subtypes of bladder cancer and the identification of signature immunohistochemical markers for clinical use. *EBioMedicine.* 2016;12:105–117. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.08.036
- 85) Kim J, Kwiatkowski D, McConkey DJ, Meeks JJ, Freeman SS, Bellmunt J, Getz G, Lerner SP. 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(6):961–964. doi: 10.1016/j.eururo.2019.02.017
- 86) Warrick JI, Sjö Dahl G, Kaag M, Raman JD, Merrill S, Shuman L, Chen G, Walter V, DeGraff DJ. Intratumoral heterogeneity of bladder cancer by



- molecular subtypes and histologic variants. *Eur Urol.* 2019;75(1):18–22.  
doi: 10.1016/j.eururo.2018.09.003
- 87) Griffin JL. Devil in the detail: Intratumour heterogeneity and personalised medicine for bladder cancer. *Eur Urol.* 2019;75(1):23–24.  
doi: 10.1016/j.eururo.2018.09.036
- 88) Schuler M, Nogova L, Heidenreich A, Tai D, Cassier P, Richly H, Cho BC, Sayehli CM, Navarro A, Bender S, Ocker M, Nogai H, Wagner A, Ince S, Ellinghaus P, Joerger M. Anti-tumor activity of the pan-FGFR inhibitor rogaratinib in patients with advanced urothelial carcinomas selected based on tumor *FGFR* mRNA expression levels. *Ann Oncol.* 2017;28(suppl\_5):mdx371.013. doi: 10.1093/annonc/mdx371.013
- 89) Pal SK, Rosenberg JE, Hoffman-Censits JH, Berger R, Quinn DI, Galsky MD, Wolf J, Dittrich C, Keam B, Delord JP, Schellens JHM, Gravis G, Medioni J, Maroto P, Sriuranpong V, Charoentum C, Burris HA, Grünwald V, Petrylak D, Vaishampayan U, Gez E, De Giorgi U, Lee JL, Voortman J, Gupta S, Sharma S, Mortazavi A, Vaughn DJ, Isaacs R, Parker K, Chen X, Yu K, Porter D, Graus Porta D, Bajorin DF. 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):812–821. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-0229
- 90) Loriot Y, Necchi A, Park SH, Garcia-Donas J, Huddart R, Burgess E, Fleming M, Rezazadeh A, Mellado B, Varlamov S, Joshi M, Duran I, Tagawa ST, Zakharia Y, Zhong B, Stuyckens K, Santiago-Walker A, De Porre P, O'Hagan A, Avadhani A, Siefker-Radtke AO, BLC2001 Study Group Erdafitinib in

- locally advanced or metastatic urothelial carcinoma. *N Engl J Med.* 2019;381(4):338–348. doi: 10.1056/NEJMoa1817323
- 91) Petrylak DP, de Wit R, Chi KN, Drakaki A, Sternberg CN, Nishiyama H, Castellano D, Hussain S, Fléchon A, Bamias A, Yu EY, van der Heijden MS, Matsubara N, Alekseev B, Necchi A, Géczi L, Ou YC, Coskun HS, Su WP, Hegemann M, Percent JJ, Lee JL, Tucci M, Semenov A, Laestadius F, Peer A, Tortora G, Safina S, Del Muro XG, Rodriguez-Vida A, Cicin I, Harputluoglu H, Widau RC, Liepa AM, Walgren RA, Hamid O, Zimmermann AH, Bell-McGuinn KM, Powles T, RANGE study investigators Ramucirumab plus docetaxel versus placebo plus docetaxel in patients with locally advanced or metastatic urothelial carcinoma after platinum-based therapy (RANGE): A randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet.* 2017;390(10109):2266–2277. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32365-6
- 92) Sjö Dahl, G.; Lauss, M.; Lövgren, K.; Chebil, G.; Gudjonsson, S.; Veerla, S.; Patschan, O.; Aine, M.; Fernö, M.; Ringnér, M.; και συνεργάτες. A molecular taxonomy for urothelial carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2012, 18, 3377–3386.
- 93) Aine, M.; Eriksson, P.; Liedberg, F.; Sjö Dahl, G.; Höglund, M. Biological determinants of bladder cancer gene expression subtypes. *Sci. Rep.* 2015, 5, 10957.
- 94) The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature* 2014, 507, 315–322.
- 95) Choi, W.; Porten, S.; Kim, S.; Willis, D.; Plimack, E.R.; Hoffman-Censits, J.; Roth, B.; Cheng, T.; Tran, M.; Lee, I.-L.; και συνεργάτες. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with

