



ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Ángel Maximino
Castro Iglesias

Tesis doctoral

Valor pronóstico del estado
HER2 en el carcinoma urotelial
de vejiga T1 alto grado

Santiago de Compostela, 2024

Programa de doctorado en Medicina Molecular

TESIS DOCTORAL

**VALOR PRONÓSTICO DEL ESTADO HER2
EN EL CARCINOMA UROTELIAL DE VEJIGA
T1 ALTO GRADO**

Autor

Ángel Maximino Castro Iglesias

Director: Tomás García-Caballero Parada y José Antonio Ortiz Rey

Tutor: Tomás García-Caballero Parada

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA MOLECULAR

SANTIAGO DE COMPOSTELA



DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Ángel Maximino Castro Iglesias (Doctorando)

Declaro no tener ningún conflicto de interés en relación con mi tesis doctoral, **“Valor pronóstico del estado HER2 en el carcinoma urotelial de vejiga T1 alto grado”**,

En Santiago de Compostela, 10 de Enero de 2024



A Mari Carmen,
a Eva y Ana,
al niño del Lehninger,
al viejo del Excel.

AGRADECIMIENTOS

¡Muchas gracias a todos! Qué mejor inicio que expresar el verdadero objetivo de este estudio que es el agradecimiento a todas las personas que a lo largo de mi vida profesional, ya en su atardecer, me han enseñado y han estimulado mi curiosidad por los fundamentos de la ciencia. En este texto hay un orden de aparición relacionado con la costumbre académica, pero que queda en un plano de igualdad en mi sentimiento de gratitud por todos ellos.

Ha sido un placer recibir el magisterio del Prof. Dr. Tomás García-Caballero Parada, director y tutor de esta tesis doctoral, desde su implicación en el trabajo más básico en el microscopio hasta sus consejos, regalos de sabiduría y experiencia.

En alguna ocasión se refirió a este tiempo como un viaje en compañía. Ciertamente no pude tener mejor compañero y guía que a mi director, Dr. José Antonio Ortiz Rey, inquieto, provocador e incansable en su búsqueda de respuestas. La ciencia no es privativa de los grandes templos, sino que surge de un lugar llamado cerebro.

Muchísimas gracias, Dra. Pilar San Miguel Fraile, por toda tu dedicación, tu profesionalidad, ejemplo de constancia y eficacia. Desde tu admirable discreción, siempre te consideraré fundamental en esta tesis. Gracias, Marina Gándara Cortés, por ser compañera y colaboradora necesaria en este objetivo académico. Gracias, Iosu Antón Badiola, patólogo, por sus aportaciones en el estudio inmunohistoquímico. Gracias, Carolina Gómez de María, técnica del Biobanco del IISGS, por ser la constructora de las matrices tisulares, cimientos del estudio anatomopatológico. Gracias, Monserrat Vieytes Molares, técnico AP del CHUVI, por su inestimable aportación en la técnica inmunohistoquímica y María Otero Alén, técnico de investigación del IDIS, en la hibridación in situ.

Cuando los datos de la investigación se amontonan y el acúmulo de hojas de Excel desnortan la ruta del estudio, se necesita un profesional como Ángel Salgado Barreira, capaz de iluminar el espacio de los números, de la estadística, que dé sentido y ponga razón en el deseo de descubrir nuestra verdad.

En la primavera de la vida, el tiempo se dividía entre lo académico y lo personal, con un natural e impetuoso desorden entre ambos. Época de disfrutar de un calendario lleno de hojas por arrancar, interminables horas para dedicar a la poesía de la ciencia, en cualquier lugar. Pero la vida se vuelve realidad y la actividad laboral se vuelve hegemónica. Estos años de investigación fueron la lucha por conseguir un equilibrio satisfactorio entre las diferentes vidas que vivimos. El ágil, rápido, vibrante motor de la juventud se convirtió en uno diésel con tendencia a pararse. Ponerlo en marcha exigió la chispa de la Dra. Elena López Díez, que hizo que su inigualable frescura intelectual se trasladara a mis senescentes esfuerzos en el campo académico. Seguramente poco le aporté, pero que estas palabras sirvan como reconocimiento de su impulso fundamental.

Mantener la combustión de este trabajo es obra de personas que admiro y que me animaron a seguir avanzando. Muy probablemente este trabajo permanecerá en el desván de las tesis, pero su mejor fruto ha sido la convivencia con las personas que me han rodeado. El Dr. Fernando Domínguez Freire, compañero, investigador ejemplar, que me hizo reflexionar sobre mi sintaxis asilvestrada. Ya ves, este documento no habrá que leerlo posmortem. El Dr. Manuel Carballo Quintá que escuchó mis amargas dudas y me ayudó a cocinar dulces soluciones.

Leí múltiples disculpas de doctorandos por el tiempo sustraído a la familia, a los amigos y pensé que eran exageradas. Muchas han sido las horas, los fines de semanas, las vacaciones dedicadas a esta tarea. Mi suerte ha sido vivir con mi mujer y mis hijas, que saben de mi pasión por la biología, por la medicina, que conocen mi infancia en la que mis regalos eran libros científicos y que básicamente me soportan. El tiempo no se recupera, pero el venidero será para compartirlo con vosotras. Agradecido y orgulloso de mis padres, ejemplo de esfuerzo, tesón y apoyo, además de toda mi familia, tanto los presentes como los ausentes.

No debo olvidarme de mis amigos que me presionaron desde el cariño para no demorar lo que por momentos pareció más que un trabajo de Hércules, la condena de Sísifo.

Un emocionado recuerdo y agradecimiento a todos los pacientes que permiten que su desgracia sea una aportación en la búsqueda de soluciones para otros.

Nuevamente, muchas gracias a todos.

LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ADC	“Antibody Drug Conjugates”
ADN	Ácido Dexosirribonucleico
AG	Alto grado
AJCC	“American Joint Committee on Cancer”
ARN	Ácido Ribonucleico
ASA	“American Society of Anesthesiologists”
ASCO	“American Society of Clinical Oncology”
AUA	“American Urological Association”
BCG	Bacilo de Calmette-Guerin
BDISH	"Bright-field dual-probe in situ hidridación"
BG	Bajo grado
Bmp4	"Bone morphogenic protein 4"
CAP	“College of American Pathologists”
CHUS	Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela
CHUVI	Complejo Hospitalario Universitario de Vigo
CIS	Carcinoma in situ
CISH	Hibridación in situ cromogénica
CR	Cistectomía radical
CU	Carcinoma Urotelial
CUETO	Club Urológico Español de Tratamiento Oncológico
CUV	Cáncer Urotelial de Vejiga
CV	Cáncer de Vejiga
CVRS	Calidad de vida relacionada con la salud
DD	Diferenciación Divergente
DS	Desviación estándar
EAU	“European Association of Urology”
EGFR	"Epidermal growth factor receptor"
EMT	Transición epitelio-mesénquima
EORTC	“European Organisation for Research and Treatment of Cancer”
ERBB	Gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico humano
FDA	“Food and Drug Administration”
FGFR	"Fibroblast Growth Factor Receptor "
FISH	"Fluorescence in situ hybridization"
GATA	Secuencia DNA: Guanina-Adenina-Timina-Adenina
HE	Hematoxilina-eosina

HER	Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano
HIS	Hibridación in situ
HR	Hazard ratio
IC	Intervalo de confianza
ICUD	“International Consultation on Urologic Diseases”
IHQ	Inmunohistoquímica
ILV	Infiltración linfovascular
IMC	Índice de Masa Corporal
ISUP	“International Society of Urological Pathology”
kDa	Kilodalton
KM	Kaplan-Meier
KRT	Citoqueratina
LP	Lámina Propia
MAPK	“Mitogen Activated Protein Kinases”
MCE	Mortalidad Cáncer Específica
M+CV	Cáncer de Vejiga Metastásico
MG	Mortalidad global
MICV	Cáncer de Vejiga Músculo-Invasivo
<i>MLH1</i>	“MutL Homolog 1”
MM	Muscularis Mucosa
MMC	Mitomycin C
MP	Muscular Propia
<i>MSH2</i>	“MutS homolog 2”
MT	Matrices tisulares
NAC	Quimioterapia Neoadyuvante
NBI	“Narrow-Band-Imaging”
NCCN	“National Comprehensive Cancer Network”
NE	Neuroendocrino
NGS	“Next Generation Sequencing”
NLR	Relación neutrófilo linfocito
NMICV	Cáncer de Vejiga No Músculo Invasivo
NUPBPM	Neoplasia urotelial papilar de bajo potencial de malignidad
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds ratio
RT-PCR	“Real Time Polymerase Chain Reaction”
PD-L1	“Programmed death-ligand 1”
PDD	“Photodynamic diagnosis”
PI3K	“Phosphatidylinositol 3 Kinase”
<i>RB</i>	Gen del Retinoblastoma
R-RTUV	Re-Resección Transuretral de Vejiga
RTUV	Resección Transuretral de Vejiga

SCE	Supervivencia Cáncer Específica
SEER	“Surveillance, Epidemiology and End Results Program”
SEOM	Sociedad Española de Oncología Médica
SG	Supervivencia Global
SH	Subtipo histológico
SH(mP)	Subtipo histológico micropapilar
SH(PC)	Subtipo histológico plasmocitoide
SHH	“Sonic hedgehog”
SISH	“Silver in situ hybridization”
SLP	Supervivencia Libre de Progresión
SLR	Supervivencia Libre de Recurrencia
SM	Subtipo Molecular
STAT	“Signal Transducer and Activator of Transcription”
STROBE	“Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology”
SWOG	“South West Oncology Group”
TCGA	“The Cancer Genome Atlas”
TGFβ	“Transforming growth factor-beta”
TNM	Estadificación Tumor-Nodo-Metástasis
TPS	“Tumor Proportion Score”
UICC	“Union International Contre le Cancer”
UMA	Unidad de Membrana Asimétrica
UPK	Uroplakinas
USC	Universidad de Santiago de Compostela
VFD	Vesículas de Forma Discoidal
WHO	“World Health Organization”

ÍNDICE GENERAL

1 RESUMEN	13
2 RESUMO.....	15
3 ABSTRACT.....	17
4 INTRODUCCIÓN	19
4.1 HISTORIA	19
4.2 EPIDEMIOLOGÍA	20
4.2.1 Incidencia	21
4.2.2 Prevalencia	21
4.2.3 Mortalidad y supervivencia	21
4.2.4 Factores de riesgo	22
4.2.4.1 Edad.....	22
4.2.4.2 Género	22
4.2.4.3 Tabaco	22
4.2.4.4 Productos químicos.....	23
4.2.4.5 Otros factores.....	23
4.2.5 Repercusión económica	23
4.3 ANATOMÍA	24
4.4 EMBRIOLOGÍA.....	24
4.4.1 Histología de la vejiga fetal	25
4.4.2 Biología molecular del desarrollo vesical.....	25
4.5 HISTOLOGÍA.....	25
4.5.1 Urotelio	25
4.5.1.1 Estrato superficial	26
4.5.1.2 Estrato intermedio.....	27
4.5.1.3 Estrato basal.....	27
4.5.1.4 Marcadores de diferenciación urotelial.....	27
4.5.1.5 Regeneración del urotelio: células madre	27
4.5.2 Lámina propia	28
4.5.3 Muscular propia	28
4.5.4 Serosa-Adventicia	28
4.5.5 Variaciones topográficas de la pared vesical.....	28
4.6 CARCINOGENESIS	28
4.6.1 Células neoplásicas progenitoras.....	29
4.6.2 Vías de desarrollo del cáncer de vejiga	29
4.7 CLASIFICACIÓN MOLECULAR	31
4.8 CÁNCER DE VEJIGA: TIPOS HISTOLÓGICOS.....	32
4.8.1 Cáncer no urotelial	32
4.8.2 Carcinoma urotelial. Subtipos histológicos.	33
4.9 CARCINOMA UROTELIAL: T1AG/G3.....	35
4.9.1 Diagnóstico	36
4.9.2 Evolución.....	36
4.9.3 Pronóstico: estadio.....	37
4.9.3.1 Diferenciación Ta/T1: invasión de la lámina propia.....	38
4.9.3.2 Diferenciación T1/T2: invasión de la muscular propia.....	38
4.9.3.3 Variabilidad del observador en T1.....	39
4.9.3.4 Subestadificación T1	39

4.9.4	Pronóstico: grado histológico.....	41
4.9.5	Otros factores pronósticos:	42
4.9.5.1	Invasión linfovascular.....	42
4.9.5.2	Carcinoma in situ (CIS) concurrente	42
4.9.6	Tratamiento.....	42
4.9.6.1	RTUV	43
4.9.6.2	Cistoscopia seguimiento	43
4.9.6.3	Instilación intravesical adyuvante. Inmunoterapia BCG.....	43
4.9.6.4	Cistectomía radical	44
4.9.7	BCG versus cistectomía radical	44
4.10	ESTRATIFICACIÓN DEL RIESGO EN NMICV: RECURRENCIA Y PROGRESIÓN	45
4.10.1	Modelo EORTC 2006	46
4.10.2	Modelo CUETO 2009	46
4.10.3	Modelo de grupos de riesgo. EAU 2021.	47
4.11	BIOMARCADORES.....	49
4.12	HER2/ERBB2	50
4.12.1	Gen ERBB2.....	50
4.12.2	ErbB/HER: Estructura y función.....	50
4.12.3	Determinación del estado HER2.....	53
4.12.3.1	Imunohistoquímica.....	53
4.12.3.2	Hibridación in situ de fluorescencia.....	53
4.12.3.3	Otros métodos	54
4.12.3.4	Interpretación diagnóstica en el cáncer de mama.....	55
4.12.3.5	Interpretación diagnóstica en el cáncer esofagogástrico	55
4.12.3.6	Variabilidad del estudio del estado HER2	56
4.12.4	HER2: marcador pronóstico, predictivo y diana terapéutica.....	56
5	HIPÓTESIS - OBJETIVOS	58
5.1	HIPÓTESIS	58
5.2	OBJETIVOS	58
6	METODOLOGÍA	59
6.1	DISEÑO DE ESTUDIO	59
6.2	CONTEXTO. PARTICIPANTES	59
6.2.1	Criterios de inclusión.....	59
6.2.2	Criterios de exclusión.	59
6.2.3	Cohorte principal y secundarias.....	60
6.3	DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES.	60
6.3.1	Variables cualitativas categóricas.....	61
6.3.1.1	Variables en modelos de estratificación de riesgo:	61
6.3.1.2	Otras variables histológicas	61
6.3.1.3	Otras variables clínicas	61
6.3.1.4	Estado HER2	61
6.3.1.5	Variables de seguimiento clínico	61
6.3.2	Variables cuantitativas discretas	61
6.3.3	Modelos de estratificación de riesgo	61
6.3.4	Definición de variables	62
6.4	DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA ANATOMOPATOLÓGICA	62
6.4.1	Construcción de matrices tisulares.....	63
6.4.2	Técnica inmunohistoquímica HER2.....	64
6.4.2.1	Técnica Herceptest – Dako: anticuerpo policlonal A0485.....	64
6.4.2.2	Técnica Ventana: anticuerpo monoclonal 4B5	64
6.4.2.3	Interpretación diagnóstica	65
6.4.3	Técnica de hibridación in situ fluorescente	65
6.4.3.1	Criterios ASCO-CAP HER2 cáncer de mama 2013 (Wolff et al., 2013):	66
6.4.3.2	Criterios ASCO-CAP HER2 cáncer de mama 2018 (Wolff et al., 2018):	67
6.4.4	Diagnóstico HER2.....	67
6.5	PREVENCIÓN DE SESGOS	67

6.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	68
6.6.1	Tamaño muestral	68
6.6.2	Cálculos estadísticos	68
6.7	ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES	69
7	RESULTADOS	71
7.1	PARTICIPANTES.....	71
7.1.1	Estudios preliminares.....	71
7.1.1.1	Epidemiología carcinoma urotelial de vejiga 2009 - 2018	71
7.1.1.2	Carcinoma urotelial de vejiga 2009 – 2021: estadio.....	71
7.1.1.3	Estudio de la variabilidad en NMICV-T1.....	73
7.1.1.4	Estudio de subtipos histológicos en NMICV-T1.	74
7.1.2	Inclusión de pacientes en la muestra.....	74
7.1.2.1	Diagrama de flujo de pacientes.....	74
7.2	DATOS DESCRIPTIVOS.....	76
7.2.1	Características descriptivas de la muestra.	76
7.2.2	Clasificación de la muestra según los modelos de estratificación de riesgo.	76
7.3	RESULTADOS.....	79
7.3.1	Estado HER2.....	79
7.3.1.1	IHQ: Sobreexpresión.	80
7.3.1.2	FISH: Amplificación	81
7.3.1.3	Diagnóstico HER2.....	84
7.3.2	Concordancia entre métodos analíticos del estado HER2.....	85
7.3.2.1	Concordancia de anticuerpos HER2 en la inmunohistoquímica.	85
7.3.2.2	Concordancia IHQ - FISH ASCO/CAP 2018.....	85
7.3.2.3	Migración diagnóstica de FISH ERBB2 ASCO-CAP 2013 a 2018.	85
7.3.3	Heterogeneidad intratumoral del estado HER2.....	86
7.3.4	Asociación entre las variables pronóstico y el estado HER2.....	87
7.3.4.1	Asociación entre las variables pronóstico y el estado HER2. Cohorte 166.	87
7.3.4.2	Asociación entre grupos de riesgo y el estado HER2. Cohorte 166.	88
7.3.4.3	Asociación entre variables, modelos y estado HER2. Subcohorte 104	89
7.3.4.4	Asociación polisomía 17 y sobreexpresión HER2.....	89
7.3.1	Relación del estado HER2 con la recurrencia y progresión.....	89
7.3.1.1	Tiempo de seguimiento, recurrencia y progresión. Asociación con estado HER2.	91
7.3.1.2	Estudio de supervivencia mediante curvas de Kaplan-Meier. Subcohorte 150	92
7.3.1.2.1	Supervivencia Libre de Recurrencia a 5 años (SLR-5).....	92
7.3.1.2.2	Supervivencia Libre de Progresión a 5 años (SLP-5).....	95
7.3.1.3	Estudio de supervivencia mediante curvas de Kaplan-Meier. Subcohorte 104	95
7.3.1.4	Factores de pronóstico subcohorte 150. Análisis de regresión de Cox.	96
7.3.1.4.1	Recurrencia.....	96
7.3.1.4.2	Progresión	97
7.3.1.5	Factores de pronóstico subcohorte 104. Análisis de regresión de Cox.	98
7.3.2	Asociación del estado HER2 con el fallo de BCG antes de 2 años.....	99
8	DISCUSIÓN	102
8.1	VARIABILIDAD EN EL ESTUDIO DEL ESTADO HER2.....	103
8.2	ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA	106
8.3	DETERMINACIÓN ESTADO HER	108
8.3.1	Sobreexpresión HER2.....	108
8.3.2	Amplificación ERBB2.....	110
8.3.3	Concordancia sobreexpresión – amplificación.....	112
8.4	ASOCIACIÓN VARIABLES DE RIESGO Y ESTADO HER2.....	113
8.5	ESTADO HER2 COMO FACTOR PRONÓSTICO	114
8.6	ESTADO HER2 COMO FACTOR PREDICTIVO.....	117
8.7	OTROS FACTORES PRONÓSTICO	118
8.8	POLISOMÍA 17.....	119
8.9	DIANA TERAPÉUTICA. FUTURO.	119
8.10	LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO	122

9 CONCLUSIONES.....	125
10 BIBLIOGRAFÍA.....	126
11 ÍNDICES COMPLEMENTARIOS	159
11.1 ÍNDICE DE FIGURAS	159
11.2 ÍNDICE DE TABLAS.....	161
11.3 ÍNDICE DE APÉNDICES.....	162
11.4 ÍNDICE DE ANEXOS	177

1 RESUMEN

Introducción. El cáncer de vejiga (CV) presenta una elevada incidencia y prevalencia, genera una alta carga asistencial, económica y necesita de avances diagnósticos que incrementen la precisión en el pronóstico, personalicen el tratamiento, mejoren los resultados y optimicen los recursos.

El carcinoma urotelial de vejiga (CUV) T1 alto grado (AG) es un tumor de alto riesgo con una evolución clínica heterogénea, que se relaciona con diferentes presentaciones histológicas y moleculares. El pronóstico, recurrencia y progresión, se determina a partir de variables clínicas y patológicas con las que se construyeron modelos de riesgo con resultados limitados.

El estado HER2 se determina desde la amplificación del gen *ERBB2* a la sobreexpresión del receptor proteico HER2. El amplio rango de resultados de la sobreexpresión (11–76%) y de la amplificación (2-22,6%) parece relacionarse con la variabilidad metodológica y las muestras tumorales heterogéneas en estadio y grado (*Scherrer et al., 2022*). Su valor pronóstico presenta resultados controvertidos.

Objetivos. Investigamos la presencia de sobreexpresión, amplificación, diagnóstico HER2, HER2-bajo y polisomía 17, en una muestra de CUV-T1AG. Se valoró la capacidad de la determinación del estado HER2 para pronosticar la recurrencia, la progresión, el fallo del tratamiento con BCG y su asociación con variables clínicas y patológicas. También se analizó la concordancia sobreexpresión-amplificación y la heterogeneidad intratumoral de HER2.

Metodología. Realizamos un estudio observacional, analítico, longitudinal, ambispectivo, de cohortes, de 249 pacientes, no consecutivos, diagnosticados de CV-T1AG entre 2001-2019. Se analizó una cohorte de 166 pacientes, otra de 150 con seguimiento superior a 6 meses, anidada en la anterior y una tercera de 104 tratados con BCG, inscrita en la previa. Se construyeron 27 macromatrices tisulares, a partir de las cuales se realizó IHQ para determinar sobreexpresión en 360 biopsias y FISH en 260 para estudio de la amplificación. El diagnóstico HER2 se consideró positivo cuando la sobreexpresión fue 3+ o 2+ con amplificación.

Resultados. La sobreexpresión fue del 19,3%, la amplificación del 25,3% y el diagnóstico HER2 del 28,8%. Encontramos una concordancia sobreexpresión-amplificación muy buena, índice kappa =0,848 (IC-95% 0,72-0,97). Obtuvimos una heterogeneidad intratumoral elevada, en la sobreexpresión del 39,4% y en la amplificación del 27,8%. Se determinó una polisomía 17 del 44,8%. Se definieron como HER2-bajo un 63,5% de los tumores.

La subestadificación T1 se asoció con la sobreexpresión ($p = 0,043$) y el diagnóstico HER2 ($p = 0,023$). El subtipo histológico también tuvo asociación con la sobreexpresión ($p = 0,013$) y el diagnóstico HER2 ($p = 0,037$). La presencia de CIS concurrente ($p = 0,036$) y el tabaquismo ($p = 0,013$) se asoció con la amplificación.

La mediana de seguimiento fue de 72,5 meses (RIQ 34-99,5), con una recurrencia del 44,7% y de progresión del 16,7%. La supervivencia libre de recurrencia a cinco años (SLR-5) se asoció con la amplificación ($p = 0,029$) y con el diagnóstico HER2 ($p = 0,035$). La supervivencia libre de progresión (SLP-5) se asoció con la sobreexpresión ($p = 0,002$), la amplificación ($p = 0,004$) y el diagnóstico HER2 ($p < 0,001$). El análisis multivariante informó que la amplificación es un factor pronóstico independiente de recurrencia (HR 2,00; IC-95% 1,15 - 3,48; $p = 0,014$) y de progresión (HR 2,97; IC-95% 1,30 - 6,78; $p = 0,010$).

El análisis multivariante de la asociación del estado HER2 con el fallo de BCG a dos años presentó significación para la amplificación (OR 6,01; IC-95% 1,87 - 19,29; $p = 0,003$) y el diagnóstico HER2 (OR 4,72; IC-95% 1,66 - 13,44; $p = 0,004$).

Conclusiones. La sobreexpresión y la amplificación presentaron valores similares a los publicados, con una concordancia elevada entre ambas, La heterogeneidad intratumoral fue destacable. La determinación del estado HER2 fue un factor pronóstico de la SLR-5 y SLP-5, y la amplificación un factor independiente que aproximadamente duplica el riesgo de recurrencia y triplica el de progresión. La amplificación y el diagnóstico HER2 también se asociaron con el pronóstico del fallo del tratamiento con BCG.

2 RESUMO

Introdución. O cancro de vexiga (CV) ten unha elevada incidencia e prevalencia, xera unha elevada carga sanitaria, económica e require avances diagnósticos que aumenten a precisión do pronóstico, personalicen o tratamento, melloren os resultados e optimicen os recursos.

O carcinoma urotelial de vexiga (CUV) T1 de alto grao (AG) é un tumor de alto risco cun curso clínico heteroxéneo, que está relacionado con diferentes presentacións histolóxicas e moleculares. O pronóstico, recorrencia e progresión, determínase a partir de variables clínicas e patolóxicas coas que se construíron modelos de risco con resultados limitados.

O estado de HER2 determínase desde a amplificación do xene *ERBB2* ata a sobreexpresión do receptor da proteína HER2. O amplo intervalo de resultados de sobreexpresión (11-76%) e amplificación (2-22,6%) parece estar relacionado coa variabilidade metodolóxica e as mostras heteroxéneas de tumores en estadio e grao (*Scherrer et al., 2022*). O seu valor pronóstico presenta resultados controvertidos.

Obxetivos. Investigamos a presenza de sobreexpresión, amplificación, diagnóstico de HER2, HER2-baixo e polisomía 17, nunha mostra de CUV-T1AG. Valorouse a capacidade de determinar o estado de HER2 para predicir a recorrencia, a progresión, o fracaso do tratamento con BCG e a súa asociación con variables clínicas e patolóxicas. Tamén se analizou a concordancia de sobreexpresión-amplificación e a heteroxeneidade intratumoral de HER2.

Metodoloxía. Levamos a cabo un estudo observacional, analítico, lonxitudinal, ambispectivo, de cohortes de 249 pacientes non consecutivos diagnosticados de CV-T1AG entre 2001-2019. Analizouse unha cohorte de 166 pacientes, un de 150 con seguimento superior a 6 meses, aniñado no anterior, e outro de 104 tratados con BCG, inscrito no anterior. Construíronse 27 macromatrices de tecidos, das que se realizou IHC para determinar a sobreexpresión en 360 biopsias e FISH en 260 para estudar a amplificación. O diagnóstico HER2 considerouse positivo cando a sobreexpresión era 3+ ou 2+ con amplificación.

Resultados. A sobreexpresión foi do 19,3%, a amplificación do 25,3% e o diagnóstico HER2 do 28,8%. Atopamos un acordo de sobreexpresión-amplificación moi bo, índice kappa = 0,848 (IC 95% 0,72-0,97). Obtivemos unha alta heteroxeneidade intratumoral, en sobreexpresión do 39,4% e en amplificación do 27,8%. Determinouse unha polisomía 17 do 44,8 %. O 63,5% dos tumores foron definidos como HER2-baixo.

A subestadificación T1 estivo asociada coa sobreexpresión ($p = 0,043$) e o diagnóstico de HER2 ($p = 0,023$). O subtipo histolóxico tamén se asociou coa sobreexpresión ($p = 0,013$) e o diagnóstico de HER2 ($p = 0,037$). A presenza simultánea de CIS ($p = 0,036$) e tabaquismo ($p = 0,013$) asociouse coa amplificación.

A mediana de seguimento foi de 72,5 meses (RIQ 34-99,5), cunha recorrencia do 44,7% e unha progresión do 16,7%. A supervivencia sen recorrencia a cinco anos (SLR-5) asociouse coa amplificación ($p = 0,029$) e o diagnóstico HER2 ($p = 0,035$). A supervivencia sen progresión (SLP-5) asociouse coa sobreexpresión HER2 ($p = 0,002$), a amplificación ($p = 0,004$) e o diagnóstico ($p < 0,001$). A análise multivariante informou de que a amplificación é un factor pronóstico independente para a recorrencia (HR 2,00; IC 95% 1,15 - 3,48; $p = 0,014$) e a progresión (HR 2,97; IC 95% 1,30 - 6,78; $p = 0,010$).

A análise multivariante da asociación do estado HER2 co fallo do BCG aos dous anos mostrou significación para a amplificación (OR 6,01; IC 95% 1,87 - 19,29; $p = 0,003$) e o diagnóstico HER2 (OR 4,72; IC 95% 1,66 - 13,44; $p = 0,004$).

Conclusións. A sobreexpresión e a amplificación presentaron valores similares aos publicados, con alta concordancia entre ambas, destacando a heteroxeneidade intratumoral. A determinación do estado de HER2 foi un factor pronóstico para SLR-5 e SLP-5, e a amplificación foi un factor independente que aproximadamente duplicou o risco de recorrencia e triplicou o de progresión. A amplificación e o diagnóstico de HER2 tamén se asociaron co pronóstico do fracaso do tratamento con BCG.

3 ABSTRACT

Introduction. Bladder cancer (BC) has a high incidence and prevalence, generates a high healthcare, economic burden and requires diagnostic advances that increase the accuracy of the prognosis, personalize treatment, improve results and optimize resources.

High-grade (HG) T1 urothelial carcinoma of the bladder (UBC) is a high-risk tumor with a heterogeneous clinical course, which is related to different histological and molecular presentations. The prognosis, recurrence and progression, is determined from clinical and pathological variables on which risk models with limited results were built.

HER2 status is determined from amplification of the *ERBB2* gene to overexpression of the HER2 protein receptor. The wide range of results for overexpression (11–76%) and amplification (2–22.6%) seems to be related to methodological variability and heterogeneous tumor samples in stage and grade (*Scherrer et al., 2022*). Its prognostic value presents controversial results.

Objectives. We investigated the presence of overexpression, amplification, HER2 diagnosis, HER2-low and polysomy 17, in a sample of HGT1-UBC. The ability of determining HER2 status to predict recurrence, progression, BCG treatment failure and its association with clinical and pathological variables was assessed. The overexpression-amplification concordance and intratumoral heterogeneity of HER2 were also analyzed.

Methodology. We carried out an observational, analytical, longitudinal, ambispective, cohort study of 249 non-consecutive patients diagnosed with HGT1-UBC between 2001-2019. A cohort of 166 patients was analyzed, one of 150 with follow-up of more than 6 months, nested in the previous one, and another of 104 treated with BCG, enrolled in the previous one. 27 tissue arrays were constructed, from which IHC was performed to determine overexpression in 360 biopsies and FISH in 260 to study amplification. The HER2 diagnosis was considered positive when the overexpression was 3+ or 2+ with amplification.

Results. Overexpression was 19.3%, amplification 25.3% and HER2 diagnosis 28.8%. We found a very good overexpression-amplification agreement, kappa index =0.848 (95% CI 0.72-0.97). We obtained a high intratumoral heterogeneity, in overexpression of 39.4% and in amplification of 27.8%. A polysomy 17 of 44.8% was determined. 63.5% of tumors were defined as HER2-low.

T1 substaging was associated with overexpression ($p=0.043$) and HER2 diagnosis ($p=0.023$). Histological subtype was also associated with overexpression ($p=0.013$) and HER2 diagnosis ($p=0.037$). The presence of concurrent CIS ($p=0.036$) and smoking ($p=0.013$) was associated with amplification.

The median follow-up was 72.5 months (IQR 34-99.5), with recurrence of 44.7% and progression of 16.7%. Five-year recurrence-free survival (RFS-5) was associated with amplification (p

=0.029) and HER2 diagnosis ($p=0.035$). Progression-free survival (PFS-5) was associated with HER2 overexpression ($p=0.002$), amplification ($p=0.004$) and diagnosis ($p<0.001$). Multivariate analysis reported that amplification is an independent prognostic factor for recurrence (HR 2.00; 95% CI 1.15 - 3.48; $p=0.014$) and progression (HR 2.97; 95% CI 1.30 - 6.78; $p=0.010$).

The multivariate analysis of the association of HER2 status with BCG failure at two years showed significance for amplification (OR 6.01; 95% CI 1.87 - 19.29; $p=0.003$) and HER2 diagnosis (OR 4.72; 95% CI 1.66 - 13.44; $p=0.004$).

Conclusions. Overexpression and amplification presented values similar to those published, with high agreement between both. Intratumoral heterogeneity was notable. Determination of HER2 status was a prognostic factor for RFS-5 and PFS-5, and amplification was an independent factor that approximately doubled the risk of recurrence and tripled that of progression. HER2 amplification and diagnosis were also associated with the prognosis of BCG treatment failure.

4 INTRODUCCIÓN

4.1 HISTORIA

Los tumores de vejiga han sido conocidos desde la antigüedad porque fueron hallazgos incidentales en la práctica de los litotomistas. A lo largo de los siglos XVI-XVII, Lacuna, Hildanus, Covillard y otros, no sólo refirieron su existencia sino que comunicaron exéresis accidentales que con el tiempo se convirtieron en intencionadas (*Herr, 2018*).

La evolución diagnóstica y terapéutica del cáncer de vejiga tuvo lugar a lo largo del siglo XIX con el desarrollo de la endoscopia uretrovesical. Max Nitze en 1877, construyó un cistoscopio que posteriormente modificó para realizar procedimientos quirúrgicos. En 1889 Pawlik consiguió realizar una cistectomía abierta con éxito. En el siglo XX, 1926, Stern introdujo el reseccotscopio y se inició la difusión de la resección transuretral de vejiga (*Herr, 2018, 2021; Otto, 2018; Verger-Kuhnke & Reuter, 2007; Young & Eble, 2019*).

Los antecedentes del tratamiento inmunológico del cáncer comenzaron a finales del siglo XIX, cuando William B. Coley descubrió la regresión de tumores en pacientes que presentaban simultáneamente infecciones bacterianas. Avanzado el siglo XX se retomó esta idea terapéutica al comprobarse una menor incidencia de cáncer en pacientes tuberculosos. En la década de los 70, pacientes con leucemia y melanoma fueron tratados con *Mycobacterium bovis* atenuado, bacilo de Calmette-Guérin, BCG, con resultados positivos. Zbar estableció los criterios de administración: huésped inmunocompetente, suficiente número de micobacterias viables, proximidad física entre la vacuna y la células tumorales, carga tumoral limitada y terapia repetida, necesaria para inducir la reacción de hipersensibilidad retardada. El cáncer de vejiga no-músculo-invasivo (NMICV) cumplía estas condiciones. Morales et al. publicaron en 1976, su administración intravesical (*Morales et al, 1976*). Estudios posteriores mostraron el tratamiento con BCG era más eficaz que la quimioterapia, por lo que en 1990, fue aprobado por la FDA (Food and Drug Administration, USA) (*Herr & Morales, 2008; Lobo et al, 2021; Morales, 2017*).

El estudio del cáncer de vejiga generó la necesidad de clasificar las diferentes presentaciones clínicas para pronosticar su evolución. Chopard, en el siglo XVIII, definió los tumores en bajo y alto grado. Broders en 1922 ratificó la importancia del grado histológico. La citología de orina como método diagnóstico es establecida por Marshall en 1945. Jewett y Strong en 1946 señalaron la relación entre la profundidad de la invasión parietal y la progresión tumoral local y a distancia. El concepto de carcinoma in situ fue definido por Melicow en 1952. Aschner relacionó el patrón de crecimiento con el pronóstico. Hacia mediados del siglo pasado quedaron descritos los elementos histológicos relacionados con la agresividad del cáncer de vejiga: estadio, grado, carcinoma in situ y patrón de crecimiento. Una clasificación por estadios fue publicada en 1952 y a partir de 1967 se desarrolló la clasificación TNM. La OMS en 1973 publicó una clasificación del grado histológico (*Otto, 2018*).

Rous, en 1911, transmitió el sarcoma de pollo a gallinas mediante la inyección de un extracto de cultivo celular tumoral que no contenía células vivas y descubrió que el agente causal era un virus (Weiss & Vogt, 2011). Durante la década de 1960, Temin propuso que los retrovirus ARN podían generar un cáncer mediante la implantación de “oncogenes” en el ADN de las células huésped, que se activan por sustancias cancerígenas (Fisher, 2010). En 1970 se aísla el primer oncogén viral a partir del virus del sarcoma de Rous, *v-src* (Duesberg & Vogt, 1970). En 1976, Stehelin et al. descubrieron que los oncogenes retrovirales son genes celulares humanos normales, protooncogenes (*c-src*) que han sido incorporados al genoma del virus portador a lo largo de la evolución (Stehelin et al, 1976). Una mutación de un protooncogén puede conducir al cáncer, con o sin participación viral (Bister, 2015). Tras la identificación de *v-src* y *c-src*, se demostró que la proteína *src* era una tirosín-quinasa con dominios de interacción con proteínas. En 1977 y 1979, Vogt y Duesberg, publicaron el análisis de los genomas de los virus de la leucemia aguda aviar MC29 y del virus de la eritroblastosis aviar que condujo al descubrimiento de nuevos oncogenes, *Myc* y *ERBB-EGFR*, respectivamente (Vogt, 2012). En la década de los 80, se demuestra que el cáncer es una enfermedad genética (Reddy et al, 1982).

El desarrollo del cáncer se apoya en varios mecanismos patogénicos. Uno de ellos es la alteración de las vías de señalización celular que regulan la proliferación y crecimiento celular. Levi-Montalcini, en 1960, observó que un sarcoma de ratón puesto en vecindad de un ganglio de un embrión de pollo aceleraba el desarrollo de una fibra nerviosa, a través de un factor de crecimiento. Tras el aislamiento en 1970 del factor de crecimiento epidérmico (EGF), Cohen y Carpenter identifican el receptor (EGFR). Hunter y Cooper descubrieron que al tratar células intactas con EGF, muchas proteínas celulares sufren fosforilación de residuos de tirosina. Se implicó por primera vez en el cáncer humano, al identificar su secuencia aminoacídica homóloga a la de *v-ErbB*, que permite al virus de la eritroblastosis aviar codificar una forma aberrante del receptor EGFR e inducir la transformación maligna en el pollo. En los años 1980 pareció claro que la estructura primaria de EGFR soporta información vital para el mecanismo de transducción de señal y progresión tumoral. El oncogén originalmente llamado *NEU* se derivó de líneas celulares de neuroglioblastoma de rata (Coussens et al, 1985). *ERBB2* fue descubierto por varios grupos de investigación de forma independiente entre 1984 y 1985. En 1986, la oncoproteína HER2 fue clonada y caracterizada por Akiyama (Akiyama et al, 1986). En 1987, Slamon et al. comunicaron que HER2 está sobreexpresado en el 25-30% de los carcinomas de mama (Slamon et al, 1987). En 1998 se demostró que existían cánceres de mama con amplificación-sobreexpresión de HER2 que progresaban más lentamente cuando fueron tratados con trastuzumab, un anticuerpo para HER2. En 2010 se demostró un efecto similar en el carcinoma gástrico (Hayes, 2019). Zhau et al. comunicaron la sobreexpresión y amplificación HER2 en el cáncer de vejiga por vez primera en 1990 (Zhau et al., 1990).

4.2 EPIDEMIOLOGÍA

La relevancia de una enfermedad se relaciona con variables epidemiológicas (incidencia, prevalencia, morbilidad, mortalidad), etiopatogenia y costes económicos.

La patología oncológica junto con las enfermedades cardiovasculares son las causas más frecuentes de muerte en países desarrollados. A mayor nivel socioeconómico, mayor presencia de patología oncológica y menor de enfermedades infecciosas (Bray et al, 2021).

El cáncer en España y en Galicia, en 2021, fue la segunda causa de mortalidad (25,2%), detrás de las enfermedades del sistema circulatorio (26,4%). En la provincia de Pontevedra el cáncer fue la primera causa de fallecimiento (INE, 2022).

4.2.1 Incidencia

La incidencia mundial de cáncer en 2020, en datos de Globocan, se estima en 18.094.716 (datos influenciados por COVID-19), con una cifra prevista para 2040 de 28 millones de casos. El cáncer de vejiga (CV) ocupa el décimo puesto por localización con 573.278 casos (3,2%), el segundo cáncer genitourinario detrás de la próstata (7,8%) (SEOM, 2023). La vejiga es la localización más frecuente en la vía urinaria. El riesgo de contraerlo a lo largo de la vida es del 1,1 % en los hombres y 0,27% en mujeres (Richters et al, 2020; Sung et al, 2021).

El CV varía significativamente entre zonas geográficas. Las tasas de incidencia más altas se sitúan en Europa (Grecia, Italia, España, Bélgica) y América del Norte. Las más bajas se observan en África Subsahariana, México y algunos países de Oriente Medio y Asia Central (Richters et al, 2020).

En España, la incidencia de cáncer en 2023 se estimó en 279.260 casos. La localización vesical fue la quinta con 21.694 casos (7,8%), cuarta en hombres (11,2%) y octava en mujeres (3,3%). La tasa de incidencia estandarizada a la nueva población europea estimada para 2021 fue de $44,3 \times 10^5$ (74,2 en hombres y 14,4 en mujeres) (SEOM, 2023).

El Rexistro Galego de Tumores Galicia comunicó datos del año 2022 en los que el CV es el tercer tumor incidente en hombres, 1.040 casos, una tasa bruta de $80,3 \times 10^5$, una tasa ajustada a la población mundial de $27,2 \times 10^5$ y a la población europea 2013 de $66,9 \times 10^5$. En mujeres es el noveno, 234 casos, lo que supone una tasa bruta de $16,8 \times 10^5$, ajustada a la población mundial $5,4 \times 10^5$ y a la población europea de 2013 de $11,6 \times 10^5$. En conjunto, la tasa bruta fue de $47,4 \times 10^5$, ajustada a la población mundial $15,4 \times 10^5$ y a la población europea 2013 de $36,0 \times 10^5$ (REGAT, 2023). La vejiga fue la localización que generó más altas hospitalarias por cáncer en hombres, 12,8%, quinto lugar en mujeres, 3,9% (Xunta de Galicia. SERGAS, 2022). En Galicia, desde el año 2015 a 2022 se observó un ligero descenso de la incidencia en los varones, estable en las mujeres (REGAT, 2023).

4.2.2 Prevalencia

La neoplasia vesical fue la séptima localización más prevalente en el mundo con una prevalencia global a cinco años en 2018 de $1,6 \times 10^6$ (aproximadamente $1,3 \times 10^6$ hombres y $0,35 \times 10^6$ mujeres) (Richters et al, 2020). El número de afectados en España en 2018 fue de 149.795 casos en hombres (3º lugar) y 32.692 casos en mujeres (7º lugar) (SEOM, 2023). La prevalencia a 5 años fue tres a cinco veces mayor que la incidencia, en relación directa con la supervivencia (López-Cortés et al, 2021). El cáncer de vejiga no-músculo-invasivo (NMICV) es el estadio más frecuente, con una baja mortalidad y una elevada frecuencia de recidivas. Esto lo hacen ser más prevalente que otros tumores más incidentes pero que tienen menor supervivencia, como el cáncer de pulmón.

4.2.3 Mortalidad y supervivencia

En todo el mundo, la tasa de mortalidad estandarizada por tumor vesical fue de $3,3 \times 10^5$ /año para los hombres frente a $0,86 \times 10^5$ /año para las mujeres (Babjuk et al, 2022). Las mayores tasas de mortalidad en el mundo son las registradas en hombres europeos, particularmente del Este, Sur y países Bálticos (Ferlay et al, 2019).

España en 2021 presentó una mortalidad total por cáncer de 113.662, correspondiendo un 3,9% al cáncer de vejiga (7º lugar por localización, 5º en hombres y 9º en mujeres). La

mortalidad se elevó hasta la década de los 90 y posteriormente ha ido descendiendo ligeramente (INE, 2022; SEOM, 2023).

En Galicia, la mortalidad por CV en el año 2021 se situó en hombres en el sexto lugar del conjunto de tumores, 241 defunciones, que supuso una tasa bruta de $18,6 \times 10^5$ y ajustada a la población europea 2013 de $14,8 \times 10^5$. En las mujeres hubo 68 defunciones, que se correspondieron con una tasa bruta de $4,9 \times 10^5$ y ajustada a la población europea de $2,6 \times 10^5$. Desde el año 2015 se observó un descenso de la mortalidad en hombres, no así en mujeres (REGAT, 2023).

Incluidas todas las etapas, la supervivencia global a 5 años es del 77%. Es variable en relación al estadio tumoral: 5% en enfermedad a distancia y hasta el 95% en enfermedad sin invasión muscular localizada de bajo riesgo (Cancer.org, 2019). En Galicia, la supervivencia relativa a 5 años fue del 73,4% (IC-95% 71,7-75,2) en hombres y 76,2% (IC-95% 72,2-80,0) en mujeres (REGAT, 2023).

4.2.4 Factores de riesgo

Los patrones geográficos mundiales parecen reflejar la prevalencia del tabaquismo. La infección por *Schistosoma haematobium* y exposiciones ocupacionales a pintura, caucho, aminas aromáticas y otros productos químicos, son causas importantes de variaciones en la incidencia en determinadas poblaciones (Antoni et al, 2017; Silverman et al, 2018).

4.2.4.1 Edad

El cáncer de vejiga se relaciona con el *envejecimiento* por la progresiva alteración de los mecanismos de reparación celular y la paulatina agregación del efecto de los factores de riesgo. Es una enfermedad rara en menores de 40 años, se incrementa a partir de la sexta década y alcanza su máximo entre la séptima y octava (Malats et al, 2015). En España se comunicó una edad media de los pacientes incidentes alrededor de los 70 años (Cózar et al, 2015). El registro sueco entre 1997-2011 indicó una edad media de 72 años (Jahnson et al, 2016). El crecimiento poblacional mundial y el envejecimiento son factores que aumentarán el número de diagnósticos (Richters et al, 2020).

4.2.4.2 Género

Existen diferencias en la incidencia de cáncer relacionadas con el *género*. Refleja diferencias en la repercusión de factores de riesgo como el consumo de tabaco, medio ambiente ocupacional, hormonas endógenas, etc. (Malats & Real, 2015; Siegel et al, 2021). Se presenta con una relación hombre/mujer 3x1. Un estudio español presentó una relación de 5x1 (Miñana et al, 2014). Las mujeres se diagnostican con estadios más avanzados y con peor tasa de supervivencia que los hombres (Malats & Real, 2015). Estudios de Noruega y Países Bajos mostraron que la diferencia de supervivencia entre hombres y mujeres sólo existen en los primeros 2 años de seguimiento (Dobruch et al, 2016).

4.2.4.3 Tabaco

La conocida asociación del consumo de *tabaco* y el carcinoma de vejiga se comunicó por primera vez por John Hill en 1761, aunque no se acumularon pruebas evidentes hasta la década de 1950 (Young & Eble, 2019). El tabaquismo es el factor de riesgo más importante de CV. Es responsable del 50-65% de los casos en hombres y del 20-35% en mujeres (Cumberbatch et al, 2018; Galceran et al, 2017; Malats & Real, 2015). El riesgo aumenta con la duración y la intensidad del hábito (van Osch et al, 2016). La exposición ambiental al humo del tabaco también se asocia con un mayor riesgo. El actual modelo de la neoplasia vesical refleja la prevalencia de consumo hace 20-30 años (Galceran et al, 2017).

El tabaco es una fuente de hidrocarburos policíclicos aromáticos, aminas aromáticas y compuestos nitrosos, que son eliminados por vía renal. El cáncer se produce por el contacto del urotelio con estas sustancias o sus metabolitos. La acción de estos compuestos puede verse incrementada por una susceptibilidad individual por peculiaridades metabólicas de origen genético (N-acetiltransferasas, Glutathion S-transferasas). La acetilación lenta incrementa el riesgo y se presenta con una distribución geográfica variable: europeos 50%, africanos 35% y asiáticos 15%. La acroleína del humo del tabaco contribuye a la carcinogénesis vesical a través de la inducción de daño e inhibición de la reparación del ADN. Queda por dilucidar el mecanismo molecular por el que la acroleína activa la vía HER2 y FGFR, a través de la vía de señalización MAPK/ERK (Hong et al., 2022).

4.2.4.4 Productos químicos

La mayor presencia de CV en trabajadores de la industria de los tintes fue informado por primera vez por el clínico alemán Rehn en 1895 (Young & Eble, 2019). La exposición ocupacional a carcinógenos químicos es el segundo factor de riesgo más importante. Representa aproximadamente del 10% al 27% de todos los casos (Babjuk et al, 2022). Este tipo de exposición ocupacional ocurre principalmente en plantas industriales que procesan pinturas, tintes, metales y productos petrolíferos. En países desarrollados, las normativas de salud laboral han reducido el riesgo de los trabajadores de la industria química (Burger et al., 2013; Pesch et al., 2014). Se ha sugerido que la mayor exposición ocupacional a los gases de la combustión del diésel puede ser un factor de riesgo significativo (Koutros et al, 2020).

4.2.4.5 Otros factores

La relación entre *Schistosoma haematobium* y cáncer de vejiga, ya fue establecida por los egipcios hacia el 3000 a.C. pero no se confirmó hasta principios del S. XX por Alexander R. Ferguson (Young & Eble, 2019). En Egipto ha sido durante mucho tiempo el cáncer más diagnosticado y el tipo histológico más frecuente es el carcinoma de células escamosas por su relación con la endemia de esquistosomiasis. En las últimas décadas se produjo un incremento relativo del tipo urotelial, particularmente en hombres, disminuyendo el carcinoma de células escamosas del 78% en 1980 al 27% en 2005, en relación con disminución de la prevalencia de la esquistosomiasis del 74% en 1935 a sólo el 4% en 1983 (Richters et al, 2020).

La agrupación familiar del CV es rara y cuando ocurre, el resultado es controvertido. Podría existir asociación en caso de presentación en menores de 45 años. Los antecedentes familiares parecen tener poco impacto. La predisposición genética influiría en la incidencia a través de su impacto en la susceptibilidad a otros factores de riesgo (Burger et al, 2013; Egbers et al., 2015). El síndrome de Lynch, herencia autosómica dominante, causado por mutaciones en MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, se relaciona con tumores uroteliales de la vía superior (Lonati et al., 2022).

La exposición a la radiación ionizante está relacionada con un mayor riesgo. Se sugirió una asociación débil para ciclofosfamida y pioglitazona. El impacto de los factores metabólicos (índice de masa corporal, presión arterial, glucosa plasmática, colesterol y triglicéridos) es controvertido (Babjuk et al, 2022; Burger et al, 2013).

4.2.5 Repercusión económica

El gasto oncológico y su continuo incremento es una elevada carga para los sistemas de salud públicos, privados y para las economías familiares. El coste total del cáncer en Europa en 2018 fue 199.000 millones de euros (Hofmarcher et al, 2020). En España en 2020 fue de 19.300 millones de euros, correspondiendo al estado el 55% del gasto y a las familias el 45% (Wyman, 2020; Xunta de Galicia. SERGAS, 2022).

La elevada prevalencia del cáncer de vejiga sobrecarga los sistemas de salud, organizativa y económicamente. Su tratamiento supuso casi 5 mil millones de euros en Europa en 2012 (*Leal et al, 2016; Mossanen & Gore, 2014*). En el año 2009 en Europa, respecto a los costes totales del cáncer, la próstata supuso el 11% y la vejiga un 5%. Sin embargo, como la prevalencia del cáncer de próstata en la UE fue tres veces la del cáncer de vejiga, explica que el gasto por paciente prevalente fue mayor en la vejiga que en la próstata (vejiga 5621 euros y próstata 4282 euros) (*Leal et al., 2016; López-Cortés et al., 2021*).

Los costes de atención médica del NMICV se incrementan con el aumento del riesgo de progresión a MICV (*Mossanen & Gore, 2019*). El NMICV de alto riesgo se asocia con un mayor riesgo de progresión y recurrencia de la enfermedad. El número elevado de cistoscopias de control y las resecciones vesicales generan un gasto significativo (*Svatek et al, 2014*). Los ingresos hospitalarios no relacionados con la cistectomía son un factor importante y representan casi la mitad del global (*Aly et al, 2020*). En un estudio que evaluó los costes económicos a 5 años del NMICV en relación con los grupos de riesgo de EORTC se evidenció que los costes fueron 52.125 \$ en bajo riesgo, 146.250 \$ en riesgo intermedio y 366.143 \$ en alto riesgo (*Mossanen & Gore, 2014*). La selección de pacientes puede favorecer la economía del CV (*Cumberbatch & Noon, 2019*).

4.3 ANATOMÍA

La vejiga urinaria es un órgano muscular hueco con control voluntario. Su estructura histológica le permite acumular orina a baja presión para favorecer el flujo de la vía superior y la función renal. El órgano vacío se sitúa en la porción anteroinferior de la pelvis menor y lleno alcanza el abdomen, hasta el nivel del ombligo a máxima repleción. Tiene forma de pirámide cuadrangular invertida y está envuelta por la fascia vesical. La superficie superior está recubierta por el peritoneo parietal pélvico. La cara posterior se relaciona en el hombre con las vesículas seminales y el recto, en la mujer con el útero y vagina. Las dos caras inferolaterales se encuentran en relación con la pelvis ósea, músculo elevador del ano y músculo obturador interno. La cara inferior se relaciona con la próstata, a través de la cual el cuello vesical se continua con la uretra.

El trígono es un área anatómica triangular localizada en la base de la vejiga, siendo sus vértices el cuello y los dos meatos ureterales. El plano muscular trigonal es una combinación de músculo liso de la capa longitudinal del uréter y el músculo detrusor. El cuello vesical es la salida de la vejiga y es la zona de localización del esfínter interno, formado principalmente por la capa circular del detrusor. El trígono y las uniones ureterovesicales son determinantes para el funcionamiento de la vejiga, permitiendo el paso unidireccional de la orina de la vía superior a la vejiga e impidiendo el reflujo durante la micción. Esta zona vesical controla el reflejo miccional al estar muy inervada sensitivamente.

4.4 EMBRIOLOGÍA

Entre la cuarta y octava semana de desarrollo, la cloaca, una cámara epitelial común a los sistemas gastrointestinal y urogenital ubicada en la pelvis, se divide en una parte anterior, el seno urogenital primitivo y otra posterior, el conducto anorrectal, separados por el tabique mesodérmico uorrectal (*Liaw et al, 2018; Wang et al, 2013*).

El seno urogenital primitivo tiene un tracto de salida abierto en su vértice superior que está conectado a la alantoides durante la vida fetal temprana. Alrededor de la semana 15 de gestación, la vejiga se separa del ombligo a medida que el alantoides regresa y se convierte en un remanente llamado uraco o ligamento umbilical medio (*Rasouly & Lu, 2013*). La porción craneal

del seno urogenital primitivo por encima de la unión con los conductos de Wolff (mesonéfricos) forma la vejiga. La porción caudal o pélvica del seno urogenital primitivo en los hombres forma la próstata, la uretra prostática, las glándulas bulbouretrales y la uretra membranosa; en las mujeres forma la mayor parte de la uretra a continuación del cuello de la vejiga (*Cunha & Baskin, 2018; Liaw et al, 2018; Robboy et al, 2017*).

4.4.1 Histología de la vejiga fetal

La vejiga inicial presenta una luz revestida por células epiteliales cuboidales rodeadas de células mesenquimales indiferenciadas sueltas. A las 12 semanas de gestación, las células mesenquimales de la vejiga comienzan a diferenciarse en células del músculo liso. A las 21 semanas, adquiere tres a cinco capas de células uroteliales similares al urotelio completamente diferenciado y una capa de músculo liso bien desarrollada que consta de tres planos de orientación longitudinal y circular (*Rasouly & Lu, 2013*).

La mucosa del trigono vesical inicialmente es de origen mesodérmico, en relación con el mecanismo de integración ureteral en la vejiga. Posteriormente esta mucosa mesodérmica será sustituida por células epiteliales endodérmicas que revestirán toda la vejiga, la mayor parte de la uretra masculina y femenina. El epitelio del uréter y de la pelvis renal es de origen mesodérmico. El tejido conectivo y muscular trigonal se desarrollan principalmente a partir del mesénquima de la vejiga (*Liaw et al, 2018*).

4.4.2 Biología molecular del desarrollo vesical

El desarrollo del epitelio y de las capas fibromusculares de la vejiga dependen de las interacciones recíprocas epitelio-mesénquima. Se han identificado tres vías genéticas principales interrelacionadas en el desarrollo de la vejiga; SHH (“Sonic hedgehog”), TGFβ (“Transforming growth factor beta”) y FGFR2 (“Fibroblast growth factor receptor 2”). El epitelio de la vejiga en desarrollo produce SHH que de forma paracrina induce la diferenciación de mesénquima en músculo liso. Un gradiente de concentración de SHH es importante en el desarrollo de la musculatura de la vejiga. SHH incrementa la expresión de Bmp4 (“bone morphogenic protein 4”) en el tejido mesenquimatoso más cercano al epitelio, lo que da como resultado una inhibición de la diferenciación del músculo liso. Más lejos de la capa urotelial, donde las concentraciones de SHH son presumiblemente más bajas, Bmp4 se reduce proporcionalmente y se produce una fuerte diferenciación muscular. TGFβ actúa en la misma línea que Bmp4. Deleciones de *FGFR2* en el estroma conducen a un aumento de la actividad de SHH (*Islam et al, 2013; Liaw et al, 2018; Robboy et al, 2017*).

4.5 HISTOLOGÍA

La vejiga urinaria, el uréter y la pelvis renal tienen una composición histológica similar. Se estructuran en cuatro capas: urotelio, lámina propia, muscular propia y serosa/adventicia. Se denomina mucosa vesical al conjunto de urotelio y lámina propia, separadas por una membrana basal. La lámina propia, una submucosa, presenta en su espesor una estructura irregular denominada muscularis mucosa. Debajo de la lámina propia encontramos la capa muscular propia, formada por fibras musculares lisas con disposición transversal y longitudinal. En situación externa se encuentra la adventicia/serosa. Estos diferentes niveles histológicos son referencias para establecer el estadio tumoral.

4.5.1 Urotelio

Se compone de tres capas celulares distintas: superficiales, en contacto con el espacio urinario, intermedias y basales que se asientan en la membrana basal. Las células basales son las

más numerosas (alrededor del 90%) y las superficiales las de mayor tamaño (*Balsara & Li, 2017; Kripnerova et al, 2019*). El estrato superficial presenta cambios morfológicos en relación con la repleción vesical y es el único que no entra en contacto con la membrana basal (*Neuhaus et al, 2018*).

Delimita la vía urinaria desde los cálices renales hasta la uretra prostática. El espesor del urotelio es diferente a lo largo de la vía urinaria y en la vejiga según su distensión: 2-3 capas celulares en los cálices menores, 3-5 en el uréter y 6-7 en la vejiga vacía que se transforman en 2-3 en la vejiga llena. El incremento de la superficie vesical se produce por la reducción de los pliegues de la mucosa y el aumento de la membrana apical de las células lumbinales, mediante la exocitosis de vesículas. En el vaciado se produce un mecanismo inverso de replegamiento de la mucosa y endocitosis celular. El mecanismo de exo-endocitosis se genera por estímulos mecánicos (*Dalghi et al, 2020; Zupančič & Romih, 2021*).

Es una barrera dinámica que permite el intercambio entre sangre y orina con una acción reguladora de solutos, iones y agua, pero impermeable a metabolitos tóxicos y bacterias patógenas. Tiene función sensorial mediante la transmisión de información hacia los tejidos muscular y nervioso de la vejiga. Libera mediadores (ATP, acetilcolina, adenosina, NO, prostaglandinas, etc.) que transmiten información de modo autocrino y paracrino (*Dalghi et al, 2020; Khandelwal et al, 2009*).

4.5.1.1 Estrato superficial

Las células superficiales, lumbinales, están en contacto con el espacio urinario. Forman una sola capa de células poliédricas grandes (hasta 150 µm de diámetro en vejigas distendidas). Su morfología pasa de cuboidal a aplanada según el grado de repleción vesical (*Boss et al, 2013; Dalghi et al, 2020*). Son frecuentemente bi o multinucleadas (*Kripnerova et al, 2019*). Los núcleos son típicamente de mayor diámetro que los de las células intermedias y basales. Esta diferencia de tamaño refleja poliploidía (*Wang et al, 2018*). Es la única capa del urotelio que forma uniones estrechas y uniones adherentes identificables que sellan el espacio intercelular entre las células adyacentes.

La superficie luminal tiene aspecto festoneado debido a las invaginaciones que presenta la membrana citoplasmática, con aparición de áreas engrosadas llamadas placas. Las placas uroteliales cubren hasta el 90% de la superficie y están separados por estrechas regiones bisagra de membrana simétrica no engrosada. La membrana apical presenta una lámina externa dos veces más gruesa que la interna (“unidad de membrana asimétrica”, UMA). Los componentes principales de UMA son una familia de proteínas transmembranas denominadas uroplaquinas (UPK). Se estructuran en dos anillos estrechamente relacionados: el anillo interior formado por heterodímeros de UPK1a con UPK2, mientras que el anillo exterior lo conforman UPK1b con UPK3a (*Dalghi et al, 2020; Wu et al, 2009*). Se propone que contribuyen a la impermeabilidad. Los receptores y canales se encuentran al margen de estas zonas (*Kripnerova et al, 2019*).

Las células lumbinales presentan vesículas de membrana bilaminar. Se denominan vesículas de forma discoidal y/o fusiforme (VFD). Las VFD transportan carga a la superficie apical, permitiendo la expansión de la membrana en respuesta al llenado vesical. También pueden transportar cargas secretoras apicales. Se asocian a una red de citoqueratinas (KRT) que proporcionan rigidez a la estructura celular sirviendo de anclaje a los desmosomas intercelulares (*Dalghi et al, 2020*).

Las cadherinas son proteínas responsables de la adhesión célula-célula en células epiteliales y también en el urotelio. Se reconoce una alteración en la expresión de la cadherinas en el cáncer, con disminución de cadherina-E y sobreexpresión de cadherinas N o P (*Guo et al, 2020*). Las claudinas son una familia de 34 proteínas localizadas en las uniones estrechas, específicas

de tejido y localización. Intervienen en la regulación del transporte paracelular y posiblemente en la diseminación metastásica (*Dalghi et al, 2020*).

4.5.1.2 Estrato intermedio

El estrato de células intermedias está formado por cinco capas celulares en la vejiga vacía. Puede reducirse a una sola capa cuando está llena. Son más pequeñas en diámetro que las luminales (aproximadamente 20 μm). Están parcialmente diferenciadas, con núcleos ovalados y citoplasma amplio con vesículas conteniendo UPK. Expresan proteínas asociadas a uniones estrechas como las claudinas y las cadherinas, aunque no se forman uniones estrechas identificables (*Dalghi et al, 2020; Wang et al, 2017*).

4.5.1.3 Estrato basal

La capa de células basales es vecina a la lámina propia subyacente. Son células cuboides, pequeñas (5-10 μm de diámetro), en un único estrato que se adhieren directamente a la membrana basal a través de hemidesmosomas y se adhieren a las células intermedias superpuestas a través de desmosomas. Son las menos diferenciadas del urotelio. En condiciones normales, estas son las únicas células mitóticamente activas (*Dalghi et al, 2020; Papafotiou et al, 2016; Wang et al, 2017*).

4.5.1.4 Marcadores de diferenciación urotelial

La progresiva diferenciación del urotelio de basal a luminal implica cambios en los perfiles de citoqueratinas (KRT) que son útiles en el estudio oncológico. Los cánceres uroteliales desarrollados de los distintos tipos celulares tienen diferentes firmas de expresión e inmunofenotipos, lo que da soporte al desarrollo de las clasificaciones que diferencian entre tumores luminales y basales.

La expresión de KRT20, GATA3 y UPK3 está restringida a las células más diferenciadas del urotelio normal, mientras que KRT14 y KRT5/6 están presentes en las capas basales adyacentes a la membrana basal. Las células intermedias presentan características de ambos extremos. La capacidad proliferativa se pierde al ascender hacia el extremo luminal, lo que resulta en la pérdida de la expresión de KRT5 y el inicio de la expresión de KRT20. La capa basal presenta células madre pluripotenciales. Se ha sugerido que la prolongada vida de las células basales facilita la aparición de múltiples alteraciones genómicas (*Guo & Czerniak, 2019*).

4.5.1.5 Regeneración del urotelio: células madre

La renovación natural y la reparación del urotelio tras una lesión son necesarias para que la vejiga sea funcional. La tasa de reposición en condiciones normales es lenta (3-6 meses), pero tras una agresión puede regenerarse y restaurarse hasta en 10 días (*Khandelwal et al, 2009*).

La regeneración urotelial puede desarrollarse a través de dos modelos diferentes. El modelo “lineal” en el que las células madre basales adultas desarrollan células intermedias (células precursoras amplificadoras de tránsito) y luminales. El modelo “no lineal” en el que las células progenitoras son tanto basales como intermedias. Este modelo explica la restauración urotelial rápida en lesiones de poca intensidad. El modelo de regeneración parece depender del tipo y de la extensión del daño urotelial y del tejido subyacente (*Dalghi et al, 2020; Papafotiou et al, 2016*).

Se especula que representando las células basales el 90% del total no todas ellas sean células madre. Estas últimas serían sólo un 10% de las primeras y estarían inactivas durante largos períodos de tiempo (*Hatina & Schulz, 2012; Kripnerova et al, 2019*).

4.5.2 Lámina propia

Se extiende entre la membrana basal y el músculo detrusor. Se compone de matriz extracelular, fibroblastos, adipocitos, células intersticiales, nervios aferentes y eferentes, una red vascular extensa, vasos linfáticos, fibras elásticas y fascículos musculares lisos. Su espesor varía con el grado de distensión. Generalmente es más delgada en las áreas del trigono y el cuello de la vejiga (*Andersson & McCloskey, 2014*).

La “muscularis mucosae” (MM) son fibras musculares lisas, irregularmente ordenadas, formando fascículos delgados y ondulados en una capa discontinua. Se asocian con frecuencia con vasos sanguíneos de paredes delgadas. Son fibras diferentes a las del músculo detrusor en la morfología y en la histología. Se suele localizar en la mitad superior de la lámina propia. Se identifica de forma variable en las biopsias (15-83%). En su ausencia, el plexo vascular puede utilizarse como identificador subrogado (*Paner et al, 2017*).

4.5.3 Muscular propia

Es un estrato histológico compuesto por tres capas de músculo liso, longitudinales interna y externa, circular central. Estas capas sólo se pueden identificar de manera consistente en el área del cuello de la vejiga. En otras localizaciones, las capas longitudinales y circulares se mezclan libremente y no tienen una orientación definida. El trigono presenta dos planos musculares sobre el plano del músculo detrusor: la barra interureteral que son fibras procedentes del uréter intramural que se entrecruzan con las contralaterales y el músculo trigonal propiamente dicho, continuación del esfínter vesical.

4.5.4 Serosa-Adventicia

La serosa es una capa delgada de tejido conectivo cubierto parcialmente con una capa mesotelial en el área peritoneal que apenas puede contener el crecimiento tumoral. Su relación con la vascularización y el sistema linfático explica el riesgo de metástasis muy elevado cuando el tumor alcanza este nivel. La grasa de la serosa puede introducirse en la muscular propia e incluso en la lámina propia.

4.5.5 Variaciones topográficas de la pared vesical

La cara intraluminal de la vejiga se divide en regiones topográficas: cuello, trigono, meatos ureterales, cara posterior, cara anterior, caras laterales y cúpula. Existen diferencias histológicas regionales que pueden tener influencia en el diagnóstico y pronóstico del CV (*Babjuk et al, 2022*).

La lámina propia (LP) presenta en la cúpula un espesor prácticamente doble al que tiene en el trigono y ligeramente superior en las caras laterales, anterior y posterior. La muscularis mucosae se identifica de forma variable en tamaño y localización, con un máximo en la cúpula (75%) y mínimo en el trigono (10%) (*Compérat et al, 2019; Paner et al, 2017*). La asignación de estadio en el trigono es compleja por la dificultad para confirmar la infiltración del detrusor (*Compérat et al, 2019*).

Un tercio de los CV surgen del trigono-cuello y un número ligeramente superior de las caras laterales. La localización en trigono y cuello parece ser de mayor riesgo pronóstico (recurrencia) por ser más frecuente la invasión muscular y linfovascular (*Minardi et al, 2016; Xiao & Rashid, 2015*).

4.6 CARCINOGENESIS



4.6.1 Células neoplásicas progenitoras

El concepto de célula madre cancerosa se basó en células con propiedades similares a las células madre tisulares (Fang & Kitamura, 2018; Kripnerova et al, 2019). Las células madre de tejidos adultos tienen la capacidad de autorrenovación, longevidad y acumulación de mutaciones. Las células madre cancerosas se parecen fenotípicamente a las células madre del tejido original (Amin et al, 2015).

La teoría clásica de las células madre cancerosas propone que las células cancerosas están organizadas jerárquicamente, modelo “jerárquico”. Un modelo alternativo es el modelo “no jerárquico” en el que no hay ninguna subpoblación específica de células madre. Todas tienen potencial para reconstituir la heterogeneidad intratumoral y de proliferar (Kaushik et al., 2021). Diferentes subpoblaciones genéticamente diferentes crecen en microambientes específicos (Yakisich et al, 2017).

4.6.2 Vías de desarrollo del cáncer de vejiga

El carcinoma urotelial se caracteriza por una elevada carga mutacional (> 7 mutaciones por Mb), sólo superado por el cáncer de pulmón y el melanoma. Esta elevada tasa mutacional propicia la heterogeneidad tumoral (Meeks et al, 2020).

Se desarrolla a través de dos vías, papilar y no papilar, que conducen a tumores con distinto perfil molecular. Se generan a partir de distintas lesiones precursoras de la mucosa (Kamat et al, 2016).

- Vía papilar. 80% de los CV son tumores papilares superficiales que surgen de lesiones difusas, premalignas, denominadas “neoplasia intraurotelial de bajo grado”. 10-15% de estos tumores papilares progresan a CV invasor de alto grado; la progresión suele precederse del desarrollo de CIS en la lesión papilar o en la mucosa urotelial adyacente.
- Vía no papilar. 20% son CV invasivos, que se desarrollan de lesiones precursoras planas como el CIS o “neoplasia intraurotelial de alto grado”

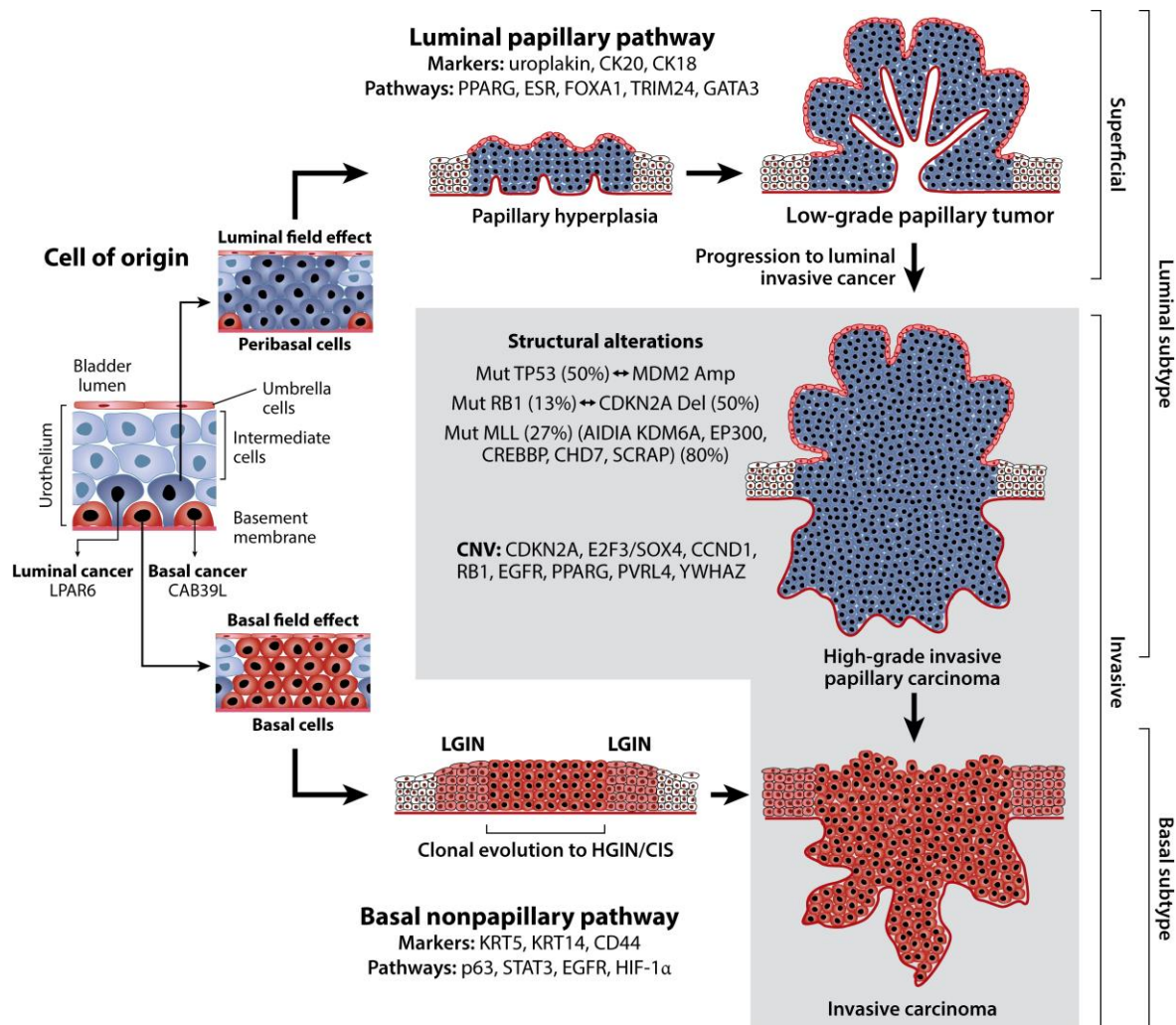
Estas dos vías presentan algunas alteraciones genéticas similares, sugiriendo un origen común. Los responsables de la divergencia entre ambas vías serían acontecimientos secundarios. La identificación de una gran heterogeneidad molecular y múltiples subtipos sugiere la existencia de varias “subvías” (Hurst et al, 2017).

Otros estudios plantean diferencias entre los genes originarios de ambas vías. Los subtipos luminal y basal se desarrollan de células uroprogenitoras diferentes (Guo & Czerniak, 2019). *LPAR6* desencadena la expansión de células progenitoras intermedias conduciendo al desarrollo del cáncer papilar luminal, mientras que *CAB39L*, dirige la expansión de células progenitoras basales, produciendo el cáncer basal no papilar. Los tumores papilares NMICV son casi en exclusiva luminales, mientras que 50% de los MICV se desarrollan de lesiones papilares pre-existentes y son de tipo luminal y 50% son menos diferenciados y expresan el fenotipo basal (Czerniak et al, 2016) (Figura 1)

Los cánceres papilares están enriquecidos por mutaciones activadoras de oncogenes, *H-ras*, *FGFR3* y *PI3K*. La vía no papilar presenta mutaciones que generan pérdida de función, afectando a genes supresores *TP53*, *RB1* y *PTEN*. La minoría de CV papilares que progresan a MICV muestran inestabilidad genómica y propensión a pérdida de *CDKN2A*, que puede servir como alternativa para inactivar *TP53* y *RB1* (Guo & Czerniak, 2019).

Figura 1.

Orígenes del cáncer de vejiga.



 Czerniak B, et al. 2016.
Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 11:149–74

Nota: Permiso de Czerniak et al, 2016. Copyright 2016; Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease (anexo 3)

En la progresión oncogénica, las células uroteliales sufren cambios morfológicos y de capacidad invasora, probablemente regulados por mecanismo epigenéticos. La esquistosomiasis parece actuar a través de mecanismos inflamatorios crónicos, supresión de genes estructurales e inducción del mecanismo inmunológico innato (Shin et al, 2014).

En el estudio TCGA Research Network (MICV) se encontraron gran número de alteraciones genómicas implicadas en la regulación del ciclo celular, remodelación de la cromatina y vías de señalización de quinasas: *TP53* (50% de MICV), *MLL2*, *RB1*, *ERBB2* (Sjödahl et al, 2019).

4.7 CLASIFICACIÓN MOLECULAR

La evolución clínica diversa del CV y su variedad fenotípica hizo pensar en un sustrato molecular heterogéneo. La clasificación de este nivel básico es el intento de poner orden en la diversidad con la finalidad de desarrollar una herramienta de estratificación de riesgo que tenga utilidad clínica por su aportación pronóstica y que facilite el desarrollo de fármacos con dianas personalizadas (*Sanguedolce et al, 2023*).

Estas clasificaciones se fundamentan en la medición de la expresión de genes y de proteínas. La determinación de ARN se puede realizar tanto de forma masiva mediante secuenciación de ARN como de una forma más limitada con PCR (“polymerase chain reaction”). La expresión proteica se cuantifica habitualmente por IHQ. Los ensayos basados en ARN pueden cuantificar la expresión de miles de genes. Son estudios difíciles de validar, requieren técnicas computacionales, laboratorios especializados, elevados recursos económicos y requieren un tiempo prolongado en relación con la IHQ. IHQ es barata, rápida y con una fácil incorporación en el circuito clínico. Presenta la limitación práctica del número de inmunotinciones que se pueden realizar en un bloque de tejido, 3 o 4 marcadores por muestra. Presenta variabilidad interobservador ya que es una determinación cualitativa o semicuantitativa. El desarrollo de técnicas de imagen computacional e inteligencia artificial podría permitir la determinación de múltiples proteínas no fáciles de implementar en la clínica diaria. En la reunión de consenso ISUP 2022 (“International Society of Urological Pathology”), los participantes se decantaron por técnicas IHQ para la realización de clasificaciones moleculares en el cáncer de vejiga (*Warrick et al., 2023*)

La NGS (“Next Generation Sequencing”), presenta el problema de la confusión de datos, al analizarse conjuntamente células neoplásicas y el microambiente tumoral, que conlleva la presencia de células inflamatorias e inmunológicas. Explica que no coincidan los resultados con las determinaciones inmunohistoquímicas ya que éstas últimas estudian “in situ” el material celular tumoral. Identifica la localización de los marcadores individuales distinguiendo entre señales de células tumorales y no tumorales (inmunes o del estroma) (*Bernardo et al, 2022; Robertson et al, 2020; Sjö Dahl et al, 2019*).

Diferentes formas de analizar la información han conducido a diferentes clasificaciones moleculares. El uso de perfiles de expresión de transcriptoma y genoma completo fueron la base de las diferentes clasificaciones moleculares publicadas (*Choi et al, 2014; Damrauer et al, 2014; Robertson et al, 2017; Sjö Dahl et al, 2012; Weinstein et al, 2014*). Todos los sistemas son variaciones de la clasificación principal en dos grupos: luminal y basal. Se han propuesto un número variable de subtipos moleculares (SM) (de 2 a 5) (*Fong et al, 2020*). En el año 2020 se publicó una clasificación de consenso publicada por Bladder Cancer Molecular Taxonomy Group, basada en el análisis de 1750 perfiles transcriptómicos de dieciséis conjuntos de datos publicados y dos cohortes adicionales. Clasifican seis SM de MICV, luminal papilar (LumP), luminal no especificado, luminal inestable (LumU), rico en estroma, basal/escamoso (Ba/Sq) y de tipo neuroendocrino. Los tumores Ba/Sq y LumP son los más frecuentes, ya que representan el 35 % y el 24 %, respectivamente. Las amplificaciones de *ERBB2* están enriquecidas en el subtipo LumU, que presenta la mayor actividad de ciclo celular entre los tumores luminales, así como la mayor carga de mutación somática (*Kamoun et al., 2020*). Los SM muestran características distintas en términos de mutaciones del gen “driver”, patrones histológicos, comportamiento clínico y respuesta a la quimioterapia de primera línea (*Sanguedolce et al, 2022*).

Dado que todos los tumores MICV surgen inicialmente como NMICV, aparece la cuestión de si la clasificación de consenso de los MICV sería aplicable a los NMICV. El proyecto UROMOL analizó el perfil transcripcional de 460 NMICV, definiendo tres grupos moleculares. Las clases 1 y 2 mostraron características del subtipo luminal mientras que la clase 3 mostró características del basal (*Hedegaard et al, 2016*). Lindskrog et al. en una actualización del estudio, comunicaron que los NMICV mostraron una variabilidad fenotípica menos importante que los MICV. Validaron las tres clases descritas y además dividieron la clase 2 en clase 2a y 2b. La clase 2a se caracteriza por inestabilidad cromosómica significativa, interrupción de la vía de señalización celular implicando p53, y mutaciones *APOBEC* y *ERBB2*. Es la clase de peor pronóstico, por asociarse a la vía de progresión de CIS y MICV. Sin embargo, estas firmas moleculares aún no se han validado en el entorno clínico (*Lindskrog et al, 2021*).

El número de SM parece ir aumentando en relación con el incremento del estadio tumoral. La clasificación de Lund divide los tumores luminales en tipo “urotelial-like” y “genómicamente inestable”. En el estadio Ta, los tumores son luminales del tipo urotelial-like. El CIS es mayoritariamente luminal repartidos en ambos tipos. T1 es predominantemente luminal con una pequeña fracción basal-escamoso. Los luminales presentan diversidad en las firmas de actividad del ciclo celular y expresiones inmunológicas. (*Jackson et al., 2022; Marzouka et al., 2022; Warrick et al., 2023*). Los MICV son con diferencia los que presentan mayor diversidad, con una elevada proporción de basales. Los SM pueden diferir espacialmente en el interior del tumor primario o entre éste y las metástasis (*Warrick et al., 2023*).

La alteración genómica en los NMICV es un predictor independiente de recurrencia y progresión. El desarrollo de biomarcadores para los NMICV permitiría establecer criterios más fiables de seguimiento y tratamiento (*Lindskrog et al, 2021*). Los datos disponibles respaldan la hipótesis de que HER2 puede ser un candidato óptimo para ser un marcador incluido en un panel de anticuerpos pequeño y adecuado para la subtipificación molecular del CV en la práctica clínica (*Garczyk et al, 2021; Kiss et al, 2017; Schnitzler et al, 2020*).

Limitarse a tipos luminales versus basales puede ser una excesiva simplificación que no logre incorporar información clínica relevante. En este momento, no se recomienda aplicar la clasificación molecular en el análisis de rutina y notificación de muestras de cáncer de vejiga, hasta que se proporcione una evidencia concluyente de su utilidad clínica (*Serag-Eldien et al, 2021*).

4.8 CÁNCER DE VEJIGA: TIPOS HISTOLÓGICOS

La localización más frecuente de los tumores de la vía urinaria es la vejiga (90-95%), seguida del tramo superior (5-10%) y de la uretra (< 1%). El 90% son uroteliales (*López-Cortés et al, 2021*).

4.8.1 Cáncer no urotelial

Los tumores del tipo no urotelial puro representan aproximadamente el 5%. Se piensa que tienen peor pronóstico, aunque si se igualan por estadio, una parte importante tienen un pronóstico similar a los de tipo urotelial (*Akgul et al, 2020; Leivo et al, 2016*).

El carcinoma de células escamosas es el más frecuente (2-5% de CV, hasta el 30% en países con endemia de esquistosomiasis) (*Lobo et al, 2020*). La inflamación crónica y la infección por *Schistosoma haematobium* son factores de riesgo conocidos (*Alanee et al, 2019*).

El adenocarcinoma primario de vejiga es raro (0,5-2% de CV). Son menos frecuentes que los secundarios (metastásicos), que deben ser excluidos antes de aceptar el origen vesical (Akgul *et al*, 2020).

Los tumores neuroendocrinos abarcan desde carcinomas de tipo células pequeñas a tipo células grandes con diferentes grados de diferenciación. Es una enfermedad rara (0.5-0.7% de CV) (Akgul *et al*, 2020). El carcinoma de células pequeñas a menudo coexiste con otros tipos histológicos. Presenta expresión anómala del gen *ERBB2* (Shen *et al*, 2018).

El sarcoma es el subtipo histológico más común de los tumores no epiteliales vesicales. Se puede presentar como leiomioma 50%, rabdomiosarcoma 20%, osteosarcoma o angiosarcoma (Sanfrancesco *et al*, 2016).

4.8.2 Carcinoma urotelial. Subtipos histológicos.

El carcinoma urotelial (CU), también llamado carcinoma de células transicionales es el fenotipo histológico más frecuente. El CU representa el 93% en la población blanca norteamericana, 90-95% en los europeos, 85% en los afroamericanos y menos del 40% en Egipto (Zupančič & Romih, 2021).

Puede presentarse en su forma típica en el 75% o con otras morfologías histológicas, bien diferenciación divergente (DD), bien subtipos histológicos (SH). Los términos “diferenciación divergente” y “subtipo histológico” no son intercambiables. DD se refiere a una diferenciación aberrante a través de una línea histológica no urotelial (escamosa, glandular, trofoblástica), pura o mixta. SH se utiliza cuando el proceso surge de un tumor con histogénesis de diferenciación urotelial (Compérat *et al*, 2021).

Tabla 1.

Clasificación OMS-2022 del carcinoma urotelial: subtipos y diferenciación divergente

CLASIFICACIÓN OMS 22: SUBTIPOS Y DIFERENCIACIÓN DIVERGENTE CARC. UROTELIAL		
SUBTIPOS	FRECUENCIA	PRONÓSTICO (respecto a “Urotelial Típico”)
Micropapilar	12-15%	Inferior(?)
Nidos	8-13%	Similar
Nidos grandes		Similar
Tubular y microquístico		
Plasmocitoide		Inferior(?)
Sarcomatoide	3-6%	Inferior
Rico en lípidos		
Linfoepitelioma-like		Similar
Células claras		
Células gigantes		
Pobre diferenciación		
DIFERENCIACIÓN DIVERGENTE		
Escamosa	30-32%	Similar
Glandular		Similar
Trofoblástica		
Mülleriana		

Nota: elaboración propia a partir de datos de Paner *et al*. (Paner *et al*, 2023)

Entre estas variedades histológicas, la DD escamosa supone el 20-40% y glandular 18%. Se presentan con mayor frecuencia que los SH (6-33%) Entre estos últimos, los mayoritarios son el micropapilar (2-5%) y el plasmocitoide (1-3%) (Compérat *et al*, 2021; Humphrey *et al*, 2016; Lobo *et al*, 2020).

Los SH son más predominantes en los MICV (70%) que en los NMICV (15-30%). El estadio T1 presenta la mayoría de los casos con presencia de esta característica (*Sanguedolce et al, 2021*). En una serie de tumores tratados con cistectomía radical (CR) tras RTUV previa sin diagnóstico de un SH, éste fue diagnosticado entre el 50% - 84% de los casos. El aparente aumento en la incidencia de SH en series recientes parece deberse a un mayor empeño diagnóstico, fruto de la recomendación de las guías clínicas (*Lopez-Beltran et al., 2022*). La identificación de SH presenta una variabilidad interobservador del 30%, dependiente de la experiencia del patólogo (*Luchey et al, 2016*). La concordancia diagnosticada entre expertos fue del 82% (*Jin et al, 2020*).

Los subtipos histológicos se relacionan con subtipos moleculares luminales (SH micropapilar, SH plasmocitoide y SH en nidos) y basales (DD escamosa, SH sarcomatoide) (*Compérat et al, 2021; Humphrey et al, 2016; Lobo et al, 2020*).

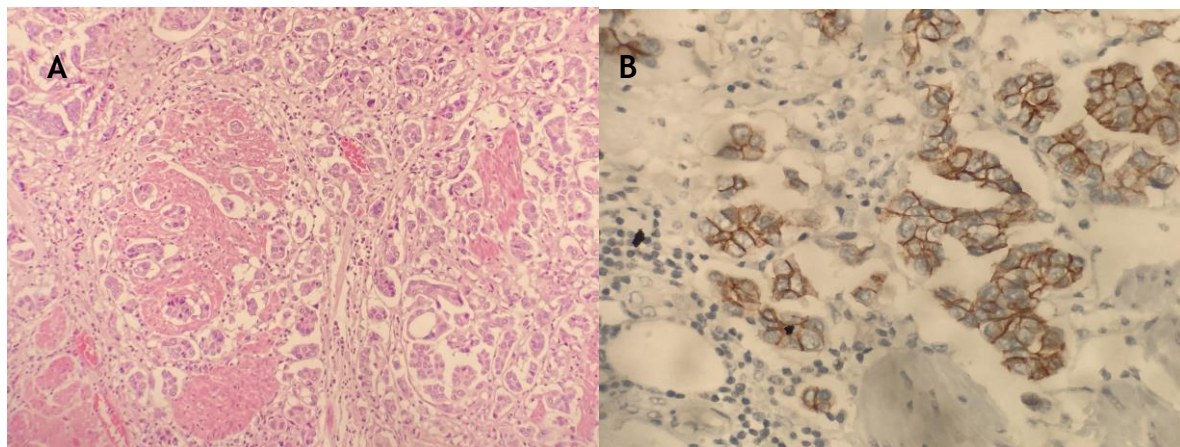
Se han descrito tasas variables de expresión de HER2 en paciente con tumores uroteliales con SH. Behzatoglu et al. informaron la presencia de sobreexpresión de HER2 en el 56% de los SH micropapilares y solo en el 36% de los uroteliales puros; por otro lado, las tasas de positividad de HER2 disminuyeron al 20% en el grupo con diferenciación escamosa, y no se observó expresión en los casos de carcinoma sarcomatoide y diferenciación glandular (*Behzatoglu et al, 2018*). SH plasmocitoide muestra una alta frecuencia de alteraciones de HER2. Mohanty et al. comunicaron una sobreexpresión HER2 más frecuente en el subtipo micropapilar (12%), diferenciación escamosa (11%) y sarcomatoide (9%) (*Mohanty et al., 2021*). HER2 podría ser considerado como una posible estrategia terapéutica dirigida a algunos casos de carcinoma urotelial micropapilar o plasmocitoide (*Kiss et al, 2017*).

La presencia de SH indica la posibilidad de infraestadificación de la biopsia. El diagnóstico de SH implica riesgo pronóstico, independientemente de su cantidad (*Sanguedolce et al, 2021*). La mayoría de las guías clínicas consideran los SH como de alto riesgo: AUA cualquier subtipo, NCCN a los SH micropapilar, plasmocitoide, sarcomatoide y EAU añade a los anteriores el neuroendocrino (*Taylor et al, 2020*). Muchos autores recomiendan la indicación de cistectomía radical, especialmente cuando se asocia con otras características de alto riesgo como carcinoma in situ (CIS), invasión linfovascular (ILV), extensa invasión del estroma y carga tumoral significativa (*Sanguedolce et al, 2021*).

El SH micropapilar SH(mP) se caracteriza por grupos pequeños y compactos de células tumorales de alto grado, micropapilas, que carecen de verdaderos núcleos fibrovasculares y están contenidos dentro de espacios lacunares, pudiendo confundirse con un tumor de bajo grado (*Burger et al, 2021*). Habitualmente, se clasifica en el grupo molecular luminal (*Kamoun et al, 2020; Zinnall et al, 2018*). La estrategia habitual en el estadio T1 de tratar con BCG y si se produce fallo pasar a CR, parece subóptima para este subtipo por la rápida progresión y posible pérdida de control de la enfermedad (*Burger et al, 2021*). Una revisión de los resultados del tratamiento en 3154 pacientes con T1 y SH(mP) describió una SCE 5 años en los tratados con RTUV del 60–85 % y con cistectomía temprana del 81–100 % (*Abufaraj et al, 2019*). La mayoría de las guías clínicas recomiendan la cirugía radical. La escasa eficacia de la terapia con BCG en estos pacientes puede deberse a la frecuente aparición de infraestadificación, la biología intrínseca y las características moleculares. La sobreexpresión (20%) y la amplificación de *ERBB2* (15-74%) ocurre con mayor frecuencia que en el tipo urotelial puro (*Akgul et al, 2020; Sangoi et al, 2020*). Dos estudios que compararon el SH(mP) con el CV convencional de igual estadio informaron tasas de amplificación más altas en el primer grupo (*Kamoun et al, 2020; Zinnall et al, 2018*).

Figura 2.

Carcinoma urotelial de vejiga T1 micropapilar.



Nota: A.- Hematoxilina-Eosina. B.- IHQ-HER2. Elaboración propia.

Moktefi et al. informaron sobreexpresión de la proteína HER2 hasta el 60% de los casos de SM(mp) y solo el 12% mostró amplificación de *ERBB2* con análisis FISH (Moktefi et al, 2018). Existe una heterogeneidad intratumoral frecuente de la amplificación de *ERBB2* en tumores combinados con subtipo micropapilar mostrando tasas más altas en las localizaciones de este componente (Sanguedolce et al, 2023; Takahara et al, 2021).

4.9 CARCINOMA UROTELIAL: T1AG/G3

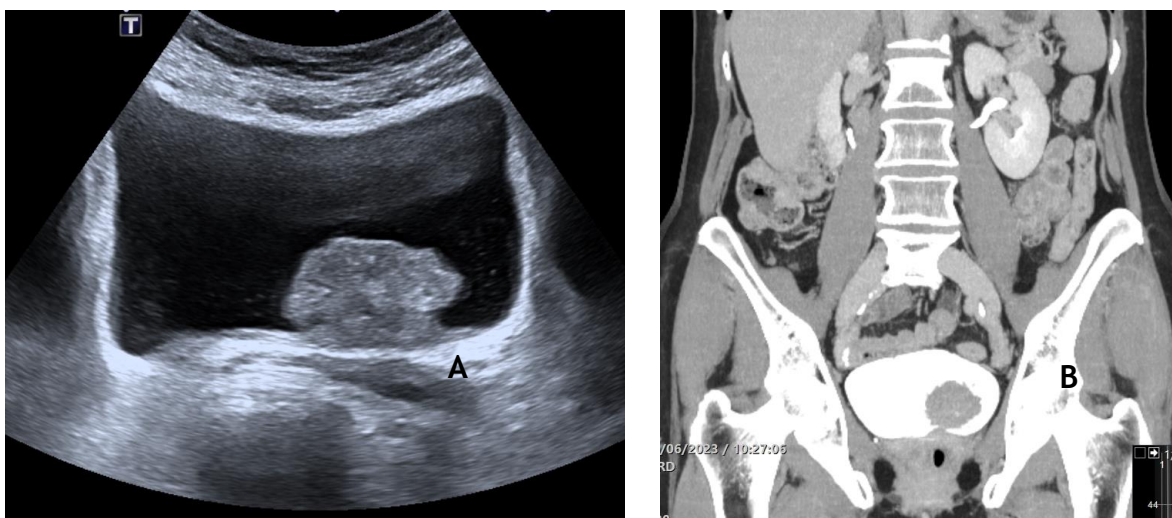
“La experiencia acumulada evidencia que esta conducta (manejo similar al conjunto de NMICV) es inadecuada y no ha de ser mantenida por más tiempo, imponiéndose un replanteamiento de la actitud a adoptar frente a los tumores de alto riesgo (T1AG) teniendo en cuenta los índices desfavorables en relación con la recurrencia, progresión y supervivencia a corto plazo, reflejados en los diferentes estudios.” (Nogueira March et al, 1992).

Los tumores que afectan la lámina propia (T1) con alto grado (AG) a pesar de compartir muchos de los hechos genéticos de los cánceres de vejiga invasivos, se clasifican como NMICV. Tienen una probabilidad muy alta de recurrencia y progresión a invasión muscular. Tienen tan mal dato de supervivencia cáncer específica como el cáncer de próstata de “mayor riesgo” (Gleason 10, T3b) (Ferguson & Kamat, 2018).

Los NMICV son el 70% de los CV iniciales y el 20% de ellos, son estadio T1. El programa SEER (“Surveillance, Epidemiology and End Results Program”, EEUU) indica que los tumores T1AG representan el 57,5% de los NMICV de alto grado (Chamie et al, 2013). Datos de NCDB (“National Cancer Database”, EEUU) informan que T1AG supone 15,3% de todos los CV (Matulewicz et al, 2016). Todos estos datos indican que T1AG supone una carga clínica global importante.

Figura 3.

Carcinoma de vejiga: diagnóstico por imagen.



Nota: A.- Ecografía. B.- uro-TAC. Elaboración propia.

4.9.1 Diagnóstico

El diagnóstico T1 se basa en la estadificación patológica realizada mediante resección transuretral de vejiga (RTUV). El patólogo recibe fragmentos del tumor resecado y describe estadio-grado, así como otros factores de riesgo acompañantes (CIS acompañante, infiltración linfovascular, subestadaje, etc).

El manejo clínico del T1AG es particularmente importante dada su variabilidad clínica y su riesgo pronóstico. Es fundamental la resección completa del tumor. Las guías clínicas EAU y NCCN especifican el requerimiento de presencia de músculo en la biopsia para calificar una resección como completa. Todas las guías clínicas de referencia recomiendan la repetición de la resección (R-RTUV) en 2-6 semanas, ya que hay estudios que indican que disminuye la recurrencia y mejora los resultados del tratamiento con BCG.

4.9.2 Evolución

T1AG presenta en la evolución a 10 años, una recurrencia del 77%, una progresión del 42% y una mortalidad cáncer específica (MCE) entre el 10 y el 30% (*Jordan & Meeks, 2019; Klaassen et al., 2018*).

Cambier et al., valorando datos combinados de 1812 pacientes de dos ensayos fase III de la EORTC (“European Organisation for Research and Treatment of Cancer”) en tumores NMICV de riesgo intermedio y alto, tratados con BCG mantenimiento, indicaron una progresión para T1AG a 1 año del 11,4% y a 5 años del 19,8%; MCE-1 año del 4.8% y MCE-5 años del 11.3% (*Cambier et al., 2016*).

Palou et al. realizaron un estudio de 935 NMICV, en el que en un subanálisis del grupo T1, apareció una recurrencia del 54,87% y progresión del 17,75% (*Palou et al., 2018*). Leow et al. comunicaron una tasa a 5 años de recurrencia del 42% y de progresión del 21%, incluso cuando se tratan con el protocolo BCG de referencia (*Leow et al., 2019*).

Klaassen et al. recogieron en la literatura series publicadas de T1 o análisis de subgrupos de NMICV, con tasas de recurrencia entre el 35-57%, progresión del 7-96%, supervivencia cáncer específica del 81-97% y supervivencia global del 47-85% (*Klaassen et al., 2018*).

4.9.3 Pronóstico: estadio

El pronóstico y la indicación de tratamiento se establece a través de variables clínicas e histopatológicas. El factor pronóstico más importante es el estadio y en segundo lugar el grado celular (Akgul et al., 2020; Varma et al., 2020). Martin-Doyle et al., mediante un metaanálisis de 15.215 pacientes, establecieron factores de riesgo relacionados con recurrencia, progresión y mortalidad (Martin-Doyle et al., 2015). Identificaron una recurrencia a 5 años del 42% y relacionaron los siguientes factores con su aparición:

- Edad avanzada
- Tamaño >3cm
- Multiplicidad
- CIS +
- Infiltración linfovascular +
- No tratamiento con BCG

Encontraron una progresión a 5 años del 21% y que los factores relacionados son los citados previamente para la recurrencia más el género femenino y la subestadificación de T1. Informaron que la mortalidad global es el triple que en el estadio Ta, tanto a los 5 años (T1 14,8%, Ta 5,1%) como a 10 años (T1 17.8%, Ta 6.2%). Añaden como factores relacionados con esta última, el patrón de crecimiento sólido y la recurrencia tumoral.

El estadio se establece por la profundidad de la invasión de la neoplasia en los diferentes estratos histológicos de la pared vesical. La clasificación TNM vigente es la de 2017 (Amin et al., 2017) (anexo 1).

Tabla 2.

Clasificación de estadios del cáncer de vejiga localizado.

Clasificación de estadios del cáncer de vejiga localizado	
Ta	Carcinoma papilar no invasivo
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : tumor plano
T1	Tumor invade el tejido conectivo subepitelial
T2	Tumor invade músculo
T2a	Tumor invade músculo superficial (mitad interna)
T2b	Tumor invade músculo profundo (mitad externa)

Basado en TNM 8ª ed. 2017 AJCC. (Amin et al., 2017). (Elaboración propia)

La frecuencia por estadios es: NMICV 70%, MICV 25% y metastásico (M+CV) 5%. Los NMICV progresarán a MICV entre el 15-20%. Los MICV progresarán a M+CV del 40-50% (Sanli et al., 2017). En pacientes menores de 40 años, el porcentaje de NMICV es incluso mayor (Amin et al., 2017; Brierley et al., 2017; Magers et al., 2019).

Los pacientes con NMICV presentan la enfermedad confinada a la mucosa (Ta, Tis) o submucosa (T1). El carcinoma *in situ*, estadio Tis (CIS), se asocia habitualmente con carcinoma papilar invasivo o de alto grado, pero también puede aparecer aisladamente. Se reseña CIS acompañante si la lesión se encuentra alejada del tumor papilar principal, si se identifica en un fragmento diferente o en el mismo fragmento pero con un tramo de urotelio normal entre ellos

(Pokuri et al., 2016). Los tumores CIS pueden progresar a MICV. Es un indicador de peor pronóstico en pacientes T1, en tanto que su presencia no lo altera en el MICV (Magers et al., 2019).

4.9.3.1 Diferenciación Ta/T1: invasión de la lámina propia.

La discriminación Ta-T1 en NMICV es un reto para los patólogos. El 25-34% de las biopsias estadiadas inicialmente como T1, en una segunda revisión descienden a Ta. La diferenciación Ta-T1 es fundamental para la toma de decisiones ya que el 10% de T1 progresarán en los siguientes 2 años, mientras que menos del 5% de los Ta lo harán en los 6 años posteriores (López-Cortés et al., 2021).

El diagnóstico de invasión de la lámina propia es una fuente de variabilidad interobservador, entre el 25-62%, aún entre patólogos experimentados (Compérat et al., 2013).

La identificación de la invasión de la lámina propia no es sencilla en caso de invasión focal o superficial pudiendo ser interferida por:

- características de la muestra tisular (sección tangencial, orientación del tejido difícil, ausencia de estrato muscular)
- artefactos procedimentales (resección incompleta, daño térmico)
- cambios inducidos por el tumor (inflamación perimetral del tumor)
- proliferación de nidos de von Brunn que puede aparecer como invasión y/o subtipos histológicos.