- different sensitivities to frontline chemotherapy. *Cancer Cell* 2014, 25, 152–165.
- 96) Tan, T.Z.; Rouanne, M.; Tan, K.T.; Huang, R.Y.J.; Thiery, J.P. Molecular Subtypes of Urothelial Bladder Cancer: Results from a Meta-cohort Analysis of 2411 Tumors. *Eur. Urol.* 2019, 75, 423–432.
- 97) Lindgren, D.; Frigyesi, A.; Gudjonsson, S.; Sjö Dahl, G.; Hallden, C.; Chebil, G.; Veerla, S.; Ryden, T.; Månsson, W.; Liedberg, F.; και συνεργάτες. Combined gene expression and genomic profiling define two intrinsic molecular subtypes of urothelial carcinoma and gene signatures for molecular grading and outcome. *Cancer Res.* 2010, 70, 3463–3472.
- 98) Sjö Dahl, G.; Eriksson, P.; Liedberg, F.; Höglund, M. Molecular classification of urothelial carcinoma: Global mRNA classification versus tumour-cell phenotype classification. *J. Pathol.* 2017, 242, 113–125.
- 99) Kamoun, A.; De Reyniès, A.; Allory, Y.; Sjö Dahl, G.; Robertson, A.G.; Seiler, R.; Hoadley, K.A.; Groeneveld, C.S.; Al-Ahmadie, H.; Choi, W.; και συνεργάτες. A Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer. *Eur. Urol.* 2020, 77, 420–433.
- 100) Bray, F.; Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Siegel, R.L.; Torre, L.A.; Jemal, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018, 68, 394–424.
- 101) WHO Classification of Tumours Editorial Board. Urinary and Male Genital Tumours, 5th ed.; WHO Classification of Tumours Series; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 2022; Volume 8, Available online: <https://publications.iarc.fr> (accessed on 19 August 2022).

- 102) National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Bladder Cancer. NCCN Clinical Guidelines in Oncology. Version 1.2020. 2019. Available online: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1417> (accessed on 16 August 2022).
- 103) Pilard, C.; Ancion, M.; Delvenne, P.; Jerusalem, G.; Hubert, P.; Herfs, M. Cancer immunotherapy: It's time to better predict patients' response. *Br. J. Cancer* 2021, 125, 927–938.
- 104) Engel, C.; Loeffler, M.; Steinke, V.; Rahner, N.; Holinski-Feder, E.; Dietmaier, W.; Schackert, H.K.; Goergens, H.; Doeberitz, M.V.K.; Goecke, T.O.; και συνεργάτες. Risks of less common cancers in proven mutation carriers with lynch syndrome. *J. Clin. Oncol.* 2012, 30, 4409–4415.
- 105) Duval, A.; Hamelin, R. Mutations at coding repeat sequences in mismatch repair-deficient human cancers: Toward a new concept of target genes for instability-PubMed. *Cancer Res.* 2002, 62, 2447–2454.
- 106) Lindner, A.K.; Schachtner, G.; Tulchiner, G.; Thurnher, M.; Untergasser, G.; Obrist, P.; Pipp, I.; Steinkohl, F.; Horninger, W.; Culig, Z.; και συνεργάτες. Lynch Syndrome: Its Impact on Urothelial Carcinoma. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 531.
- 107) Fraune, C.; Simon, R.; Hube-Magg, C.; Makrypidi-Fraune, G.; Kähler, C.; Kluth, M.; Höflmayer, D.; Büscheck, F.; Dum, D.; Luebke, A.M.; και συνεργάτες. MMR deficiency in urothelial carcinoma of the bladder presents with temporal and spatial homogeneity throughout the tumor mass. *Urol Oncol.* 2020, 38, 488–495.

- 108) Smyrk, T.C.; Watson, P.; Kaul, K.; Lynch, H.T. Tumor-infiltrating lymphocytes are a marker for microsatellite instability in colorectal carcinoma-PubMed. *Cancer* 2001, 91, 2417–2422
- 109) Zavalishina, L.; Tsimafeyeu, I.; Povilaitite, P.; Raskin, G.; Andreeva, Y.; Petrov, A.; Kharitonova, E.; Rumyantsev, A.; Pugach, I.; Frank, G.; και συνεργάτες. RUSSCO-RSP comparative study of immunohistochemistry diagnostic assays for PD-L1 expression in urothelial bladder cancer. *Virchows Arch.* 2018, 473, 719–724.
- 110) Eckstein, M.; Cimadamore, A.; Hartmann, A.; Lopez-Beltran, A.; Cheng, L.; Scarpelli, M.; Montironi, R.; Gevaert, T. PD-L1 assessment in urothelial carcinoma: A practical approach. *Ann. Transl. Med.* 2019, 7, 690.
- 111) Queipo, F.J.; Unamunzaga, G.M.; Negro, B.F.; Fuertes, S.G.; Cortés, M.; Tejedor, E.C.; Mañas, C.M.B.; Ariño, A.B.; Sjö Dahl, G.; Beorlegui, C. Immunohistochemistry subtyping of urothelial carcinoma is feasible in the daily practice. *Virchows Arch.* 2022, 481, 191–200.
- 112) Zhu, S.; Yu, W.; Yang, X.; Wu, C.; Cheng, F. Traditional Classification and Novel Subtyping Systems for Bladder Cancer. *Front. Oncol.* 2020, 10, 102.
- 113) Hardy, C.S.; Ghaedi, H.; Slotman, A.; Sjö Dahl, G.; Gooding, R.J.; Berman, D.M.; Jackson, C.L. Immunohistochemical Assays for Bladder Cancer Molecular Subtyping: Optimizing Parsimony and Performance of Lund Taxonomy Classifiers. *J. Histochem. Cytochem.* 2022, 70, 357.
- 114) Ravanini, J.N.; Assato, A.K.; Wakamatsu, A.; Alves, V.A.F. Combined use of immunohistochemical markers of basal and luminal subtypes