4.9.3.2 Diferenciación T1/T2: invasión de la muscular propia

La distinción entre T1 vs T2 en biopsias de RTUV puede ser difícil. La muscularis mucosa (MM) puede mostrar cambios hiperplásicos que hacen difícil distinguirla de la muscular propia (MP). La estructura de la MP se complica por la presencia de un plano adicional en el trígono y en la inserción ureteral.

Se diagnostica estadio T2 cuando el tumor infiltra entre los haces de MP, aunque no necesariamente infiltre las fibras musculares. Existen varios indicadores morfológicos para diferenciar la MM de la MP: localización en la LP (superficial a media vs profunda), ausencia de yuxtaposición a tejido adiposo (más frecuente en la LP profunda), cercanía a la superficie del epitelio, asociación con el plexo vascular, disposición de la MM en haces lineales, aislados o escasamente separados, en tanto que en la MP se presenta como haces largos y gruesos en disposición tanto vertical como horizontal (MP puede ser fracturado por el cáncer en pequeños haces lo que puede interpretarse como MM) (Paner et al., 2017). Varios marcadores IHQ, “smoothelin”, vimentina y desmina, se han evaluado para determinar su utilidad sin resultados concluyentes para la práctica clínica.

La presencia de MP en la biopsia es considerada un factor indicador de la idoneidad de la RTUV y es una reseña obligatoria en el informe histopatológico. Su ausencia se asocia con un incremento del riesgo de enfermedad residual, recurrencia e infraestadificación. Se relaciona con peores resultados con una mortalidad cáncer específica a 5 años (MCE-5) si el detrusor está presente del 7,6%, si está ausente del 12,1% y si no está mencionada del 18,8% (Jordan & Meeks, 2019). En caso de ausencia en la muestra es una indicación de una nueva resección inmediata (R-RTUV). Chamie et al estudiaron 1865 pacientes con NMICV y encontró presencia de detrusor en 52,1% (Chamie et al., 2015; Martin-Doyle et al., 2015).

Los pacientes T1 pueden estar infraestadiados, $\geq T2$, entre el 27% - 50%, incluso tener adenopatías micrometastásicas 10% -15% (Klaassen et al., 2018). El incremento de estadio patológico en T1 tras CR se ha comunicado hasta en el 49.7% de los casos (Leow et al., 2019).

Se ha informado un 62% de supraestadificación cuando el detrusor está ausente comparado con 30% cuando se identificó (*Chamie et al., 2015; Martin-Doyle et al., 2015*).

4.9.3.3 Variabilidad del observador en T1

Existe variabilidad intra e interobservador en el diagnóstico de estadio tumoral. Un estudio encontró un acuerdo interobservador completo inicial en casos estadio T1 del 80%, después de una segunda revisión, éste aumentó a 87,7% (*Giunchi et al., 2016*). La mayoría de los cambios del estadio T1 cuando se alcanza un acuerdo se producen en el sentido de reducción (15-56%) más que en el de elevación del estadio (3-13%) (*Paner et al., 2017*). La revisión por consenso y el acuerdo sobre los criterios para la invasión puede mejorar el acuerdo interobservador de los casos en estadio T1.

4.9.3.4 Subestadificación T1

La profundidad de la invasión de la lámina propia (LP) es un fuerte predictor del resultado. La guía clínica EAU para NMICV, recomienda utilizar alguna estrategia de subestadificación para T1 sin decantarse por ningún sistema de clasificación (*Babjuk et al., 2022; Compérat et al., 2021*). Un método ideal de subcategorización T1 debe ser reproducible, fácilmente realizable en fragmentos RTUV y predictivo del resultado de recurrencia y progresión (*Paner et al., 2017*). La resección transuretral en bloque, que extirpa el tumor en una sola pieza, puede facilitarla, aunque no se ha demostrado de manera convincente (*Teoh et al., 2020*).

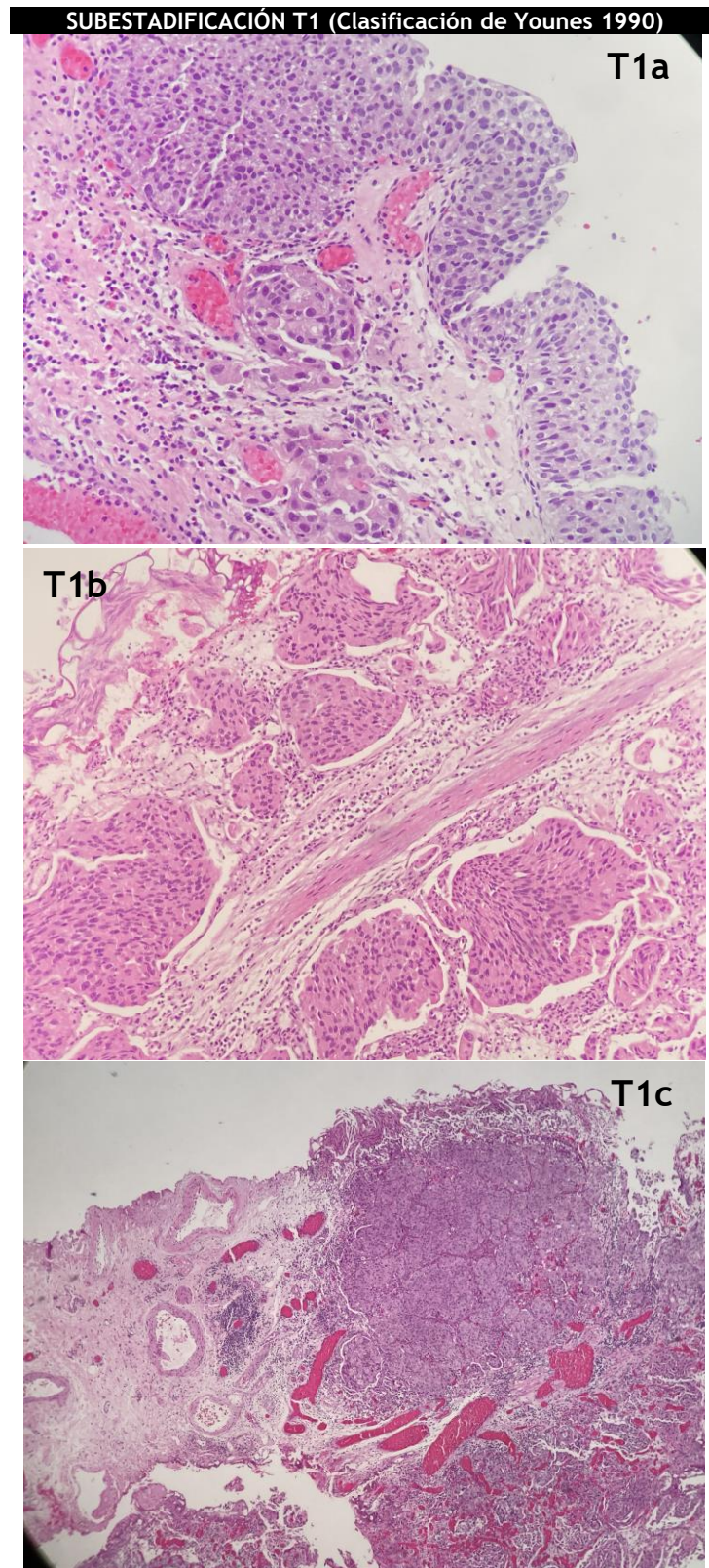
La subestadificación histológica utiliza la MM como punto de referencia para evaluar la profundidad de la invasión (el plexo vascular es una referencia subrogada ya que suele situarse al nivel de la MM). T1a: superficial a MM, T1b: al nivel de MM. T1c: sobrepasa el nivel de MM (*Colombo et al., 2018; Kardoust Parizi et al., 2020; Leivo et al., 2018*). Esta subclasificación no es siempre practicable (43-100%, media 93%) (*Lawless et al., 2017*). Las dificultades técnicas se atribuyen a las variaciones estructurales de la LP.

Un metaanálisis encontró que la profundidad de invasión (T1b, T1c) fue el predictor más importante de progresión y SCE (*Breyer & Bertz, 2016*). Un sistema de dos subestadios simplificó la clasificación: T1a por encima de la MM y T1b con invasión de la MM. La subcategoría T1b se asoció de forma independiente con SLR, SLP y SCE (*Klaassen et al., 2018; Paner et al., 2017; Van De Putte et al., 2015*). Orsola et al., en un estudio prospectivo, clasificaron T1a 44,5% y T1b 55,5% y obtuvieron una SG-5 años de T1b (52%) peor que T1a (86%) (*Orsola et al., 2015*).

La clasificación micrométrica tiene como objetivo la disminución de la variabilidad diagnóstica (concordancia 81-96% y aplicable en > 99% de los casos (*Leivo et al., 2018; Patriarca et al., 2016; Turan et al., 2018*). Mide la extensión de la invasión en la LP (*Raspollini et al., 2020*). La dificultad de la orientación de la muestra y la medición desde la membrana basal se evita midiendo la invasión en cualquier dirección (diámetro) (*Paner et al., 2017*). Un límite de profundidad de afectación de 0,5 mm tiene mayores tasas de recurrencia (13,6% vs 28,3%), progresión (22% vs 39%) y mortalidad cáncer específica (19% vs 35%) (*Leivo et al., 2018; Turan et al., 2018*). Contieri et al. estudiaron 296 T1 para clasificar la invasión de la LP en focal y/o superficial y extensa y/o multifocal. La subestadificación T1 se asoció de forma independiente con la supraestadificación en CR. La invasión extensa de la LP fue predictora de MCE y de progresión (*Contieri et al., 2023*).

Figura 4.

Subestadificación T1: clasificación histológica de Younes, 1990.



Nota: T1a.- hasta muscularis mucosa (MM); T1b: en MM; T1c: más allá de MM. Elaboración propia.

4.9.4 Pronóstico: grado histológico

El grado histológico es uno de los predictores más sólidos de progresión tumoral de NMICV, más que de recurrencia. Los CV primarios son 40% de bajo grado y 60% de alto grado. Los NMICV bajo grado, recurrirán 15-24% y progresarán a NMICV alto grado 2-5%. Los NMICV alto grado, recurrirán 38-61% y progresarán a MICV/M+ 5-17% (Burger *et al.*, 2013).

La clasificación OMS-1973 identifica tres grados (G1, G2, G3) y se basa en el grado de anaplasia (Chamie *et al.*, 2015). La clasificación OMS-2004 se diseñó para mejorar la reproducibilidad diagnóstica y establece cuatro categorías papiloma, neoplasia urotelial papilar de bajo potencial maligno (NUPBPM), neoplasia urotelial papilar de bajo (BG) y de alto grado (AG).

- **Papiloma Urotelial:** características inequívocamente benignas, de bajo riesgo de recurrencia y sin riesgo de progresión. En lesiones planas se nombra como “*urotelio normal*”.
- **NUPBPM:** presenta en algunas series un riesgo sustancial de recurrencia (< 50%) próximo al del carcinoma papilar de bajo grado, pero con bajo riesgo de progresión (< 5%). En lesiones planas se considera “*Hiperplasia urotelial plana*”
- **Carcinoma Urotelial Papilar de Bajo Grado:** alto riesgo de recurrencia de +/- 50% y bajo riesgo de progresión de +/- 5-10%. Si presentación plana se diagnostica como “*Displasia urotelial*”.
- **Carcinoma Urotelial Papilar de Alto Grado:** riesgo relativamente mayor de recurrencia que los carcinomas de bajo grado y un riesgo significativo de progresión (15–40%). En una biopsia de urotelio plano, se considera como “*CIS urotelial*”.

Figura 5.

Clasificaciones de Grado histológico OMS-1973 y OMS-2004: relación

OMS 1973		
G1	G2	G3
NUPBPM	BG	AG

OMS 2004

Nota: NUPBPM, neoplasia urotelial papilar de bajo potencial de malignidad. BG, bajo grado. AG, alto grado. Elaboración propia.

Actualmente coexisten los dos sistemas de gradación: OMS 1973 y OMS 2004 (figura 5). Este segundo es el más difundido, ratificado en 2016 (4ª edición) y 2022 (5ª edición) por la “clasificación de tumores urinarios y del aparato genital masculino de la OMS” (Compérat *et al.*, 2022; Humphrey *et al.*, 2016). La EAU recomienda el uso simultáneo de ambas clasificaciones. La AUA recomienda OMS 2004 (Compérat *et al.*, 2019; Moch *et al.*, 2016). La clasificación de 1973 es criticada por su baja reproducibilidad interobservador y elevado número de casos de grado 2 (Babjuk *et al.*, 2019; Chang *et al.*, 2016; Taylor *et al.*, 2020). La clasificación OMS 2004 busca reducir la variabilidad. No es posible la traslación directa de un sistema a otro por sus criterios histopatológicos, salvo en los extremos del espectro (grado 1 y 3) (Soukup *et al.*, 2017). La categoría más frecuente en la clasificación 2004 es BG (36-74%) en tanto que en la 1973 es G2 (31-84%). Los AG de 2004 son más frecuentes que los G3 de 1973 por lo que se indica tratamiento con BCG a un número superior de pacientes (Compérat *et al.*, 2019; Downes *et al.*, 2017; Lokeshwar *et al.*, 2015).

El diagnóstico del grado histológico es un factor pronóstico fundamental en el estadio Ta, pero menos en T1. ICUD 2015 (International Consultation on Urologic Diseases) recomendó que T1 debe considerarse de alto grado (*Amin et al., 2015*). OMS en su 5ª edición de la clasificación de tumores urológicos ratificó esta afirmación (*WHO. Classification of Tumours Editorial Board, 2022*). Se basa en que los criterios de definición de la invasión del estroma excluyen las características necesarias para una designación de grado bajo. En pacientes diagnosticados como T1BG, debe surgir la sospecha diagnóstica de error en la clasificación, ya que se considera que el 95% de los tumores invasivos son de alto grado, con unas pocas excepciones (*Humphrey et al., 2016*). En un estudio de 98 pacientes T1BG se encontró que todos estaban incorrectamente clasificados, 55 por errores administrativos, 20 en el estadio y 29 en el grado (*Mikulowski & Hellsten, 2005*).

4.9.5 Otros factores pronósticos:

4.9.5.1 Invasión linfovascular

Los criterios patológicos para definir la ILV son heterogéneos y su identificación es un reto para los patólogos. Se define invasión linfovascular (ILV) como la presencia de células tumorales en un espacio delimitado por endotelio sin paredes musculares. Tumores agresivos con potencial metastásico están con frecuencia asociados con invasión tumoral de la microcirculación local y del sistema linfático. La presencia de ILV en la muestra de RTUV se relaciona con un incremento de riesgo de N+ en la cistectomía. Se recomienda mencionar el diagnóstico ILV en todos los informes de T1. La ILV ha sido comunicada en 7,5-39% de tumores T1. La ILV es un fuerte predictor de recurrencia y de progresión (*Jordan & Meeks, 2019; Mathieu et al., 2016*).

4.9.5.2 Carcinoma in situ (CIS) concurrente

La identificación de CIS concurrente es otro dato de alto riesgo que se asocia con una elevada tasa de recurrencia y progresión a MICV. Sin embargo, esta influencia es variable a lo largo de múltiples comunicaciones debido a diferentes tasas de concurrencia entre T1 y CIS (en muchas ocasiones el patólogo no lo reseña).

EORTC indica que la presencia de CIS es el factor de progresión más importante. Progresión 1 año: CIS (+) 29%, CIS (-) 10%. Progresión 5 años: CIS (+) 74%, CIS (-) 29% (*Sylvester et al., 2006*). CUETO indicó que CIS se asocia con recurrencia pero no con progresión (*Fernández-Gómez et al., 2008*).

Nuevos métodos diagnósticos como la “cistoscopia mejorada” (luz azul, etc.), pueden mejorar la tasa de detección de CIS. Existen indicaciones específicas en las guías clínicas de AUA y EAU para la realización de biopsias en mapa en paciente con riesgo de CIS concurrente (*Babjuk et al., 2022; Chang et al., 2016*).

4.9.6 Tratamiento

El tratamiento de pacientes con cáncer de vejiga T1AG se puede realizar con resección transuretral de vejiga (RTUV) acompañada de instilaciones intravesicales adyuvantes de BCG, pero si existen factores de mal pronóstico, se indica cistectomía radical (CR). La subestimación clínica y/o la persistencia de la enfermedad no son infrecuentes en la RTU inicial, por lo que se recomienda una segunda RTUV (R-RTUV) para todos los T1AG (*Babjuk et al., 2022; Chang et al., 2017*).

4.9.6.1 RTUV

Es un procedimiento diagnóstico y terapéutico. La necesidad de ser exactos en el diagnóstico T1AG exige una técnica de RTUV de la mayor calidad posible, reestadaje mediante R-RTUV (4-6 semanas) y valorar la incorporación de la tecnología de imagen avanzada.

En el contexto de resecciones incompletas (tumor no resecado en su totalidad o músculo detrusor no muestreado), la resección repetida debe realizarse antes. La R-RTUV aporta beneficios como la detección del T2 subestimado, incrementa la eliminación de la enfermedad residual oculta (27-62% de los casos), proporciona valor pronóstico y mejora la eficacia de la adyuvancia con BCG (*Cumberbatch et al., 2018; Naselli et al., 2018*). Modifica el enfoque terapéutico del 33% de los casos T1 (*Herr, 1999*).

Estudios retrospectivos han demostrado mejores resultados en SCE y SG al comparar dos RTUV versus una en pacientes con T1AG (*Patschan et al., 2017*). Sin embargo, otros autores indican que la R-RTUV se asoció con un beneficio sólo cuando el detrusor no estaba presente en la RTUV inicial (*Gontero et al., 2016*). Una revisión sistemática informó que la mortalidad global se redujo ligeramente en el grupo de R-RTUV (22 vs 26%) (*Cumberbatch et al., 2018*).

4.9.6.2 Cistoscopia seguimiento

La tasa de recurrencia en la primera cistoscopia de seguimiento, tres meses, ha sido considerada como un marcador subrogado de la calidad de la RTUV inicial, porque si se diagnostica enfermedad, parece relacionarse con enfermedad residual más que con recurrencia. La presencia de tumor en la primera cistoscopia de seguimiento eleva la tasa de recurrencia (62% vs 15%) y progresión (35% vs 6%) (*Jordan & Meeks, 2019*). Herr et al. mostraron que la mayoría de los eventos de progresión ocurren dentro de los primeros 18 meses y se estabilizan a partir de entonces (*Herr et al., 2007*).

Figura 6.

Cáncer de vejiga: cistoscopia.



Es necesario mejorar la identificación de las lesiones vesicales, en particular las planas, para evitar el sesgo introducido en los estudios pronósticos. Se han desarrollado diferentes modalidades ópticas para mejorar la clásica luz blanca: NBI (“narrow-band-imaging”), BLC (“blue-light cystoscopy”), PDD (“photodynamic diagnosis”) y otros.

La evolución de la endoscopia mejora la tasa de detección de CV, pero el beneficio en relación con recurrencia y progresión no está claro. Un metaanálisis Cochrane de 4300 pacientes demostró que la PDD redujo el riesgo de recurrencia en 34% (*Maisch et al., 2021*). Este dato se refrendó en un estudio clínico de más de 2000 pacientes con un largo seguimiento, superior a 5 años (*Ahmadi et al., 2022*). AUA/EAU recomiendan la utilización de cistoscopia “avanzada”, si disponible, en pacientes con citología positiva y cistoscopia normal (*Babjuk et al., 2022; Chang et al., 2017*). (Figura 6: imagen del autor)

4.9.6.3 Instilación intravesical adyuvante. Inmunoterapia BCG

Existe una evidencia clara sobre la instilación de quimioterapia profiláctica inmediata postresección transuretral para pacientes con tumores de riesgo bajo e intermedio con una reducción de la tasa de recurrencia a los 5 años del 59% al 45%. Los pacientes con T1AG, alto riesgo, no parecen lograr el mismo beneficio (*Sylvester et al., 2016*).

El tratamiento adyuvante con BCG intravesical es el estándar actual para preservación vesical en pacientes NMICV de alto riesgo. Su mecanismo de actuación no está totalmente dilucidado pero incluye una destrucción de las células tumorales y la activación del sistema inmune e inflamatorio (*Han et al., 2020*). La adyuvancia con BCG es superior a RTUV sola en la reducción de la tasa de recurrencia (44%) y de la tasa de progresión (61%) (*Chou et al., 2017*). BCG también es superior a mitomicina C (MMC) y otros quimioterápicos, fundamentalmente en T1 (*Babjuk et al., 2022; Schmidt et al., 2020*). Reduce la tasa de progresión en un 30% (*Saluja & Gilling, 2018*).

Se debe administrar una pauta de inducción de dosis semanales durante 6 semanas, siendo la recomendación más extendida en T1AG, realizar una pauta mantenimiento durante 1-3 años (*Jordan & Meeks, 2019*). Un programa de mantenimiento ampliamente indicado (EAU, AUA, NCCN) es el régimen SWOG 6 + 3 (“Southwest Oncology Group”) de 3 instilaciones semanales en los meses 3, 6, 12, 18, 24, 30 y 36). En los pacientes T1AG clasificados como “muy alto riesgo” (presencia de CIS concomitante, tumores múltiples, tamaño > 3 cm, SH o ILV), debe discutirse CR como opción inmediata (*Babjuk et al., 2022; Yip et al., 2019*).

4.9.6.4 Cistectomía radical

El papel de la CR es claro en pacientes que han fallado en la preservación vesical. Se debe valorar CR “inmediata” (tras RTU inicial) o “precoz” (tras R-RTUV) en pacientes T1AG.

Hay varias ventajas de la CR en estas situaciones. Brinda la mayor oportunidad de curación. Los pacientes infraestadiados en la RTUV, diagnosticados como T1 pero que son verdaderos T2, reciben el tratamiento adecuado. Permite realizar una linfadenectomía que mejora la estadificación y puede ser terapéutica. Simplifica el régimen de seguimiento. La cistectomía diferida tras progresión o falta de respuesta a BCG tiene peores resultados (*Wan, 2020*). Los pacientes rescatados por recidiva o progresión, que se sometieron a CR dentro de los 2 años del inicio de la terapia con BCG presentaban mejor supervivencia que los intervenidos 2 años después (92% frente al 56%) (*Herr & Sogani, 2001*). La supervivencia a 3 años de pacientes con MICV inicial (67%) es superior a la de MICV secundaria a progresión de NMICV (37%) (*Jordan & Meeks, 2019*). Si el paciente tiene enfermedad T1AG recurrente, es muy poco probable que logre una respuesta a más BCG. Debería someterse a una cistectomía sabiendo que intentó la preservación de la vejiga con un mínimo riesgo de pérdida de curación de la enfermedad (*Mmeje et al., 2016*).

4.9.7 BCG versus cistectomía radical

En dos estudios de la EORTC (30911, 30962), el 73 % y el 64 % de los pacientes no completaron el protocolo de mantenimiento de 3 años. La razón principal fue la ineficacia del tratamiento (*Sylvester, 2015*). Un mejor tratamiento sintomático, el uso de antiespasmódicos, estrategias de reducción de la dosis y el retraso de las instilaciones en pacientes con síntomas activos o hematuria, consiguieron que el porcentaje de pacientes que interrumpieron la administración de BCG por toxicidad disminuyera al 16-23%. No existieron diferencias entre ancianos y jóvenes (*Oddens et al., 2016*).

La calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) en NMICV empeora de forma notable 2 años después del diagnóstico. Los efectos adversos con BCG provocan que la CVRS y el cumplimiento disminuyan con el tiempo de tratamiento (*Lee et al., 2020; Siracusano et al., 2018*). Estudios realizados con el cuestionario de calidad de vida SF-36 en un periodo de 2 años descubrieron un peor resultado en estos pacientes que la población general (*Brisbane et al., 2019; Smith et al., 2018*).

La cistectomía precoz en NMICV de alto riesgo es defendida por algunos como el estándar de cuidado, siendo la calidad de vida el precio a pagar (*Shariat et al., 2019*). Presenta una mortalidad en ancianos del 5,2% a 30 días y 10,6% a 90 días (*Schiffmann et al., 2014*).

Tiene una morbilidad importante, con un riesgo de complicaciones mayores en al menos un tercio de pacientes (*Gadzinski & Psutka, 2020*). Los pacientes temen la CR por la alteración de la imagen corporal y por la pérdida de salud. Sin embargo, aunque dentro de los primeros 3 meses, BCG puede ser superior a CR, las diferencias pueden desaparecer a los 12 meses, incluso con peor función emocional para BCG por la incertidumbre del resultado (*Klaassen et al., 2018*).

En el estudio BRAVO (NMICV alto grado/alto riesgo), el 25% de los pacientes tratados con CR no tuvo tumor (sobret ratamiento). La mayoría de los pacientes tratados con BCG mantuvieron sus vejigas in situ y hubo pocos cambios en su CVRS durante el tratamiento. La recomendación fue mantener el enfoque individualizado adaptado al riesgo. Sin embargo debe apuntarse que un 70% de los pacientes rechazaron ser incluidos en este ensayo de aleatorización del tratamiento (*Catto et al., 2021*).

El cáncer de vejiga se diagnostica a una edad promedio de 73 años y los pacientes tienen una mediana de 8 condiciones médicas de comorbilidad. La edad cronológica avanzada y alta carga de patología se asocian con mayor riesgo de morbilidad en la CR (*Williams et al., 2018*). La edad cronológica es un mal sustituto de la capacidad de un individuo para tolerar una terapia para el cáncer. Se recomienda la valoración geriátrica en la evaluación preoperatoria (*Veronese et al., 2022*). Hay datos limitados sobre su utilidad en pacientes sometidos a cirugía oncológica y poco se sabe sobre su impacto en el CV en pacientes sometidos a CR (*Gadzinski & Psutka, 2020*).

La consideración económica del tratamiento es un aspecto para valorar. Se publicó un estudio chino que recogió un gasto total superior con BCG que con CR (22.945 ± 945 yuanes/año/paciente contra 17.985 ± 545 yuanes/año/paciente) (*Jian et al., 2019*).

4.10 ESTRATIFICACIÓN DEL RIESGO EN NMICV: RECURRENCIA Y PROGRESIÓN

El NMICV presenta heterogeneidad molecular, histológica y clínica. La estratificación de riesgo se realiza mediante modelos de puntuación de variables clínicas e histológicas. Las variables clínicas utilizadas en ellos son género, edad, número de tumores, tamaño, tasa de recurrencia previa. Las variables histológicas son estadio, grado, CIS concurrente. No todas aparecen en cada modelo desarrollado y los más recientes añaden subtipo histológico, infiltración linfovascular y presencia de CIS en uretra. La utilización exclusiva del estadio y del grado, aunque son los factores más determinantes, no capturan la variedad del grupo. Hasta el momento no han incorporado variables moleculares porque su papel pronóstico presenta resultados controvertidos.

La validez de una herramienta pronóstico se basa en su capacidad de “discriminación” (estratificación de pacientes en grupos con diferentes pronósticos) y “calibración” (predicción exacta del curso de la enfermedad en un individuo determinado). La validación de un modelo pronóstico es el proceso de demostración que un modelo trabaja satisfactoriamente con pacientes diferentes a la población original utilizada para desarrollar el modelo (p. ej., diferencias raciales, cohortes contemporáneas) (*Soukup et al., 2020*).

Los modelos de estratificación de riesgo de NMICV actuales presentan limitaciones al haberse desarrollado con muestras heterogéneas y tratadas de modo diferente al actual estándar. En general, sobreestiman el riesgo de recurrencia y progresión.

4.10.1 Modelo EORTC 2006

En 2006, EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) publicó su modelo estratificación de riesgo, el más utilizado y validado en NMICV. Predice el riesgo de recurrencia y progresión a corto y largo plazo (1 y 5 años). El sistema de puntuación se basa en los resultados de 7 estudios (1979-1989: 2596 pacientes) de enfermos tratados principalmente con quimioterapia intravesical. Las características de los tumores estudiados fueron: primarios 54%, Ta 56%, Grado-3 10%, CIS concurrente 4%, instilación inmediata <10%, instilaciones endovesicales 78% (sin tratamiento el 21%), BCG (sin mantenimiento) 7%, no R-RTUV. Se utilizaron 6 factores para la determinación de la recurrencia y progresión (número, tamaño, recurrencia previa, estadio, grado OMS 1973, CIS concurrente) (tabla 3) (Sylvester *et al.*, 2006). La principal crítica a este modelo es que la mayor parte de los pacientes fueron tratados con quimioterapia y pocos con BCG. Las tasas de recurrencia y progresión obtenidas pueden ser superiores a las poblaciones actuales de NMIBC y en particular en el grupo de alto riesgo.

Tabla 3.

Modelo de estratificación de riesgo EORTC-2006.

VARIABLE	RECURRENCIA	PROGRESIÓN	RIESGO a 5 años		
NÚMERO de tumores			RECURRENCIA		
Único	0	0		%	IC 95%
2-7	3	3	0	31	24 - 37
>8	6	3	1-4	46	42 - 49
TAMAÑO (cm)			5-9	62	58 - 65
< 3	0	0	10-17	78	73 - 84
≥ 3	3	3	PROGRESIÓN		
TASA DE RECURRENCIA PREVIA				%	IC 95%
Primario	0	0	0	0,8	0 - 1,7
≤ 1 / año	2	2	2-6	6	5 - 8
> 1 / año	4	2	7-13	17	14 - 20
ESTADIO			14-23	45	35 - 55
Ta	0	0	IC: intervalo de confianza;		
T1	1	4			
GRADO					
G1	0	0			
G2	1	0			
G3	2	5			
CIS CONCURRENTE					
No	0	0			
Si	1	6			
TOTAL	0-17	0-23			

Nota: Puntuación de riesgo de cada variable y sus categorías. Probabilidades de riesgo de recurrencia y progresión tras clasificación en grupos de riesgo. Adaptado de Sylvester *et al.*, 2006. Autorizada con licencia 5684830908712 (Dec 2023); Elsevier B.V. (anexo 3)

4.10.2 Modelo CUETO 2009

El Grupo CUETO (Club Urológico Español de Tratamiento Oncológico) publicó un modelo que predice el riesgo de recurrencia y progresión, basado en series de pacientes (cuatro ensayos, 1990-1999, n= 1062) con NMICV, primarios 67%, tratados con BCG con un esquema corto de mantenimiento de 6 meses, sin R-RTUV. El sistema de puntuación se basa en la evaluación de siete factores pronósticos, que se diferencia del EORTC-2006 en la introducción de las variables género y edad, con eliminación del tamaño (tabla 4) (Fernández-Gómez *et al.*, 2009). El riesgo de recurrencia es menor que el obtenido por las tablas EORTC-2006. El riesgo

de progresión es menor sólo en pacientes de alto riesgo. Este resultado se atribuye a la BCG (Fernández-Gómez et al., 2011; Fernández-Gómez et al., 2009). La limitación principal de este modelo fue el esquema de mantenimiento de BCG excesivamente corto respecto al actualmente recomendado.

Tabla 4.

Modelo de estratificación de riesgo CUETO.

VARIABLE	RECURRENCIA	PROGRESIÓN	RIESGO a 5 años		
GÉNERO			RECURRENCIA		
Hombre	0			%	IC 95%
Mujer	3		0-4	21	17 - 25
EDAD			5-6	36	29 - 42
< 60	0	0	7-9	48	41 - 55
60-70	1	0	≥ 10	68	54 - 82
> 70	2	2	PROGRESIÓN		
NUMERO de tumores				%	IC 95%
≤ 3	0	0	0-4	4	2 - 6
> 3	2	1	5-6	12	8 - 16
RECURRENCIA			7-9	21	16 - 27
No	0	0	≥ 10	34	23 - 44
Si	4	2	IC: intervalo de confianza;		
CATEGORÍA T					
Ta	0	0			
T1	0	2			
CIS CONCURRENTE					
No	0	0			
Si	2	1			
GRADO					
G1	0	0			
G2	1	2			
G3	3	6			
TOTAL	0-16	0-14			

Nota: Puntuación de riesgo de cada variable y sus categorías. Probabilidades de riesgo de recurrencia y progresión tras clasificación en grupos de riesgo. Adaptado de Fernández-Gómez et al., 2009, autorizada con licencia 5684830406803 (Dec 2023) Wolters Kluwer Health, Inc. (anexo 3).

4.10.3 Modelo de grupos de riesgo. EAU 2021.

Modelos posteriores en el tiempo, reúnen a los pacientes en grupos de riesgo: bajo, intermedio y alto. El modelo AUA 2016 estableció un grupo de “muy alto riesgo” con indicación preferente de CR, en caso de la presencia de variables como la infiltración linfovascular, el subtipo histológico (sin especificar tipo), la invasión de la uretra prostática y la ausencia de respuesta a terapia intravesical con BCG (Chang et al., 2016).

EORTC 2016 es otra herramienta que estableció grupos de riesgo y se desarrolló a partir de pacientes de riesgo intermedio y alto sin CIS, tratados con 1 a 3 años de BCG de mantenimiento (primarios 55%; 40% BCG <1 año). El modelo EORTC-2016 pronosticó menor riesgo de progresión que en el CUETO-2009, probablemente en relación con mayor tiempo de mantenimiento del tratamiento BCG y ausencia de pacientes con CIS concomitante (Cambier et al., 2016).

Tabla 5.

Modelo de estratificación por grupo de riesgo EAU-2021.

GRUPOS DE RIESGO EAU-2021	
BAJO	Paciente < 70 años con tumor primario, único, Ta/T1, BG/G1, < 3 cm sin CIS
	Tumor primario Ta BG/G1 sin CIS con al menos uno de los factores de riesgo clínico adicionales: edad >70 años, tamaño ≥ 3cm, múltiple
INTERMEDIO	Paciente sin CIS que no están incluidos en ninguno de los otros grupos
ALTO	- Todos los T1 AG/G3 sin CIS, EXCEPTO aquellos incluidos en el grupo de muy alto riesgo - Todos los pacientes CIS primario sin tumor acompañante, EXCEPTO aquellos incluidos en el grupo de muy alto riesgo
	Estadio, grado con factores de riesgo clínicos adicionales - Ta BG/G2 o T1G1, no CIS con 3 - Ta AG/G3 o T1BG, no CIS con al menos 2 - T1 G2 no CIS con al menos 1
MUY ALTO	Estadio, grado con factores de riesgo clínicos adicionales - Ta AG/G3 y CIS con 3 - T1 G2 y CIS con al menos 2 - T1 AG/G3 y CIS con al menos 1 - T1 AG/G3 sin CIS con 3
	Factores patológicos: - CIS uretra prostática, - ILV (infiltración linfovascular) - Variante histológica (micropapilar, plasmocitoide, sarcomatoide, neuroendocrina de célula pequeña)

RIESGO DE PROGRESIÓN			
	1 año	5 años	10 años
Grupos de Riesgo con OMS 2004/2016			
<i>Bajo</i>	0.06%	0.93%	3.7%
<i>Intermedio</i>	1.0%	4.9%	8.5%
<i>Alto</i>	3.5%	9.6%	14%
<i>Muy Alto</i>	16%	40%	53%
Grupos de Riesgo con OMS 1973			
<i>Bajo</i>	0.12%	0.57%	3.0%
<i>Intermedio</i>	0.65%	3.6%	7.4%
<i>Alto</i>	3.8%	11%	14%
<i>Muy alto</i>	20%	44%	59%

Nota: Probabilidades de riesgo de progresión tras clasificación en grupos de riesgo en relación con la presencia de variables. Adaptado de *Sylvester et al, 2021* y *autorizada* con licencia 5684840127643 (Dec 2023) by Elsevier B.V. European Association of Urology (*anexo 3*).

El modelo EAU 2021 permite una predicción individualizada del pronóstico y divide a los T1AG en “alto” y “muy alto riesgo”. Se utilizaron datos de 3.401 pacientes (años 1990-2018)

tratados con quimioterapia intravesical. Se excluyeron los tratados con BCG por su influencia sobre la progresión (1529 pacientes). Para la determinación del grado se usó tanto la clasificación OMS-1973 como OMS-2004/2016, aunque sólo se requiere una. El análisis multivariado demostró que estadio, grado, CIS concomitante, número, tamaño y edad, primario/recidiva fueron predictores independientes de la progresión de la enfermedad. La presencia de variables patológicas como CIS en uretra prostática, infiltración linfovascular, subtipo histológico, clasifica directamente al tumor como “muy alto riesgo” (Sylvester *et al.*, 2021).

Guerrero-Ramos *et al.* estudiaron la evidencia en la estratificación de riesgo de NMICV en 25 estudios que recogen 22.737 pacientes y seis clasificaciones, 3 modelos predictivos (EORTC, CUETO, EAU 2021) y 3 basadas en opinión de expertos (EAU 2020, AUA, NCCN). CUETO y EORTC son los modelos más validados (Babjuk *et al.*, 2022; Chang *et al.*, 2016; Fernandez-Gomez *et al.*, 2009; Flaig *et al.*, 2020; Sylvester *et al.*, 2006, 2021). Se encontró heterogeneidad entre los estudios al evaluar la terapia adyuvante, instilación postoperatoria o segunda resección. CIS está infrarrepresentado en todos los estudios analizados. En general, las validaciones muestran una pobre capacidad de discriminación para predecir la recurrencia y ligeramente mejor para la progresión. El esquema EORTC sobreestima el riesgo de recurrencia y progresión de la enfermedad y el modelo EAU 2021 sobreestima el riesgo de progresión en pacientes tratados con BCG (Guerrero Ramos *et al.*, 2022; Lobo *et al.*, 2022).

La recalibración de los modelos CUETO y EORTC en pacientes tratados con BCG y MMC mediante inteligencia artificial mostraron mejores resultados en la predicción de recurrencia y progresión (Jobczyk *et al.*, 2022).

4.11 BIOMARCADORES

NMICV es una enfermedad heterogénea, caracterizada por inestabilidad genómica, tasas variables de mutación y una amplia gama de expresión de proteínas tisulares. No se ha descubierto ningún acontecimiento molecular patognomónico. Alrededor del 60% de pacientes con CV estadios I-IV presentan alteraciones genéticas potencialmente tratables: amplificación *ERBB2*, mutaciones *BRAF*, *TSC1*, mutaciones *FGFR3*, *PIK3CA*, deleciones *PTEN*, amplificaciones *FGFR1*, *CCND1*, *MDM2*. El objetivo es clasificar los tumores atendiendo a las alteraciones genéticas que promueven y mantienen el fenotipo maligno (Sanguedolce *et al.*, 2023).

No se ha identificado un biomarcador ideal en el cáncer de vejiga T1, debido probablemente a la compleja relación entre el perfil genético tumoral, microambiente inmunológico y otros (Kamat *et al.*, 2018). Otra causa puede ser la heterogeneidad intra e intertumoral (De Carlo *et al.*, 2022). Se ha enfocado la investigación en genes reguladores del ciclo celular, de remodelación de la cromatina y de señalización de los receptores tirosinquinasa.

La clasificación en subtipos moleculares en el estadio T1 puede identificar pacientes con peor pronóstico (Warrick *et al.*, 2023). Patschan *et al.*, mediante técnica IHQ, comunicó que el grupo luminal, urotelial-like presenta mejores datos de SLP-10 años, 80% versus 50% de los otros subtipos (Patschan *et al.*, 2015). Marzouka *et al.*, con secuenciación ARN, ratifica la anterior conclusión (Marzouka *et al.*, 2022). Hurst *et al.* dividieron los T1 en cuatro subtipos en función de la actividad del ciclo celular y de la expresión inmune y encontraron asociación entre SLP-10 años y el grupo con elevada actividad del ciclo celular y baja expresión inmune (Hurst *et al.*, 2021). Robertson *et al.* publicaron una clasificación de 5 subtipos de T1 que pudieron relacionarla con la recurrencia (Robertson *et al.*, 2020). Damrauer *et al.* asocian la mayor expresión de genes inmunes con una SLR superior (Damrauer *et al.*, 2021). Sin embargo, la ISUP en 2022 considera que no hay datos suficientes para el uso de los subtipos moleculares en la rutina

clínica del manejo del cáncer de vejiga (Warrick et al., 2023).

El valor de las determinaciones moleculares en la predicción de la recurrencia o progresión en la práctica diaria, precisa de más estudios con un enfoque particular en la relación costo-beneficio de herramientas como la inmunohistoquímica en la determinación de biomarcadores tisulares (Taylor, 2019).

4.12 HER2/ERBB2

4.12.1 Gen *ERBB2*

Símbolo oficial: *ERBB2* (HGNC: HUGO Gene Nomenclature Committee)

https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc_id/HGNC:3430

Nombre oficial completo: erb-b2 receptor tyrosine kinase 2 (HGNC)

Sinónimos: *c-erb B2/neu protein*, *c-ERB-2*, *c-ERB2*, *CD340*, *HER-2*, *HER-2/neu*, *HER2*, *hertatin*, *human epidermal growth factor receptor 2*, *metastatic lymph node gene 19 protein*, *MLN 19*, *MLN-19*, *NEU*, *neuro/glioblastoma derived oncogene homolog*, *neuroblastoma/glioblastoma derived oncogene homolog*, *NGL*, *p185(ERBB2)*, *p185ERBB2*, *proto-oncogene c-ErbB-2*, *proto-oncogene Neu*, *receptor tyrosine-protein kinase erbB-2*, *TKR1*, *v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2*, *v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2 (neuro/glioblastoma derived oncogene homolog)*, *v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncoprotein 2*, *v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2*, *neuro/glioblastoma derived oncogene homolog*, *VSCN2*

<https://www.alliancegenome.org/gene/HGNC:3430>

ID HGNC: 3430

ID NCBI (National Center for Biotechnology: 2064)

Tipo de locus: gen productor de proteína

Localización citogenética: 17q12 (17q12-21.32)

4.12.2 ErbB/HER: Estructura y función

En el genoma humano existen más de 90 genes relacionados con proteínas tirosinquinasa. Alrededor de 60 de ellos codifican receptores tirosinquinasa transmembrana (RTK). Los RTK son componentes esenciales de la señalización celular. Se subdividen en 20 familias relacionadas principalmente con receptores de factores del crecimiento, entre otros, HER o receptores del factor de crecimiento epidérmico, FGFR receptores del factor de crecimiento de fibroblastos, VEGFR receptores del factor de crecimiento vascular endotelial. La familia HER es la mejor caracterizada (Baselga et al., 2017; Escrivá-de-Romaní et al., 2018).

El receptor HER2 está codificado por el protooncogén *ERBB2* ubicado en el brazo largo del cromosoma 17. Cada célula contiene normalmente dos alelos del gen *ERBB2* que producen una cantidad apropiada de la proteína HER2 en la superficie celular. Cuando está amplificado aumenta la transcripción de ARNm y se produce un incremento del receptor de membrana HER2 (sobreexpresión). En los cánceres de mama, el 92% de los casos de sobreexpresión de HER2 es resultado de la amplificación del gen. 25 a 50 copias del gen produce un incremento de la proteína de 40/100 veces, resultando en alrededor de 2 millones de receptores expresados en la superficie celular (Roskoski, 2014).

El aumento del número de copias del gen se puede producir por amplificación y aneuploidía. La amplificación es la replicación de un segmento de cromosoma sin el incremento del genoma

entero. El segmento amplificado puede abarcar varios genes. La aneuploidía es un cambio en el número total de cromosomas generalmente resultado de una segregación anómala durante la mitosis. Habitualmente ocurre por aumento de copias, polisomía, que no significa ineludiblemente amplificación.

Otras alteraciones genómicas de *ERBB2* que conducen a la activación de proteínas, son las mutaciones. Suelen ser de tipo activador y la mayoría de ellas se observan sin amplificación simultánea. Las mutaciones activadoras de *ERBB2* son potentes impulsores oncogénicos de manera análoga a la amplificación (*Vranić et al., 2021*). Las mutaciones correspondientes al dominio extracelular y al dominio quinasa pueden inducir una dimerización de HER2 aberrante, iniciando la señalización de las vías intracelulares correspondientes.

Mecanismos transcripcionales y postranscripcionales son responsables de las discordancias sobreexpresión/amplificación en CV, que ocurren en el cáncer de vejiga con más frecuencia que en el de mama o estómago (*Sanguedolce et al., 2019*). Un mecanismo presente en la sobreexpresión de otro miembro de la familia HER, EGFR, es la desregulación de la proteína en la vía de reciclaje y degradación, encontrándose inhibida la endocitosis en los CV.

La familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico humano, HER (ErbB), son un grupo de cuatro proteínas: HER1 (EGFR), HER2, HER3 y HER4. Intervienen en el crecimiento y diferenciación celular durante el desarrollo embrionario y en la vida adulta. Están involucrados en la comunicación célula-célula y célula-estroma. Transmiten señales desde la membrana celular hacia el núcleo y actúan en la regulación del ciclo celular, proliferación, crecimiento, diferenciación, apoptosis y motilidad celular.

EGFR es una glicoproteína de 170 kDa compuesta por una cadena polipeptídica sencilla de 1187 aminoácidos. HER3 es un receptor de 180 kDa con una secuencia de 1342 aa. Sólo presenta 1/1000 la capacidad de EGFR para autofosforilarse tras la unión del ligando. Además, es incapaz de fosforilar otras proteínas. Su principal relación con el cáncer surge por su capacidad para promover la señalización oncogénica de HER2 y EGFR (*Elizalde et al., 2016*). HER4 es una glicoproteína, con capacidad funcional tirosinquinasa completa. Es el único receptor HER que sufre autólisis tras la unión del ligando: un fragmento del dominio intracelular de 80 kDa entra en el núcleo para participar en la regulación de la transcripción génica (*Roskoski, 2014; Yarden & Pines, 2012*). Los receptores HER pueden reciclarse a la superficie celular a través de endosomas o degradarse pasando a lisosoma.

HER2 es una glicoproteína de 1255 aminoácidos y 185 kDa. Se encuentra dispersa en la membrana celular. En cantidad excesiva, incrementa la estimulación de la división, multiplicación y crecimiento celular, favoreciendo la progresión del cáncer. No tiene ligando conocido. Se activa por la dimerización con otro receptor de la familia HER activado por ligando o consigo mismo. HER2 es el receptor preferente para la formación de dímeros y se incrementa la predilección cuando está sobreexpresado en una célula tumoral.

En el urotelio normal, EGFR se expresa en la capa basal y se corresponde con un estado celular menos diferenciado. HER3 se ubica principalmente en las células superficiales y en menor cantidad a través de todo el espesor urotelial. HER4 se localiza en la capa superficial y se correlaciona con el fenotipo más diferenciado. HER2 se presenta habitualmente en las capas superficial e intermedia. En ocasiones el urotelio normal o reactivo muestra positividad HER2 débil y focal en el espesor completo. HER2 promueve la migración y la reepitelización tras una pérdida celular (*Mitsudomi & Yatabe, 2010; Wang, 2017*).

Se han descrito dos patrones de expresión de HER2 que pueden ayudar al diagnóstico neoplásico. Un patrón difuso, con expresión de HER2 en las capas más profundas, que puede corresponderse con displasia moderada, lo que sugiere su papel en la transformación maligna. Un patrón superficial, solo con expresión en células superficiales, en casos de displasia leve y

urotelio normal. El CIS presenta una fuerte expresión de espesor completo (*Sanguedolce et al., 2023*).

Los receptores HER poseen una estructura en tres dominios, como otros RTK (*Kovacs et al., 2015; Yarden & Pines, 2012*).

- Dominio extracelular N-terminal. Se divide en cuatro subdominios: I (L1) y III (L2) son las regiones donde se une el ligando; II (CR1) y IV (CR2) son responsables de la dimerización del receptor.
- Dominio transmembrana formado por una cadena peptídica sencilla que atraviesa la membrana celular.
- Dominio intracelular compuesto por un dominio tirosinquinasa que fosforila tirosina de proteínas seguido de otro de regulación C-terminal.

Los receptores solo pueden existir en dos conformaciones: una forma “extendida” y una forma “plegada” (atada/anclada). La forma extendida permite al receptor estar dispuesto para la dimerización. La forma plegada oculta la zona de dimerización. El ligando altera el equilibrio monómero-dímero al estabilizar el estado dimérico a través de un cambio conformacional en el dominio extracelular hacia la forma extendida. HER2 presenta la característica única de tener su región extracelular en configuración extendida en ausencia de un ligando. Los dominios I y III de HER2 interactúan directamente para estabilizar HER2 en la forma extendida, sin espacio para un ligando. Esto explica que los homodímeros de HER2 pueden formarse espontáneamente en células que lo sobreexpresan (*Wang, 2017*). La región transmembrana del receptor juega un papel activo en la señalización. Falta conocimiento sobre cómo el cambio estructural extracelular se relaciona con actividad catalítica intracelular (*Li & Hristova, 2010*). La aparición de mutaciones en el receptor, en sus diversas regiones, puede producir o facilitar modificaciones estructurales en los dominios extracelular e intracelular, que activan y facilitan la carcinogénesis (*Choura & Rebaï, 2011*).

Los ligandos de la familia HER son los factores de crecimiento epidérmicos. Son peptídicos y tienen función agonista. Se sintetizan como precursores de alto peso molecular que se anclan en la membrana plasmática, conformando un componente extracelular, un segmento transmembrana y una pequeña porción intracelular. Los precursores, tras proteólisis, generan formas maduras solubles que se liberan al medio para unirse a receptores de la propia célula que los sintetiza o de células próximas (activación autocrina y paracrina) (*Roskoski, 2014*). Se pueden agrupar en tres categorías en función de sus receptores (*Wang, 2017*).

- Una primera categoría se une exclusivamente a EGFR: EGF, factor de crecimiento transformante α (TGF α), anfirregulina y epigen.
- Una segunda categoría se une tanto a EGFR como a HER4: eprirregulina, betacelulina y HB-EGF.
- La tercera categoría se une a HER3 y HER4: neuregulinas 1 y 2. Las neuregulinas 3 y 4 se unen exclusivamente a HER4.

La transducción de señales de la familia HER es un sistema de transmisión de la información en redes. Los ligandos serían la capa de entrada, los receptores serían la capa de procesamiento de información y las vías de señalización intracelular la capa de salida. El mecanismo precisa la intervención de tres componentes: un ligando, un receptor y un segundo receptor para la dimerización. En su forma monomérica, los receptores son inactivos. La dimerización puede ser de dos receptores idénticos (homodimerización) o diferentes (heterodimerización). Los cuatro receptores HER pueden formar diez diferentes homodímeros y heterodímeros. La

heterodimerización permite la activación de todos los receptores HER en respuesta a la estimulación de ligando (Wang, 2017). Es un mecanismo de diversificación de la señalización intracelular ya que la cola de cada receptor recluta un grupo específico de proteínas. La alternativa sería un único camino lineal para cada receptor. HER2 es el regulador principal de la red. Los heterodímeros de HER2 son los más estables y potentes, en particular HER2-HER3 (vía PI3K/AKT y ERK-MAPK) que es predominante en los carcinomas. La inhibición de la dimerización de HER2 impide la activación de vías de señalización que intervienen en la carcinogénesis.

La especificidad e intensidad de la vía de señalización intracelular está determinada por los ligandos, tipo de receptores en la dimerización, reguladores y proteínas que se asocian al dominio C-terminal (Lemmon & Schlessinger, 2010; Wang, 2017). A través de estas redes regulan procesos celulares críticos, contribuyendo al desarrollo y a la progresión del cáncer (Yarden & Pines, 2012). Se activan varias vías de señalización: RAS/RAF/ERK (migración, invasión, proliferación, angiogénesis, supervivencia), PI3K/AKT/mTOR (traslación, supervivencia), SRC/FAK (inflamación, adhesión, migración), STAT (inflamación, proliferación, diferenciación, apoptosis) (Albagoush & Limaïem, 2021; Mooso et al., 2015). No es sorprendente que en el estudio TCGA en MICV aparezcan cambios que afectan a PI3K/Akt/mTOR en 42% y a RTK/RAS en 44% (Wang, 2017).

4.12.3 Determinación del estado HER2

El estado HER2 tienen funciones pronósticas y predictivas bien conocidas en los cánceres de mama y gastroesofágicos, donde la inmunohistoquímica (IHQ) se usa de forma rutinaria para evaluar la sobreexpresión. Los pacientes se estratifican de inicio con técnicas IHQ, mientras que los métodos de hibridación in situ (HIS), ya sea de fluorescencia (FISH) o cromogénica (CISH), se consideran técnicas de segundo nivel a realizar en caso de obtenerse resultados equívocos. Se pueden producir discrepancias entre sobreexpresión y amplificación, explicadas por problemas metodológicos (Prieto-Gómez, 2014).

4.12.3.1 Inmunohistoquímica

Presenta las ventajas de ser una técnica de uso habitual en la clínica, sencilla, rápida, barata, utiliza el microscopio convencional, requiere poco tejido tumoral, puede realizarse en muestras archivadas fijadas en formol e incluidas en parafina y a su vez las muestras generadas pueden archivar.

IHQ es un proceso diagnóstico que requiere una formación especializada en la fijación de la muestra, procesamiento, tinción e interpretación de los resultados. Resultados falsos negativos o incoherentes pueden resultar de irregularidades en la metodología. La interpretación clínica de la tinción debe realizarse en relación con otros criterios histopatológicos y tras la verificación de la idoneidad de controles positivos y negativos.

El diagnóstico no es cuantitativo. Existen clasificaciones de 2 niveles (bajo/alto), 3 niveles (negativo, 1+, 2+) y 4 niveles (0, 1+, 2+, 3+). Existe una reconocida variabilidad interobservador que se intenta reducir mediante la estandarización de la metodología de estudio. El acuerdo entre patólogos es bueno en los diagnósticos extremos, (3+) y (0+), siendo (1+) el peor.

4.12.3.2 Hibridación in situ de fluorescencia

El método FISH trata de determinar la amplificación mediante el empleo de sondas marcadas con fluorocromos. La técnica más recomendada es la de dos sondas, una localiza el gen *ERBB2* y otra el centrómero 17. *CEP17* es el subgado del número de copias del

cromosoma 17. La relación *ERBB2/CEP17* distingue el aumento del número de copias del gen debido a la amplificación del número de copias del cromosoma 17 (polisomía 17).

La técnica FISH presenta la ventaja de estar poco afectada por el tiempo de fijación de la muestra, sólo relevante en tiempos superiores a una semana; puede realizarse en tejidos fijados en formol e incluidos en parafina; es relativamente sencilla y estandarizable; cuantitativa, objetiva y económica. El inconveniente es que no es una técnica de rutina en la clínica hospitalaria; es más cara que la IHQ; requiere instrumental especial (microscopio de fluorescencia y observación en campo oscuro) y no es almacenable durante tiempos largos por pérdida paulatina de la señal, aunque si se almacena en congelador se puede mantener años.

Existen técnicas alternativas de HIS, como la cromogénica (CISH) que permite el diagnóstico en campo claro con el microscopio convencional, con valoración simultánea de la morfología del tejido, pudiendo identificar el componente invasivo del tumor, que es dónde se debe valorar *ERBB2*; permite su archivo y reevaluación posterior. Un inconveniente de CISH es la superposición de señales en casos de alta amplificación que puede generar infravaloración (García-Caballero et al., 2014). Se han desarrollado otras técnicas alternativas como SISH que utiliza plata y es en la actualidad la más empleada en la rutina anatomopatológica, aunque el problema de la superposición de señales persiste. Los diferentes métodos son comparables y eficaces, aunque las técnicas más modernas no requieren microscopios especiales y permiten una identificación de los núcleos más sencilla (Bartley et al., 2016).

4.12.3.3 Otros métodos

Las pruebas basadas en ARNm podrían ser capaces de complementar el análisis IHQ y FISH. Permiten conocer el estado del gen *ERBB2* dada la alta correlación entre ambos. Se han aplicado procedimientos cuantitativos y métodos de detección in situ, pero no son utilizados habitualmente en la práctica clínica. Dado que la qPCR es cuantitativa y objetiva, mientras que la IHQ es semicuantitativa y observador dependiente, ha sido propuesta como alternativa para reducir la variabilidad de la IHQ.

Tabla 6.

Métodos de detección de HER2-ERBB2.

	IHQ	FISH	BDISH (CISH/SISH)	NGS
Diana	HER2	<i>ERBB2</i>	<i>ERBB2</i>	<i>ERBB2</i>
FDA aprobado	Si	Si	Si	No
Microscopio	Óptico	Fluorescencia	Óptico	NA
Precio	+	++	+	+++
Tiempo (días)	1	1-2	1-2	14-21
Archivo	Si	No	Si	NA
Interpretación	Subjetiva	Objetiva	Objetiva	Objetiva
Sist. puntuación	Semicuantitativo	Cuantitativo	Cuantitativo	Cuantitativo
Histología simult.	Si	NA	Si	NA
E. heterogeneidad	Si	Si	Si	No
Est. Mutaciones	No	No	No	Si

Nota: ISH: hibridación in situ, NA: no aplicable, BDISH: bright-field dual-probe in situ hybridization. Adaptada de Hechtman and Ross, 2019. Autorizada con licencia 5684811159587 (Dec 2023). John Wiley and Sons. (anexo 3)

Las técnicas modernas de secuenciación genética (NGS) facilitan el estudio simultáneo de la amplificación y mutaciones de *ERBB2*, además de alteraciones de otros genes. Pueden realizarse tanto en biopsia quirúrgica, bloques celulares y en citología del sobrenadante. Permiten el estudio cuando el material es limitado (Steehgs et al., 2020). Ross et al. comunicaron una concordancia total entre FISH y NGS del 98,4%. Las discordancias sucedieron en el contexto

de contenido tumoral escaso, heterogeneidad y bajo nivel de amplificación (Ross *et al.*, 2017). NGS presenta la limitación de no analizar cada célula tumoral de modo independiente. El ADN de todas las células tumorales más linfocitos y células del estroma son valoradas en conjunto. Esto significa que, en casos de escasa pureza tumoral, se producirá un falso resultado en el número de copias de *ERBB2*. Con esta técnica perdemos la valoración de la heterogeneidad (Hechtman & Ross, 2019). NGS podría ayudar en la clasificación de casos no interpretables por IHQ y HIS (Bartley *et al.*, 2016).

El estado de HER2 se evalúa rutinariamente usando una combinación de sobreexpresión IHQ-HER2 y amplificación HIS-*ERBB2*. Son las dos únicas técnicas con validación clínica reconocida (Wolff *et al.*, 2018).

4.12.3.4 Interpretación diagnóstica en el cáncer de mama

CAP desde el año 2000 y posteriormente en unión con ASCO han publicado guías para la interpretación IHQ y FISH que facilitan la indicación de la terapia antiHER2 en el cáncer de mama (Fitzgibbons *et al.*, 2000). ASCO/CAP 2007 estableció una serie de requisitos preanalíticos y analíticos para la interpretación de las pruebas. Se estableció un límite para la positividad de sobreexpresión HER2 de $\geq 30\%$, por lo que se perdieron casos positivos verdaderos (Wolff *et al.*, 2007). ASCO/CAP 2013 introdujo el concepto de algoritmo HIS, un enfoque de dos pasos, teniendo en cuenta primero el cociente *ERBB2/CEP17*, seguido del análisis del número medio de copias HER2 cuando la relación *ERBB2/CEP17* es < 2 (Wolff *et al.*, 2013). Se recuperó el corte de sobreexpresión $>10\%$, que era el de los estudios iniciales de trastuzumab. Las directrices de 2013 también enfatizaron la necesidad de hacer pruebas periódicas de competencia en laboratorios CAP (Mohanty *et al.*, 2021).

ASCO/CAP 2018 no modificó definiciones (Wolff *et al.*, 2018). Asumió la clasificación en cinco grupos propuesta por Press *et al.* (Press *et al.*, 2016). El Grupo 1 y el Grupo 5 representan los dos extremos del espectro diagnóstico, presencia y ausencia de amplificación *ERBB2*, que comprendería el 95 % de todas las pruebas. El 5% restante se clasificaría como Grupos 2–4. En estos últimos, se sugiere realizar una reinterpretación combinada de los ensayos IHQ e HIS para llegar a concretar el estado de HER2 (positivo vs negativo). La reclasificación de los casos del Grupo 2 y Grupo 4 incrementó el número de casos negativos (Gordian-Arroyo *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2019). Respecto a las guías de 2013, se reclasificaron del 4,6 % al 16 % de los resultados de FISH, y esta discordancia ha sido impulsada por un aumento de la negatividad entre un 4-15,5 %. Al mismo tiempo, la tasa de positividad reportada disminuyó del 0,4% al 1,1% (Liu *et al.*, 2019).

Los pacientes con presencia de niveles bajos de HER2 (“HER2 low”), podrían beneficiarse de una terapia dirigida. Se define como IHQ 2+/FISH negativo o IHQ 1+. En el cáncer de mama pueden suponer alrededor del 50% de casos. Presentan receptores en un rango de $1-5 \times 10^5$, en tanto que los 3+ presentan 2×10^6 . Parece suficiente un pequeño número de receptores para que actúe el fármaco y que el efecto también se difunda a células vecinas, incluso HER2 negativas (Modi *et al.*, 2020). La actualización ASCO-CAP 2023 ratifica la publicada en 2018, en base a los resultados del ensayo DESTINY-Breast04 de 2022 en el que se basó la FDA para ampliar la aprobación de trastuzumab-deruxtecan a pacientes metastásicos con diagnóstico HER2-low (Wolff *et al.*, 2023).

4.12.3.5 Interpretación diagnóstica en el cáncer esofagogástrico

El ensayo ToGA, trastuzumab para el cáncer gástrico, fue el primero aleatorizado fase III que mostró un beneficio de supervivencia para pacientes metastásicos HER2 positivo (Bang *et al.*, 2010). Los investigadores validaron un método de evaluación de HER2 con un sistema de puntuación propio (Bartley *et al.*, 2016; Hofmann *et al.*, 2008). Las diferencias respecto a la

mama son una mayor heterogeneidad en la inmunotinción, infrecuente tinción completa de la membrana luminal y frecuente expresión en la membrana basolateral, de modo que si es débil o moderada se diagnosticará como 2+, si fuerte será 3+ (*Bartley et al., 2016*).

Se recomienda realizar inicialmente IHQ (3+ positivo, 0/1+ negativo), seguido de HIS sólo en los resultados equívocos 2+. La definición de la amplificación se basó exclusivamente en la relación $ERBB2/CEP17 \geq 2$. La concordancia entre IHC-3+ y HIS+ es elevada, mayor del 90% en la mayoría de los estudios. La determinación del estado HER2 es útil para la indicación de tratamiento pero es controvertido su uso como marcador pronóstico (*Bartley et al., 2016*).

4.12.3.6 Variabilidad del estudio del estado HER2

La variabilidad se explica por diversos factores (*Sanguedolce et al., 2019*):

- Heterogeneidad tumoral
- Heterogeneidad de las muestras (estadio y grado)
- Diversidad en la metodología para el estudio de la sobreexpresión y amplificación.
- La técnica empleada: PCR, HIS, IHC
- Definiciones de positividad
- Diferencias geográficas y étnicas

La mayoría de los autores están de acuerdo en el CV en considerar IHQ como test inicial de screening para seleccionar casos para FISH, siguiendo los ejemplos de mama y estómago, debido al alto valor predictivo y especificidad demostrada por IHQ negativo para FISH negativo (*El Ochi et al., 2017*). Esto es importante porque IHQ es más barata y sencilla técnicamente que FISH (*Lim et al., 2015*).

Un problema importante que impide la implementación de la evaluación IHQ es la escasa reproducibilidad de los resultados debido a la evaluación subjetiva. Otro inconveniente son los niveles altos de casos equívocos, que pueden relacionarse con la experiencia del patólogo.

En los últimos años, se han desarrollado técnicas patológicas basadas en la inteligencia artificial (IA), herramientas de análisis de imágenes automatizadas con la capacidad de evaluar preparaciones completas para determinar varios tipos de parámetros. Dichos algoritmos de análisis de imágenes digitales cuantifican la expresión de biomarcadores IHQ en regiones de interés delineadas manualmente, con resultados altamente reproducibles y precisos. Se pretende su implantación en la práctica patológica de acuerdo con las pautas ASCO/CAP a través de algoritmos comercialmente disponibles, aprobados por la FDA (*Lara et al., 2021*). En un estudio sobre carcinoma de mama se han informado altas tasas de concordancia entre la puntuación manual y digitales de inteligencia artificial HER2 y entre los resultados de IHQ y FISH (*Hartage et al., 2020*). Dado que FISH es un método más complejo y lento que IHQ para evaluar el estado de HER2, también se han establecido sistemas digitales de inteligencia artificial para su análisis, con tasas de concordancia cercanas al 100 % (*Sanguedolce et al., 2023*).

4.12.4 HER2: marcador pronóstico, predictivo y diana terapéutica

Tan et al. apoyaron que *ERBB2* puede jugar un papel importante en el proceso de desarrollo del cáncer de vejiga (*Tan et al., 2019*). La amplificación y la sobreexpresión de HER2 parece presentarse en todos los estadios del CV (*Chae et al., 2022*). Existen estudios contradictorios sobre la asociación del estado HER con las variables clínico-patológicas de los modelos de estratificación de riesgo y con su valor pronóstico, tanto positivos (*Nedjadi et al., 2016*; *Sanguedolce et al., 2018*) como negativos (*Kumar et al., 2015*). En un análisis NGS de una cohorte de 105 NMICV, los tumores de estadio y grado más altos se enriquecieron de manera

constante con alteraciones de HER2 (*Pietzak et al., 2017*). Lim et al. observaron una ausencia de amplificación de HER2 en tumores de bajo grado/ bajo estadio. Este hallazgo significaría que la amplificación de HER2 es un fenómeno oncogénico adquirido de los NMICV-G3/AG y que identificaría a los de peor pronóstico (*Chen et al., 2013; Janane et al., 2011; Lim et al., 2015*). Lattanzi et al. publicaron una tasa de amplificación de *ERBB2* diferente entre MICV 9 % y NMICV 3 % (*Lattanzi et al., 2022*).

La sobreexpresión de HER2 sería un factor pronóstico negativo en MICV (*Sanguedolce et al., 2023*). El valor pronóstico en NMICV es controvertido (*Laé et al., 2010*). Algunos han comunicado su relación con peores resultados de recidiva y progresión (*Chae et al., 2022; Ding et al., 2015; Lim et al., 2015; Moustakas et al., 2020; Zhao et al., 2015*). Bongiovanni et al. no encontraron asociación con la progresión y recurrencia (*Bongiovanni et al., 2013*). Hegazy et al, indicaron que la sobreexpresión de HER2 fue predictora de fallo de tratamiento BCG en términos de alta recurrencia y progresión (*Hegazy et al., 2015*). Otros estudios encontraron resultados conflictivos (*Lima et al., 2012*).

El tratamiento convencional del cáncer de vejiga avanzado con quimioterapia basada en platino puede resentirse por la aparición de resistencia al tratamiento. Se ha implicado a la familia HER en esta quimioresistencia. El tratamiento previo con QMT parece producir también resistencia a los inhibidores de HER. Una causa probable es que la QMT podría suprimir la expresión del receptor HER.

El hallazgo frecuente de alteración HER2 en CV y la disponibilidad de terapias antiHER2 animan a la traslación a la clínica de la experiencia en el cáncer de mama y esófago-gástrico (*Koshkin et al., 2019*).

La determinación de HER2 en NMICV y el tratamiento mediante fármacos que utilicen este receptor como diana podría mejorar el pronóstico de la enfermedad. Los primeros ensayos de tratamiento anti-HER2 en CV metastásico tuvieron resultados desalentadores. Estos estudios se realizaron en muchos casos con pacientes no seleccionados para el estado HER2 (*Marchiò et al., 2021*).

La aparición de nuevos fármacos que conjugan un anticuerpo con un principio activo (ADC) ha renovado el interés en los tratamientos dirigidos a HER2. Los ADC actúan mediante una alta concentración de un agente citotóxico sobre células tumorales con antígenos diana, con mínimos efectos secundarios sistémicos. Probablemente el mejor factor predictivo de respuesta a los agentes anti-HER2 está representado por la sobreexpresión/amplificación de HER2 (*Marchiò et al., 2021*). Un mejor cribado de pacientes y nuevas combinaciones terapéuticas podrían conducir a mejorar los resultados (*Koshkin et al., 2019*).

El estudio de la expresión de HER2 en el CV no es parte de la actual práctica de rutina. No hay criterios estandarizados, específicos, para evaluar el estado de HER2 en CV (*Scherrer et al., 2022*). Los estudios presentan problemas como muestras heterogéneas, poco comparables (en estadio, grado, etc.) y discrepancias metodológicas (clones de anticuerpos, criterios de evaluación, puntos de corte, etc.). Se necesitan estudios mediante métodos accesibles a la práctica clínica, IHQ e HIS, que superen estas limitaciones, para conocer su valor como factor pronóstico y atisbar su utilidad en el futuro desarrollo de terapias diana (*Sanguedolce et al., 2023*). En particular propugnamos la investigación en el carcinoma urotelial de vejiga T1AG, tumores que se encuentran en una zona gris en el pronóstico y decisión terapéutica, en la frontera entre el “benigno” NMICV y el “maligno” MICV.

5 HIPÓTESIS - OBJETIVOS

5.1 HIPÓTESIS

La determinación inmunohistoquímica de la sobreexpresión del receptor de membrana citoplasmática HER2 y el estudio de la amplificación de su gen codificante, *ERBB2*, mediante hibridación in situ, en el carcinoma urotelial de vejiga T1 alto grado, permite distinguir los pacientes que presentan un mayor riesgo de recurrencia y progresión a estadio músculo-infiltrante o diseminado y puede orientar el seguimiento y tratamiento de los pacientes.

5.2 OBJETIVOS

1. Estudiar el estado HER2 en una muestra de pacientes diagnosticados de carcinoma urotelial de vejiga T1 alto grado mediante la determinación de la sobreexpresión, la amplificación y el resultado diagnóstico del análisis secuencial de la sobreexpresión y amplificación.
2. Determinar la frecuencia del diagnóstico HER2-bajo.
3. Estimar la concordancia entre sobreexpresión y amplificación.
4. Establecer el grado de heterogeneidad intratumoral en la sobreexpresión y la amplificación.
5. Analizar la asociación entre las variables clínicas y patológicas de los modelos de estratificación del riesgo del cáncer de vejiga y el estado HER2.
6. Valorar la utilidad pronóstica del estado HER2 en relación con la recurrencia y la progresión tumoral.
7. Investigar el papel predictivo del estado HER2 en relación con la respuesta al tratamiento adyuvante intravesical con BCG.
8. Determinar la polisomía 17 y su valor pronóstico.

6 METODOLOGÍA

6.1 DISEÑO DE ESTUDIO

Realizamos un estudio observacional, analítico, longitudinal, ambispectivo, de cohortes, de casos no consecutivos, de un único centro.

6.2 CONTEXTO. PARTICIPANTES

Estudiamos la población de pacientes diagnosticados y tratados por carcinoma urotelial de la vía urinaria en el Complejo Hospitalario Universitario de Vigo (CHUVI-SERGAS) desde el inicio de 2009 hasta el fin de 2021. Se seleccionaron los localizados en la vejiga y de presentación primaria. Se incluyeron algunos pacientes identificados como recurrentes con episodio inicial previo a 2009. Hemos seleccionado tumores con estadio T1 y de alto grado (T1AG) con los siguientes criterios:

6.2.1 Criterios de inclusión

- Haber firmado documentos de consentimiento informado clínico y patológico.
- Carcinoma urotelial primario de vejiga.
- Diagnóstico patológico T1AG confirmado tras revisión por pares.
- Capa muscular presente y libre de tumor.
- Ausencia de diseminación regional o a distancia: ni adenopatías ni metástasis
- Datos clínicos completos.
- Tratado mediante RTU de vejiga completa.
- Material de biopsia adecuado para estudio molecular.

6.2.2 Criterios de exclusión.

- Antecedente de carcinoma del tracto urinario superior (TUS), carcinoma urotelial de vejiga musculo-infiltrante (MICV).
- Antecedente de terapia anti-HER2.
- Tumor no urotelial o mesenquimal.
- Inmunodeficiencia conocida.
- RTUV incompleta.
- Evolución a MICV en menos de 3 meses de evolución.
- Cistectomía radical precoz con diagnóstico de MICV en menos de 3 meses del diagnóstico inicial.

Todos los pacientes sufrieron inicialmente una resección transuretral de vejiga (RTUV) según el protocolo quirúrgico habitual. La intervención se consideró adecuada cuando fue completa, con presencia de capa muscular en la biopsia. Cuando estuvo indicado, se realizó un

muestreo para la identificación de CIS concurrente y se realizó una segunda resección diagnóstica de confirmación (R-RTUV), ésta última en menos de 6 semanas de la inicial.

Fueron tratados de modo adyuvante con instilaciones intravesicales de BCG o mitomicina C (MMC) siguiendo las recomendaciones de la EAU. BCG se administró siguiendo un programa de un ciclo de inducción de una dosis semanal durante 6 semanas y cuando se realizó un ciclo mantenimiento se estableció mediante una dosis semanal durante 3 semanas en los meses 3-6-12-18-24-30-36. Los pacientes tratados con MMC recibieron una dosis semanal durante 6 semanas.

El seguimiento clínico y el tratamiento no sufrió modificaciones en los cuidados recomendados por las guías clínicas de referencia (EAU) por el hecho de formar parte de este estudio. Se practicó control clínico, cistoscopia y citología trimestral durante los dos primeros años y semestral a partir de este momento hasta alcanzar cinco años. Posteriormente el seguimiento se realizó mediante ecografía o cistoscopia, con periodicidad anual. Tras un estudio inicial de imagen con urografía-TAC, ésta se repitió con carácter bienal.

Las características histológicas se establecieron a partir del informe patológico de la primera cirugía. La biopsia fue valorable cuando presentó capa muscular propia suficiente para descartar estadio músculo invasivo (T2). La estadificación de los tumores siguió las directrices de la clasificación TNM 8ª edición, AJCC año 2017 (Amin *et al.*, 2017). Se subestadificó el estadio T1 según la clasificación de Younes *et al.* (Younes *et al.*, 1990). La gradación histológica se realizó según las clasificaciones OMS 1973 y OMS 2004-2016. Se investigó activamente la presencia de infiltración linfovascular y la existencia de subtipos histológicos. Dos patólogos especializados en patología urogenital revisaron individualmente los casos retrospectivos, alcanzando un consenso en los casos dudosos. Los casos prospectivos (a partir de 2015) también fueron acordados.

Identificamos pacientes con material histológico válido para realización de estudios IHQ y HIS. Se realizó el estudio molecular sobre material biopsico de la RTUV inicial. A partir de los bloques donantes se construyen macromatrices tisulares (MT) que posteriormente surtieron las técnicas de IHQ y FISH.

6.2.3 Cohorte principal y secundarias.

Se establece una cohorte principal, etiquetada como “166”, de 166 pacientes T1AG con el objetivo de determinar la sobreexpresión HER2 y la amplificación *ERBB2*. Incluida en ésta, se define una subcohorte “150” de 150 tumores con seguimiento superior a 6 meses, con el fin de estudiar la relación del diagnóstico HER2 con la recurrencia y progresión de la enfermedad. Anidada en la precedente, concretamos otra subcohorte “104” de 104 individuos que además del seguimiento de 6 meses fueron tratados con instilaciones endovesicales de BCG para conocer el valor predictivo de HER2.

6.3 DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES.

Hemos seleccionado variables clínicas e histológicas presentes en los modelos de estratificación de riesgo (categorizadas), como los de EORTC, CUETO, EAU y algunas otras variables que ayudaron a establecer las características de los individuos de la muestra a estudio.

6.3.1 Variables cualitativas categóricas

6.3.1.1 Variables en modelos de estratificación de riesgo:

1. Edad: ≤ 70 / > 70 años
2. Género: hombre / mujer
3. Tamaño tumoral: < 30 / ≥ 30 mm
4. Número de tumores: único / múltiple
5. Patrón de crecimiento tumoral: sólido / papilar
6. Carcinoma in situ concomitante: si / no
7. Invasión linfovascular: si / no
8. Subtipo histológico: no / bajo riesgo / alto riesgo

6.3.1.2 Otras variables histológicas

1. Localización tumoral: cuello-trígono / otra
2. Subestadificación T1: T1a / T1b / T1c (Younes et al., 1990) .

6.3.1.3 Otras variables clínicas

1. Tabaco : fumador-exfumador/ no fumador
2. Índice de masa corporal (IMC) : < 25 / ≥ 25 , sobrepeso
3. Relación neutrófilos-linfocitos: < 3 / ≥ 3
4. Índice de Charlson: < 5 ($> 50\%$ vivo a 10 años) / ≥ 5 ($< 50\%$)
5. Clasificación ASA: 2 / 3 / 4
6. Tratamiento adyuvante endovesical: BCG / MMC / no

6.3.1.4 Estado HER2

1. Sobreexpresión HER2: negativo 0+/1+ / equívoco 2+ / positivo 3+
2. Amplificación *ERBB2*: negativa / positiva
3. Diagnóstico HER2: negativo / positivo
4. Polisomía 17

6.3.1.5 Variables de seguimiento clínico

1. Recurrencia: si / no
2. Progresión: si / no
3. Fallo BCG a 2 años

6.3.2 Variables cuantitativas discretas

1. Supervivencia libre de recurrencia (meses)
2. Supervivencia libre de progresión (meses)
3. Supervivencia global (meses)
4. Supervivencia cáncer específica (meses)

6.3.3 Modelos de estratificación de riesgo

Los pacientes fueron clasificados de acuerdo a los tres modelos de estratificación de riesgo de mayor predicamento en la literatura y en las guías clínicas: modelo EORTC-2006 (*tabla 3*) y modelo CUETO (*tabla 4*), ambos para estudio de la recurrencia y de la progresión tumoral; modelo de grupos de riesgo EAU-2021 para la progresión (*tabla 5*).

6.3.4 Definición de variables

Fecha de inicio o inclusión: fecha de realización de la RTUV inicial con diagnóstico patológico de CUV-T1AG.

Fecha de cierre: se considera última fecha de seguimiento aquella en la que tras revisión del registro del paciente no se encuentra ningún evento clínico relacionado con la enfermedad. En nuestro estudio, 31-12-22.

Evento terminal: en caso de progresión a MICV, N+ o M+, cistectomía radical o fallecimiento por cualquier motivo.

Tiempo de Seguimiento; tiempo, en meses, desde la fecha de la intervención inicial hasta la fecha final de control de seguimiento (31-12-2022). Abandonaron el seguimiento si se realizó, cistectomía radical, se produce progresión histológica o fallecimiento por cualquier causa. Se estableció el seguimiento clínico superior a 6 meses para valorar datos de pronóstico.

Tratamiento endovesical (BCG / MMC / ninguno). Se consideraron tratados los que han recibido más de 5 dosis.

Recurrencia. Se define como una nueva lesión tumoral, la confirmada por biopsia, sin importar estadio o grado, tras 3 meses de seguimiento. Una recidiva en vía urinaria superior se consideró un segundo tumor, no una recurrencia.

Supervivencia libre de recidiva (SLR): tiempo, en meses, hasta la primera recidiva coincidente con la fecha de la biopsia de confirmación.

Progresión. Es una recurrencia con infiltración de la capa muscular propia o superior ($\geq T2$) y/o diseminación a distancia (M+), confirmada por una biopsia o prueba de imagen, tras 3 meses de seguimiento.

Supervivencia libre de progresión (SLP): tiempo, en meses, hasta la progresión coincidente con la fecha de la biopsia o del informe del estudio de imagen de confirmación.

Fallo de BCG a 2 años: diagnóstico patológico de recurrencia de alto grado o estadio igual o superior a T1N+M+ antes de los 2 años de la fecha de inicio, tras recibir al menos 5 dosis de BCG.

6.4 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA ANATOMOPATOLÓGICA

Las muestras tumorales de pacientes diagnosticados y tratados por CV en el CHUVI fueron almacenadas por el Servicio de Anatomía Patológica. La biopsia fue fijada en formol e incluida en parafina según el protocolo del centro. La técnica IHQ para detección de la sobreexpresión de HER2 ha sido validada y es de uso rutinario en el centro para el cáncer de mama y el gástrico.

Para la realización de ambas técnicas, IHQ y HIS, se eligieron todos los bloques de cada paciente en los que se diagnosticó T1AG obteniendo una muestra del área de infiltración tumoral en cada bloque, hasta un máximo de 7 biopsias por paciente. Para el análisis de un número tan alto de biopsias, se construyeron bloques multitejidos o matrices tisulares (MT). Sobre

secciones de las MT, se realizaron ambas técnicas de IHQ e HIS, según la metodología habitual y con los correspondientes controles externos positivos y negativos

6.4.1 Construcción de matrices tisulares

La construcción de “bloques multitejido” se basa en la reunión de un numeroso grupo de casos ordenados en una MT. Las MT permiten el estudio de marcadores moleculares diagnósticos, pronósticos y predictivos. Facilita un estudio amplio de muestras de una forma homogénea y con bajo consumo de reactivos. Se elaboran bloques de parafina (bloque “receptor”) a partir de cilindros biópsicos de mediano calibre extraídos de bloques convencionales (bloque “donante”). Una sección del bloque receptor contiene múltiples biopsias (*Gómez-de María et al., 2018*).

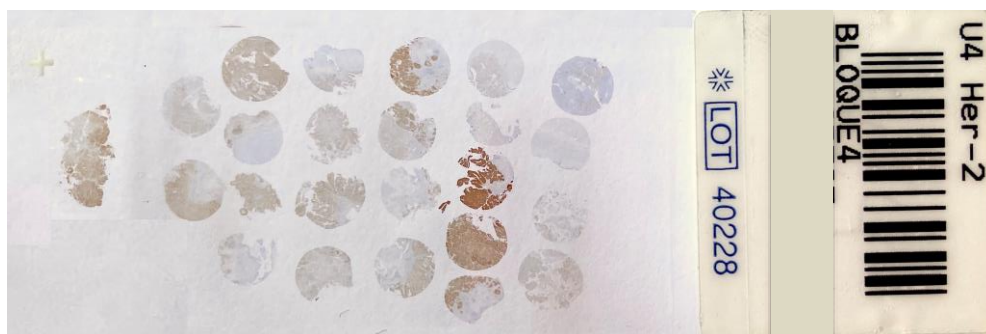
Se elige este método para la investigación ya que ahorra tiempo, dinero y estandariza la técnica al ser realizada simultáneamente en un número elevado de casos. Una única sección de matriz inmunoteñida sustituye a múltiples cortes completos. Ha demostrado su validez en IHQ-HIS a pesar de la pequeña cantidad de tejido. Es homologable con los resultados en secciones tisulares convencionales. Utilizamos cilindros de mayor tamaño que en las micromatrices y aunque se estudian menos casos por MT se mantiene el ahorro económico y la homogeneidad de la técnica (*Gómez-de María et al., 2018*).

Hemos empleado un método manual de obtención de MT:

- Inicialmente se seleccionaron las áreas de interés (área infiltrante del tumor) sobre las preparaciones histológicas de hematoxilina-eosina (HE).
- En un segundo paso se procede a la localización de las áreas señaladas en el bloque de parafina “donante”.
- Se aplica un punch de biopsias cutáneas de 4 mm en las áreas marcadas del bloque donante. Se obtiene un cilindro mediante una rotación de 180-360° y se deposita en un molde metálico habitual para bloques convencionales con parafina, intentando que queden en el mismo plano e identificados. Se forma el bloque receptor.
- Se practica microtomía convencional como en cualquier bloque histológico.

Figura 7.

Preparación de sección de macromatriz tisular tras tinción IHQ-HER2



Nota: cilindros biópsicos obtenidos de la fracción infiltrante de diversos tumores. En el extremo izquierdo el control positivo. Elaboración propia.

El tiempo medio de elaboración de cada bloque MT fue de 45 minutos y el procedimiento es relativamente sencillo. Los resultados de las tinciones realizadas fueron óptimos

Se realizaron secciones tisulares de las MTs de 4 μ m. Se tiñeron con HE de una sección para valorar la presencia de tumor bajo microscopio óptico y posteriormente se realizaron las técnicas de identificación de HER2/ERBB2.

Las MT fueron realizadas en el servicio de Anatomía Patológica del CHUVI.

6.4.2 Técnica inmunohistoquímica HER2

Tras la obtención de la muestra de biopsia por RTU se establece un tiempo de isquemia fría de referencia (tiempo entre la extracción del tejido y el inicio de la fijación) inferior a 60 minutos. A continuación, la muestra sigue los pasos habituales de la rutina histopatológica para el diagnóstico. Las muestras se fijaron en formol neutro tamponado al 10%, durante un tiempo comprendido entre 6 y 72 horas, y posteriormente se incluyeron en parafina de forma rutinaria. Para la IHQ se realizaron secciones de 4 μ m que se montaron en portaobjetos cargados Superfrost Plus (Roche-Ventana, Tucson AR). La metodología IHQ se desarrolló en el servicio de Anatomía Patológica del CHUVI.

6.4.2.1 Técnica Herceptest – Dako: anticuerpo policlonal A0485

La técnica inmunohistoquímica se realizó de forma automática en un inmunoteñidor AutostainerLink 48 (Dako-Agilent, Santa Clara, CA) empleando el kit HercepTest para Autostainer (SK001, Dako-Agilent). El protocolo de inmunotinción incluyó las siguientes etapas de incubación:

1. Reactivo de bloqueo de peroxidasa (Dako-Agilent): 5 min.
2. Anticuerpo policlonal de conejo anti-HER2 prediluido (Dako-Agilent A0485): 30 minutos.
3. Polímero de dextrano conjugado con peroxidasa de rábano e inmunoglobulina de cabra anticonejo (Dako-Agilent): 20 min.
4. Solución de trabajo de tetrahidrocloruro de 3,3'-diaminobenzidina con peróxido de hidrógeno (Dako-Agilent) durante 10 min.
5. Contratinción con hematoxilina EnVision FLEX (Dako-Agilent): 15 min.

Entre las distintas etapas se realizaron lavados con tampón (Dako-Agilent) y tras la última, las secciones se lavaron de nuevo en tampón durante 5 min, para posteriormente proceder a su deshidratación, aclaramiento y montaje.

Como controles positivos se emplearon las preparaciones citológicas suministradas con el kit y punch de un caso 2+ incluido en cada preparación. Los controles negativos de la técnica se llevaron a cabo sustituyendo el anticuerpo primario por tampón de dilución (Dako-Agilent). En todos los controles se obtuvo el resultado esperado.

El servicio de anatomía patológica del hospital POVISA de Vigo colaboró en esta parte del estudio IHQ.

6.4.2.2 Técnica Ventana: anticuerpo monoclonal 4B5

Las muestras se fijaron en formol neutro tamponado al 10%, durante un tiempo comprendido entre 6 y 72 horas, y posteriormente se incluyeron en parafina de forma rutinaria. La técnica inmunohistoquímica se realizó en secciones de 4 μ m que se montaron en portaobjetos cargados Superfrost Plus (Roche-Ventana, Tucson AR) y de forma automática en un inmunoteñidor BenchMark ULTRA (Roche-Ventana). El protocolo de inmunotinción incluyó las siguientes etapas de incubación:

1. Horneado: 8 min a 60°C.
2. Desparafinado: A 72°C.

3. Acondicionador celular ULTRA CC1 a 95°C durante 8 min, 20 min y 36 min.
4. Anticuerpo monoclonal de conejo VENTANA HER2/neu (clon 4B5): 24 min.
5. Sistema de detección Ultraview.
6. Revelado: solución de tetrahidrocloreuro de 3,3'-diaminobenzidina con peróxido de hidrógeno.
7. Contratinción: hematoxilina: 16 min.
8. Poscontratinción: reactivo azulante: 4 min.
9. Lavado, deshidratación, aclaramiento y montaje.

Los controles de la técnica se llevaron a cabo sustituyendo el anticuerpo primario por tampón de dilución. Para los controles positivos se incluyó un punch de un tumor de mama HER2 2+.

Las secciones inmunoteñidas se observaron y fotografiaron en un microscopio Olympus BX51 (Olympus, Tokio, Japón) equipado con una cámara digital DP70 (Olympus).

6.4.2.3 Interpretación diagnóstica

Los criterios diagnósticos fueron los indicados por ASCO-CAP 2018 HER2 para cáncer de mama (Wolff *et al.*, 2018).

- 1.- *Negativo* (IHQ 0+). No se observa tinción o tinción de membrana incompleta que es débilmente perceptible en $\leq 10\%$ de las células tumorales
- 2.- *Negativo* (IHQ 1+). Tinción de membrana incompleta que es débilmente perceptible en $>10\%$ de las células tumorales.
- 3.- *Equívoco* (IHQ 2+). Tinción de membrana completa de ligera a moderada observada en $>10\%$ de las células tumorales.
- 4.- *Positivo* (IHQ 3+). Tinción de membrana circunferencial completa, intensa y en $>10\%$ de las células tumorales.

6.4.3 Técnica de hibridación in situ fluorescente

La técnica fue realizada manualmente usando el kit HER2 IQFISH pharmDX™ (K5731, Dako-Agilent, Santa Clara, CA), que permite la determinación y visualización simultánea del gen *HER2/neu* (*ERBB2*) y del centrómero del cromosoma 17 (CEP-17). Dicha detección se realizó mediante el empleo de una mezcla de dos sondas: (1) una sonda para *ERBB2* (ADN) marcada con Texas Red (TR: señales rojas), y (2) una sonda para CEP-17 (PNA, Peptide Nucleic Acid) marcada con isotiocianato de fluoresceína (FITC: señales verdes), específica para la región centromérica del cromosoma 17.

Para la realización de la técnica se siguieron en todo momento las recomendaciones del fabricante, que se resumen a continuación:

1. Desparafinado y deshidratación de las secciones histológicas de 4 micras de grosor recogidas en portas pretratados (Flex IHC microscope slides, Dako-Agilent).
2. Pretratamientos, para permeabilizar el tejido y facilitar el acceso de la sonda a la secuencia diana:
 - a) Solución de pretratamiento MES (2-(N-morpholino) ethanesulphonic), 10 minutos a 95-99°C.

- b) Digestión enzimática con pepsina, 10 minutos a temperatura ambiente. Ocasionalmente fue necesario repetir la técnica en aquellos casos que se observaba ausencia de señales o sobredigestión, ajustando el tiempo de incubación con pepsina (aumentándolo o disminuyéndolo en 5 minutos, respectivamente).
3. Deshidratación en alcoholes de gradación creciente (70%, 85% y 96%).
4. Codesnaturalización de la mezcla de sondas y del ADN diana: 10 minutos a 66°C.
5. Hibridación de la mezcla de sondas con las secuencias diana: 90 minutos a 45°C.
6. Lavado de rigor (stringent wash buffer): 10 minutos a 60°C.
7. Deshidratación y montaje con DAPI (4',6-diamidina-2-fenilindol) para contraste de los núcleos.

La valoración de las preparaciones hibridadas se realizó empleando un microscopio de fluorescencia (Olympus BX51, Tokio, Japón) equipado con un filtro para DAPI (núcleos) y filtros específicos para TR (*ERBB2*, señales rojas) / FITC (CEP-17, señales verdes), y una cámara digital DP70 (Olympus, Tokio, Japón). La cuantificación se llevó a cabo con objetivo de inmersión de 100x. Cuando hubo más de dos cilindros de biopsia ("cores") a estudio se eligió el de mayor ratio.

La metodología FISH se elaboró en el Servicio de Anatomía Patológica del CHUS.

La interpretación de las preparaciones de FISH-*ERBB2* se realizó mediante el estudio de las siguientes variables:

- *ERBB2* FISH Gen
- FISH centrómero 17
- Media de señales *ERBB2*/núcleo
- Media de señales centrómero 17/núcleo
- Ratio *ERBB2*/núcleos

Se cuantificaron 20 núcleos y 20 núcleos más si:

- Ratio *ERBB2*/núcleo estaba comprendida entre 1.8 y 2.2 o
- Media de señales de *ERBB2*/núcleo entre 4 y 6

Se realizó el diagnóstico de FISH según las pautas de ASCO/CAP de *ERBB2* para el cáncer de mama, tanto mediante las directrices de 2013 (Wolff *et al.*, 2013) como de 2018 (Wolff *et al.*, 2018). El objetivo del empleo de ambas clasificaciones fue conocer la migración diagnóstica de los casos:

6.4.3.1 Criterios ASCO-CAP *HER2* cáncer de mama 2013 (Wolff *et al.*, 2013):

- **POSITIVO:**
 - relación *ERBB2*/CEP17 de $\geq 2,0$ y promedio $\geq 4,0$ señales *ERBB2*/célula.
 - relación *ERBB2*/CEP17 de $\geq 2,0$ y promedio $< 4,0$ señales *ERBB2*/célula.
 - relación *ERBB2*/CEP17 de $< 2,0$ y promedio $\geq 6,0$ señales *ERBB2*/célula
- **EQUÍVOCO:**
 - relación *ERBB2*/CEP17 de $< 2,0$ y promedio $\geq 4,0$ pero $< 6,0$ señales *ERBB2*/célula.
- **NEGATIVO:**
 - relación *ERBB2*/CEP17 de $< 2,0$ y promedio $< 4,0$ señales *ERBB2*/célula

6.4.3.2 Criterios ASCO-CAP HER2 cáncer de mama 2018 (Wolff et al., 2018):

Clasifica los tumores en cinco grupos principales (Mohanty et al., 2021):

- grupo 1, relación *ERBB2/CEP17* de $\geq 2,0$ y promedio $\geq 4,0$ señales *ERBB2*/célula.
- grupo 2, relación *ERBB2/CEP17* de $\geq 2,0$ y promedio $< 4,0$ señales *ERBB2*/célula.
- grupo 3, relación *ERBB2/CEP17* de $< 2,0$ y promedio $\geq 6,0$ señales *ERBB2*/célula.
- grupo 4, relación *ERBB2/CEP17* de $< 2,0$ y promedio $\geq 4,0$ pero $< 6,0$ señales *ERBB2*/célula.
- grupo 5, relación *ERBB2/CEP17* de $< 2,0$ y promedio $< 4,0$ señales *ERBB2*/célula.

Los grupos se reportaron de la siguiente forma

- grupo 1 como *ERBB2* positivo
- grupo 5 fue *ERBB2* negativo.
- grupos 2 a 4, resultados finales de HER2 se basaron en una revisión concurrente del HER2 IHC con recuento de FISH por otro revisor si HER2 IHC fue 2+.
 - *ERBB2* amplificado/positivo si:
 - grupo 2 e IHC concurrente 3+
 - grupo 3 e IHC concurrente 2+ o 3+
 - grupo 4 e IHC concurrente 3+.
 - *ERBB2* no amplificado/negativo (ensayo FISH) si:
 - grupo 2 e IHC concurrente 0 a 1+ o 2+,
 - grupo 3 e IHC concurrente 0 a 1+,
 - grupo 4 e IHC concurrente 0 a 1+ o 2+

POLISOMÍA 17: aumento ≥ 3 del número de copias del cromosoma 17 (número de señales de centrómero 17 por núcleo). Indica si existe una verdadera amplificación (ASCO/CAP 2018).

6.4.4 Diagnóstico HER2

El diagnóstico surge de la aplicación secuencial de ambas técnicas analíticas, sobreexpresión y amplificación. Se establece el diagnóstico positivo o negativo en relación el resultado de IHQ-HER2, positivo o negativo; en casos IHQ 2+ (equívocos) se procede al diagnóstico de FISH (ASCO/CAP 2018). La utilidad de esta información es establecer aquellos pacientes que podrían ser hipotéticamente subsidiarios de tratamiento con terapias anti-HER2.

6.5 PREVENCIÓN DE SESGOS

El sesgo de selección de pacientes puede plantearse al ser una cohorte retrospectiva, no consecutiva, con un largo periodo de reclutamiento, de una única institución. Los pacientes aceptados de modo retrospectivo cumplieron los criterios de inclusión / exclusión sin conocimiento previo de la evolución clínica o resultado analítico alguno. Los casos incluidos durante el desarrollo del estudio se integraron con los mismos criterios, sin conocimiento de las variables clínicas o patológicas de riesgo del paciente y sin interferir en ningún momento con la indicación de tratamiento o seguimiento previamente establecida. Ningún paciente rechazó la participación en el estudio

El sesgo de medición se intentó evitar mediante la intervención de profesionales expertos en uropatología y en las técnicas diagnósticas. La metodología para el diagnóstico IHQ/FISH fue la estandarizada y aprobada por organizaciones de referencia (ASCO-CAP). Los criterios diagnósticos son de referencia en patología de mama. Decidimos la realización de un estudio previo de concordancia entre dos de los anticuerpos HER2 para valorar el anticuerpo que utilizamos

en la IHQ del estudio. Un intento de reducción este tipo de sesgo fue la construcción de macro-matrices que permiten el estudio de cilindros en mejores condiciones para el diagnóstico. Incluimos varias biopsias de cada tumor para estudiar la heterogeneidad intratumoral, cuando fue posible.

En el empeño de establecer una muestra T1AG con el menor riesgo de errores en el estadiaje, realizamos un estudio preliminar para conocer su presencia en nuestra población de referencia de diagnósticos T1 realizados mediante RTUV. La variabilidad interobservador en el diagnóstico histológico se trató de disminuir mediante el proceso de evaluación independiente por pares y obtención de consenso en caso de discordancia.

Las variables clínicas fueron recogidas por un único investigador y se agruparon de forma categórica siguiendo las tablas y grupos de riesgo recomendadas en guías clínicas. La información clínica fue accesible por la existencia de registro electrónico desde hace más de 20 años en el sistema hospitalario gallego (IANUS). Este acceso a las bases de datos electrónicas nos permite evitar la pérdida en el seguimiento de algún paciente que se trasladó de área sanitaria, pero mantuvo seguimiento urológico.

El sesgo de análisis puede aparecer cuando se determina únicamente la sobreexpresión sin realización de estudio de la amplificación, ya que al considerar como positivo el resultado 2+ incorporan casos definidos actualmente como “HER2 low”. En nuestro estudio realizamos ambas determinaciones y comunicamos un resultado conjunto que denominamos “diagnóstico HER2”.

El estudio de supervivencia para progresión y recurrencia lo realizamos a 5 años ya que la mayoría de los pacientes presentan ambas incidencias en ese plazo de tiempo, aunque el seguimiento medio de la muestra supera los 6 años.

6.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

6.6.1 Tamaño muestral

La sobreexpresión de HER2 en el carcinoma urotelial de vejiga varía en la literatura revisada entre 8-70% con una tasa combinada positiva de 41,2% (*Yan et al., 2015*). Para conseguir una precisión del 10% en la estimación de la tasa de positividad de nuestra muestra de pacientes diagnosticado como carcinoma urotelial de vejiga T1AG, con un intervalo de confianza bilateral de 95% y asumiendo la anterior tasa de sobreexpresión se calculó un tamaño muestral de 94 pacientes.

6.6.2 Cálculos estadísticos

Se realizó un estudio descriptivo de las variables utilizando para las cualitativas, frecuencias y porcentajes y para las cuantitativas, medias (desviación estándar, DS) o mediana (rango intercuartílico, RIQ).

Se estudió la asociación entre las variables a estudio y el estado HER2 en sus diferentes modalidades diagnósticas mediante la prueba de Chi-cuadrado de Pearson y la prueba exacta de Fisher en función del tamaño de los subgrupos.

Empleamos curvas de Kaplan-Meier para valorar diferencias significativas en supervivencia libre de recurrencia, supervivencia libre de progresión. Para evaluar su significación determinamos los estadísticos log-rank y Breslow

Realizamos un análisis de regresión de Cox univariante y multivariante considerando como variable dependiente recurrencia o progresión y como covariables el estado HER2 y variables asociadas estadísticamente, con su correspondiente “hazard ratio” (HR) e intervalo de confianza 95% (IC-95%). Aceptamos como significación estadística un valor de $p < 0,05$.

Estudiamos la concordancia entre la sobreexpresión de HER2 y la amplificación de *ERBB2* mediante la determinación del índice kappa. Valoramos de una forma similar la concordancia en la determinación de la sobreexpresión entre dos anticuerpos indicados para su determinación (A0485 y 4B5). Un valor de kappa 0,01-0,20 se consideró concordancia baja; 0,21-0,40 consideró un acuerdo justo; 0,41-0,60 considerado acuerdo moderado; 0,61-0,80 considerado acuerdo sustancial; $>0,80$ se considera concordancia casi perfecta.

Se produjeron pérdidas de pacientes en el análisis de algunas variables por no estar recogida la misma en su historia clínica. También se produjeron pérdidas en las determinaciones de la sobreexpresión y de la amplificación por problemas técnicos que impidieron un diagnóstico en condiciones adecuadas. Ningún paciente abandonó el estudio.

Los análisis estadísticos fueron realizados mediante el programa estadístico “IBM SPSS Statistics para Windows, versión 29.0 (IBM Corp, Armonk, NY)”.

6.7 ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

Para la realización del proyecto de investigación se obtuvo la autorización del Comité de Ética de la Investigación de Pontevedra-Vigo-Ourense, perteneciente a la red de Comités de Ética para la Investigación de Galicia, con código de registro 2015/072 (*anexo 2*).

El investigador se comprometió a respetar los principios fundamentales de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial 1964 y sucesivas ratificaciones sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, el Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la Biología y la Medicina, hecho en Oviedo el 4 de abril de 1997, ratificado por España el 23 de julio de 1999 (Boletín Oficial del Estado de 2000) y sucesivas actualizaciones, relativos a los derechos humanos y biomedicina, así como toda la legislación vigente relacionada con el estudio y el tratamiento de muestras.

La obtención, tratamiento, conservación, comunicación y cesión de sus datos se hizo conforme a lo dispuesto en la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales y el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de esta ley, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre (básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica), así como la Ley 3/2001, de 28 de mayo, (reguladora del consentimiento informado y de la historia clínica de los pacientes), la Ley 3/2005, de 7 de marzo, de modificación de la Ley 3/2001 y el Decreto 29/2009 de 5 de febrero, por el que se regula el acceso a la historia clínica electrónica.

Todos los pacientes firmaron un documento de consentimiento informado específico del estudio, de acuerdo con los protocolos del Comité Autonómico de Ética de la Investigación de Galicia y un documento de consentimiento de cesión de sus muestras al Biobanco del CHUVI de Vigo (*anexo*). En el caso de los pacientes que fallecieron o no fue posible contactar, se solicitó al Comité de Ética la exención de consentimiento para la obtención de las muestras en base a la Ley de Investigación Biomédica, Ley 14/2007, artículo 58.