- in urothelial carcinoma of the bladder: Association with clinicopathological features and outcomes. *Clinics* 2021, 76, e2587.
- 115) Dadhania, V.; Zhang, M.; Zhang, L.; Bondaruk, J.; Majewski, T.; Siefker-Radtke, A.; Guo, C.C.; Dinney, C.; Cogdell, D.E.; Zhang, S.; και συνεργάτες. Meta-Analysis of the Luminal and Basal Subtypes of Bladder Cancer and the Identification of Signature Immunohistochemical Markers for Clinical Use. *eBioMedicine* 2016, 12, 105–117.
- 116) Cheung, C.C.; Barnes, P.; Bigras, G.; Boerner, S.; Butany, J.; Calabrese, F.; Couture, C.; Deschenes, J.; El-Zimaity, H.; Fischer, G.; και συνεργάτες. Fit-For-Purpose PD-L1 Biomarker Testing For Patient Selection in Immuno-Oncology: Guidelines For Clinical Laboratories From the Canadian Association of Pathologists-Association Canadienne Des Pathologistes (CAP-ACP). *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. AIMM* 2019, 27, 699–714.
- 117) Balar, A.V.; Castellano, D.; O'Donnell, P.H.; Grivas, P.; Vuky, J.; Powles, T.; Plimack, E.R.; Hahn, N.M.; de Wit, R.; Pang, L.; και συνεργάτες. 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, 1483–1492.
- 118) Apolo, A.B.; Infante, J.R.; Balmanoukian, A.; Patel, M.R.; Wang, D.; Kelly, K.; Mega, A.E.; Britten, C.D.; Ravaud, A.; Mita, A.C.; και συνεργάτες. 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.* 2017, 35, 2117–2124.

- 119) Sharma, P.; Retz, M.; Siefker-Radtke, A.; Baron, A.; Necchi, A.; Bedke, J.; Plimack, E.R.; Vaena, D.; Grimm, M.-O.; Bracarda, S.; και συνεργάτες. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (CheckMate 275): A multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2017, 18, 312–322.
- 120) Aggen, D.H.; Drake, C.G. Biomarkers for immunotherapy in bladder cancer: A moving target. *J. Immunother. Cancer* 2017, 5, 94.
- 121) Wankowicz, S.; Werner, L.; Orsola, A.; Novak, J.; Bowden, M.; Choueiri, T.K.; De Torres, I.; Morote, J.; Freeman, G.J.; Signoretti, S.; και συνεργάτες. Differential Expression of PD-L1 in High Grade T1 vs Muscle Invasive Bladder Carcinoma and its Prognostic Implications. *J. Urol.* 2017, 198, 817–823.
- 122) Kawahara, T.; Ishiguro, Y.; Ohtake, S.; Kato, I.; Ito, Y.; Ito, H.; Makiyama, K.; Kondo, K.; Miyoshi, Y.; Yumura, Y.; και συνεργάτες. PD-1 and PD-L1 are more highly expressed in high-grade bladder cancer than in low-grade cases: PD-L1 might function as a mediator of stage progression in bladder cancer. *BMC Urol.* 2018, 18, 97.
- 123) 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.
- 124) Huang, Y.; Zhang, S.D.; McCrudden, C.; Chan, K.W.; Lin, Y.; Kwok, H.F. The prognostic significance of PD-L1 in bladder cancer. *Oncol. Rep.* 2015, 33, 3075–3084.
- 125) ADAPT-BLADDER: Modern Immunotherapy in BCG-Relapsing Urothelial Carcinoma of the Bladder—Full Text View [ClinicalTrials.gov](https://www.clinicaltrials.gov).

- 126) Hodgson, A.; Liu, S.K.; Vesprini, D.; Xu, B.; Downes, M.R. Basal-subtype bladder tumours show a “hot” immunophenotype. *Histopathology* 2018, 73, 748–757