A los pacientes se les explicó que en ningún momento los resultados obtenidos del estudio variarían el procedimiento diagnóstico y terapéutico establecido previamente, ni sería necesario exploración física ni pruebas complementarias asociadas al mismo, ni seguimiento adicional del paciente en la consulta por parte de los investigadores. Los datos y muestras necesarias para el estudio se obtuvieron y se conservaron de un modo seudonimizado (codificado). Sólo el equipo investigador fue conocedor del código identificativo.

El almacenamiento de las muestras se realizó siguiendo la ley nacional de manejo sobre muestras biológicas (Ley de Investigación Biomédica 14/2007 y RD 1716/2011 de 18 de noviembre en el que se establece el tratamiento de las muestras biológicas de origen humano con fines de investigación biomédica) y pasaron a formar parte del Biobanco del CHUVI, perteneciente a la Red Nacional de Biobancos.

7 RESULTADOS

7.1 PARTICIPANTES

7.1.1 Estudios preliminares.

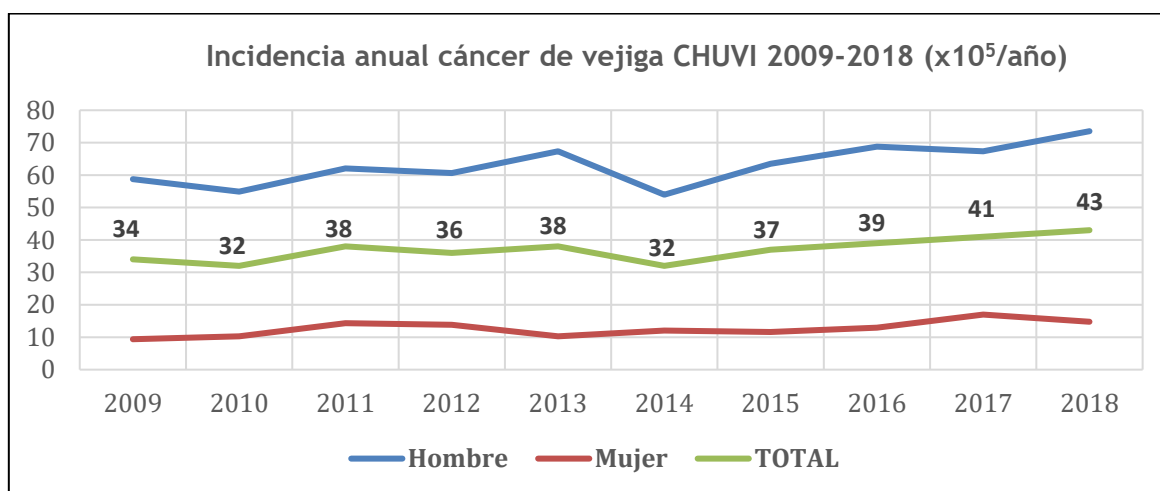
Estudiamos la epidemiología y las características histológicas de la población diagnosticada de cáncer urotelial de vejiga en el CHUVI entre los años 2009-2021.

7.1.1.1 Epidemiología carcinoma urotelial de vejiga 2009 - 2018

Calculamos la tasa de incidencia relativa anual del CV en el CHUVI entre los años 2009-2018 (figura 8). En varones osciló entre 53,9 - 73,5 $\times 10^5$ habitantes/año y en mujeres entre 9,4 - 16,9 $\times 10^5$ habitantes/año. La tasa de incidencia total estandarizada a población europea de 2013 osciló entre 31,9 y 43,2 $\times 10^5$. Respecto al género, 82% fueron hombres. La edad de presentación tuvo una mediana de 71 años (RIQ 55-86), similar para ambos géneros, con un rango de 22-98 años.

Figura 8.

Tasa de incidencia anual de cáncer de vejiga en CHUVI, años 2009-2018.



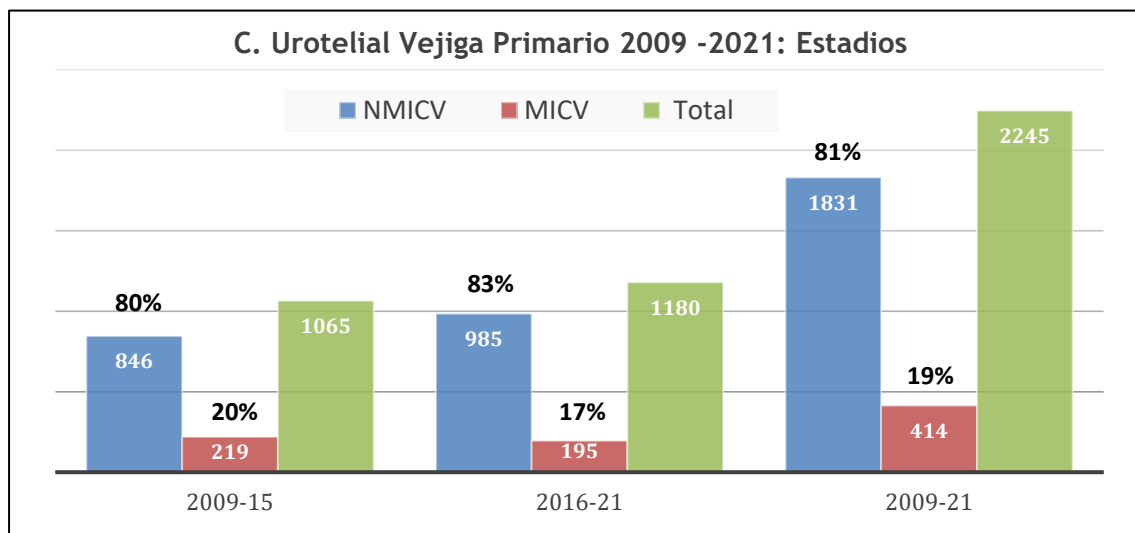
Nota: Eje de ordenadas (tasa $\times 10^5$ habitantes/año)

7.1.1.2 Carcinoma urotelial de vejiga 2009 – 2021: estadio

Establecimos dos intervalos, 2009-2015 y 2016-2021. El segundo se inicia con la actividad de una unidad especializada en patología genitourinaria. Se estudiaron los informes de 5689 biopsias realizadas por sospecha diagnóstica de carcinoma urotelial (CU) entre los años 2009-2021, correspondientes a 2756 pacientes (2009-2015: 2387 biopsias, 1164 pacientes; 2016-2021: 3.302 biopsias, 1592 pacientes). Se identificaron 2245 pacientes etiquetados de carcinoma urotelial de vejiga (CUV) primario, entre ellos, 1831 (81%) fueron cánceres de vejiga no-músculo-invasivos (NMICV) (figura 9).

Figura 9.

Cáncer de vejiga primario en CHUVI, años 2009-2021.



Clasificamos los NMICV primarios por estadios e identificamos 660 T1 (36%). Entre los años 2016-2021, los diagnósticos T1 suponen 28% (*figura 10*). Cada año se diagnosticaron una media de 51 NMICV-T1 primarios (*figura 11*).

Figura 10.

Cáncer de vejiga NMICV primario en CHUVI, años 2009-2021.

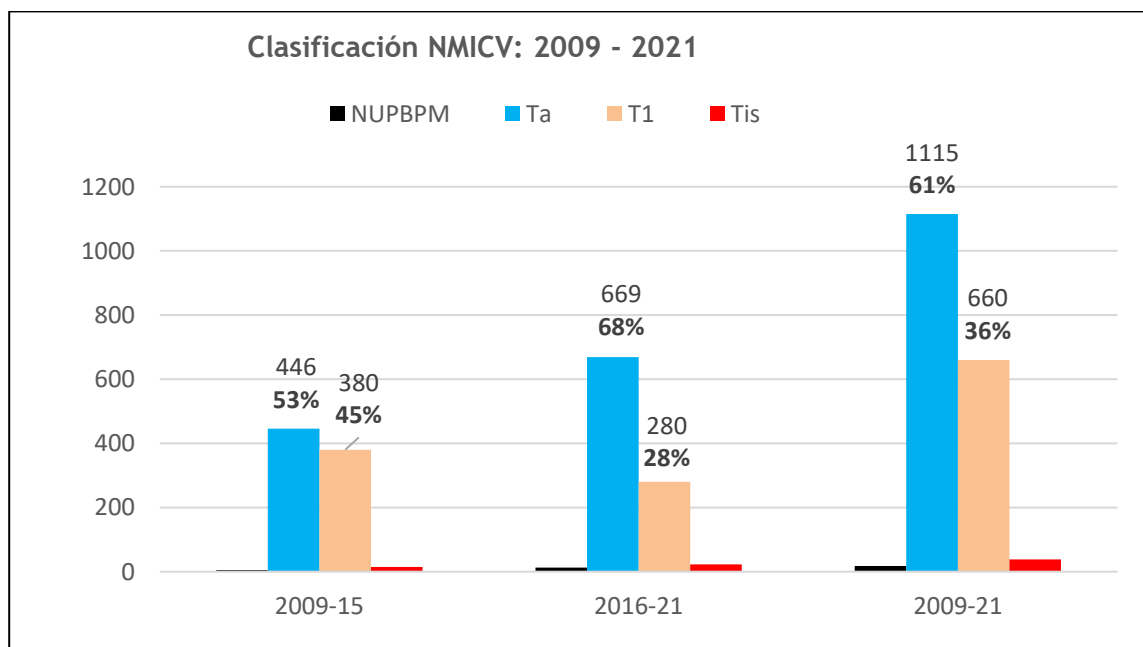
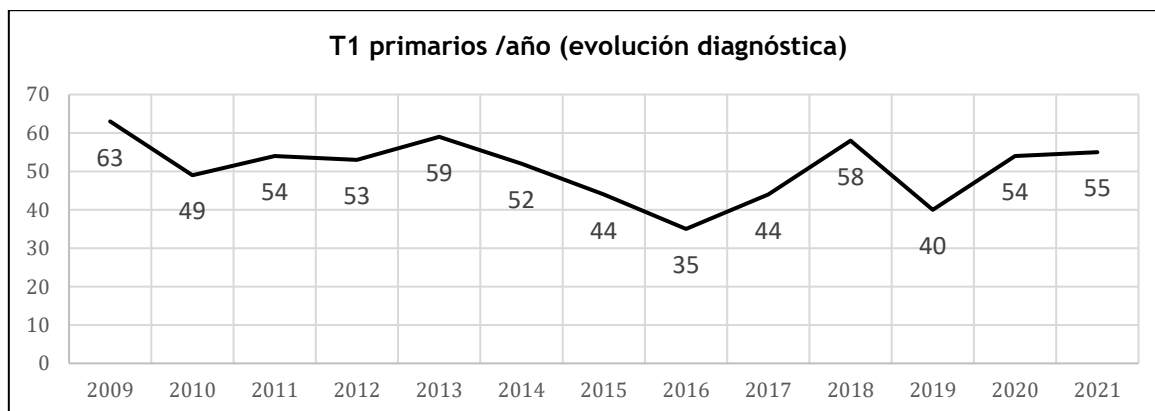


Figura 11.

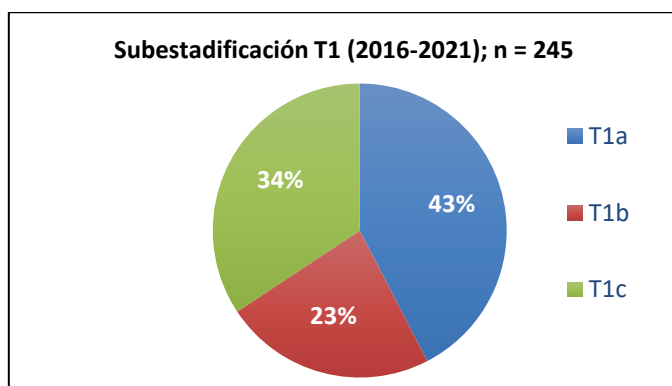
Diagnóstico de NMICV-T1 primarios / año, en CHUVI, años 2009-2021.



Realizamos la subestadificación histológica (criterios de Younes et al.), de 245 pacientes con tumores NMICV-T1AG entre los años 2016-2021: T1a 43%, T1b 23%, T1c 34%. (figura 12)

Figura 12.

Subestadificación de NMICV-T1 primarios, años 2016- 2021



7.1.1.3 Estudio de la variabilidad en NMICV-T1.

La literatura defiende la existencia de una variabilidad interobservador en el diagnóstico patológico del estadio T1, en particular en pacientes intervenidos mediante RTUV. Los patólogos de nuestro estudio, especializados en uropatología, revisaron una cohorte de 113 tumores NMICV-T1 diagnosticados por 17 patólogos generales entre 2010-2015. Se modificó el estadio inicial en 55 pacientes (48,7%), reclasificando 49 pacientes a Ta (89,1%) y 6 pacientes a $\geq$ T2 (10,9%).

También investigamos el riesgo de infraestadiaje de T1 en la RTUV mediante el estudio de 344 pacientes tratados mediante cistectomía radical (CR) entre 2009-2019. Ochenta pacientes T1 en la RTUV con CR inmediata, presentaron estadio pT2 o superior en el 48,5%.

Ambos estudios evidenciaron el riesgo de clasificar erróneamente el estadio del NMICV-T1 y respaldaron nuestra decisión de revisar las biopsias de los pacientes incluidos en nuestra investigación, para estadio, grado y características histopatológicas

7.1.1.4 Estudio de subtipos histológicos en NMICV-T1.

Estudiamos 225 pacientes NMICV-T1AG diagnosticados mediante RTUV entre 2016-2020, para identificar la presencia de subtipos histológicos (SH). Encontramos 61 casos (27,1%) con subtipo histológico/diferenciación divergente, presente en diferentes proporciones. Obtuvimos un 34,4% de tumores con más de un SH y 52,4% con algún SH de alto riesgo (micropapilar, plasmocitoide, sarcomatoide, neuroendocrino de célula pequeña, según la clasificación de grupos de riesgo EAU-21). El 59,3% de estos últimos fueron del tipo micropapilar.

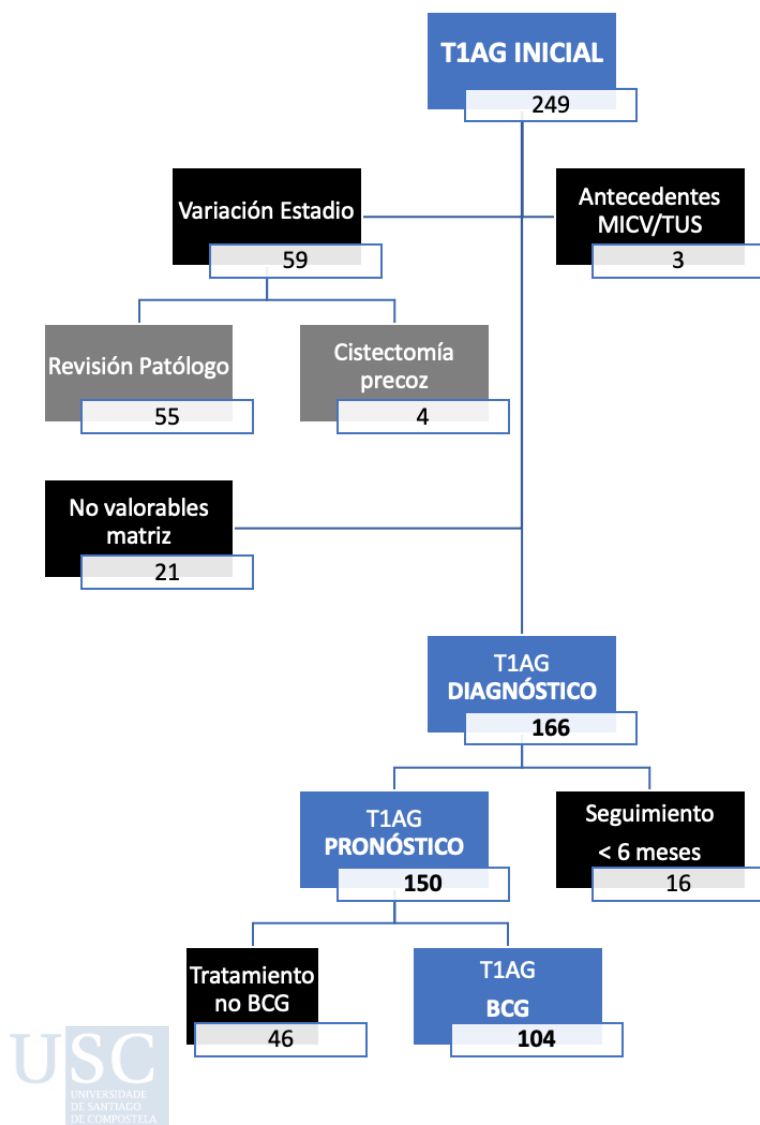
7.1.2 Inclusión de pacientes en la muestra.

La inclusión inicial fue de 249 pacientes con diagnóstico de carcinoma urotelial de vejiga T1AG primarios que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión.

7.1.2.1 Diagrama de flujo de pacientes.

Figura 13.

Diagrama de flujo de inclusión y pérdida de pacientes.



El grupo inicial de 249 pacientes disminuyó tras la exclusión de 59 por reclasificación del estadio, bien por la revisión de los patólogos (55 casos) bien por cistectomía precoz con diagnóstico $\geq T2$ (4 pacientes). Tres pacientes fueron excluidos al descubrir antecedentes de tumor de urotelio superior y MICV. Veintiuno fueron excluidos por diferentes problemas técnicos no pudiendo ser incorporados a las matrices tisulares (MTs). El número final de pacientes incluidos fue de 166 pacientes. En esta cohorte se determinó la sobreexpresión y la amplificación de HER2. Se investigó la relación de HER2 con la recurrencia y la progresión por lo que se desecharon 16 tumores que no presentaron un seguimiento superior a 6 meses, quedando 150 pacientes para estudio. Finalmente se identificó una subcohorte anidada en la anterior de 104 sujetos tratados con BCG. Los 46 pacientes no incluidos en la anterior fueron 16 tratados con mitomicina C y 30 que no tuvieron tratamiento (*figura 13*).

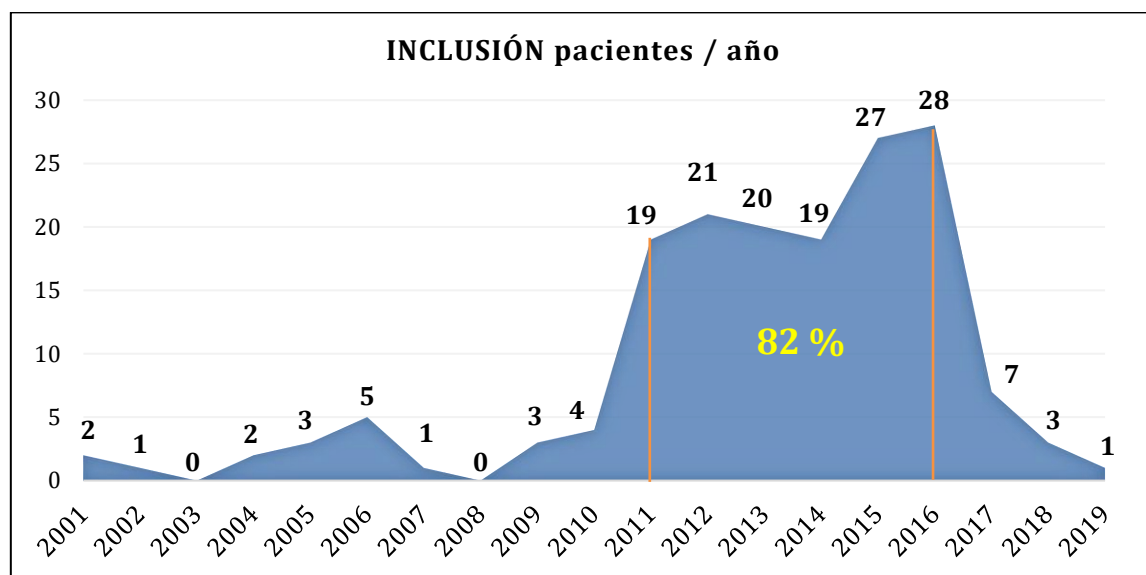
Se incluyeron 4 casos secundarios con antecedentes patológicos TaBG y uno T1BG, todos con más de 10 años desde el episodio inicial. Se admitieron al considerar su historia natural similar a la de un T1AG primario.

Todos los pacientes fueron de alto grado (AG) según la clasificación OMS-2004/16 (criterio de inclusión). Según la clasificación OMS-1973, 12 se clasificaron como G2 pero se incluyeron en el grupo G3 al no alterar su clasificación en los modelos de estratificación de riesgo, tras combinarse con otros factores pronóstico.

La inclusión cronológica de los 166 pacientes finales en el estudio queda reflejada en la *figura 14*, destacando el intervalo 2011-2016 con 134 pacientes, que representó el 82% de la muestra.

Figura 14.

Inclusión de pacientes x año.

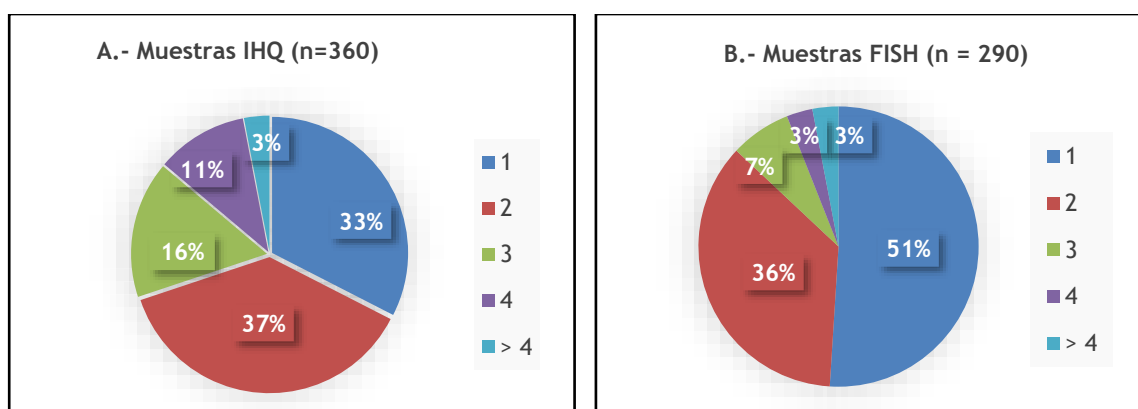


Nota: Entre los años 2011-2016 se incluyeron 134 pacientes (82% de la cohorte). Los años con mayor número de pacientes incluidos fueron 2015 con 27 y 2016 con 28, ambos supusieron un 33,7%.

Se construyeron 27 MT con las biopsias obtenidas de 166 pacientes. La determinación IHQ-HER2 se estudió mediante 360 cilindros biópsicos (“cores”) con una media por paciente de 2,2 (DS 1,2; rango 1-7) (*figura 15.A*). La determinación de FISH-ERBB2 se realizó en 260 cilindros de 154 pacientes, media por paciente de 1,6 (DS 0,99; rango 1-6) (*figura 15.B*). En 12 no se obtuvo información valorable por dificultades con la técnica analítica.

Figura 15.

Número de muestras biópsicas estudiadas por paciente.



Nota: A.- Muestras IHQ: total de 360 biopsias pertenecientes a 166 pacientes. B.- Muestras FISH: total de 290 biopsias pertenecientes a 154 pacientes.

7.2 DATOS DESCRIPTIVOS

7.2.1 Características descriptivas de la muestra.

Establecemos la descripción de las variables para la cohorte principal “166” y dos sub-cohortes anidadas, “150” y “104”, (*tabla 7*)

7.2.2 Clasificación de la muestra según los modelos de estratificación de riesgo.

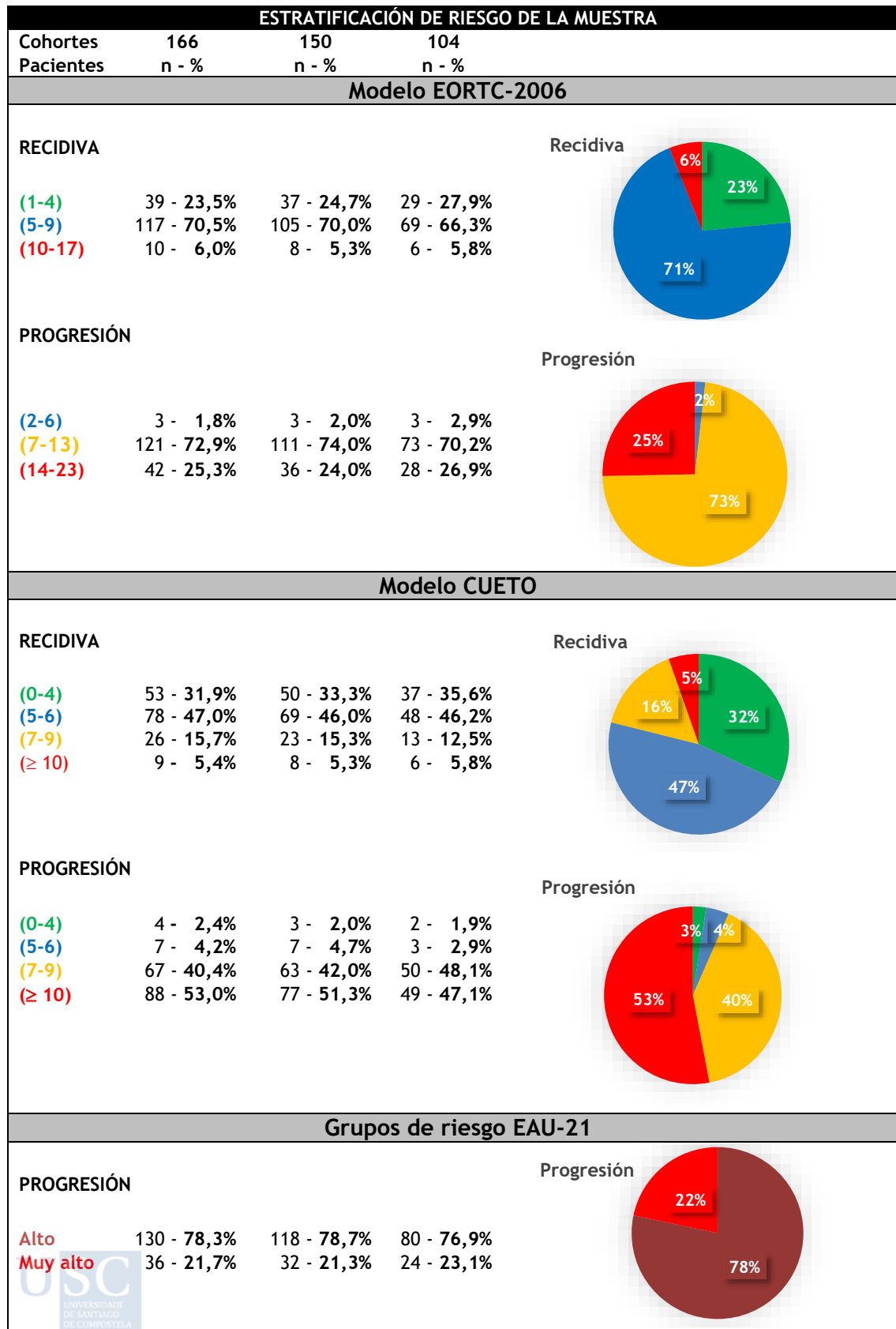
Clasificamos los pacientes en relación con los modelos de estratificación de riesgo más empleados en el ámbito europeo, EORTC-2006 (recurrencia y progresión), CUETO (recurrencia y progresión) y EAU-2021 (progresión). Los criterios de inclusión del estudio limitan las variables para la determinación del riesgo (T1, AG, primarios). Por ejemplo, en la determinación de grupos de riesgo según EAU-2021, sólo restan las variables edad, número, tamaño tumoral y CIS concomitante.

En la cohorte “166”, el modelo EORTC-2006 clasificó el riesgo de recidiva en su mayoría en el grupo (5-9), con una escasa relevancia del grupo superior (10-17). En relación con el riesgo de progresión situó a los pacientes principalmente en el grupo (7-13). En el modelo CUETO los grupos inferiores, (0-4) y (5-6), fueron también los mayoritarios para la recurrencia, en tanto que los superiores lo fueron para la progresión, (7-9) y (≥ 10). En el modelo EAU-2021 para progresión, la muestra se distribuyó entre un mayoritario “alto riesgo” y el “muy alto riesgo” (*figura 16*)

Tabla 7.

Características descriptivas de la cohorte 166 subcohortes 150 y 104.

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA			
Cohortes	166	150	104
Pacientes	n - %	n - %	n - %
EDAD			
Mediana (RIQ) (años)	73 (16)	73 (16)	70 (15)
Mínimo-Máximo (años)	47-96	47-96	47-92
≤ 70 años	71 - 42,8%	66 - 44,0%	53 - 51,0%
	95 - 57,2%	84 - 56,0%	51 - 49,0%
GÉNERO			
Hombre	144 - 86,7%	129 - 86,0%	93 - 89,4%
Mujer	22 - 13,3%	21 - 14,0%	11 - 10,6%
FUMADOR			
NO fumador	32 - 21,2%	29 - 21,3%	16 - 16,8%
fumador/ex<10 años	76 - 50,3%	64 - 47,1%	50 - 52,6%
ex >10 años	43 - 28,5%	43 - 31,6%	29 - 30,5%
IMC			
< 18,5	2 - 1,4%	2 - 1,6%	1 - 1,1%
18,5-24,9	37 - 26,4%	34 - 26,8%	20 - 21,5%
25-29,9	58 - 41,4%	51 - 40,2%	40 - 43,0%
≥ 30	43 - 30,7%	40 - 31,5%	32 - 34,4%
NEUTRÓFILOS/LINFOCITOS			
< 3	124 - 83,2%	115 - 85,2%	82 - 87,2%
≥ 3	25 - 16,8%	20 - 14,8%	12 - 12,8%
CHARLSON			
< 5 (>50% vivo a 10 años)	35 - 21,1%	33 - 22,0%	27 - 26,0%
≥ 5 (<50% vivo a 10 años)	131 - 78,9%	117 - 78,0%	77 - 74,0%
ASA			
ASA 2	64 - 44,1%	64 - 44,1%	50 - 50,5%
ASA 3	77 - 53,1%	77 - 53,1%	46 - 46,5%
ASA 4	4 - 2,8%	4 - 2,8%	3 - 3,0%
SUBESTADIFICACIÓN - T1			
T1a	98 - 59,0%	90 - 60,0%	60 - 57,7%
T1b	30 - 18,1%	24 - 16,0%	17 - 16,3%
T1c	38 - 22,9%	36 - 24,0%	27 - 26,0%
PATRÓN DE CRECIMIENTO			
Sólido	40 - 24,1%	34 - 22,7%	23 - 22,1%
Papilar	126 - 75,9%	116 - 77,3%	81 - 77,9%
CARCINOMA IN SITU (CIS)			
No	140 - 84,3%	129 - 86,0%	86 - 82,7%
Si	26 - 15,7%	21 - 14,0%	18 - 17,3%
INFILTRACIÓN LINFO-VASCULAR (ILV)			
No	158 - 95,2%	143 - 95,3%	100 - 96,2%
Si	8 - 4,8%	7 - 4,7%	4 - 3,8%
SUBTIPO HISTOLÓGICO			
No	131 - 78,9%	117 - 78,0%	82 - 78,8%
Si	35 - 21,1%	33 - 22,0%	22 - 21,2%
NÚMERO			
1	111 - 66,9%	99 - 66,0%	68 - 65,4%
>1	55 - 33,1%	51 - 34,0%	36 - 34,6%
TAMAÑO			
< 30 mm	72 - 43,4%	68 - 45,3%	52 - 50,0%
≥ 30 mm	94 - 56,6%	82 - 54,7%	52 - 50,0%
LOCALIZACIÓN			
resto	105 - 64,0%	96 - 64,9%	67 - 65,7%
trígono,cuello	59 - 36,0%	52 - 35,1%	35 - 34,3%

Figura 16.
Clasificación de la muestra en relación con los modelos de estratificación de riesgo.


7.3 RESULTADOS

7.3.1 Estado HER2.

Un objetivo primario de este estudio fue determinar el estado HER2 a través de la sobreexpresión de HER2, amplificación de *ERBB2* y diagnóstico HER2. También se estudió la polisomía del cromosoma 17. Las subcohortes “150” y “104” presentaron unos resultados similares a los de la cohorte general (*tabla 8*).

Tabla 8.

Estado HER2 y polisomía 17 en la cohorte 166 y subcohortes 150 y 104.

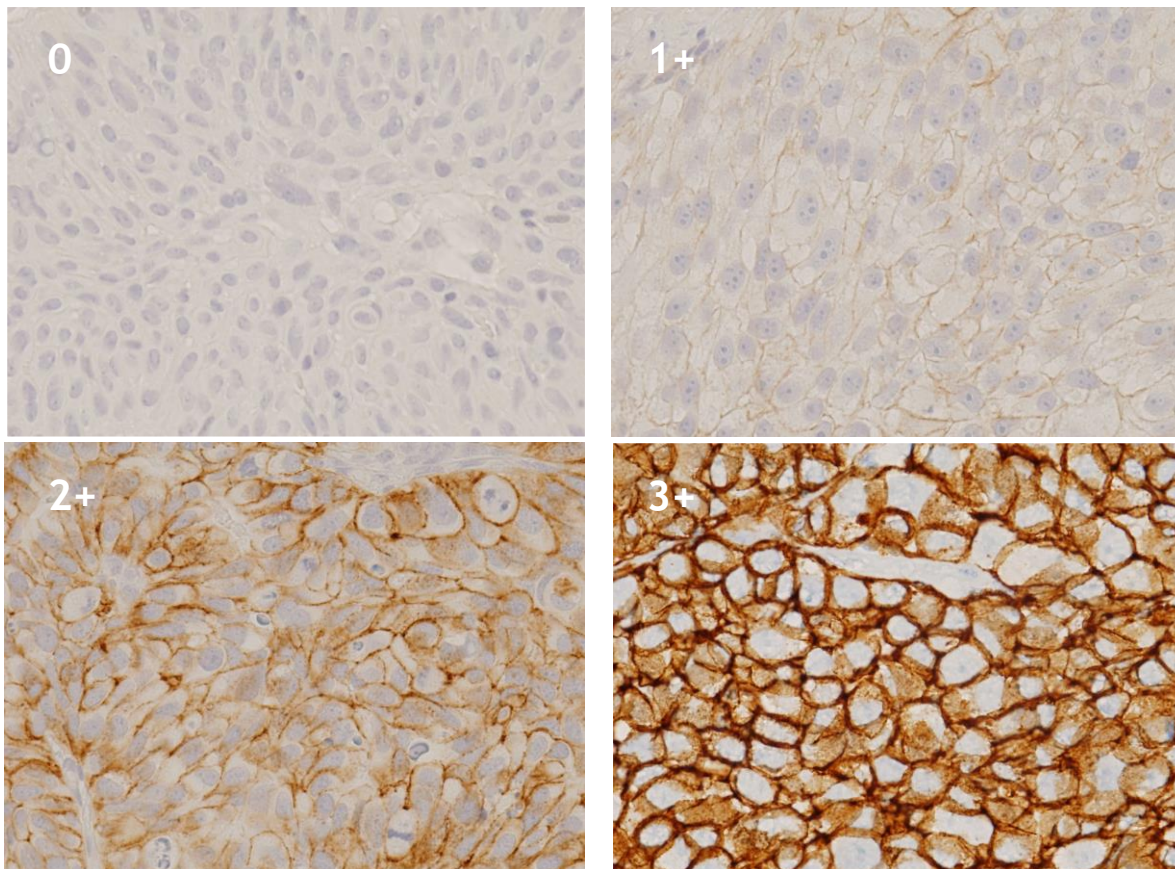
ESTADO HER2							
Cohortes	166	150	104	166		150	104
Pacientes	n - %	%	%	%		%	%
IHQ - HER2							
Válidos	165	149	103				
NEGATIVO	42 - 25,5%	25,5%	26,2%	0+	12 - 7,3%	6,7%	5,8%
EQUIVOCO	91 - 55,1%	55,0%	55,3%	1+	30 - 18,2%	18,7%	20,2%
POSITIVO	32 - 19,4%	19,5%	18,4%	2+	91 - 55,1%	54,7%	54,8%
				3+	32 - 19,4%	19,3%	18,3%
FISH - ERBB2							
Válidos	154	138	98				
NEGATIVO	115 - 74,7%	74,6%	74,5%	Grupo 1	25 - 16,2%	16,7%	16,3%
POSITIVO	39 - 25,3%	25,4%	25,5%	Grupo 2	0	0	0
				Grupo 3	12 - 7,8%	8,0%	8,2%
				Grupo 4	28 - 18,2%	17,4%	20,4%
				Grupo 5	89 - 57,8%	57,9%	55,1%
DIAGNÓSTICO HER2							
Válidos	160	144	102				
NEGATIVO	114 - 71,2%	71,5%	70,6%				
POSITIVO	46 - 28,8%	28,5%	29,4%				
POLISOMÍA 17							
Válidos	154	138	98				
MONOSOMÍA	1 - 0,7%	0,7%	0,0%				
DISOMÍA	84 - 54,5%	53,6%	51,0%				
POLISOMÍA	69 - 44,8%	45,7%	49,0%				

7.3.1.1 IHQ: Sobreexpresión.

En el estudio IHQ se valoraron 165 pacientes válidos. 32 (19,4%) presentaron expresión 3+, es decir, diagnóstico positivo. El grupo 2+ fue mayoritario con 55,2% (*figura 18*).

Figura 17.

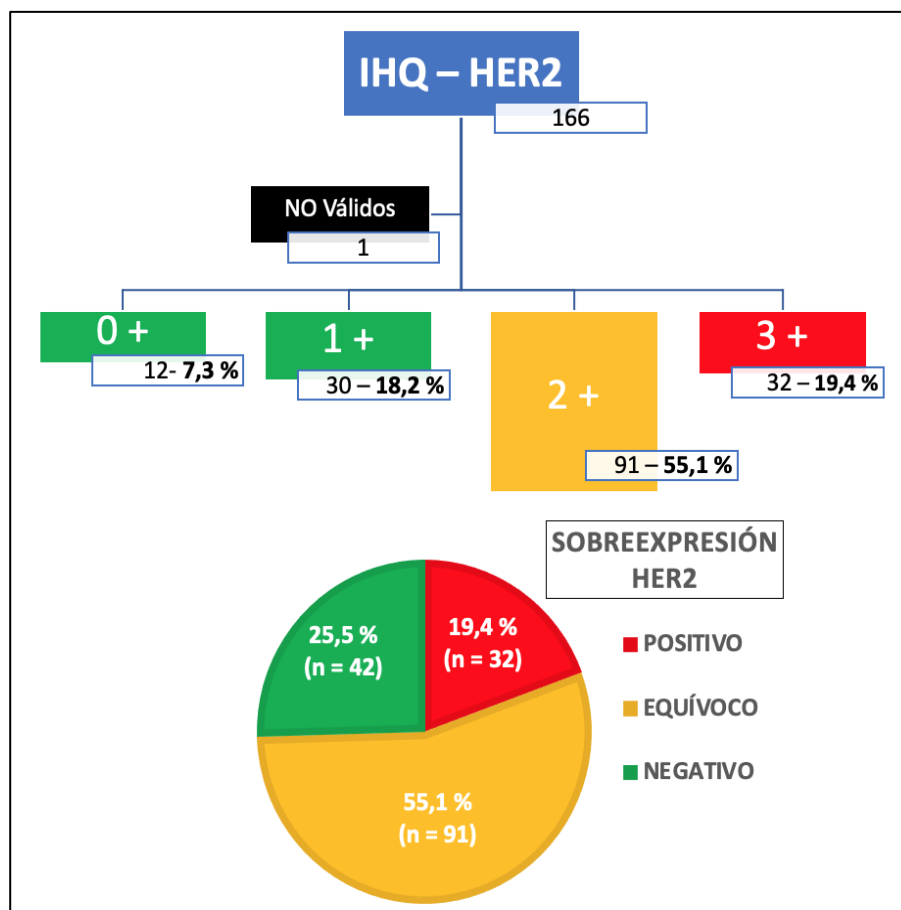
Patrones IHQ-HER2 en carcinoma urotelial T1AG



Nota: IHQ-HER2, 40x. **0 (Negativo).** En este caso no se observa inmunotinción alguna (seguiría siendo 0 si hubiese inmunorreactividad de membrana incompleta y débil o casi imperceptible en un porcentaje $\leq 10\%$). **1+ (Negativo).** Inmunotinción de membrana, incompleta y débil o casi imperceptible, en $>10\%$ de las células tumorales. **2+ (Equívoco).** Inmunotinción de membrana, completa y de intensidad débil o moderada, en $>10\%$ de las células tumorales. **3+ (Positivo).** Inmunotinción de membrana, circunferencial, completa e intensa, en $>10\%$ de las células tumorales. Elaboración propia

Figura 18.

Sobreexpresión del receptor HER2 determinada por IHQ.



Nota: (0+) y (1+) se considera expresión negativa, (2+) expresión equívoca y (3+) sobreexpresión.

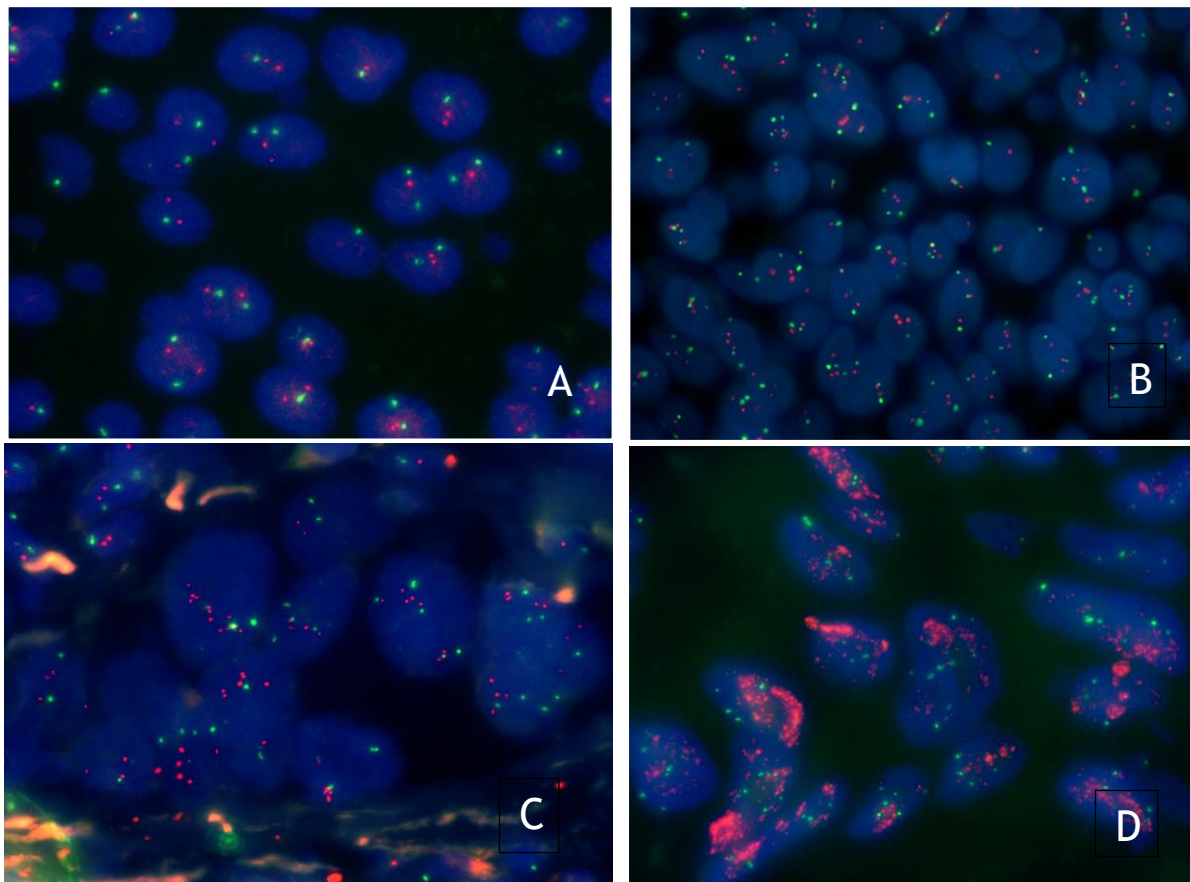
7.3.1.2 FISH: Amplificación

La técnica FISH obtuvo resultados en 154 pacientes. 25 tumores (15,6%) se clasificaron como grupo 1 (“amplificación positiva”) y 89 (57,7%) grupo 5 (“amplificación negativa”). Ambos grupos representaron el 73,3%. El resto de los tumores de los grupos 2, 3 y 4 se reclasificaron de acuerdo con los resultados IHQ / FISH, según las recomendaciones de ASCO/CAP 2018 y se agruparon como negativos o positivos. El resultado final fue un total de 39 casos positivos (24,7%) (*figura 20*).

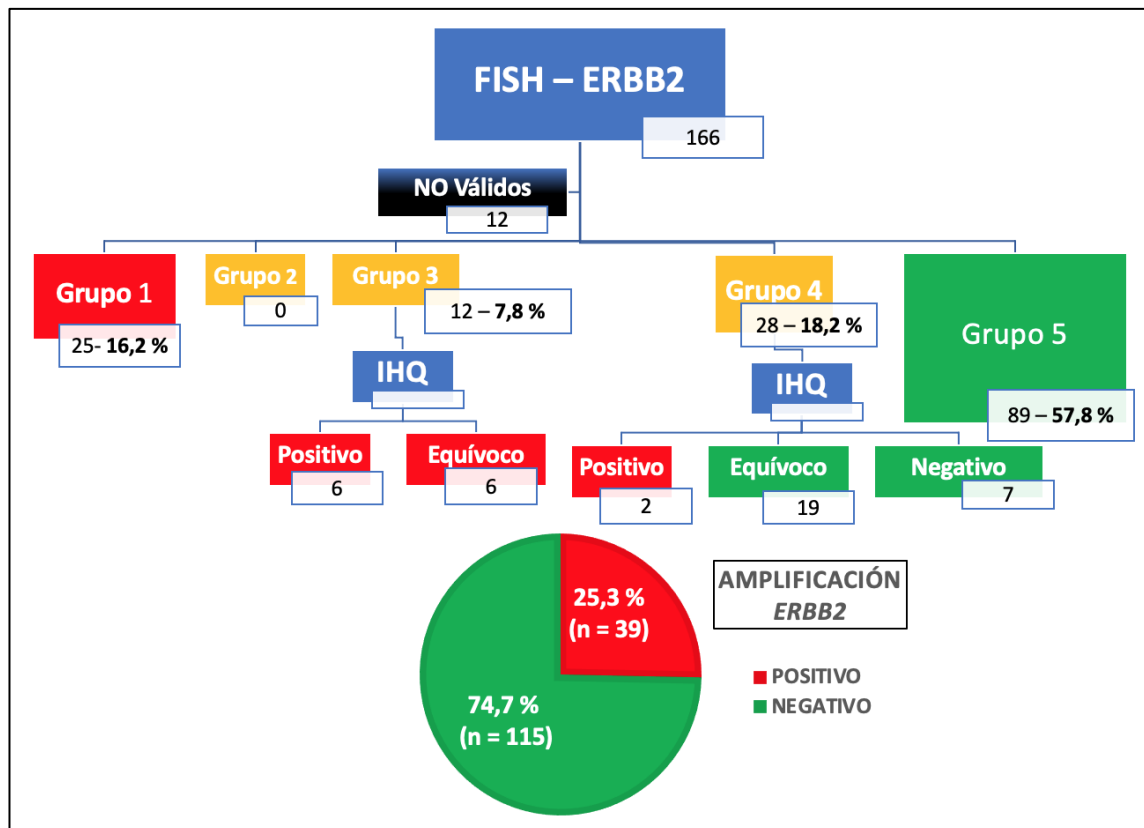
En el grupo anterior se estudió la polisomía 17 evidenciándose en 69 pacientes (44,8%) (*figura 21.A*). Los tumores con polisomía 17 presentaron mayor frecuencia de resultados positivos para la sobreexpresión, 30,4%, amplificación, 39,1%, y diagnóstico clínico 44,9% (*figura 21.B*), que en el total de la muestra estudiada.

Figura 19.

Patrones FISH-ERBB2 en carcinoma urotelial T1AG



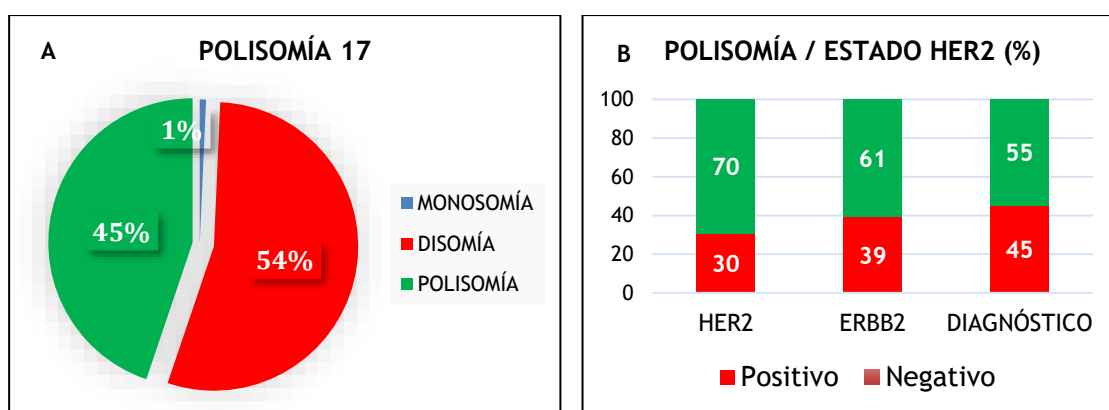
Nota: las **señales rojas** marcan el gen ERBB2 y las **señales verdes** marcan el centrómero 17 (CEP17). Se define como negativo (Grupo 5): relación *ERBB2*/CEP17 de $< 2,0$ y señales *ERBB2*/célula $< 4,0$. Se diagnostica como positivo (Grupo 1): relación *ERBB2*/CEP17 de $\geq 2,0$ y señales *ERBB2*/célula $\geq 4,0$. POLISOMÍA 17: el número de señales de CEP17 por núcleo es ≥ 3 . **A. NEGATIVO** Grupo 5, disomía. **B. NEGATIVO**, Grupo 5, polisomía. **C. POSITIVO** (Baja Amplificación), Grupo 1, disomía. **D. POSITIVO** (Alta Amplificación), Grupo 1, polisomía. Elaboración propia

Figura 20.Amplificación del gen *ERBB2* determinada por FISH.

Nota: Inicialmente, se clasifican en grupos según determinación de la relación *ERBB2* y del centrómero de cromosoma 17 (CEP17). Grupo 1 se considera amplificación positiva; grupo 5, amplificación negativa. Grupo 2, 3 y 4 se reevalúan mediante la expresión IHQ de HER2 y siguiendo indicaciones de ASCO/CAP 2018 para el cáncer de mama, se reclasifican en amplificación positiva y negativa.

Figura 21.

FISH: Polisomía 17 y relación con estado HER2.



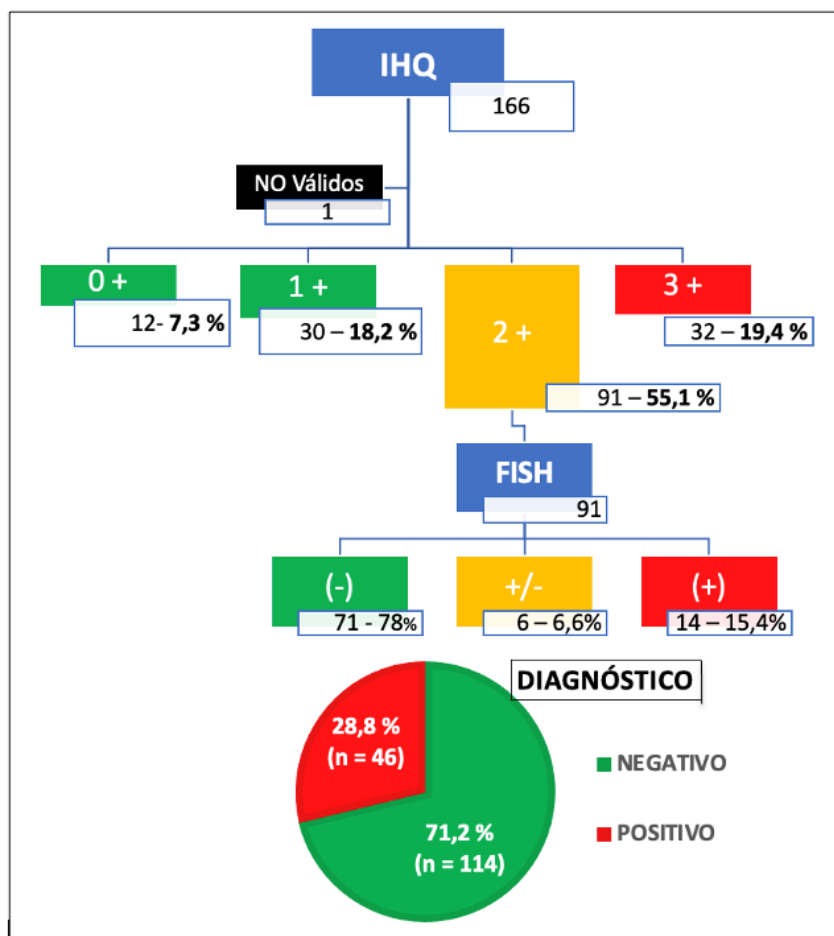
Nota: **A.** Determinación de polisomía 17. **B.** Estado HER2 en pacientes con polisomía 17 (n = 69).

7.3.1.3 Diagnóstico HER2.

El diagnóstico anatomopatológico de HER2 de 160 pacientes fue positivo en 46 tumores (28,8%). Se descartaron 6 pacientes que tuvieron resultado IHQ (2+) y no se consiguió un resultado válido en FISH (*figura 22*).

Figura 22.

Diagnóstico HER2.



Nota: El diagnóstico HER2 se realiza mediante la determinación IHQ; en los casos dudosos o negativo se revalúan con FISH.

La expresión “HER2 bajo” (“low”) se define como IHQ (1+) o (2+) + FISH negativo. En nuestra cohorte 166, sobre 165 pacientes valorables para IHQ, se clasificaron como expresión (1+), 30 pacientes (18,1%) y (2+) 91 (54,8%). En este último grupo, tras eliminar 6 no valorables para FISH, restan 85 pacientes, diagnosticados como FISH negativo 71 tumores (83,5%) y FISH (+) 14 (16,5%). En conclusión, se determinaron como “HER2 bajo” 101 neoplasias de 159 valorables (IHQ + FISH), 63,5%.

Se realizaron controles con pacientes reestadiados a Ta (11 casos) con el resultado de que ninguno presentó sobreexpresión o amplificación. Entre los que cambiaron a $\geq T2$ (9 casos), 44,4% presentaron sobreexpresión, 33,3% amplificación y diagnóstico HER positivo el 50%. Estos tumores habrían generado confusión de haber permanecido en el estudio.

Cuarenta y seis pacientes no tratados o tratados con MMC, de la subcohorte 150, presentaron una sobreexpresión del 21,7%, una amplificación del 25% (grupo 1, 15,2%), diagnóstico HER2 positivo del 23,9% y “polisomía 17” del 37,5%.

7.3.2 Concordancia entre métodos analíticos del estado HER2.

7.3.2.1 Concordancia de anticuerpos HER2 en la inmunohistoquímica.

En un estudio preliminar de la sobreexpresión HER2 en CV-T1AG, mediante dos anticuerpos diferentes, A0485 y 4B5, se estudiaron 44 pacientes con una media de 1,9 cilindros por paciente (DS 0,87; rango: 1-5). Se determinó el estadístico kappa (κ) que resultó 0,514 (IC-95%: 0,278 – 0,749), es decir un acuerdo moderado. Si se analizan exclusivamente los valores positivo y negativo, el resultado sería igual a 1,0 (tabla 9).

Tabla 9.

Análisis de la concordancia de los anticuerpos A0485 y 4B5 en la IHQ de HER2.

Concordancia HER2: A0485 vs 4B5				
n = 44		4B5		
		0/1+	2+	3+
A0485	0/1+	7	4	0
	2+	2	19	4
	3+	0	2	5

Nota: Criterios ASCO/CAP 2018 para cáncer de mama.

7.3.2.2 Concordancia IHQ - FISH ASCO/CAP 2018.

Se calculó la concordancia de los resultados de la técnica de IHQ con FISH, según criterios ASCO/CAP 2018 en 68 casos válidos de 153 tumores totales. Se eliminaron los casos equívocos de la IHQ, inexistentes en FISH. El índice (κ) resultante fue de 0,848 (IC-95% 0,722 – 0,975), que indica una muy buena concordancia (tabla 10).

Tabla 10.

Análisis de la concordancia entre sobreexpresión y amplificación.

Concordancia HER2: IHQ - FISH (ASCO 2018)			
n = 68		FISH	
		NEGATIVO	POSITIVO
IHQ	NEGATIVO	38	0
	POSITIVO	5	25

Nota: Criterios ASCO/CAP 2018 para cáncer de mama.

7.3.2.3 Migración diagnóstica de FISH ERBB2 ASCO-CAP 2013 a 2018.

Se obtuvieron resultados valorables en 154 pacientes de la cohorte principal “166”. El resultado “negativo” en ASCO-2013, 88 pacientes, coincide con el diagnóstico grupo 5 (“negativo”) en ASCO-2018.

- El resultado “positivo” ASCO-2013 es igual al de ASCO-2018, 37 pacientes, pero 25 del grupo 1 y 12 grupo 3, que en este caso necesitaron una reevaluación con IHQ o nueva FISH.

- La mayor diferencia es la desaparición del grupo de pacientes en ASCO-2013 con resultado equívoco (29 pacientes) que en ASCO-2018 se transforman

fundamentalmente en casos negativos, 93,1% y sólo dos pacientes, grupo 4, pasando a FISH positivo.

El resultado final es la desaparición en ASCO-2018 del grupo equívoco, con notable incremento del grupo negativo, de 88 a 115 pacientes y sólo dos incorporaciones en el grupo positivo (figura 23).

Figura 23.

Migración diagnóstica de la amplificación entre criterios ASCO/CAP 2013 y 2018.

ASCO/CAP 2013		
NEGATIVO (n=88)	EQUÍVOCO (29)	POSITIVO (37)
NEGATIVO (n=115)		POSITIVO (39)
ASCO/CAP 2018		

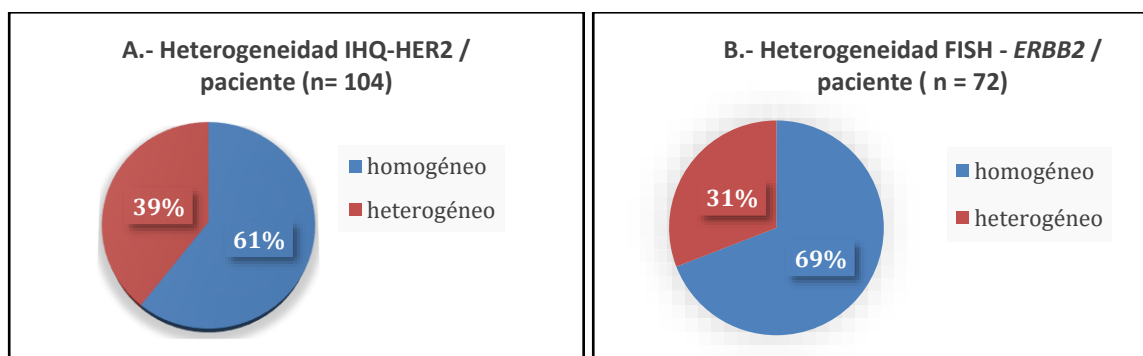
7.3.3 Heterogeneidad intratumoral del estado HER2

Estudiamos esta característica en los pacientes que se estudió más un área de infiltración tumoral (cilindro biopsico). La heterogeneidad en el estudio de sobreexpresión HER2 se considera positiva cuando se presenta al menos dos resultados diferentes, 0-1 (negativo), 2 (equívoco) o 3 (positivo). Heterogeneidad en FISH de ERBB2 se considera positiva cuando diagnosticamos al menos dos grupos diferentes (ASCO/CAP 2018).

La heterogeneidad en la expresión de HER2 se estudió en 112 pacientes, de los cuales se descartaron 8 que presentaban dos cilindros biopsicos, pero uno de ellos “no valorable”. Los 104 restantes tuvieron un resultado homogéneo en 63 pacientes (resultado en sujetos con más de dos cilindros, 39,7%) y presentaron heterogeneidad 39,4% (con más de dos cilindros estudiados 56%), siendo la discordancia más frecuente en el diagnóstico negativo/equívoco, 61% (figura 24.A).

Figura 24.

Heterogeneidad del estado HER2 en T1AG.



Nota: A.- Heterogeneidad en la determinación IHQ – HER2. B.- Heterogeneidad en la determinación FISH – ERBB2.

Estudiamos la heterogeneidad en la amplificación de *ERBB2*. Se descartaron 86 pacientes con un único cilindro a estudio. Otros 8 fueron eliminados por resultado “no valorable” en uno

de ellos. Se diagnosticó la amplificación en 72 pacientes de los que tuvimos varias áreas de infiltración, de los que resultaron homogéneos 52 pacientes (en el 76,9% se estudiaron dos cilindros biopsicos) y heterogéneos 27,8% (65% con dos cilindros biopsicos); la mayor heterogeneidad entre en los grupos 2, 3 y 4 (figura 24.B).

7.3.4 Asociación entre las variables pronóstico y el estado HER2

7.3.4.1 Asociación entre las variables pronóstico y el estado HER2. Cohorte 166.

Tabla 11.

Asociación entre variables pronóstico y estado HER2. Cohorte 166.

ASOCIACIÓN VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS Y ESTADO HER2. Cohorte 166										
166	SOBREEXPRESIÓN				AMPLIFICACIÓN			DIAGNÓSTICO HER2		
	Neg	n - % Equiv	Pos	p	Neg	Pos	p	Neg	Pos	p
GÉNERO										
Hombre	37 -25,9%	76 -53,1%	30 -21,0%	0,325	97 -72,9%	36 -27,1%	0,211	96 -69,6%	42 -30,4%	0,238
Mujer	5 -22,7%	15 -68,2%	2 - 9,1%		18 -85,7%	3 -14,3%		18 -81,8%	4 -18,2%	
EDAD										
≤ 70 a	20 -28,6%	40 -57,1%	10 -14,3%	0,335	53 -79,1%	14 -20,9%	0,267	54 -78,3%	15 -21,7%	0,088
> 70 a	22 -23,2%	51 -53,7%	22 -23,2%		62 -71,3%	25 -28,7%		60 -65,9%	31 -34,1%	
TABACO										
No	9 -28,1%	20 -62,5%	3 - 9,4%	0,274	28 -93,3%	2 - 6,7%	0,010	27 -87,1%	4 -12,9%	0,032
Sí / Ex	28 -23,7%	64 -54,2%	26 -22,0%		77 -70,6%	32 -29,4%		77 -67,5%	37 -32,5%	
IMC										
< 25	7 -17,9%	25 -64,1%	7 -17,9%	0,581	27 -79,4%	7 -20,6%	0,455	27 -77,1%	8 -22,9%	0,293
≥ 25	24 -24,2%	54 -54,5%	21 -21,2%		70 -72,9%	26 -27,1%		67 -67,7%	32 -32,3%	
ÍNDICE DE CHARLSON										
< 4	7 -20,6%	23 -67,6%	4 -11,8%	0,235	29 -87,9%	4 -12,1%	0,049	29 -85,3%	5 -14,7%	0,041
≥ 5	35 -26,7%	68 -51,9%	28 -21,4%		86 -71,1%	35 -28,9%		85 -67,5%	41 -32,5%	
NEUTRÓFILOS / LINFOCITOS										
< 3	33 -26,8%	65 -52,8%	25 -20,3%	0,795	89 -78,1%	25 -21,9%	0,664	88 -73,9%	31 -26,1%	0,753
≥ 3	6 -24,0%	15 -60,0%	4 -16,0%		17 -73,9%	6 -26,1%		17 -70,8%	7 -29,2%	
SUBESTADIFICACIÓN T1										
T1a	29 -29,9%	55 -56,7%	13 -13,4%	0,043	70 -78,7%	19 -21,3%	0,184	72 -78,3%	20 -21,7%	0,023
T1b+c	13 -19,1%	36 -52,9%	19 -27,9%		45 -69,2%	20 -30,8%		42 -61,8%	26 -38,2%	
PATRÓN DE CRECIMIENTO										
Sólido	9 -22,5%	23 -57,5%	8 -20,0%	0,885	26 -70,3%	11 -29,7%	0,480	25 -65,8%	13 -34,2%	0,394
Papilar	33 -26,4%	68 -54,4%	24 -19,2%		89 -76,1%	28 -23,9%		89 -73,0%	33 -27,0%	
CARCINOMA IN SITU										
No	37 -26,6%	76 -54,7%	26 -18,7%	0,697	101 -77,7%	29 -22,3%	0,045	99 -73,9%	35 -26,1%	0,095
Sí	5 -19,2%	15 -57,7%	6 -23,1%		14 -58,3%	10 -41,7%		15 -57,7%	11 -42,3%	
INFILTRACIÓN LINFOVASCULAR										
No	39 -24,8%	89 -56,7%	29 -18,5%	0,193	110 -74,8%	37 -25,2%	0,840	110-72,4%	42 -27,6%	0,173
Sí	3 -37,5%	2 -25,0%	3 -37,5%		5 -71,4%	2 -28,6%		4 -50,0%	4 -50,0%	
SUBTIPO HISTOLÓGICO NO/SI										
No	34 -26,2%	76 -58,5%	20 -15,4%	0,040	93 -76,9%	28 -23,1%	0,233	94 -75,2%	31 -24,8%	0,037
Sí	8 -22,9%	15 -42,9%	12 -34,3%		22 -66,7%	11 -33,3%		20 -57,1%	15 -42,9%	
SUBTIPO HISTOLÓGICO NO/AR										
No-Otro	41 -28,3%	80 -55,2%	24 -16,6%	0,013	103 -76,3%	32 -23,7%	0,218	104-74,3%	36 -25,7%	0,025
Alto ries	1 -5,0%	11 -55,0%	8 -40,0%		12 -63,2%	7 -36,8%		10 -50,0%	10 -50,0%	
NÚMERO										
único	32 -28,8%	62 -55,9%	17 -15,3%	0,108	81 -77,1%	24 -22,9%	0,303	82 -75,9%	26 -24,1%	0,060
múlti	10 -18,5%	29 -53,7%	15 -27,8%		34 -69,4%	15 -30,6%		32 -61,5%	20 -38,5%	
TAMAÑO										
< 30	19 -26,4%	41 -56,9%	12 -16,7%	0,738	47 -71,2%	19 -28,8%	0,392	48 -69,6%	21 -30,4%	0,682
≥ 30	23 -24,7%	50 -53,8%	20 -21,5%		68 -77,3%	20 -22,7%		66 -72,5%	25 -27,5%	
LOCALIZACIÓN										
resto	23 -22,3%	63 -61,2%	17 -16,5%	0,185	70 -72,9%	26 -27,1%	0,598	68 -69,4%	30 -30,6%	0,596
tríg/cuell	17 -28,3%	28 -46,7%	15 -25,0%		43 -76,8%	13 -23,2%		44 -73,3%	16 -26,7%	

La significación de la asociación del estado HER2 (sobrexpresión, amplificación y diagnóstico HER2) con las variables clínico-patológicas de los pacientes fue la siguiente (tabla 11):

- La “sobrexpresión” se asoció de forma estadísticamente significativa con la “subestadificación T1” ($p=0,043$) y con el “subtipo histológico”, tanto con cualquier subtipo, $p=0,04$ como con subtipos de alto riesgo, $p=0,013$).
- La asociación de la “amplificación” fue significativa para el “hábito tabáquico” ($p=0,013$) y el CIS concurrente ($p=0,036$).
- El “diagnóstico HER2” presentó una asociación significativa con el “hábito tabáquico” ($p=0,032$), el “índice Charlson” ($p=0,041$), la “subestadificación T1” ($p=0,023$) y el “subtipo histológico” tanto con cualquier subtipo ($p=0,023$), como de alto riesgo ($p=0,037$).

7.3.4.2 Asociación entre grupos de riesgo y el estado HER2. Cohorte 166.

Tabla 12.

Asociación entre modelos de estratificación de riesgo y estado HER2. Cohorte 166.

ASOCIACIÓN MODELOS ESTRATIFICACIÓN DE RIESGO Y EL ESTADO HER2 (Cohorte 166)										
Total	SOBREEXPRESIÓN				AMPLIFICACIÓN			DIAGNÓSTICO HER2		
	Neg	Equ	Pos	p	Neg	Pos	p	Neg	Pos	p
EAU-2021										
PROGRESIÓN										
Alto	35 -27,1%	73 -56,6%	21 -16,3%	0,147	93 -77,5%	27 -22,5%	0,130	93 -75,0%	31 -25,0%	0,052
Muy Alt	7 -19,4%	18 -50,0%	11 -30,6%		22 -64,7%	12 -35,3%		21 -58,3%	15 -41,7%	
EORTC-2006										
RECURRENCIA										
Intermed	12 -30,8%	21 -53,8%	6 -15,4%	0,161	28 -75,7%	9 -24,3%	0,193	28 -73,7%	10 -26,3%	0,285
Inter-Alt	30 -24,8%	68 -56,2%	23 -19,0%		85 -75,9%	27 -24,1%		84 -71,8%	33 -28,2%	
Alto	0,0%	2 -40,0%	3 -60,0%		2 -40,0%	3 -60,0%		2 -40,0%	3 -60,0%	
PROGRESIÓN										
Intermed	0,0%	3 -100%	0,0%	0,052	2 -66,7%	1 -33,3%	0,106	2 -66,7%	1 -33,3%	0,021
Inter-Alt	34 -28,3%	68 -56,7%	18 -15,0%		88 -79,3%	23 -20,7%		89 -77,4%	26 -22,6%	
Alto	8 -19,0%	20 -47,6%	14 -33,3%		25 -62,5%	15 -37,5%		23 -54,8%	19 -45,2%	
CUETO										
RECURRENCIA										
1 a 4	18 -34,0%	30 -56,6%	5 - 9,4%	0,024	41 -83,7%	8 -16,3%	0,079	43 -84,3%	8 -15,7%	0,011
5 a 6	16 -20,8%	43 -55,8%	18 -23,4%		54 -74,0%	19 -26,0%		50 -67,6%	24 -32,4%	
7 a 9	8 -30,8%	14 -53,8%	4 -15,4%		16 -69,6%	7 -30,4%		18 -69,2%	8 -30,8%	
≥ 10	0,0%	4 -44,4%	5 -55,6%		4 -44,4%	5 -55,6%		3 -33,3%	6 -66,7%	
PROGRESIÓN										
1 a 4	1 -25,0%	3 -75,0%	0,0%	0,335	3 -75,0%	1 -25,0%	0,072	3 -75,0%	1 -25,0%	0,039
5 a 6	2 -28,6%	5 -71,4%	0,0%		7 -100%	0,0%		7 -100%	0,0%	
7 a 9	19 -28,8%	38 -57,6%	9 -13,6%		51 -82,3%	11 -17,7%		51 -79,7%	13 -20,3%	
≥ 10	20 -22,7%	45 -51,1%	23 -26,1%		54 -66,7%	27 -33,3%		53 -62,4%	32 -37,6%	

Estudiamos los modelos de estratificación de riesgo de EAU-21 (progresión), EORTC (recurrencia y progresión) y CUETO (recurrencia y progresión). La asociación con el estado

HER2 se describe en la tabla 12. El modelo CUETO asoció la recurrencia con la sobreexpresión ($p = 0,024$) y el diagnóstico clínico con recurrencia ($p = 0,011$) y con progresión ($p = 0,039$). El modelo EORTC se asoció significativamente con el diagnóstico clínico ($p = 0,021$). El modelo EAU-21 no se asoció con el estado HER2 y la amplificación tampoco tuvo asociaciones (tabla 12)

7.3.4.3 Asociación entre variables, modelos y estado HER2. Subcohorte 104

Los pacientes válidos para el estudio de la asociación entre variables pronóstico y estado HER2 en esta subcohorte “104”, son 103 para la sobreexpresión, 98 para la amplificación y 102 para el diagnóstico clínico. Respecto a la sobreexpresión, las variables significativas fueron la “subestadificación T1” ($p = 0,018$) y la “relación neutrófilos/linfocitos” ($p = 0,047$). En la amplificación, fue significativa la presencia de “CIS concurrente”, $p = 0,025$. En el diagnóstico clínico, “CIS concurrente” ($p = 0,035$) e “infiltración linfovascular”, $p = 0,041$ (apéndice 2).

La asociación entre los grupos de riesgo y el diagnóstico de HER2 fue significativa para la sobreexpresión con el modelo CUETO-Recidiva ($p = 0,019$). No se encontró significación de ninguna variable respecto a la amplificación. Relación significativa del diagnóstico clínico con la clasificación en grupos de riesgo EAU-21 ($p = 0,043$) y CUETO, tanto en la versión para la recidiva ($p = 0,008$) como para progresión ($p = 0,046$) (apéndice 3).

7.3.4.4 Asociación polisomía 17 y sobreexpresión HER2

El estudio en la cohorte “166” de la asociación entre “polisomía 17” y “sobreexpresión HER2”, sobre 149 tumores, resultó ser significativa ($p = 0,017$), (tabla 13).

Tabla 13.

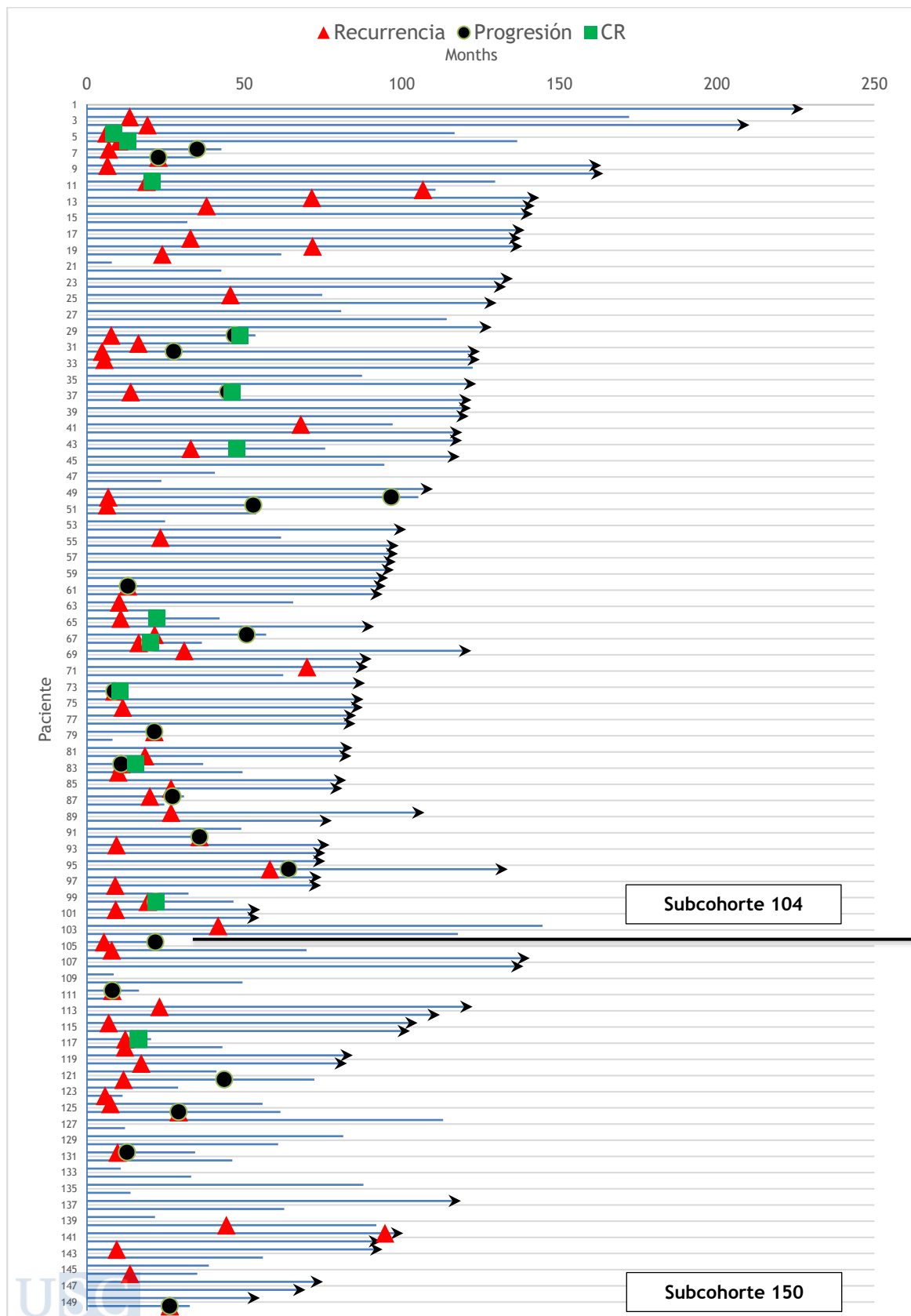
Asociación polisomía 17 y sobreexpresión HER2.

ASOCIACIÓN POLISOMÍA – SOBREEXPRESIÓN HER2				
166	SOBREEXPRESIÓN HER2			p
	Neg	n - % Equiv	Pos	
POLISOMÍA				
Mono/Di	25 – 29,1%	51 – 59,3%	10 – 11,6%	0,017
Polisomía	13 – 20,6%	31 – 49,2%	19 – 30,2%	

7.3.1 Relación del estado HER2 con la recurrencia y progresión.

Este estudio se realizó en las subcohortes “150” y “104”. La figura 25 presenta la evolución de cada paciente incluido en la cohorte “150” (los 104 primeros pertenecen a la subcohorte “104”). Muestra los eventos, recurrencia, progresión, cistectomía radical y fallecimiento.

Figura 25. Evolución por paciente.



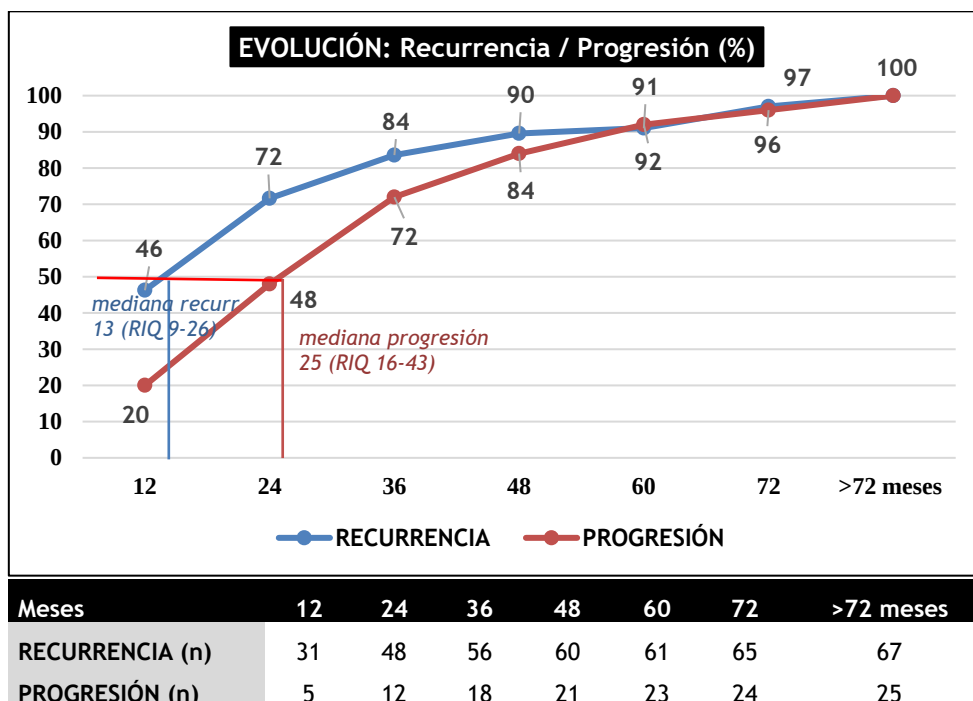
Nota: número de codificación. Flecha al final de línea = supervivencia; Final sin flecha = exitus.

7.3.1.1 Tiempo de seguimiento, recurrencia y progresión. Asociación con estado HER2.

Se consideró tiempo de seguimiento el que sucede desde la fecha de inclusión (fecha de la RTUV inicial) hasta la fecha de cierre (fin del control clínico). Se determinó en meses. Se definió con evento terminal aquella incidencia que hizo salir al paciente del seguimiento (cistectomía radical, progresión clínica/histológica o fallecimiento por cualquier causa).

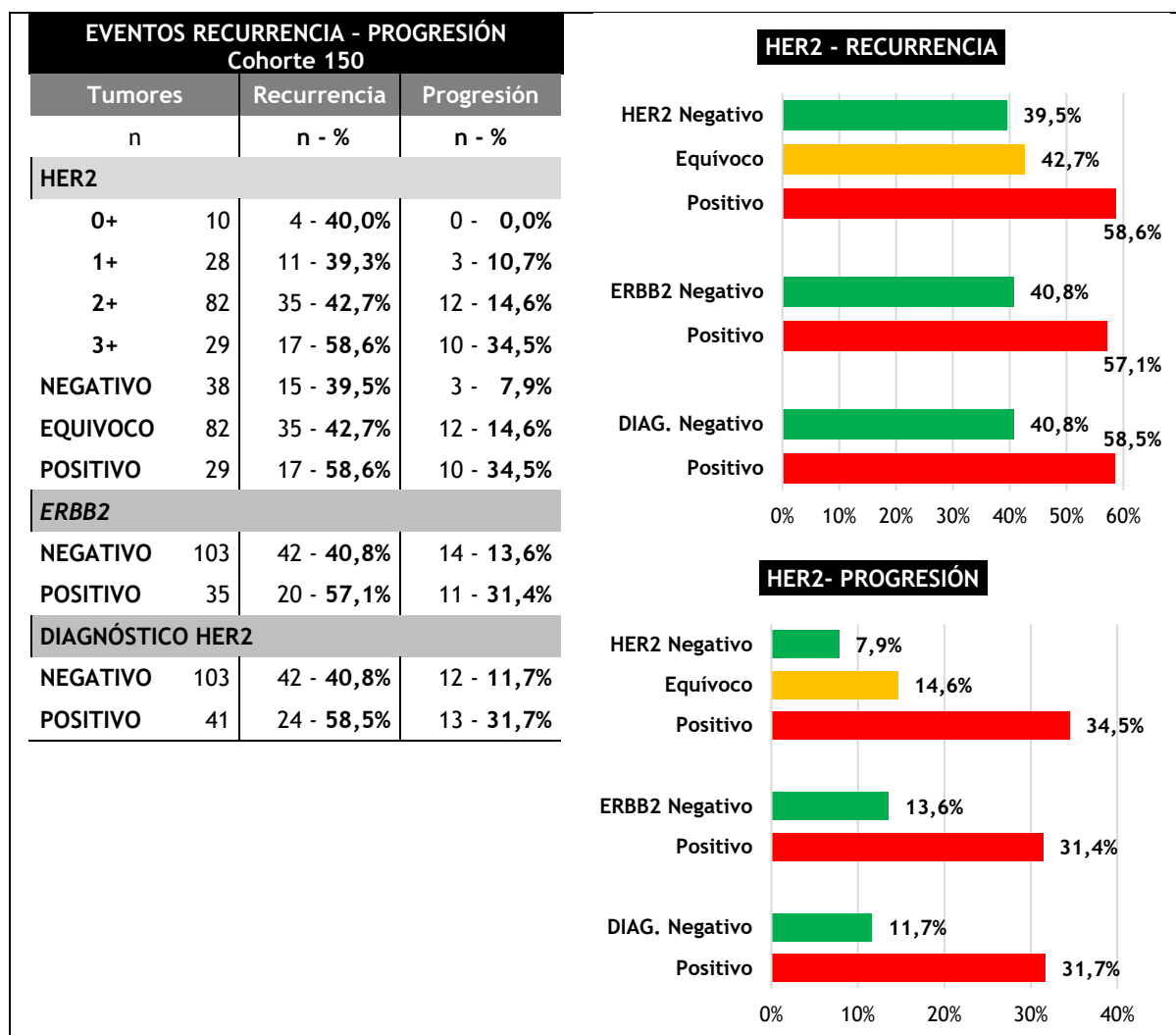
En la subcohorte “150” la mediana del tiempo de seguimiento fue 72,5 meses (RIQ 34-99,5; rango 7-223). Se estudian los eventos “recurrencia” y “progresión”. El número de pacientes que sufrieron una recurrencia fue de 67 (44,7%), con una mediana de tiempo hasta la recurrencia de 13 meses (RIQ 9-26). Los que progresaron a MICV o sufrieron diseminación a distancia fueron 25 (16,7%), mediana de tiempo hasta progresión de 25 meses (RIQ 16-43). Antes de los 5 años de seguimiento se produjo el 91% de las recidivas (61 eventos) y 92% de las progresiones (23 eventos) (*figura 26*). La subcohorte “104” presentó una recurrencia de 47% y una progresión de 17,3% con una mediana hasta la misma de 27 meses (RIQ 21-46) (*apéndice 4*).

Figura 26. Evolución de la recurrencia y la progresión. Subcohorte 150.



Los eventos de recidiva y progresión en relación con el estado HER2 son reseñados en la *figura 27*. Se ofrecen porcentajes en relación con los casos valorables. En el caso del estudio de la sobreexpresión de HER2 se ofrece información según el diagnóstico patológico (0+ a 3+) que posteriormente se transforma en negativo, equívoco o positivo según criterios establecidos. Se muestra que el diagnóstico positivo en cada una de las formas del estado HER2, presenta mayor porcentaje de casos de recurrencia y progresión.

Las asociaciones entre estado HER2 y los eventos evolutivos estudiados se presentan en la subcohorte 104 de un modo similar a la cohorte principal (*apéndice 5*).

Figura 27. Relación del estado HER2 con la recurrencia y progresión. Subcohorte 150.


7.3.1.2 Estudio de supervivencia mediante curvas de Kaplan-Meier. Subcohorte 150

Se estudió la relación de supervivencia libre de recurrencia (SLR) y supervivencia libre de progresión (SLP), ambas a 5 años, mediante curvas de Kaplan-Meier y la significación estadística con las pruebas log-rank y de Breslow. El estudio se practica en las subcohortes “150” y “104”.

7.3.1.2.1 Supervivencia Libre de Recurrencia a 5 años (SLR-5)

En la subcohorte 150 se observó una asociación estadísticamente significativa entre la amplificación y la SLR-5 ($p=0,029$) y entre el diagnóstico HER2 y la SLR-5 ($p=0,035$). La sobreexpresión no tuvo significación ($p=0,161$). En la amplificación, el grupo positivo tuvo una media de SLR-5 de 34,2 meses (IC-95% 26,6 - 41,9) mientras que en los negativos fue de 43,3 meses (39,0 - 47,7); mediana de los positivos 26 meses (IC-95% 1,1 - 50,9). En el diagnóstico HER2, la mediana fue 28,0 meses (IC-95% 6,2 - 49,8) (figura 28).

Figura 28. Supervivencia libre de recurrencia a 5 años y estado HER2. Subcohorte 150.

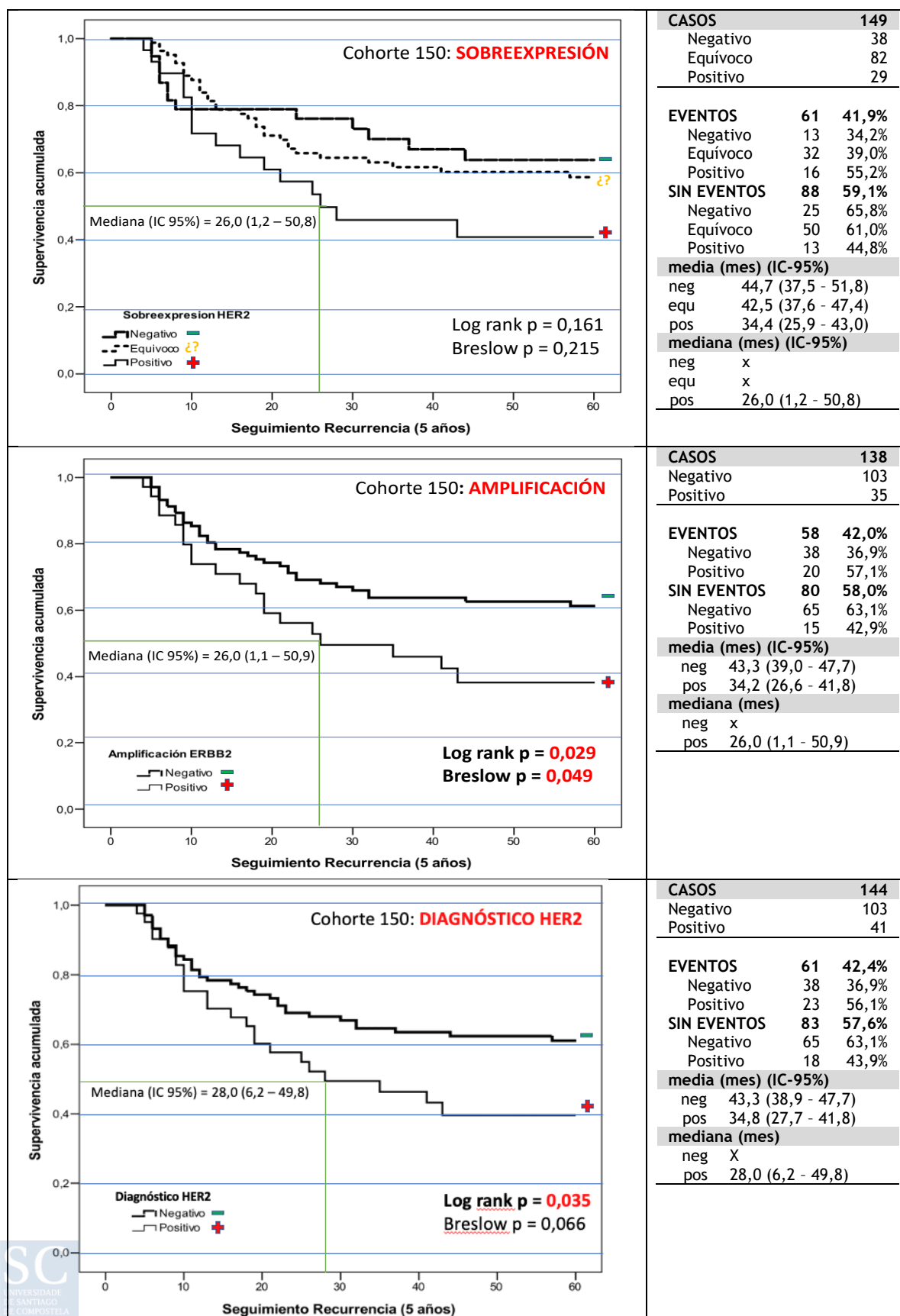
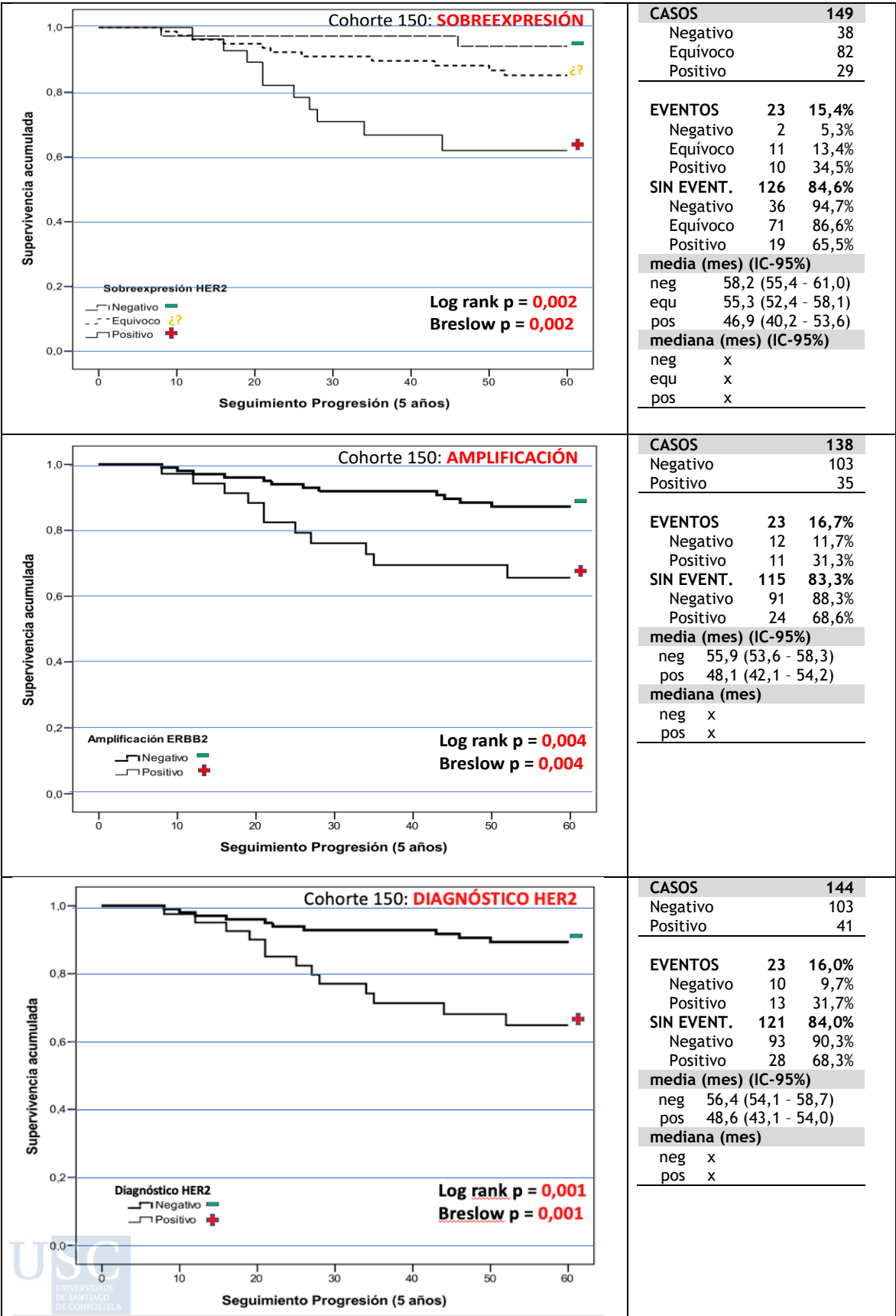


Figura 29. Supervivencia libre de progresión a 5 años y estado HER2. Cohorte 150



7.3.1.2.2 Supervivencia Libre de Progresión a 5 años (SLP-5)

Mediante curvas de Kaplan-Meier hemos observado en la cohorte 150 significación para la sobreexpresión (log rank $p = 0,002$), la amplificación (log rank $p = 0,004$) y para el diagnóstico HER2 (log rank $p < 0,001$). En todos los métodos diagnósticos se obtuvo significación para la prueba de Breslow. En ninguno de las determinaciones se alcanzó la mediana de seguimiento. La media en los grupos positivos fue para sobreexpresión de 46,9 meses (IC-95% 40,2; 53,6); amplificación, 48,2 meses (IC-95% 42,1; 54,2) y para el diagnóstico HER2, 48,6 meses (IC-95% 43,1; 54,0) (figura 29).

7.3.1.3 Estudio de supervivencia mediante curvas de Kaplan-Meier. Subcohorte 104

El estudio en la cohorte 104 de la SLR-5 años (figura 30, detalles en apéndice 6) y SLP-5 años (figura 31, detalles en apéndice 7) mostró asociaciones con el estado HER2 con igual significado que las de la cohorte donde se anida.

Figura 30.

Supervivencia libre de recurrencia a 5 años y estado HER2. Subcohorte 104.

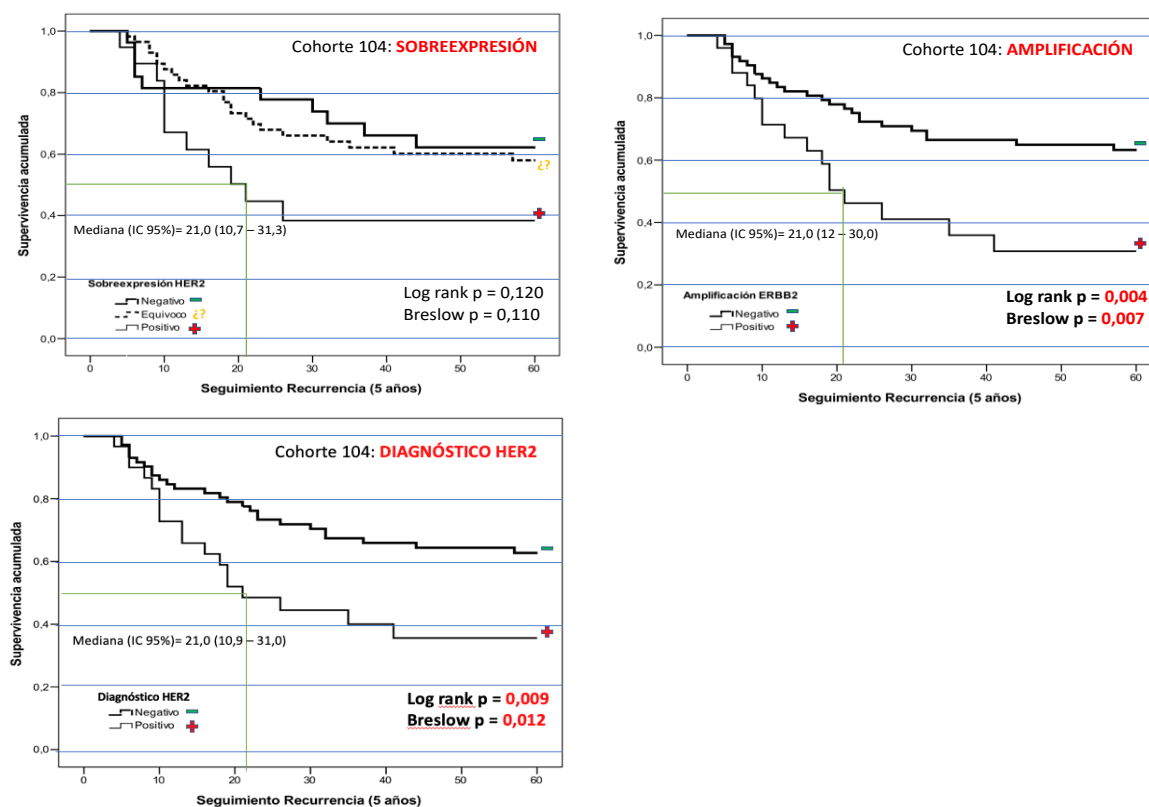
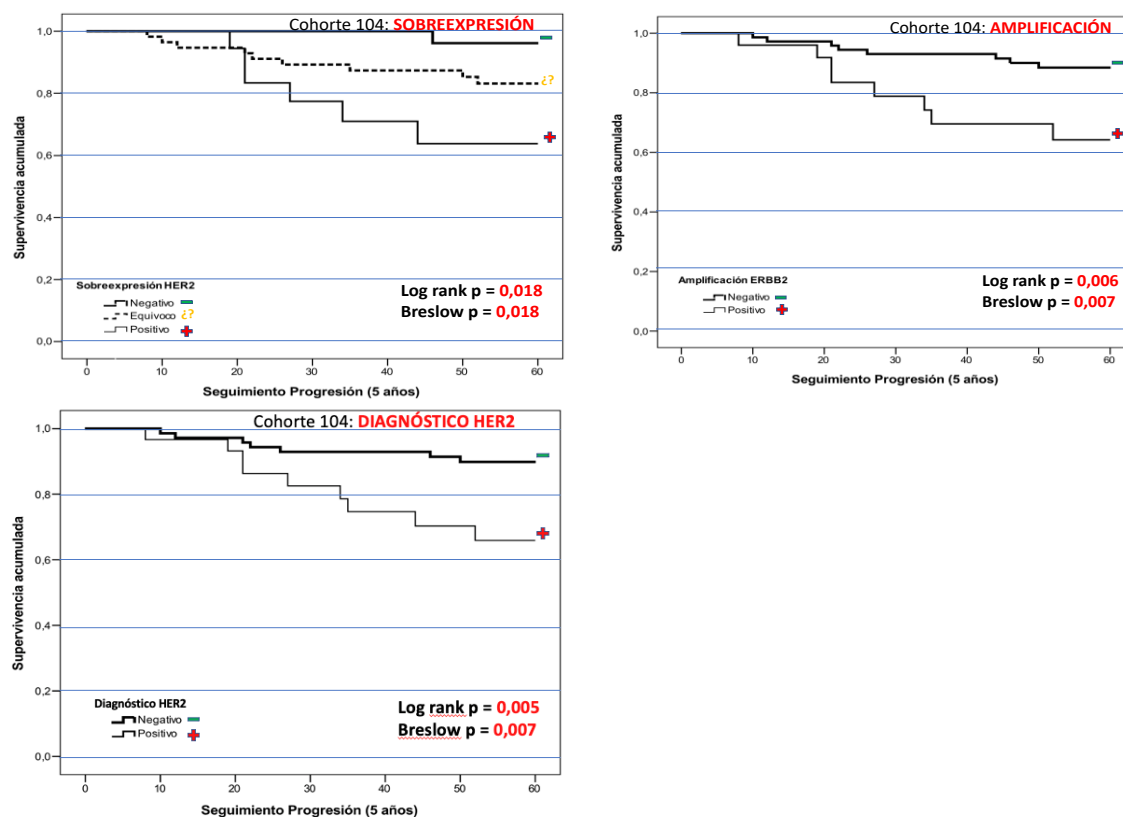


Figura 31.

Supervivencia libre de progresión a 5 años y estado HER2. Subcohorte 104.



El estudio en la cohorte “150” de la SLR-5 años y SLP-5 años mediante curvas de Kaplan-Meier, no mostró asociación con la polisomía 17, respectivamente ($p = 0,436$) y ($p = 0,157$) (apéndice 8).

7.3.1.4 Factores de pronóstico subcohorte 150. Análisis de regresión de Cox.

7.3.1.4.1 Recurrencia

Estudiamos 137 casos valorables (tras eliminar los pacientes con resultado “no válido” en las diferentes determinaciones del estado HER2), de los que 2 son casos eliminados/perdidos, por lo que analizamos 135 casos. Se presentaron 56 eventos (40,9%).

En el modelo univariante presentaron significación, las variables “infiltración linfovascular”, “localización tumoral”, el “modelo de grupos de riesgo EAU-2021”, “amplificación *ERBB2*” y “diagnóstico clínico HER2” (figura 32).

Realizamos un análisis multivariante mediante el método de exclusión por pasos hacia atrás de Wald. Elegimos para el estudio las variables del univariante con $p < 0,20$, infiltración linfovascular, CIS, patrón de crecimiento, localización, número de tumores, amplificación *ERBB2* y diagnóstico clínico HER2. Las variables que permanecieron significativas ($p < 0,05$) fueron infiltración linfovascular, localización tumoral en la vejiga y amplificación *ERBB2* (tabla 14; apéndice 9).

Figura 32.

Recurrencia. Análisis univariante. Subcohorte 150.

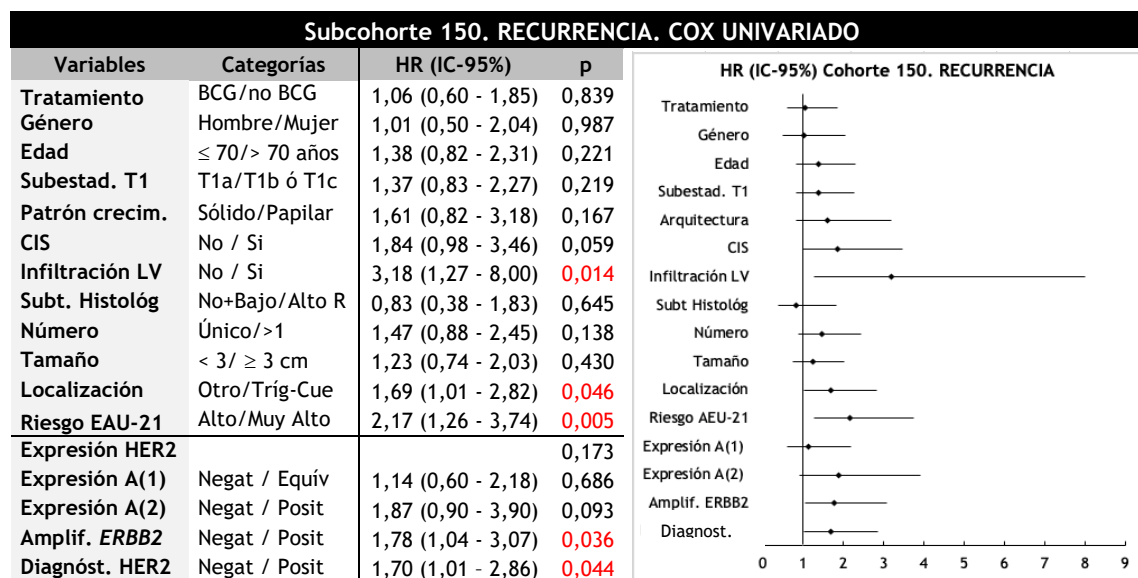


Tabla 14.

Recurrencia. Análisis multivariante. Subcohorte 150.

Subcohorte 150. RECURRENCIA. COX MULTIVARIANTE		
Variable	HR (IC-95%)	p
Infiltración Linfovacular	3,87 (1,34 - 11,17)	0,012
Localización	1,91 (1,10 - 3,30)	0,021
Amplificación <i>ERBB2</i>	2,00 (1,15 - 3,48)	0,014

7.3.1.4.2 Progresión

Estudiamos 137 casos valorables, de los que 2 son casos eliminados/perdidos, por lo que analizamos 135 casos. Se presentaron 23 eventos (16,8 %).

En el análisis univariante, las variables que resultaron significativas ($p < 0,05$) fueron subestadificación T1 ($p = 0,001$), amplificación *ERBB2* ($p = 0,007$) y diagnóstico clínico HER2 ($p = 0,002$) (figura 33).

Realizamos el análisis multivariante en las mismas condiciones que en recurrencia, con las variables que presentaron una $p < 0,20$ (subestadificación T1, número, tamaño, localización, sobreexpresión, amplificación y diagnóstico clínico). El resultado fue que permanecieron con significación $p < 0,05$, localización, subestadificación T1 y amplificación *ERBB2* (tabla 15; apéndice 10)

Figura 33.

Progresión. Análisis univariante. Subcohorte 150.

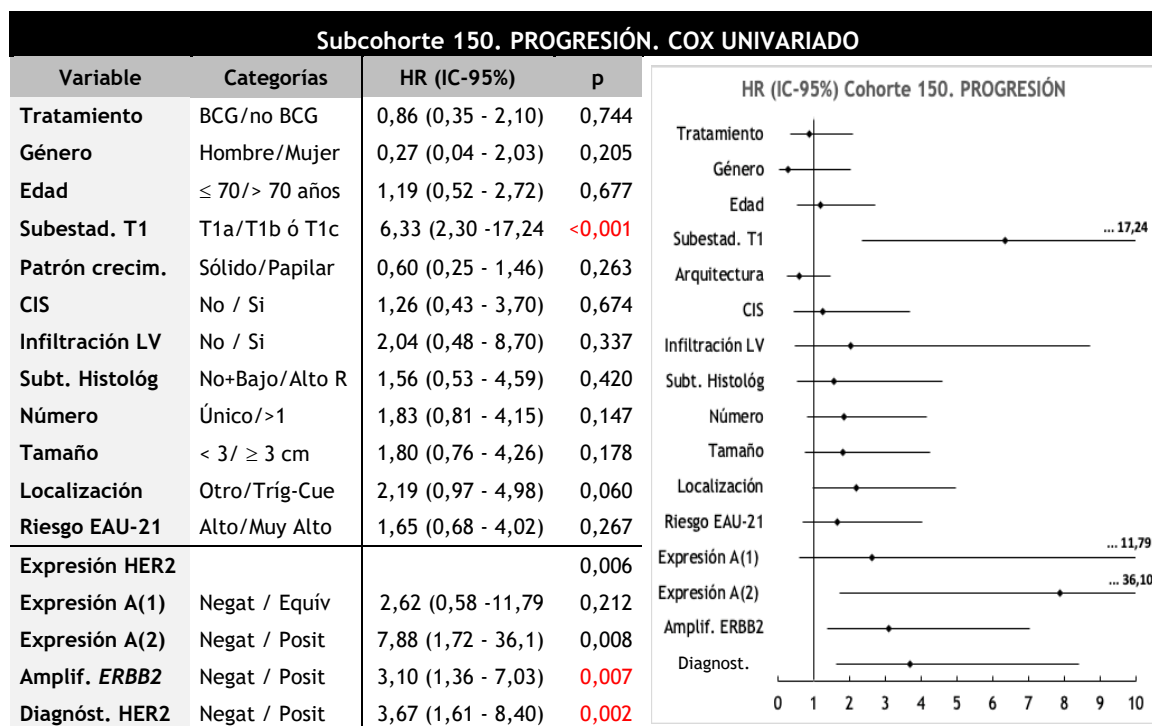


Tabla 15.

Progresión. Análisis multivariante. Subcohorte 150.

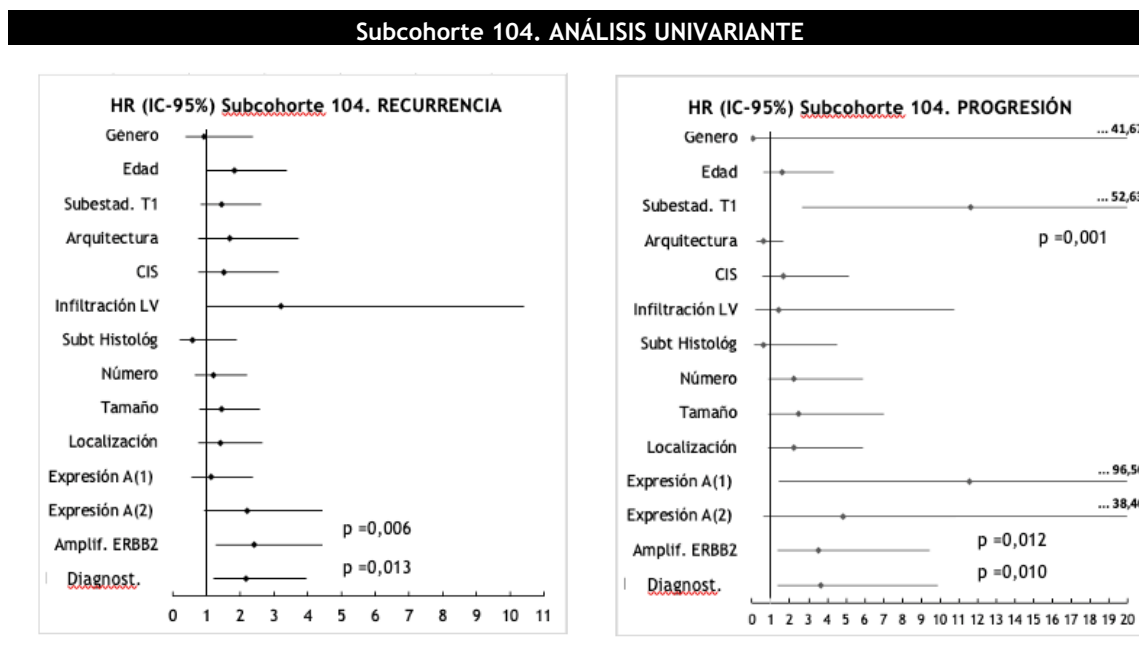
Subcohorte 150. PROGRESIÓN. COX MULTIVARIANTE		
Variable	HR (IC-95%)	p
Localización	2,84 (1,24 - 6,49)	0,013
Subestadificación T1	6,03 (2,22 - 16,40)	<0,001
Amplificación ERBB2	2,97 (1,30 - 6,78)	0,010

7.3.1.5 Factores de pronóstico subcohorte 104. Análisis de regresión de Cox.

Estudiamos la recurrencia en un total de 97 pacientes (tras eliminar los pacientes con resultado “no válido” en las diferentes determinaciones del estado HER2), 97 disponibles para el análisis. Se valoraron 42 con el evento (43,3 %). En el análisis univariante alcanzaron significación las variables amplificación *ERBB2* y diagnóstico HER2 (*figura 34; apéndice 11*). Se realizó el análisis multivariante con la misma sistemática que para la cohorte 150 (variables con $p < 0,20$), incluyendo en el estudio las variables infiltración linfovascular, edad, sobreexpresión, amplificación y diagnóstico clínico HER2. Permaneció como única variable significativa la amplificación *ERBB2* (HR 2,39 IC-95% 1,28 - 4,48; $p = 0,006$) (*apéndice 12*).

Figura 34.

Recurrencia y progresión. Análisis univariante. Subcohorte 104.



Las variables con significación en el univariante para la progresión fueron “subestadificación T1”, “amplificación” y “diagnóstico clínico” (figura 34; apéndice 13). Realizamos el análisis multivariante como explicamos previamente, mediante la incorporación de las variables del univariante, “tamaño”, “localización”, “número”, “sobreexpresión”, “amplificación” y “diagnóstico clínico”. Permanecieron significativas las variables “localización”, “subestadificación T1” y “amplificación ERBB2” (tabla 16; apéndice 14).

Tabla 16.

Progresión. Análisis multivariante. Subcohorte 104.

Subcohorte 104. PROGRESIÓN. COX MULTIVARIANTE		
Variable	HR (IC-95%)	p
Localización	3,98 (1,43 - 11,07)	0,008
Subestadificación T1	14,99 (3,30 - 68,18)	<0,001
Amplificación ERBB2	4,69 (1,69 - 12,99)	0,003

7.3.2 Asociación del estado HER2 con el fallo de BCG antes de 2 años.

La variable “fallo de BCG a 2 años” se define como el diagnóstico patológico de recurrencia de alto grado o estadio $\geq$ T1N+M+ antes de los 2 años de la fecha de inicio, tras recibir al menos 5 dosis de BCG (32,7% recibieron dosis de mantenimiento)

En la subcohorte 104 se presentó la anterior variable en 32 casos (30,8%). Fueron valorables para estudio 99 tumores para sobreexpresión (fallo BCG, 32), 94 amplificación (fallo, 31) y diagnóstico clínico 98 (fallo, 32). Estudiamos la asociación entre las variables clínico-patológicas y estado HER2 con “fallo BCG a 2 años”. Las significativas fueron, “edad” (p=0,039), “subestadificación T1” (p=0,027), “tamaño” (p=0,027), “sobreexpresión” (p=0,020), “amplificación” (p=0,003) y “diagnóstico HER2” (p=0,003) (tabla 17).

Tabla 17.
Asociación variables pronósticas/estado HER2 y tratamiento BCG. Subcohorte 104.

ASOCIACIÓN VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS, ESTADO HER2 Y FALLO BCG 2 AÑOS				
	BCG		p Pearson	P Fisher
	No Fallo	Fallo		
GÉNERO				
Hombre	57 - 64,8%	31 - 35,2%	0,081	0,098
Mujer	10 - 90,9%	1 - 9,1%		
EDAD				
≤ 70años	40 - 76,9%	12 - 23,1%	0,039	0,053
> 70 años	27 - 57,4%	20 - 42,6%		
FUMADOR				
No fumador	10 - 62,5%	6 - 37,5%	0,671	0,771
Fumador	51 - 68,0%	24 - 32,0%		
IMC				
< 25	15 - 75,0%	5 - 25,0%	0,638	0,783
≥ 25	48 - 69,6%	21 - 30,4%		
NLR				
< 3	55 - 70,5%	23 - 29,5%	0,396	0,505
≥ 3	7 - 58,3%	5 - 41,7%		
SUBESTADIFICACIÓN T1				
T1a	43 - 76,8%	13 - 23,2%	0,027	0,032
T1b+c	24 - 55,8%	19 - 44,2%		
PATRÓN CRECIMIENTO				
Sólido	16 - 69,6%	7 - 30,4%	0,825	1,000
Papilar	51 - 67,1%	25 - 32,9%		
CARCINOMA IN SITU				
No	58 - 70,7%	24 - 29,3%	0,153	0,166
Si	9 - 52,9%	8 - 47,1%		
INFILTRACIÓN LINFOVASCULAR				
No	66 - 69,5%	29 - 30,5%	0,062	0,098
Si	1 - 25,0%	3 - 75,0%		
SUBTIPO HISTOLÓGICO NO/ALTO RIESGO				
NO + Otros	58 - 65,2%	31 - 34,8%	0,111	0,160
AR	9 - 90,0%	1 - 10,0%		
NÚMERO				
único	46 - 69,7%	20 - 30,3%	0,543	0,649
múltiples	21 - 63,6%	12 - 36,4%		
TAMAÑO				
< 30	39 - 78,0%	11 - 22,0%	0,027	0,033
≥ 30	28 - 57,1%	21 - 42,9%		
LOCALIZACIÓN				
resto	46 - 71,9%	18 - 28,1%	0,259	0,358
trígono/cuello	20 - 60,6%	13 - 39,4%		
HER2 - IHQ				
Negativo	22 - 81,5%	5 - 18,5%	0,020	0,025
Equívoco	38 - 69,1%	17 - 30,9%		
Positivo	7 - 41,2%	10 - 58,8%		
ERBB2 - FISH				
Negativo	54 - 75,0%	18 - 25,0%	0,003	0,004
Positivo	9 - 40,9%	13 - 59,1%		
DIAGNÓSTICO HER2				
Negativo	54 - 76,1%	17 - 23,9%	0,003	0,004
Positivo	12 - 44,4%	15 - 55,6%		

El análisis multivariante mediante el método de Wald de exclusión por pasos hacia atrás se realizó para las variables del univariante con $p < 0,10$: “género”, “edad”, “subestadificación T1”, “infiltración linfocascular”, “tamaño”, “sobreexpresión”, “amplificación” y “diagnóstico clínico” de HER2. Se valoró cada una de las alternativas del estado HER2 respecto al resto de variables. Para el análisis de “sobreexpresión”, ésta fue significativa para la categoría “negativa

vs. positiva”, junto con el “género” y “edad”. En el análisis para “amplificación, también permaneció significativa y con “tamaño”. En el análisis para “diagnóstico clínico”, sólo esta variable permaneció como significativa (*tabla 18 y apéndices 15,16 y 17*):

Tabla 18.

Tratamiento BCG. Análisis multivariante. Subcohorte 104.

Subcohorte 104. ANÁLISIS MULTIVARIANTE FALLO BCG			
Variable	Categorías	OR (IC-95%)	p
SOBREEXPRESIÓN HER2	Negativo vs positivo	6,47 (1,52 - 27,46)	0,011
	Negativo vs equívoco	2,17 (0,68 - 7,00)	0,193
Género	Hombre vs mujer	0,10 (0,01 - 0,95)	0,045
Edad	≤ 70 / > 70 años	2,76 (1,08 - 7,04)	0,034
AMPLIFICACIÓN <i>ERBB2</i>	Negativo vs positivo	6,01 (1,87 - 19,29)	0,003
Tamaño	< 3 / ≥ 3 cm	3,09 (1,09 - 8,74)	0,033
DIAGNÓSTICO HER2	Negativo vs positivo	4,72 (1,66 - 13,44)	0,004

8 DISCUSIÓN

El cáncer de vejiga (CV) es una enfermedad relevante por su incidencia, prevalencia y consumo de recursos económicos. Presenta un curso clínico heterogéneo y los dos principales factores pronósticos son el estadio y el grado histológico. Los MICV, todos de alto grado, son de muy alto riesgo, con una morbilidad reseñable incluso con el tratamiento correcto. El NMICV presenta diversidad en el grado y se clasifican por el riesgo pronóstico como bajo, intermedio, alto o muy alto riesgo (*Sylvester et al., 2021*). Los tumores T1AG son de alto o muy alto riesgo. Un tercio ni recurrirá ni progresará, otro tercio sufrirá cistectomía radical tardía por mala evolución de la enfermedad y el tercio restante fallecerá por la enfermedad (*Shahin et al., 2003*). Se establecieron factores pronóstico clínicos y patológicos que analizados en conjunto dieron lugar a modelos de estratificación del riesgo (*Babjuk et al., 2022*). Sin embargo, presentan resultados limitados, incluso tras la integración de nuevas variables como los subtipos histológicos (*Guerrero Ramos et al., 2022*).

La decisión terapéutica en los tumores T1AG, oscila entre el riesgo de sobretratamiento por una CR innecesaria en pacientes que no iban a recurrir o de infratratamiento por indicar una RTUV y BCG adyuvante que no impedirá la progresión de la enfermedad. La SCE de este grupo tumoral tras progresión a T2 tiene peores resultados (37%) que el T2 primario (67%). La cistectomía precoz en tumores T1AG tiene mejor SCE que la cistectomía diferida tras progresión a MICV (*Ding et al., 2015; Kamat et al., 2016*). Será muy difícil obtener datos concluyentes de ensayos clínicos prospectivos aleatorizados que puedan comparar estas dos alternativas de tratamiento, al ser poco factible el reclutamiento de un número adecuado de pacientes (*Catto et al., 2021*). A pesar de los avances en la atención quirúrgica, el auténtico progreso en la supervivencia y calidad de vida es probable que surja de la biología molecular que ofrecerá nuevos factores pronóstico y tratamientos multimodales personalizados (*Moschini et al., 2020*).

Las alteraciones genómicas frecuentes en el urotelio son del número de copias de los cromosomas 5, 9, 13, 16 y 17, así como mutaciones con pérdida de *RB1* y *TP53* (*Strandgaard et al., 2020*). Muchos estudios han destacado la vulnerabilidad mutacional de regiones específicas dentro de los genes impulsores del cáncer, denominados puntos críticos de mutación. En NMICV, genes con puntos críticos son *ERBB2*, *FGFR3*, *PIK3CA* y *TP53*. En MICV son *TP53*, *FGFR3*, *CDKN1A*, *CDKN2A*, *ERBB2*, *KDM6A*, *NFE2L2* y *PIK3CA* (*Grant et al., 2023*).

El estudio de las alteraciones genéticas sitúan al CV como el tercero con mayor tasa mutacional (*Weinstein et al., 2014*). Ésta varía a través de los grados y estadios: los T1G3 presentan 2.81 mutaciones/Mb versus 1.14 mutaciones/Mb en los TaG1 (*Goel et al., 2022*). Ross et al. estudiaron el perfil genético en CV avanzado y encontraron que el 93% de los tumores tenía al menos una alteración genética clínicamente relevante, con una media de 2,6 alteraciones significativas por tumor. Las más frecuentes fueron *CDKN2A* 34%, *FGFR3* 21%, *PIK3CA* 20% y *ERBB2* 17% (*Ross et al., 2016*). Las mutaciones *ERBB2* son menos comunes en NMICV que en MICV (*Rodríguez-Vida et al., 2018*). Las guías NCCN recomiendan la determinación

genética en el CV para una posible inclusión en ensayos clínicos de fármacos con diana terapéutica (NCCN, 2023).

La heterogeneidad fenotípica del CV condujo a la definición de subtipos histológicos, sustentados en subtipos moleculares particulares. Sin embargo no se han podido establecer relaciones unívocas entre las firmas moleculares y la diversidad histológica (Matulay et al., 2019). Las clasificaciones histológicas y moleculares pretendieron mejorar la estratificación de riesgo clínico (Helal et al., 2023). Se describieron varios modelos en MICV y se llegó a un intento de unificación (Kamoun et al., 2019). En NMICV son pocas las clasificaciones comunicadas y con menor respaldo clínico (Lindskrog et al., 2021). En la práctica clínica no ha ido más allá de la diferenciación básica entre tumores luminales y basales, reflejo de la expresión de las capas intermedio-luminal y basal del urotelio normal. La traslación a la clínica diaria no se ha producido por limitaciones metodológicas y económicas. El estudio completo del transcriptoma para un gran volumen de pacientes consume mucho tiempo y dinero. La mayor parte de los tumores T1AG son clasificados como luminales.

La medicina actual está evolucionando desde la “talla única” a la “medicina de precisión” (Soria et al., 2021). Surgió la necesidad de establecer biomarcadores con función pronóstica, predictiva y algunos podrían llegar a ser terapéuticamente rentables. El desarrollo de la medicina molecular en el CV ha señalado diversos candidatos (FGFR3, Nectina-4, Trop2). HER2 es una opción fuerte con una reconocida utilidad en cáncer de mama y en el gástrico. El tumor vesical es abundante en modificaciones de proteínas de la membrana celular como EGFR y HER2 (Helal et al., 2023). El protagonismo de HER2 se ha investigado fundamentalmente en MICV y M+ con resultados pronósticos y terapéuticos controvertidos. En el terreno del NMICV, la investigación se ha dirigido al pronóstico y a la predicción de la respuesta a BCG (Gan et al., 2021; Rosli et al., 2022). Yorozu et al. detectaron la sobreexpresión y amplificación de HER2 en el cáncer de pelvis renal y uréter, con mayor frecuencia en el subtipo luminal (Yorozu et al., 2020). Kiss et al. concluyeron que las alteraciones HER2 también están más presentes en los tumores luminales de la vejiga (Kiss et al., 2017). Son tumores quimiorresistentes que podrían beneficiarse de tratamientos sobre dianas moleculares, pudiendo ser HER2 una de ellas (Oh & Bang, 2020).

8.1 VARIABILIDAD EN EL ESTUDIO DEL ESTADO HER2

El estudio del estado HER2 presenta un amplio abanico de resultados en la literatura. Esta diversidad probablemente se relaciona con la metodología empleada. Scherrer et al. realizaron una revisión bibliográfica Medline/Embase entre los años 2000-2021, incorporando resúmenes de reuniones de ASCO, ASCO-GU, ESMO, SUO, AUA, EAU, obteniendo 88 publicaciones que cubrieron toda la variedad de estadios (Scherrer et al., 2022). La discordancia metodológica cubrió diversos aspectos:

- Tamaños muestrales muy diferentes, entre 16 – 1005 pacientes (Laé et al., 2010).
- Muestras heterogéneas de estadios y grados tumorales (Abdelrahman et al., 2019; Bolenz et al., 2010; Chae et al., 2022; El Ochi et al., 2017; Latif et al., 2003; Mohanty et al., 2021).
- Técnicas y criterios diagnósticos diversos. Las clasificaciones descritas fueron ASCO/CAP cáncer de mama (versión no especificada) 14,8%, ASCO/CAP cáncer gástrico 5,7%, criterios propios en 52,3% y no indicados en 27,2% (Scherrer et al., 2022).
- Empleo de metodologías IHQ/FISH no estandarizadas ni validadas. Utilización de diferentes anticuerpos: “A0485” (Rosli et al., 2022; Sanguedolce et al., 2023; Simon et al.,

2003), “CB-11” (Bongiovanni *et al.*, 2013; Kocsmár *et al.*, 2022; Olsson *et al.*, 2012), “K5204” (El Ochi *et al.*, 2017), “4B5” (Chae *et al.*, 2022; Moustakas *et al.*, 2020), SP3 (Agrawal *et al.*, 2020), “18299-1-AP” (Bai *et al.*, 2022).

- La definición de positividad en el estudio IHQ es variada: exclusivamente 3+ o alternativamente, 2+ o 3+ (Bai *et al.*, 2022; Bongiovanni *et al.*, 2013; Ding *et al.*, 2015; Krüger *et al.*, 2002; Olsson *et al.*, 2012; Sanguedolce, Cormio, *et al.*, 2018).
- Puntos de corte para positividad variables, 10%, 30% y 50% (Chen *et al.*, 2013; El Gehani *et al.*, 2012; El Ochi *et al.*, 2017; Hegazy *et al.*, 2015; Lim *et al.*, 2015). El ensayo KAMELEON, sobre el tratamiento del CUV avanzado con trastuzumab emtasina establece como criterio positivo una tinción de membrana completa en $\geq 30\%$ de células tumorales (de Vries *et al.*, 2023).
- El uso de biomarcadores basados en tejidos genera variabilidad en los resultados por simples detalles técnicos, como el estado del tejido empleado (fresco o congelado) y la técnica de fijación en formol (se recomienda un tiempo inferior a 24h) (Soria *et al.*, 2021). Los estudios retrospectivos con utilización de material fijado en formol e incluido en parafina, puede añadir el problema de la preservación tisular con degradación proteica (Zimpfer *et al.*, 2023).

Por lo descrito anteriormente, nuestro estudio tuvo como objetivos metodológicos, la homogeneidad de la muestra de pacientes, el uso de una técnica analítica validada, criterios diagnósticos actuales y el desarrollo de la investigación en el escenario clínico cotidiano.

- Homogeneidad al presentar un grupo de pacientes con CV primario, iguales en estadio (T1) y grado (AG).
- Validación al utilizar métodos analíticos estandarizados, aprobados por organizaciones de referencia, FDA, tanto para IHQ como para FISH.
- Actualidad al emplear la clasificación diagnóstica de ASCO/CAP 2018 para el cáncer de mama, refrendada en 2023.
- Práctico y relevante al realizarse en el marco clínico siendo el objetivo de estudio un grupo de pacientes de alto riesgo pronóstico y difícil decisión terapéutica.

Realizamos una serie de estudios preliminares a nuestra investigación, para garantizar la metodología analítica empleada y las características histológicas de la muestra.

- Se investigó la concordancia entre el anticuerpo 4B5, elegido para nuestro análisis y otro de referencia con un recorrido clínico superior, A0485. Optamos por 4B5 por ser el disponible en nuestro centro para otras localizaciones tumorales y ser el de mayor difusión en CV en los estudios publicados en fechas recientes. Obtuvimos una concordancia correcta y acorde con la literatura para otras localizaciones tumorales, con un índice kappa de 0,514, pero que se convierte en óptimo si consideramos exclusivamente las categorías positivo y negativo, excluyendo equívoco, con un resultado igual a 1. La literatura informó que la concordancia entre los anticuerpos es de moderada a buena. A algunos autores han comunicado que una tinción más intensa con 4B5 facilita el análisis (Bartley *et al.*, 2016).
- En los estudios realizados sobre muestras de tumores T1 existe un riesgo tanto de supraestadificación (verdaderos Ta) como de infraestadificación (verdaderos T2). Para evitarlo, realizamos un estudio sobre la variabilidad achacable al patólogo general en el

diagnóstico del estadio T1. En una muestra de 113 tumores T1, identificamos un 48,7% de discordancias con el diagnóstico de uropatólogos, con una migración mayoritaria a Ta, 89,1% y el resto a T2, acorde con los datos publicados previamente. La revisión de un patólogo especialista puede cambiar más de un tercio de los diagnósticos T1-T2 y este hecho tiene implicaciones terapéuticas (*Compérat et al., 2020; Varma et al., 2020*).

- Se ha comprobado la existencia de infraestadificación en la RTUV tras CR precoz, entre el 23 - 41% (*Janane et al., 2011*). Chu et al. estudiaron 82 pacientes a los que se les realizó una CR inmediata, reclasificando a MICV/N+ al 40 %. Los factores predictores de supraestadificación tras la cirugía radical fueron la persistencia de T1 en la R-RTUV y la presencia de un subtipo histológico (*Chu et al., 2023*). En nuestro centro sobre 80 pacientes T1 tratados con CR inmediata, 48,5% presentaron estadio pT2 o superior. La realización de una R-RTUV sistemática cuando diagnosticamos estadio T1 pretende disminuir este riesgo.

La reevaluación histológica de los 249 tumores T1AG que se incluyeron inicialmente en este estudio modificó el estadio en 59 tumores (23,7%), fundamentalmente hacia una reducción a estadio Ta. Olsson et al. tras una segunda evaluación patológica de un estudio de 285 pacientes T1, rechazaron por modificación del estadio a un 18 % (*Olsson et al., 2012*). Bongiovanni et al. estudiando una muestra de T1G3 con un objetivo similar al nuestro sobre 103 tumores iniciales, reestadiaron el 19,4% (*Bongiovanni et al., 2013*).

Nuestra muestra de 166 T1G3 es numerosa en relación con estudios publicados con igual objetivo, habitualmente inferiores a 100 pacientes (*Rosli et al., 2022*). Este número de pacientes obligó a extender el tiempo de la inclusión entre los años 2001-2019, concentrándose un 82% de los mismos entre los años 2011-2016. En este intervalo, los pacientes incluidos supusieron entre el 35% de los tumores T1AG diagnosticados en el año 2011 en nuestro centro hasta el 80% en el 2016. El largo periodo de tiempo supuso indicaciones de tratamiento diferentes de acuerdo con modificaciones en las guías clínicas y diferentes vicisitudes en el abastecimiento de BCG. Este es el motivo de definir una subcohorte “104” con pacientes tratados todos ellos con BCG, en otro intento de reducir el número de variables que puedan alterar la interpretación del valor pronóstico del estado HER2.

Estudiamos tejidos incluidos en parafina a partir de los cuales construimos 27 macromatrices tisulares (MT) con el objetivo de economizar recursos. Se ha demostrado la utilidad de su aplicación en la rutina clínica (*Burandt et al., 2014; Gómez-de María et al., 2018; Zimpfer et al., 2023*). La no utilización de secciones completas para el diagnóstico histológico podría dificultar la evaluación de la heterogeneidad tumoral, una característica propia del CV que puede modificar la determinación del estado HER2. Las muestras de RTUV pueden condicionar el diagnóstico, siendo más sencillo en la cistectomía radical. La inclusión de cilindros de 4 mm y de más de uno por paciente pretendió disminuir este riesgo (máximo arbitrario de 7 cilindros biopsicos). Las secciones más habituales de las biopsias estudiadas en las MT de otros estudios son de 0,6 mm (*Janane et al., 2011*) hasta 2 mm (*Chen et al., 2013; Lim et al., 2015*).

Demostramos una heterogeneidad del estado HER2 en el diagnóstico IHQ del 39,4% y en FISH del 27,8%. Los datos de la literatura para el cáncer gastroesofágico son entre 5-69% y en el de mama, 5-40%. Este rango tan amplio puede deberse a la ausencia de una definición estándar de heterogeneidad. Moktefi et al. definieron la heterogeneidad como dos áreas tumorales distintas, una (0 y 1+) y la otra (2+ y 3+). Comunicaron un 7% en IHQ y se asoció con FISH heterogéneo

en el 71 % de los casos (*Moktefi et al., 2018*). Laé et al. en MICV la descubrieron en un 35% en tumores (3+) con un porcentaje similar en la amplificación. La determinación de FISH mostró exactamente la misma heterogeneidad (*Laé et al., 2010*). Grigg et al. asociaron esta característica con un descenso de la sobreexpresión en las localizaciones metastásicas (*Grigg et al., 2021*), aunque Lei et al. no consiguieron ratificarlo (*Lei et al., 2023*).

El estudio de HER2 en cáncer de mama condujo a normas consensuadas para su determinación e interpretación. En el gástrico se acordó una clasificación específica por las características particulares de esta localización. El CV no tiene una guía propia, aunque recientemente se ha comunicado una clasificación específica para la misma (*Lei et al., 2022*). En general, en la vejiga se han utilizado las guías ASCO/CAP de mama. Los valores de referencia han variado a lo largo del tiempo lo que genera confusión en la interpretación de los datos publicados. Moktefi et al. comunicaron un 50% de pacientes que fueron reclasificados de sobreexpresión 1+ a 2+ al sustituir los criterios ASCO/CAP de 2007 a 2013. La proporción de pacientes HER2 positivos, IHQ 3+ o 2+ con FISH (+), aumentó del 15,3 % al 28,6% (*Moktefi et al., 2018*). El resultado de la aplicación de los criterios de 2013 y 2018 en la determinación de la amplificación en nuestra serie supuso que la mayor parte del grupo equívoco paso a clasificarse como negativo.

Zimpfer et al. analizaron la aplicación de la directrices ASCO/CAP para HER2 en cáncer gástrico y de mama en el carcinoma de urotelio superior. La sobreexpresión 2+ y 3+ fue superior al aplicar la directriz gástrica que la de mama y presentó mayor concordancia con la amplificación. Lo explicaron basándose en la tinción basolateral incompleta de los casos 2+ (*Zimpfer et al., 2023*). Sin embargo, la determinación FISH ofreció resultados similares de amplificación sin importar la guía de referencia (*de Vries et al., 2023*). Se ha sugerido que el patrón de tinción de HER2 en las células tumorales en el carcinoma urotelial refleja una mezcla de los patrones de tinción de la mama y del gástrico (*Galsky M., 2022*). Lei et al defiende la aplicación al carcinoma urotelial de vejiga del sistema de puntuación ASCO/CAP 2018 de cáncer de mama (*Lei et al., 2023*).

Debido a las limitaciones actuales en el estudio del estado HER2, se pretende superarlas mediante la elaboración y empleo de escalas cuantitativas mediante la utilización de la inteligencia artificial para analizar métodos de determinación de niveles ARNm, estudio de imágenes IHQ, etc. (*Bardia & Viale, 2023*).

8.2 ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA

La muestra que estudiamos pertenece a una población de 433.469 personas que presenta características epidemiológicas de género y envejecimiento similares a la española (*Memoria 2014. XXI Vigo. SERGAS*). La mediana de edad de presentación del CV en nuestra muestra fue de 73 años (RIQ 16, rango 47-96), en línea con la de la población española (*Cózar et al., 2015*) y europea afectada por esta enfermedad (*Babjuk et al., 2022*). El porcentaje de varones fue del 86,7%, ligeramente superior a la relación de género admitida de 4 x 1, pero similar a muchas de la series comunicadas (*Rosli et al., 2022*). Publicaciones procedentes de Oriente Medio y África presentan muestras poco equiparables, con pacientes más jóvenes y mayor proporción de mujeres. Se explica por la existencia de un menor consumo de tabaco en estas poblaciones y la influencia de la esquistosomiasis (*Abdelrahman et al., 2019; Ali et al., 2023; Hegazy et al., 2015*). Un caso extremo es la serie de Kocsmar et al. que estudiaron una muestra con una proporción de varones cercana al 50% (*Kocsmár et al., 2022*). Dado el peor pronóstico del sexo femenino, su representación podría repercutir en el resultado obtenido.

Nuestro estudio se ocupó de pacientes seleccionados para tratamiento conservador. Nos planteamos la posibilidad de que nuestra muestra reuniese individuos descartados para la cirugía bien por edad o por comorbilidades. Definimos el estado de salud de los pacientes mediante la determinación de los índices Charlson y ASA. Un 78% presentó un índice Charlson superior a 5 (posibilidad de estar vivo a los 10 años, menor del 50%) y un 50% un grado ASA III. Ambos datos caracterizaron una población de elevado riesgo de morbilidad (Gadzinski & Psutka, 2020). La dificultad de realizar el estudio de los pacientes que progresan a MICV y son tratados con diferentes alternativas quirúrgicas, radioterápicas y quimioterápicas, explica la no comunicación de datos de supervivencia global o cáncer específica.

Analizamos variables relacionadas con la etiopatogenia de la enfermedad. Es de sobra conocida la importancia del tabaco en el origen del CV y la heterogénea distribución geográfica de su consumo. Nuestra muestra presentó un 78,8% de fumadores y exfumadores. El índice de masa corporal (IMC) se relaciona con la aparición de algunos tumores, pero no existe una clara evidencia de su influencia en el CV. Un 72,1% de nuestros pacientes tuvieron sobrepeso. Estas cifras son superiores a las de la población española adulta ya que la fracción de hombres que tuvieron algún contacto actual o pasado con el tabaco es de 53,5% y con sobrepeso de 61,4% (*Encuesta Europea de Salud en España 2020. INE-MSCBS*). Empleamos la “relación neutrófilos/linfocitos” (NLR) para evaluar la situación inflamatoria-inmunológica de los pacientes. Cifras elevadas se asocian con mayor recurrencia y progresión en tumores T1G3 (*Aydın et al., 2019*). En nuestro análisis, el grupo de riesgo (fracción superior a 3) resultó ser de un 16,8%.

Entre los años 2009-2021 se diagnosticaron en nuestro centro 2.245 CV uroteliales primarios, con una tasa de incidencia estándar (población europea 2013) entre 32 y 43 x10⁵ habitantes/año, acorde con la literatura para la población española (*SEOM, 2023*). El estadio tumoral fue NMICV en un 81,6%, comparable a la comunicada en la literatura del 80% (*Babjuk et al., 2022*). Nuestra población presenta una proporción de tumores T1 superior (36%) a la publicada (25%), más ajustada a la de referencia entre los años 2016-2021 (28%) (*Klaassen et al., 2018*).

Todos los tumores de nuestro estudio fueron T1AG, mayoritariamente G3, aunque 12 de ellos fueron G2. Consideramos que no tuvieron influencia pronóstica ya que esta característica no modificó el grupo de riesgo asignado en las clasificaciones de pronóstico que utilizamos. La representación de otras variables fue como sigue: un 56,6% de tumores mayores de 3 cm, un tercio de las presentaciones fueron múltiples, un 24,1% de patrón sólido, CIS en un 15,7%, infiltración linfovascular en un 4,8 % y la localización tumoral en el cuello o en el triángulo supuso el 36%. El perfil descrito es el de una población equiparable a los estudios publicados.

Se identificó un subtipo histológico en el 21,1% de nuestra cohorte. Alrededor de la mitad de los pacientes presentaron un componente micropapilar, en diversa proporción, coincidente con el protagonismo de esta característica en la literatura (*Sanguedolce et al., 2021*). El subtipo micropapilar expresa HER2 con mayor frecuencia que el resto (*Moktefi et al., 2018*). Realizamos un estudio de CV-T1AG diagnosticados por RTUV entre 2016-2020 en la que determinamos un 27,1% de SH, presentándose más de uno en el 34,4%. La incidencia en NMICV en la literatura, varió entre el 6,4% - 49,1% (*Jin et al., 2020; Miyake et al., 2021*).

Investigamos la subestadificación T1 por su repercusión sobre el pronóstico. Con la finalidad de facilitar el análisis, transformamos la clasificación en binaria. Encontramos T1a en el 53% y T1b+c en el 41%. Orsola et al. comunicaron T1a 44,5 % y T1b+c 55,5 % (*Orsola et al., 2015*).

En el estudio de Lim et al. encontraron T1a en el 65,8%, T1b en el 11,8% y T1c en el 22,4% (T1b+c 34,2%) (Lim et al., 2015)

Clasificamos la muestra según los modelos de estratificación de riesgo de recurrencia y progresión más utilizados en la clínica, EORTC 2006, CUETO y EAU-21 (tablas 3, 4 y 5). La mayor parte de los pacientes presentaron mayores valores de riesgo de progresión que de recurrencia al ser tumores primarios, siendo la “recurrencia previa” una variable que incrementa la posibilidad de su reaparición (Sylvester et al., 2021). El modelo EAU-21 los clasificó como “alto” (79,3%) o “muy alto” riesgo de progresión. El grupo de “muy alto” se definió fundamentalmente a partir de la presencia de un SH.

8.3 DETERMINACIÓN ESTADO HER

8.3.1 Sobreexpresión HER2

La determinación del estado HER2 puede ser realizada desde el estudio del gen a la proteína con diferentes métodos. Los más aplicables en clínica son la IHQ para el estudio del receptor proteico de membrana HER2 y la FISH para la amplificación del gen *ERBB2*. Nuestra elección de la determinación simultánea de la expresión y de la amplificación pretende ser una aportación a las limitadas publicaciones que comunican datos analíticos conjuntos. Además ofrece la posibilidad de definir grupos diagnósticos más modernos como HER-bajo (“HER2-low”) y definir un diagnóstico HER2 que en tumores de otros órganos establece la indicación terapéutica (Rosli et al., 2022; Scherrer et al., 2022).

Recordamos que la sobreexpresión HER2 se produce en el 15-20% del cáncer de mama, 10-30% del gástrico, 20-30% del de ovario y en menor porcentaje en otras localizaciones. Se asocia con progresión tumoral y mal pronóstico (Lei et al., 2023; Soria et al., 2016).

Scherrer et al. en su revisión entre los años 2000-2021, publicaron una media de sobreexpresión en los estudios de CV localmente avanzados o diseminados del 25,4% (4,3% - 83,3%), mientras que en los localizados fue del 24,6% (11,4% - 76%) (Scherrer et al., 2022). Otras revisiones refieren intervalos diagnóstico similares (Abdelrahman et al., 2019; Cimpean et al., 2017; Hegazy et al., 2015; Sanguedolce et al., 2015; Zhao et al., 2015). En nuestro estudio obtuvimos una sobreexpresión 3+ en el 19,3% de la cohorte “166”, el 19,5% en la subcohorte “150” y el 18,4% en la “104”. La comparación con las publicaciones previas presenta dificultades conceptuales, como hemos visto previamente, ya que no son pocos los estudios que consideraron sobreexpresión positiva los resultados 2+ o 3+ (Abdelrahman et al., 2019; Chae et al., 2022; Rosli et al., 2022). La adopción de esta definición no se explicó con claridad por lo que presumimos que se realizó para facilitar el cálculo estadístico mediante el establecimiento de una variable binaria. Otra explicación podría ser que lo hicieran a semejanza de otras localizaciones tumorales dónde la incorporación de 2+ al resultado positivo pretendió favorecer la indicación de tratamiento a mayor número de pacientes, ante una no clara inferioridad en la respuesta terapéutica. Estudios modernos del grupo de Cormio y Sanguedolce analizaron 67 pacientes T1AG, con variables similares a nuestra cohorte, pero definiendo como positividad 2+ o 3+. Concluyeron un resultado de sobreexpresión en el 43,3%, claramente superior a nuestro resultado (Cormio et al., 2017; Sanguedolce et al., 2018). Si nosotros adoptásemos esa definición alcanzaríamos más de un 70% de positivos.

La sobreexpresión HER2 se relacionó con mayor grado y mayor estadio (Abdelrahman et al., 2019; Agrawal et al., 2020; El Ochi et al., 2017; Hegazy et al., 2015; Lim et al., 2015; Moktefi et al., 2018). Muestras con estadios y grados variados pueden limitar la interpretación del dato para T1AG o directamente no ser evaluables. Simon et al. estudiaron 322 tumores T1 que tuvieron una expresión 3+ del 13%. Analizando este dato global, se observa que reúne un

grupo G3 con resultado del 15,7% con otro G2 del 9,4 % (*Simon et al., 2003*). Janane et al. investigaron 84 tumores T1 con una expresión 3+ del 52,4%, agrupando un grupo G3 con un 68,2% y otro G2 con un 35% (*Janane et al., 2011*). Algunos autores defienden que la mayor diferenciación pronóstica de la clasificación OMS-1973 (G1-G3) en relación con la OMS-2004 (BG/AG) podría basarse en esta expresión diferente de HER2 en tumores de AG (G2 + G3) (*Compérat et al., 2021*).

Chae et al. analizaron una muestra mixta de 248 pacientes (Ta 99, T1 79, T2 70) y demostraron una diferencia en la expresión HER2 relacionada con el estadio. La positividad, 2+ o 3+, fue superior en T1 (19%) que en Ta, pero en T1 fue similar a T2 (*Chae et al., 2022*). Esta información singulariza a los T1AG dentro de los NMICV y los acerca a la órbita de los MICV. Garczyk et al. estudiaron 128 tumores CIS y comunicaron una expresión 3+ en el 67%. Los resultados 3+ en otra cohorte de 156 CIS (Aachen/Munich) fue del 32% (*Garczyk et al., 2021*). Estos elevados porcentajes son los esperados en tumores situados en el origen de la vía no papilar del desarrollo del MICV. Las series mixtas con presencia de NMICV tenderán a disminuir el resultado de la sobreexpresión y la de MICV a incrementarla. Ding et al. investigaron una muestra de 238 tumores Ta-T1/G1-G3 (T1 36,6%) y encontraron sobreexpresión del 21% (*Ding et al., 2015*). Charfi et al. analizaron un grupo de 151 tumores de estadio variado, NMICV 66,2% (AG 31,8%) y descubrieron una expresión 3+ en el 5% de T1 (*Charfi et al., 2013*). El Ochi et al. investigaron 103 pacientes, siendo NMICV un 79,6%. Con un punto de corte de 30%, el resultado 3+ fue del 11,7% y 2+, 2,9% (*El Ochi et al., 2017*). Agrawal et al. analizaron una cohorte mixta de 68 NMICV y 25 MICV. La sobreexpresión positiva, 2+ o 3+ en los NMICV-AG fue del 29% y 36% para los MICV (*Agrawal et al., 2020*). Los subanálisis en los estudios conducen a subcohortes pequeñas de menor validez estadística.

Las publicaciones más recientes ofrecen resultados contradictorios. La mayoría son mixtas en el estadio y poco numerosas, aunque con el beneficio de emplear criterios ASCO-CAP 2018. Franceschini et al. estudiaron 60 tumores MICV estudiados en piezas de cistectomía radical con un resultado 3+ del 3% y 2+ también del 3%, bajos para los habituales datos de la literatura (*Franceschini et al., 2020*). Mohanty et al. investigaron 78 tumores estadios I-IV, micropapilares 29,48%, luminales 50%, siendo 3+ el 28,2% y 2+ el 7,7%, relación inversa, poco habitual entre los dos niveles de expresión (*Mohanty et al., 2021*). Rosli et al. analizaron una cohorte de 69 pacientes pTa-pT3 (T1 55,1%, AG 49,3%), con un resultado de positividad, 2+ o 3+, del 18,8%. En el subgrupo T1 fue 43,5% y en G3, 33,3% (*Rosli et al., 2022*). Bai et al. estudiaron la expresión HER2 en 108 pacientes (NMICV 35,2% + MICV) tratados mediante CR. Determinaron una sobreexpresión en el 57,4%, en la subcohorte de NMICV fue del 28,9%, siendo 3+ el 13,9% (*Bai et al., 2022*).

Se han publicado estudios de países con una epidemiología del CV diferente a los países desarrollados. Valoraron muestras pequeñas y mixtas en estadio y grado. Malik et al. de Pakistán, encontraron una expresión positiva del 54% (*Malik et al., 2022*). Samra et al. de India, comunicaron una expresión del 65%, asociada con el AG (*Samra et al., 2023*). Haruna et al. de Nigeria, obtuvieron un 40% de tumores 3+ y también asociación con el grado (*Haruna & Atanda, 2022*). Hammam et al. comunicaron que la esquistosomiasis no parece influir en la expresión de HER2 (*Hammam et al., 2015*). Los datos anteriores sustentan la hipótesis de que pueden existir variaciones étnicas en relación con el estado HER2. Bellmunt et al. publicaron datos de una muestra de 111 tumores primarios de España y 102 de Grecia, hallando expresión 3+ en el 22% de la población de origen español y en el 4% de la griega. La amplificación positiva fue del 20% y 4%, respectivamente. Estos autores recomendaron la caracterización molecular de los pacientes que participen en ensayos en los que se prueben fármacos con diana

en HER2 (*Bellmunt et al., 2015*). No conocemos hasta qué punto estas variaciones pueden deberse a un sesgo en la metodología y/o a características de las cohortes estudiadas.

Se investigó la evolución del estado HER2 en la diseminación tumoral. Bolenz et al. encontraron una tasa superior de sobreexpresión en adenopatías positivas comparado con el tumor primario (*Bolenz et al., 2010*). Contrariamente, Hammam et al. comunicaron que la frecuencia de casos positivos en los ganglios neoplásicos centinela fue 89 %, en los ganglios regionales, 74%, y en las metástasis a distancia, 47% (*Hammam et al., 2015*). Grigg et al. informaron tasas de 3+ del 10,6% y de 2+ del 24,7% en el tumor primario, en tanto que en las metástasis fue 9,8% y 12,6%, respectivamente. Un subanálisis de 79 tumores pareados (primario/metastásico) reflejó una pérdida de la expresión en la metástasis del 55%. Este grupo recomienda la determinación del estado HER2 en las metástasis y no en el primario o adenopatía regionales, en ensayos de terapias dirigidas a pacientes con afectación sistémica (*Grigg et al., 2021*). La disminución de la expresión de HER2 debería reducir el potencial de crecimiento de las células tumorales, por lo que en las metástasis a distancia la señalización HER2 parece reemplazarse por otras señales estimulantes (*Hammam et al., 2015*).

8.3.2 Amplificación *ERBB2*

La ausencia del estudio simultáneo de la sobreexpresión y de la amplificación genera el posible riesgo de perder información útil sobre el comportamiento clínico del estado HER2. Además, existen indicios que apoyan que FISH podría ser la metodología más adecuada en el carcinoma urotelial (*Moustakas et al., 2020*).

La amplificación de HER2 se observa entre el 15-30% en el cáncer de mama invasivo, del 10-30% del gástrico, hasta el 83% en el esofágico, del 14-80% en el uterino, del 20-30% en el ovario, 12% en el pulmón y 3% en el colon (*Mohanty et al., 2021*). Lattanzi et al. estudiaron datos de perfil genómico en una cohorte de 1073 pacientes, mixta en los estadios, de forma retrospectiva. El 16% tenía alguna alteración oncogénica, incluido un 11% con una mutación “driver” de HER2 y el 7% con amplificación. La tasa de amplificación fue 9% en MICV y M+CV en comparación con 3% en NMICV (*Lattanzi et al., 2022*). Cancer Genome Atlas Research Network informó sobre la presencia de una mutación o amplificación de *ERBB2* hasta en un 9% del cáncer vesical (*Rodriguez-Vida et al., 2018*).

Chu et al. realizaron una secuenciación dirigida del exoma en 139 tumores T1AG y 191 tumores T2. Los pacientes T1 de “muy alto riesgo” presentaban más alteraciones genómicas en *TP53*, *ERBB2* y *RB1* y menos en *FGFR3*. Demostraron un perfil más similar a los tumores T2 que a los NMICV. Concluyeron que el estudio molecular unido a las características clínicas y patológicas de la enfermedad T1AG podría mejorar la estratificación del riesgo y la selección del tratamiento (*Chu et al., 2023*).

En nuestro estudio, el porcentaje de amplificación supera al de sobreexpresión. En la cohorte “166”, sobre 154 tumores válidos, resultó positiva en el 25,3%. Por grupos diagnósticos se identificaron como “grupo 1”, el 16,2% y como “grupo 5”, el 57,8%. En el cáncer de mama estos dos grupos suponen el 95% de los tumores evaluados (*Wolff et al., 2018*). En nuestro estudio alcanzan el 74%. Mohanty et al. estudiando una cohorte mixta de tumores vesicales estadios I-IV determinaron amplificación en el 28,2%. Clasificados por grupos, se presentó un grupo 1 del 22,7% y grupo 5 del 49,3% (*Mohanty et al., 2021*).

Como ocurre en la sobreexpresión, los resultados de la amplificación en la literatura se distribuyen en un amplio rango (*Chen et al., 2015; Scherrer et al., 2022*). Desde valores menores al 10% (*Krüger et al., 2005; Laé et al., 2010; Latif et al., 2003*), pasando por intermedios entre 10 y 20% (*Franceschini et al., 2020; Millis et al., 2015*), hasta superiores a 20%, llegando hasta 33% (*Hammam et al., 2015; Mohanty et al., 2021; Moktefi et al., 2018; Nedjadi*

et al., 2016) (ver anexo 1). Nuevas modalidades diagnósticas facilitan la determinación, pero no alteran los datos de una manera significativa. Agrawal et al. encontraron que la correlación entre FISH y la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa mejora cuando la positividad se corresponde con un nivel alto de amplificación (relación número de señales/núcleos ≥ 10) (Agrawal et al., 2020).

Tabla 19. Estado HER2 en el carcinoma urotelial de vejiga. Literatura comparada

	n	Hombre	Edad (media)	Estadio	HER2 +	ERBB2 +
Latif (2003)	25	80%	71,3	NMICV T1 50%	(2+) 15% (3+) 57%	8%
Krüger (2005)	73	82%	67	T1	(2+) 20% (3+) 12%	8%
Janane (2011)	84	88%	54,8	T1	(3+) 52,4%	
Olsson (2012)	201	83%	73	T1	(2+) 9% (3+) 3%	
Bongiovanni (2013)	83			T1	(2+) 33,7% (3+) 25,4%	
Chen (2013)	404	85,6%	71	NMICV T1 32,9%	7,4%	4% T1 7,5% AG 9%
Ding (2015)	238	81,9%	67	NMICV T1 36,6%	(2-3+) 21% T1 29,9%	
Hegazy (2015)	88	86,4%	60,5	NMICV G3 27,3%	(+) 54,5% G3 33,3%	
Lim (2015)	141	86,3%	68,9	NMICV T1 53,9%	(2+) 2,1% (3+) 2,1% T1AG 6,6%	2,8% T1AG 5,2%
Cormio (2017)	67	88%	71,7	T1	(2-3+) 43%	
Bolenz (2010)	198	78,8%	66,7	Mixta G3 92,9%	27,8% NMICV 24,2%	
Lae (2010)	1005			MICV	(2+) 4,2% (3+) 5,0%	5,0%
El Gehani (2012)	36	84,6%	67	Mixta AG 30%	(2+) 25% (3+) 27,8%	
Hammam (2015)	33	69,7%	53	Mixta T1 21,2%	(2+) 33% (3+) 27%	33%
Millis (2015)	273	64%	66,3	Mixta	(3+) 10,2%	12%
Nedjadi (2016)	160	83,1%	70	Mixta AG- 56%	(2+) 36% (3+) 24%	25%
El Ochi (2017)	103	93,2%	63	Mixta Ta-1 79,6%	(2+) 2,9% (3+) 11,7%	
Moktefi (2018)	188	83,5%	62	MICV	(2+) 52% (3+) 4%	30%
Agrawal (2020)	93			Mixta T1 40%	(2+) 14% (3+) 19%	8,6%
Franceschini (2020)	61	82%	72	MICV	(2+) 3% (3+) 3%	12%
Moustakas (2020)	48	93%	68	NMICV T1 50%	(2+) 45,8% (3+) 12,5%	
Grigg (2021)	149	81,9%		Mixta T1 20%	(3+) 10,6%	
Mohanty (2021)	78	69,2%	59	Mixta		28.2%
Rosli (2022)	69	81,1%	68	Mixta T1 55%	(2-3+) 18,8% T1 11,6%	

Nota: Elaboración propia a partir de los datos recogidos de los autores, referenciados en la bibliografía

10% de células tumorales, con un resultado del 11,2% (*Simon et al., 2003*). Lim et al. en NMICV utilizaron SISH para la determinación de la amplificación y la encontraron en el 2,8 % de los NMICV, el 5,3 % en T1, el 5,9 % en NMICV de alto grado y el 7,1 % en T1AG. No se observó en los tumores de bajo grado y estadio Ta (*Lim et al., 2015*). Chen et al. comunicaron resultados en 404 NMICV. Definieron la positividad como una relación $ERBB2/CEP17 \geq 2,2$ y obtuvieron altas amplificaciones de *ERBB2* en un subconjunto de NMICV de alto riesgo de recurrencia y progresión, 9% en NMICV de alto grado y 5,1% en T1. La literatura no presentó amplificación en tumores de bajo grado, lo que da a entender que es un evento adquirido en el alto grado probablemente debido a la mayor inestabilidad genética y que da lugar a un peor pronóstico (*Chen et al., 2013*).

8.3.3 Concordancia sobreexpresión – amplificación.

El cáncer de mama presenta unos valores de referencia de amplificación entorno al 20% en tanto que la sobreexpresión se sitúa alrededor del 30%. La explicación se basa en la existencia de mecanismos alternativos para la sobreexpresión, como la disminución de la destrucción de los receptores o una transcripción regulada al alza, mecanismo reconocido en diversos factores de crecimiento (*Hussein et al., 2021*). El cáncer gástrico, a diferencia del cáncer de mama, presenta una tasa de amplificación superior a la de sobreexpresión, con presencia de casos amplificados con expresión débil o nula. Puede deberse a la existencia de artefactos preanalíticos en los tejidos que afectan negativamente la determinación IHQ. Por ejemplo, el ADN está mejor preservado en parafina y es más resistente a los artefactos de procesamiento del tejido. Alternativamente, podría estar alterado el mecanismo transcripcional (*Franceschini et al., 2020*).

La asociación entre la amplificación del gen y la sobreexpresión de la proteína no está bien establecida en el cáncer de vejiga. Laé et al. en un estudio multicéntrico de 1005 pacientes diagnosticados de MICV primarios concluyeron que en el tumor vesical, como en el cáncer de mama, la verdadera sobreexpresión es resultado de la amplificación (*Laé et al., 2010*). Este argumento fue corroborado por Kocsmar et al. que obtuvieron una fuerte asociación entre sobreexpresión y amplificación (*Kocsmár et al., 2022*). Sin embargo, Kiss et al. observaron tumores MICV no amplificados que presentaron expresión 3+. Identificaron neoplasias con amplificación, una elevada tasa de metilación y con escasa expresión de ARNm/proteína (*Kiss et al., 2017*). Moustakas et al. defienden que la aplicación de los criterios de expresión HER2 del cáncer de mama al carcinoma urotelial puede no ser necesariamente exacto debido a diferencias citológicas. Propugnan que el estudio de la amplificación podría ser una metodología más adecuada para detectar el estado HER2 en el carcinoma urotelial (*Moustakas et al., 2020*). Otros motivos que explicarían la discordancia podrían relacionarse con factores epigenéticos (*Albarrán et al., 2022*).

En nuestro estudio, obtuvimos una concordancia sobreexpresión-amplificación con un índice kappa de 0,848, que indica una correlación muy buena. En el estudio de Bellmunt et al., se comunicó un coeficiente kappa de 0,47 (*Bellmunt et al., 2015*). Millis et al. analizaron 441 MICV / M+ e informaron sobreexpresión en 10% y amplificación 12% siendo kappa 0,589 (*Millis et al., 2015*).

Yan et al. comunicaron una concordancia del 90,1% (*Yan et al., 2015*). Chen et al. utilizando un punto de corte del 30% en el estudio IHQ, encontraron 46,7% de casos sobreexpresados sin amplificación. La elevación del punto de corte a 50% redujo el número de expresados positivamente, mejorando la especificidad a 99,5% y la sensibilidad a 93,8% (*Chen et al., 2013*). Con la cifra de corte anterior para la sobreexpresión, Agrawal et al. comunicaron una concordancia del 50% (*Agrawal et al., 2020*). En una muestra mixta en estadios, Nedjadi et al. demostraron una concordancia entre sobreexpresión 3+ y amplificación del 71% (BDISH) y del 73,3%

para Cimpean et al. (Cimpean et al., 2017; Nedjadi et al., 2016). Parece existir concordancia entre la sobreexpresión 3+ y la amplificación, resintiéndose esta relación en los casos con expresión 2+ (Scherrer et al., 2022). Zhou et al. mediante una determinación FISH, encontraron mayor número de casos amplificados en 3+ (60%), que en 2+ (16,7%) (Zhou et al., 2023).

8.4 ASOCIACIÓN VARIABLES DE RIESGO Y ESTADO HER2

Estudiamos la asociación entre variables de riesgo clínicas y patológicas con el estado HER2. El establecer una muestra de tumores primarios, homogénea para factores pronósticos muy influyentes como estadio y grado, nos permitió evaluar mejor las restantes variables.

La relación de estas dos variables con la sobreexpresión de HER2 presenta resultados controvertidos, tanto positivos (Bai et al., 2022; Ding et al., 2015; Nedjadi et al., 2016; Rodríguez-Pena et al., 2019; Sanguedolce et al., 2018), como negativos (Kumar et al., 2015). La sobreexpresión se incrementa con el grado y la recurrencia (Agrawal et al., 2020; Hegazy et al., 2015; Zhao et al., 2015). Rosli et al. descubrieron una asociación con el grado pero no con el estadio (Rosli et al., 2022). Gan et al. identificaron sobreexpresión de HER2 asociada con el grado y el estadio elevado. En un análisis de subgrupos de su metaanálisis, no encontraron asociación con el estadio NMICV (Gan et al., 2021). En un análisis NGS de una cohorte de 105 NMICV, los tumores de estadio y grado más altos se enriquecieron de manera constante con alteraciones de HER2 (Pietzak et al., 2017). Un reciente estudio NGS sugirió que la amplificación de HER2 ocurrió más frecuentemente en pacientes con MICV-metastásico que en pacientes con NMICV (Lattanzi et al., 2022).

Nuestra investigación encontró asociación de la sobreexpresión con dos variables, “subestadificación T1” ($p=0,043$) y “subtipificación histológica” ($p=0,040$), en particular respecto a los subtipos de alto riesgo del modelo EAU-21 ($p=0,013$). Nuestro hallazgo apoyaría la relación entre el estado HER2 y la adquisición de características moleculares de alto riesgo de progresión. Sin embargo, esto no se corrobora al estudiar la amplificación (“subestadificación T1”, $p=0,184$; “subtipo histológico”, $p=0,218$). El diagnóstico HER2, mantiene las asociaciones de la sobreexpresión. Franceschini et al. comunicaron que el CV urotelial puro es el fenotipo con las tasas más altas de expresión y amplificación. Recomendaron la determinación HER2 en todos los tipos histológicos y no sólo en los que se informaron hasta ese momento como más probables (micropapilar, plasmocitoide) (Franceschini et al., 2020). Otros defienden los datos clásicos de menor positividad del estado HER2 en el tipo convencional puro (6%) que en el subtipo micropapilar (12%) y en el de diferenciación escamosa (11%) (Moktefi et al., 2018).

Encontramos asociación entre la variable “CIS concurrente” y amplificación ($p=0,045$) pero no con la sobreexpresión ($p=0,697$). Gan et al. realizaron un metaanálisis de 14 artículos y 1398 pacientes y comunicaron la asociación de la sobreexpresión con CIS (Gan et al., 2021). Hegazy et al. no la ratificaron (Hegazy et al., 2015).

La asociación del “tabaquismo” con la amplificación, ($p=0,010$), parece soportar la relevancia etiopatogénica de este factor. Sin embargo, Li et al. no ratificaron este resultado, ni tampoco encontraron asociación significativa con la “edad” ni el “género” (Li et al., 2023).

El análisis de la subcohorte “104” ofreció la asociación de dos variables relacionadas con la situación inflamatoria-inmunológica de riesgo. Por un lado, “relación neutrófilos/linfocitos” ($p=0,047$) respaldada por varios estudios que coinciden en resaltar su valor al asociarla con la

recurrencia y la progresión en el NMICV (*Vartolomei et al., 2018*). El diagnóstico HER2 se asoció con “infiltración linfovascular” ($p=0,041$). Nedjadi et al. en una cohorte mixta NMICV-MICV encontraron asociación con ILV que se objetivó en un 17%, siendo difícil de valorar en muestras sin tumores con invasión muscular y con un número limitado de sujetos (*Nedjadi et al., 2016*). Esta última asociación puede relacionarse con la degradación de la matriz extracelular provocada por la activación de HER2 (*Bolenz et al., 2010*).

En relación con la clasificación de los pacientes de la muestra en grupos de riesgo, los cuales valoran simultáneamente un conjunto de variables, encontramos asociación de la sobreexpresión con el modelo “CUETO-recurrencia” ($p=0,024$) y del diagnóstico HER2 con el modelo “CUETO-recurrencia” ($p=0,011$) y “CUETO-progresión” ($p=0,039$) y con “EORTC-recurrencia” ($p=0,021$). No se encontró ninguna asociación con la amplificación.

La literatura, fuera de la asociación con el estadio y el grado, presentó resultados limitados y controvertidos para otras variables de riesgo pronóstico. Redondo et al. no establecieron ninguna significativa (*Redondo-Gonzalez et al., 2015*). Ding et al. identificaron la asociación con “multifocalidad”, “tamaño” y el modelo “EORTC-progresión” (*Ding et al., 2015*). Gan et al. comunicaron la asociación de la sobreexpresión con “patrón de crecimiento” (papilar), “tamaño” y “multifocalidad” (*Gan et al., 2021*). Esta última no se asoció en el estudio de Hegazy et al. (*Hegazy et al., 2015*).

Aunque no se investigó en este estudio, recogemos de la literatura la mayor presencia de alteraciones del estado HER2 en los tumores luminales que en los basales (*Kiss et al., 2017*). Eriksson et al. estudiaron la expresión y amplificación HER en relación con la clasificación molecular de Lund en 299 pacientes de una muestra mixta en estadio y grado (T1 30%). Una elevada expresión y amplificación coincidió muy bien con el subtipo Urotelial (Uro) y Genómicamente inestable (GU), ambos del grupo luminal. En el subtipo Uro, la modificación del estado HER2 podría ser una parte del proceso de progresión de NMICV a MICV. En contraste, en el subtipo GU se presentó como una característica fundamental. Por lo tanto, el estado HER2 pueda tener diferentes implicaciones en los tumores luminales debido a las diferencias del contexto. Menos de la mitad de las amplificaciones de *ERBB2* encontradas en tumores del subtipo Basal/SCC-like condujeron a un aumento del ARNm y de los niveles de proteína. Por lo tanto, los autores defienden que el reclutamiento de pacientes para la terapia dirigida a HER2 tendría que tomar en cuenta los subtipos moleculares (*Eriksson et al., 2017*).

8.5 ESTADO HER2 COMO FACTOR PRONÓSTICO

Inicialmente se consideró que la sobreexpresión y la amplificación se presentaban en el estadio avanzado del CV. Sin embargo, se identificó que su aparición podía preceder a la progresión, incluso diagnosticarse en una etapa temprana del NMICV (*Chae et al., 2022*).

La recurrencia y la progresión son eventos fundamentales en el pronóstico de los tumores NMICV de alto riesgo. La recurrencia, en particular la de alto grado, favorece la progresión a MICV. La progresión podría considerarse un factor subrogado de la supervivencia. Los resultados de recurrencia y progresión están influenciados por el tratamiento. Existe un amplio consenso en el tratamiento y seguimiento clínico de los NMICV. Los tumores de riesgo intermedio y alto se vigilan de forma estricta hasta el segundo año, aliviándose el control a partir de este momento. Se admite la indicación de tratamiento adyuvante con instilaciones endovesicales de

BCG tras la realización de una RTUV completa y R-RTUV si está indicada (*Babjuk et al., 2022*). La tasa de progresión en los NMICV es del 9,5-21% (*van den Bosch & Witjes, 2011*). Las series que fundamentaron el modelo “EAU-21”, pacientes tratados exclusivamente con quimioterapia endovesical, presentaron una tasa de progresión a 5 años del 9,6% en el grupo de “alto riesgo” y del 40% en el grupo “muy alto riesgo” (*Sylvester et al., 2021*). La validación del modelo anterior en una cohorte de pacientes tratados con BCG, redujo la tasa de progresión a 5 años en el grupo “alto riesgo” al 7,4%, si sólo se indicó la inducción y al 5,3% si se añade tratamiento de mantenimiento. En el grupo “muy alto riesgo”, el resultado fue del 16,7% y del 14,9%, respectivamente.

Nuestra subcohorte “150” tuvo una mediana de seguimiento de 72,5 meses (RIQ 34-99,5, rango 7-223). Un 70% fueron tratados con BCG y a un 21,3% sufrieron R-RTUV. Presentó una recurrencia del 44,7% y una progresión del 16,7%, en relación con el tratamiento adyuvante realizado y en la distribución por grupos de riesgo de nuestra cohorte. Estos porcentajes son cercanos a los comunicados por Martin-Doyle y col. en un metaanálisis de 15.215 pacientes T1G3, con tasas a 5 años del 42% de recurrencia y del 21% de progresión (*Martin-Doyle et al., 2015*). Más del 90% de los eventos en nuestra muestra se produjeron antes de los 5 años, motivo por el que realizamos el estudio de supervivencia en relación con ese tiempo. En nuestro estudio la mediana de la recurrencia fue 13 meses (RIQ 9-26) y la de progresión 25 meses (RIQ 16-43). La subcohorte “104”, todos tratados con BCG y con R-RTUV en un 27%, ofreció unos datos evolutivos similares con una recurrencia del 47,1% y una progresión del 17,3%.

Descubrimos que la amplificación ofreció mayor valor pronóstico que la sobreexpresión, ya que ésta presentó asociación con la SLP-5 ($p = 0,002$) pero no la tuvo con la SLR-5 ($p = 0,161$), en tanto que la amplificación se asoció significativamente con la SLR-5 ($p = 0,029$) y también con la SLP-5 ($p = 0,004$). El análisis multivariante de Cox indicó que la amplificación es un factor pronóstico independiente, que aproximadamente duplicó el riesgo de recurrencia (HR 2,00 IC-95% 1,15 - 3,48; $p = 0,014$) y triplicó el de progresión (HR 2,97 IC-95% 1,30 - 6,78; $p = 0,010$). El diagnóstico HER2 se asoció tanto con la SLR-5 ($p = 0,035$) como con la SLP-5 ($p = 0,001$).

La literatura comparada del valor pronóstico del estado HER2 presentó resultados controvertidos, teniendo siempre en mente la heterogeneidad de las muestras, de la metodología y de los tratamientos empleados. La mayor parte de las investigaciones se centraron en la determinación de la sobreexpresión como factor pronóstico.

Estudios de muestras con estadios mixtos de Zhao et al. (metaanálisis de nueve estudios, 1997-2014, 2242 tumores), Chae et al. y Gan et al. (metaanálisis) defendieron la asociación de la sobreexpresión con SLR (*Chae et al., 2022; Gan et al., 2021; Zhao et al., 2015*). Gan et al. presentaron la sobreexpresión como un factor pronóstico independiente para la recurrencia y la progresión. Otros autores ratificaron su relación con un comportamiento más agresivo (*Sanguedolce et al., 2023; Yan et al., 2015*). Sin embargo, Soria et al. estudiaron la sobreexpresión en una muestra NMICV+MICV tratados con CR y no descubrieron asociación con el pronóstico (SLR, SCE, SG) (*Soria et al., 2016*). Agrawal et al. tampoco la encontraron con SLP (*Agrawal et al., 2020*). Se especula que la gran variedad de resultados en el estudio pronóstico de la sobreexpresión podrían explicarse por la mediación de otras moléculas como los receptores androgénicos o los componentes de los dímeros de la familia HER, HER3 y HER4 que intervienen en la función de HER2 (*Gan et al., 2021*).

El estudio de muestras exclusivas de NMICV pretende centrar el estudio del valor pronóstico del estado HER2 en un grupo con una base molecular diferente. Lim et al. en tumores NMICV con tratamiento heterogéneo, observaron una recurrencia del 48,2% y progresión del 16,3%, y comunicaron una asociación significativa de la sobreexpresión con la SLR (HR 3,46; IC95% 1,22-9,78; $p=0,019$) y SLP (HR 84,64; IC95% 11,66-614,39; $p<0,001$) (Lim et al., 2015). Hegazy et al (NMICV) encontraron asociación con la recurrencia (Hegazy et al., 2015). La cohorte estudiada por Ding et al. (NMICV, T1 36%), tratada con pirarrubicina, sin R-RTUV, descubrió que la sobreexpresión se relacionó significativamente con la progresión en el análisis multivariante, considerando las categorías positivo versus negativo. No se demostró la asociación con la recurrencia. En la *tabla 20* se ilustra la asociación de otras variables con el pronóstico (Ding et al., 2015).

Tabla 20.

Factores pronóstico (Sobreexpresión HER2) en NMICV.

ASOCIACIÓN VARIABLES NMICV Y PRONÓSTICO		
	UNIVARIADO	MULTIVARIADO
	HR; p	HR (IC95%); p
Recurrencia		
Número	3.14 $p<0,0001$	2,20 (1,43-3,37) $p<0,0001$
Tamaño	2.64 $p<0,0001$	2,05 (1,34-3,12) $p=0,001$
Estadio	2.92 $p<0,0001$	1,88 (1,19-2,97) $p=0,007$
Grado	3.13 $p<0,0001$	1,82 (1,02-3,22) $p=0,042$
HER2 (neg vs pos)	2.29 $p<0,0001$	$p=0,167$
Progresión		
Tamaño	3.59 $p<0,0001$	2,55 (1,10-5,91) $p=0,029$
Estadio	6.71 $p<0,0001$	2,92 (1,07-7,94) $p=0,036$
Grado	4.94 $p<0,0001$	2,87 (1,09-7,62) $p=0,033$
CIS	6,69 $p<0,0001$	3,26 (1,28-8,30) $p=0,013$
HER2 (neg vs pos)	5.155 $p<0,0001$	2,64 (1,14-6,12) $p=0,024$

Nota: Adaptada de Ding et al., 2015; autorizada por licencia 5684821161795 (Dec 2023). Springer Nature (*anexo 3*)

Investigaciones más recientes refuerzan la evidencia de la utilidad pronóstica del estado HER2. Abdelrahman et al. realizaron un estudio prospectivo, una excepción entre los habitualmente retrospectivos, que analizó la sobreexpresión en 60 NMICV de intermedio/alto riesgo, tratados con BCG con mantenimiento durante 1 año. Se presentó una recurrencia del 40% y progresión del 25%. Encontraron asociación con SLP, pero no con SLR (Abdelrahman et al., 2019). Moustakas et al. identificaron la sobreexpresión en 48 pacientes NMICV (T1 50%) tratados con insitilaciones posoperatorias con BCG o QMT (MMC, epirrubicina). La sobreexpresión HER2 fue el único factor independiente asociado con una reducción en la recurrencia (Moustakas et al., 2020). Bai et al. concluyeron que disminuye la SLR y la SG a 5 años y es un importante predictor de recurrencia (HR 3,61; IC95% 1,07-12,18; $p=0,039$) (Bai et al., 2022). Kim et al. cuando analizaron 178 NMICV (T1 31,8%) e informaron que predijo la SLP y la SLR (Kim et al., 2023).

Algunos investigadores en cáncer de mama, establecieron que los resultados de amplificación se asocian mejor con el pronóstico (Brügmann et al., 2011). En el cáncer de vejiga, Chen et al. demostraron la asociación de la amplificación *ERBB2* con la recurrencia y la progresión. Este concepto trasladado a la clínica condicionaría la minuciosidad del seguimiento clínico. Al ser

muy rara en tumores de bajo grado, podría evitar el consumo de recursos en el control de estas presentaciones tumorales. Estos autores defendieron la determinación de la amplificación en los tumores de alto grado, excluyendo los de bajo grado (*Chen et al., 2013*). Goel et al. estudiaron 96 NMICV primarios (T1G3 55,2%) y defendieron la asociación con peor SLP (*Goel et al., 2022*). Sikic et al. estudiaron la amplificación mediante determinación de ARNm con RT-qPCR en 80 tumores T1, identificándola como factor pronóstico independiente de SLR más corta (HR 2,98; $p = 0,009$) (*Sikic et al., 2022*). Lattanzi et al. comunicaron que la mediana del tiempo hasta la progresión entre los pacientes con NMICV fue significativamente más corta para los tumores con amplificación (*Lattanzi et al., 2022*). Sin embargo, Gan et al. encontraron que la amplificación no se asociaba con la SLP (*Gan et al., 2021*).

Nuestros datos en T1AG se corroboran total o parcialmente por estudios con muestras similares, como los de Janane et al., que demostraron la asociación entre la sobreexpresión y la recurrencia (*Janane et al., 2011*). Breyer et al. analizaron 255 tumores mediante RT-qPCR y encontraron asociación con la SLP-5 años, lo que permitiría discriminar la progresión entre pacientes T1 + CIS y establecer la indicación de CR precoz (*Breyer et al., 2017*). Cormio et al. investigaron una cohorte de 33 tumores tratados con BCG inducción y mantenimiento un año (10 dosis) y 34 sin tratamiento. La sobreexpresión se asoció con la SLR (HR 2,80; IC95% 1,51 – 5,17; $p = 0,001$) y la SLP (HR 2,82; 1,04 – 7,62; $p = 0,041$) (*Cormio et al., 2017*). Esa misma cohorte, estudiada con el añadido de la determinación de *MLH1* y *MSH2* (factores de inestabilidad de microsatélites) mantuvo la predicción de la evolución, refrendando que cuantos más marcadores sean positivos, mayor será el riesgo pronóstico (*Sanguedolce et al., 2018*). Sin embargo, cohortes exclusivas de pacientes T1AG fracasaron en descubrir la asociación pronóstica (*Bongiovanni et al., 2013; Olsson et al., 2012*). Krüger et al. en una cohorte de 73 tumores, determinaron sobreexpresión 3+ (12%) y amplificación (8%), sin encontrar relación con la recurrencia o la progresión en el análisis multivariante de Cox (*Krüger et al., 2005*).

8.6 ESTADO HER2 COMO FACTOR PREDICTIVO

El fracaso del tratamiento con BCG indica la realización de una CR sin demora. Si pudiéramos predecirlo evitaríamos el riesgo de la pérdida de oportunidad de un resultado terapéutico correcto. En nuestra investigación consideramos “fallos de tratamiento con BCG” a aquellos que progresan o presentan una recurrencia de alto grado tras un tratamiento BCG “adecuado”, antes de los 2 años.

Estudiamos la subcohorte “104”, que elimina el tratamiento adyuvante como variable ya que todos fueron tratados con BCG. El estudio de supervivencia ofreció resultados similares a los de la subcohorte “150”. Encontramos una asociación significativa de la SLR-5 años con la amplificación ($p = 0,004$) y el diagnóstico HER2 ($p = 0,009$), pero no con la sobreexpresión ($p = 0,120$). La asociación con la SLP-5 años se estableció para la sobreexpresión ($p = 0,018$), la amplificación ($p = 0,006$) y el diagnóstico HER2 ($p = 0,005$). El estudio de variables mediante el método de regresión de Cox informó de la existencia de significación únicamente de la amplificación tanto con la recurrencia (HR 2,39 IC-95% 1,28 - 4,48; $p = 0,006$) como con la progresión (HR 4,69 IC-95% 1,69 - 12,99; $p = 0,003$).

Analizamos la asociación del fallo de BCG con el estado HER2 mediante las pruebas de Pearson y de Fisher y descubrimos la significación de la sobreexpresión ($p = 0,020$), la amplificación ($p = 0,003$) y el diagnóstico HER2 ($p = 0,003$), además de otras variables como “edad >70 años” ($p = 0,039$), “subestadificación T1” ($p = 0,027$) y “Tamaño >3 cm” ($p = 0,027$). El estudio

multivariante de Cox informó de la significación estadística tanto de la sobreexpresión (OR 6,47; IC95% 1,52 - 27,46; $p=0,011$), amplificación (OR 6,01; IC95% 1,87-19,29; $p=0,003$) y diagnóstico HER2 (OR 4,72 IC95% 1,66-13,44; $p=0,004$). La determinación del estado HER2 puede identificar pacientes que presentarán un fallo en el tratamiento de BCG.

En el estudio de Cormio et al., referido anteriormente, al estratificar por tratamiento BCG, se perdió la relación con la SLR y la SLP, probablemente por el escaso número de integrantes de la subcohorte (Cormio et al., 2017). Hegazy et al, indicaron que la sobreexpresión de HER2 fue predictora de fallo de tratamiento BCG en términos de alta recurrencia y progresión (Hegazy et al., 2015).

Se estudió la evolución de la sobreexpresión de HER2 en relación con el tratamiento adyuvante. Moustakas et al. lo investigaron en 48 tumores NMICV tratados con epirrubicina o MMC o BCG. Los valores iniciales fueron 3+, 12,5% y 2+, 45,8%, y tras el tratamiento el resultado se incrementó: 3+, 25%, y 2+, 52% (Moustakas et al., 2020). Ali et al. realizaron un infrecuente estudio prospectivo de 120 NMICV tratados con BCG inducción + mantenimiento. Tras el tratamiento los pacientes sufrieron un descenso de la sobreexpresión del 32,5% al 8,3% ($p<0,005$). Los autores defienden que si no se produce la disminución se debería interrumpir el tratamiento por ineficaz (Ali et al., 2023). Es conveniente que se acumule más evidencia sobre si HER2 en el NMICV ayuda a seleccionar los pacientes que se beneficiarían de la inmunoterapia BCG.

8.7 OTROS FACTORES PRONÓSTICO

El análisis de la cohorte “166” mediante la prueba de Pearson informó de la asociación de variables pronósticas con el estado HER2. La amplificación en “CIS”, la sobreexpresión y el diagnóstico HER2 en “subtipo histológico”, invitaría a la determinación de HER2 en su presencia. El análisis de los modelos de pronóstico orienta hacia la probable positividad del estado HER2 en los de pacientes de alto riesgo.

Las guías clínicas recomiendan la inclusión de la “subestadificación T1” en el informe histopatológico. Sin embargo, esta información no ha trascendido a los modelos de riesgo. En la subcohorte “150” encontramos que esta variable se asoció con la progresión en el análisis multivariante de Cox (HR 6,03 IC-95% 2,22 – 16,40; $p<0,001$). Esta relación encontró respaldo en la literatura (Contieri et al., 2023; Lim et al., 2015) A diferencia de nuestra investigación, se ha publicado la asociación no sólo con la progresión si no también con la recurrencia. Un metaanálisis mostró asociación con la progresión en siete estudios (HR 2,61; IC95% 1,61–4,23), además de otros seis con la recurrencia (HR 1,23; IC95% 1,01–1,49) (Kardhoust Parizi et al., 2020). Otros autores respaldaron estos datos (Asimakopoulos et al., 2021; de Jong et al., 2021; Olsson et al., 2013).

En nuestro estudio se identificó la asociación de la “subestadificación T1” con la sobreexpresión ($p=0,043$) en la cohorte “166” así como en la “104” ($p=0,018$). Dada la relación demostrada de la sobreexpresión HER2 con la SLP-5 años, respaldamos la introducción de su determinación en el diagnóstico de los tumores con infiltración profunda de la lámina propia (T1b+c).

La “localización tumoral” en cuello o trígono se reconoció como factor pronóstico independiente en el análisis multivariante tanto para la recurrencia (HR 1,91 IC-95% 1,10 - 3,30; $p=0,021$) como para la progresión (HR 2,84 IC-95% (1,24 - 6,49); $p=0,013$). También informó en la subcohorte “104” de su valor pronóstico asociada a la progresión (HR 3,98 IC-95% 1,43

– 11,07; $p=0,008$). La explicación patogénica puede fundamentarse en la estructura histológica diferente en la topografía vesical.

8.8 POLISOMÍA 17

Laé et al. demostraron “polisomía 17” en el CV (31%) en mayor frecuencia que en el cáncer de mama (8%), por lo que recomendaron su estudio (Laé et al., 2010). En nuestra serie, sobre 154 pacientes valorados, definiendo “polisomía 17” como CEP17/núcleo ≥ 3 , alcanzó el 44,8%; la disomía fue del 54,5%. Una revisión de la literatura informó que se asoció con los estadios-grados más elevados y con el pronóstico (recurrencia, progresión y supervivencia) (Janane et al., 2011). Chen et al. encontraron valores superiores en los tumores de alto grado (38,6%) y T1 (36,8%) (Chen et al., 2013).

Los diversos resultados vienen condicionados por la ausencia de un acuerdo en la definición de esta característica. Chen et al. la establecieron en un valor $>2,07$ (Chen et al., 2013). Nosotros utilizamos el punto de corte utilizado en cáncer de mama, >3 . Kocsmár et al. estudiaron pacientes NMICV (T1 52,22%, AG 47,78%) y definieron polisomía como una relación $\geq 2,25$ y alta polisomía $\geq 3,45$. El resultado fue 31,1% para la primera y 10% para la segunda. Se asoció con un grado y un estadio más altos. El estudio multivariante indicó que la suma de la presencia de la amplificación, la polisomía 17 y de los grupos de riesgo de EAU y AUA, mejoró la precisión pronóstica (Kocsmár et al., 2022). En nuestro estudio, se asoció únicamente con la sobreexpresión ($p=0,017$), sin significación para la SLR-5 años ($p=0,436$) y SLP-5 años ($p=0,157$). Chen et al. no demostraron la asociación con la recurrencia y la progresión (Chen et al., 2013).

8.9 DIANA TERAPÉUTICA. FUTURO.

La experiencia del uso del estado HER2 en el diagnóstico y el tratamiento del cáncer de mama y del esofagogástrico animó a estudiar su traslación al CV (Kunte et al., 2020). Las elevadas tasas de expresión del receptor HER2 en la localización vesical, en particular en los estadios más avanzados, hizo pensar en su uso como diana terapéutica (Koshkin et al., 2019). Otros receptores se han instalado en el tratamiento del CV tras la aprobación por la FDA en 2019 de erdafitinib en tumores con alteraciones FGFR2 y FGFR3 y el conjugado anticuerpo-droga (ADC) enfortumab vedotin con diana en nectina-4.

Los ensayos clínicos de la terapia anti-HER2 en el CV metastatístico no demostraron aportar ventajas sobre la indicada hasta el momento. Una de las razones podría ser una inadecuada inclusión de pacientes en relación con el estado HER2, sobreexpresión y/o amplificación. Su determinación parece ser importante para analizar la respuesta a los fármacos específicos (Koshkin et al., 2019). Algunos autores defienden que en los ensayos con agentes dirigidos a HER2, se debe investigar no sólo la sobreexpresión sino también la amplificación, independientemente de los resultados de la primera (Franceschini et al., 2020).

La estrategia del tratamiento en el campo de HER2 se establece mediante varias líneas:

- Anticuerpos monoclonales anti-HER2: trastuzumab, pertuzumab, margetuximab
- Inhibidores tirosinquinazas: tucatinib, lapatinib, neratinib
- Conjugados droga-anticuerpos (ADC) anti-HER2: trastuzumab-emasine (aprobación FDA 2013), trastuzumab-deruxtecan (FDA 2022, EMA 2023) (Goodson & Friedlander, 2023).

La aparición de los ADC ha renovado el interés en las terapias dirigidas a HER2. Incorporan altas concentraciones de un agente citotóxico a las células tumorales con antígenos diana y las

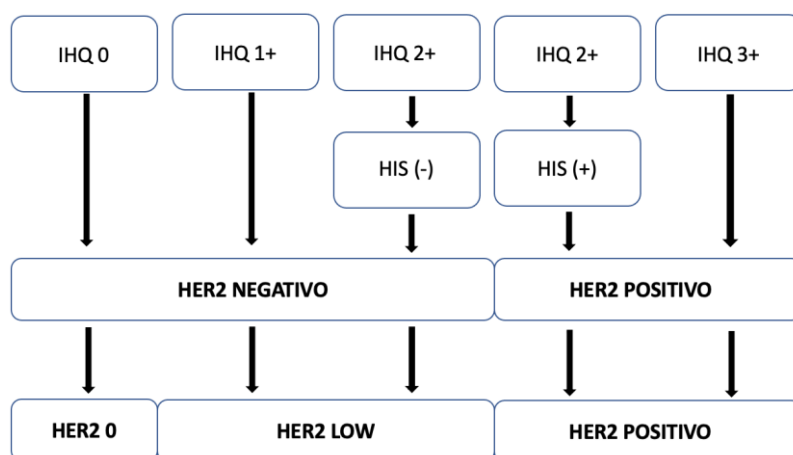
eliminan eficazmente con mínimos efectos secundarios sistémicos. La mayoría requieren de la amplificación génica para que sea un tratamiento eficaz (*Chae et al., 2022*). Los datos más prometedores provienen de 2 estudios en tumores amplificados (disitamab vedotin RC48 y trastuzumab-duocarmazine). RC48-ADC se estudió en pacientes previamente tratados con platino con sobreexpresión positiva en CV avanzado y ha demostrado resultados alentadores en (2+) o (3+) (*Sheng et al., 2021*). Un ensayo fase II de MRG002-ADC comunicó una tasa de respuesta del 65% (NCT04839510) (*Fenton & VanderWeele, 2022*). Actualmente, 30 ADC anti-HER2 se encuentran en ensayo clínico, para cáncer urotelial de vejiga metastásico mutado o amplificado. Tres han sido aprobados en diferentes partes del mundo (*Galsky, 2022*). Los enfoques novedosos incluyen ADC con inmunoterapia, células CAR-T y vacunas sensibilizadoras de HER2 (*Patelli et al., 2022*).

El mejor factor predictivo de la probabilidad de respuesta a los agentes anti-HER2 está representado por la sobreexpresión/amplificación de HER2 (*Bai et al., 2022; Marchiò et al., 2021*). La mayoría de estos ensayos requieren niveles de expresión de HER2 que sean 3+ por IHC o positivos por FISH. Sin embargo, pueden aparecer respuestas en pacientes con “HER2-bajo” (low). Tarantino et al fueron precursores en el establecimiento de este concepto en cáncer de mama (*Tarantino et al., 2020*). Banerji et al publicaron por vez primera los resultados del tratamiento de “HER2 bajo” con trastuzumab-duocarmazine en tumores de mama avanzados con respuesta completa del 28% al 40% (*Banerji et al., 2019*). La FDA en agosto 2022 aprobó trastuzumab-deruxtecan como el primer tratamiento para cáncer de mama con HER2-bajo irreseccable o metastásico ya que mejoró la supervivencia en relación con la quimioterapia. Este organismo recomienda la realización de la determinación con el anticuerpo 4B5 (*Modi et al., 2022*).

HER2-bajo se define como HER (2+) + *ERBB2* negativo o HER (1+). El número de receptores de HER2 en las células mamarias es una variable continua, desde 20.000 en las células normales y en el cáncer con sobreexpresión 0+, a multiplicarse por 100 en los que presentan sobreexpresión 3+ (*Ross et al., 2003; Zhang & Peng, 2022*). Los tumores con baja expresión presentan una reconocida variabilidad interobservador (*Karakas et al., 2023*). La definición HER2-bajo se corresponde con alrededor de 100.000 receptores, siendo este el límite inferior de eficacia con T-DXd. Estudios más modernos defienden que HER2-bajo y HER2 - 0+ pueden alcanzar tasas de respuesta similares (*Zhang & Peng, 2022*).

Se estima una incidencia de HER2-bajo de aproximadamente del 45-55% de cáncer de mama (*Zhang & Peng, 2022*). En nuestro estudio, se identificó en el 63,5% de 159 casos valorables: 30 pacientes HER2 1+ y 71 HER2 2+ con FISH (-).

Figura 35.
Algoritmo diagnóstico de HER2



Nota: Elaboración propia

El análisis de la amplificación mediante FISH puede identificar con precisión y rapidez a los pacientes que podrían beneficiarse de la terapia anti-HER2. Lei et al. informaron que en el cáncer urotelial, la respuesta al tratamiento con RC48-ADC tuvo una tendencia hacia un mayor beneficio en pacientes con FISH positivo en comparación con aquellos sin amplificación (61,5 % frente a 44,8 %, $p=0,059$) (Lei et al., 2023). Una vez más, reaparece la idea que defiende que la amplificación realiza una selección de pacientes de forma más favorable que la sobreexpresión (Fleischmann et al., 2011; Hammam et al., 2015).

La alteración HER2 en el NMICV se adquiere previamente a la invasión muscular y permanece en el estadio MICV. La valoración de HER2 en el NMICV y la administración de antiHER2 a los de alto riesgo podría disminuir la tasa de progresión. Hegazy et al. realizaron un estudio prospectivo de 42 pacientes con NMICV de alto riesgo. Determinaron la sobreexpresión de HER2 (52,38%) y en los positivos indicaron trastuzumab. La mayor parte de los tratados no tuvieron recurrencia (86,4%) (Hegazy et al., 2018). Una combinación de instilación y terapias dirigidas podría ser una opción adicional (Moustakas et al., 2020). Chae et al. propusieron HER2 como un antígeno potencialmente diana para tratamiento endovesicales alternativos a BCG (Chae et al., 2022). “There are no bad targets... just suboptimal approaches” (“no existen malas dianas... sí abordajes subóptimos”) (Galsky M., 2022).

La familia HER ha sido implicada en la aparición de la resistencia al tratamiento convencional con quimioterapia basada en platino para el CV. La quimioterapia parece producir también resistencia a los inhibidores de HER2 mediante la supresión de la expresión del receptor HER2 (Moustakas et al., 2020). Otros encontraron sobreexpresión en el cáncer de vejiga resistente a radioterapia y a quimioterapia (Hong et al., 2022).

8.10 LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO

Las limitaciones del estudio pueden afectar tanto a la validez interna, por la presencia de sesgos, como a la validez externa.

Presentamos un estudio ambispectivo de pacientes no consecutivos de una única institución y con un periodo de reclutamiento largo (2001-2019). La mayoría de los estudios publicados hasta la fecha han sido retrospectivos. Los pacientes cumplieron los criterios de inclusión / exclusión y fueron incluidos sin conocimiento previo de sus características clínicas, histológicas y evolutivas. El largo periodo de reclutamiento, 2001-2019, se relacionó con la inevitable aparición de variabilidad en el manejo de los pacientes, dada la modificación de las recomendaciones de las guías clínicas que han ido surgiendo. Sin embargo, la mayor parte de los pacientes fueron admitidos mayoritariamente entre 2011-2016. Ningún paciente rechazó la inclusión en el estudio.

Estudiamos más pacientes de los considerados en el cálculo del tamaño muestral (94 pacientes) por el riesgo de pérdidas en relación con la avanzada edad media de la muestra con riesgo de fallecimiento por causas no relacionadas con el CV. Además, intentamos que el grupo de pacientes tratados con BCG cumpliera con el tamaño muestral establecido. El número de tumores estudiados puede parecer escaso, pero se encuentra en el límite superior del rango de participantes de los estudios con objetivos semejantes. Una muestra pequeña pero homogénea, proporciona más información que una muestra grande pero heterogénea.

No se realizó instilación postoperatoria inmediata con quimioterápico, pero consideramos que es de poca utilidad en este grupo de pacientes (alto riesgo de progresión e intermedio de recurrencia) y además todos tuvieron lavado continuo con fisiológico/glicina en el postoperatorio (*Babjuk et al., 2022*). A pesar de su recomendación en guías clínicas, una revisión de la literatura presenta un uso irregular y escaso en los NMICV de alto riesgo, 29-65% (*van Rhijn & Burger, 2016*).

Las guías clínicas EAU/AUA/NCCN indican tratamiento con BCG en los pacientes de alto riesgo. Se considera aceptable si reciben 5 de 6 dosis de la inducción y dos dosis de mantenimiento o de una segunda inducción. En nuestra subcohorte “104” todos fueron tratados al menos con cinco dosis de BCG (considerada suficiente para la inducción) y 31% con mantenimiento (al menos seis dosis más). Algunos autores obtuvieron buenos resultados con BCG inducción y segunda inducción en caso de recidiva (*Herr et al., 2011; Kikuchi et al., 2022; Mohamed et al., 2020*).

Es posible que haya habido pérdida de información en el grupo de pacientes T1AG de “muy alto riesgo” ya que un número indeterminado en este estudio fue tratado directamente con cistectomía radical. Obviamente, este tratamiento impide el estudio de recurrencia o progresión en la localización primaria.

Transformamos variables continuas en categóricas, con la reconocida pérdida de información que se produce. Sin embargo, facilita la comparación con las variables utilizadas en los modelos de estratificación de riesgo. Las categorías en nuestro estudio se definen de acuerdo con las definidas en ellos. Se ha propuesto la clasificación del estado HER2 como una variable continua, para valorar la incorporación de los tumores con valores bajos a las indicaciones de terapia dirigida (*de Vries et al., 2023*).

Puede ser controvertida la inclusión simultánea de pacientes en la variable recurrencia también como casos de la variable progresión, ya que algunas recurrencias, progresaron en un segundo momento. En la cohorte “150” sucedió en 8 pacientes en los que coincidieron ambas variables.

Utilizamos la clasificación de Younes et al. (1990) para la subestadificación de T1 en tres categorías, por ser la de uso clínico en nuestro centro. Realizamos una fácil transformación a una clasificación binaria ya que consideramos que no se modificó la información y facilitó el análisis estadístico. Quizás, la inclusión de una clasificación micrométrica hubiera mejorado el análisis, pero no estuvo disponible para todos los pacientes.

Un estudio retrospectivo con utilización de material fijado en formol e incluido en parafina, puede presentar el problema de la calidad de la preservación tisular por la degradación proteica (*Zimpfer et al., 2023*). No se ha realizado un estudio específico sobre la calidad de la inmunoreactividad de los bloques de parafina archivados, pero los controles incluidos en cada MT garantizan la fiabilidad de las determinaciones. La mayoría de los casos estudiados no presentaron aparentes problemas de tinción.

El estudio de un único marcador para el estudio de supervivencia puede limitar el resultado. Shariat et al. defendieron que existen una relación directamente proporcional entre el número de marcadores alterados y el riesgo de progresión de los NMICV. Sin embargo, es conveniente la evaluación previa de marcadores moleculares que demuestren su valor independiente en una población homogénea de pacientes, como nosotros hemos realizado (*Shariat et al., 2007*).

Una limitación más general es el estudio de un único monómero, HER2, que interviene en la dimerización de la familia HER, siendo éste un fenómeno clave para su función (*Bolenz et al., 2010*). Sin embargo, al ser HER2 el miembro por el que más afinidad presentan el resto de los componentes de la familia, nos parece una aproximación conservadora y sencilla pero útil para el estudio del valor pronóstico. El estudio de HER2 permite establecer la posibilidad de una diana terapéutica en la floreciente época de los fármacos conjugados con anticuerpos HER2 (*Chae et al., 2022*).

En los tumores con amplificación *ERBB2* se identificó una inhibición de vías de señalización relacionadas con el sistema inmune (*Goel et al., 2022*). Hubiera sido interesante conocer el estado inmunológico-inflamatorio de los tumores. Ante la ausencia de marcadores más específicos, recurrimos al uso de la relación neutrófilos/linfocitos estudiada en sangre periférica preoperatoria. El umbral utilizado 3,0 está recomendado en la literatura, permite caracterizar el ambiente tumoral y se relaciona con la agresividad de la enfermedad (*Chen et al., 2021; Vartolomei et al., 2018*).

Es probable que nuestro estudio se hubiera enriquecido con la determinación de subtipos moleculares, ya que el estado HER2 parece tener una repercusión diferente en función del contexto determinado por el subtipo presente en el tumor (*Eriksson et al., 2017*). La clasificación molecular en el CV no es una práctica clínica en la actualidad y si nos remitimos a la clasificación binaria luminal-basal, la inmensa mayoría de los tumores T1AG son luminales.

En ausencia de criterios diagnósticos del estado HER2 específicos de CV, utilizamos los del cáncer de mama, que es el preferido en los estudios similares al nuestro. Sin embargo, esta

decisión puede conducir a errores ya que las células uroteliales no son equivalentes a las células ductales mamarias.

Consideramos que los resultados de este estudio realizado en el área sanitaria de Vigo pueden ser extrapolables al conjunto de la comunidad gallega y del estado por ser poblaciones con características epidemiológicas y de recursos sanitarios similares.

Las fortalezas de nuestra investigación son la adaptación a una metodología diagnóstica estandarizada y ampliamente avalada, criterios diagnósticos consensuados internacionalmente, revisión minuciosa del diagnóstico histológico y determinación completa del estado HER2, tanto la sobreexpresión como la amplificación. El estudio se adaptó a las directrices de la iniciativa STROBE.

9 CONCLUSIONES

1. El estudio del estado HER2 en los carcinomas uroteliales de vejiga T1AG informó de una sobreexpresión del 19,4%, una amplificación del 25,3% y un diagnóstico HER2 del 28,5%.
2. El diagnóstico HER2-bajo se identificó en un 63,5% de la muestra principal.
3. Se encontró una muy buena concordancia entre la sobreexpresión y la amplificación: índice $\kappa = 0,848$ (IC-95% 0,722 – 0,975).
4. La heterogeneidad intratumoral de HER2 fue para la sobreexpresión del 39,4% y para la amplificación del 27,8%.
5. Se encontró una asociación entre las variables tabaquismo y CIS con la amplificación y en el primer caso también con el diagnóstico HER2. La subestadificación T1 y el subtipo histológico se asociaron con la sobreexpresión y el diagnóstico HER2.
6. La amplificación se asoció con una disminución de la supervivencia libre de recurrencia y supervivencia libre de progresión, ambas a 5 años. Además, es un factor pronóstico independiente que aproximadamente duplica el riesgo de recurrencia tumoral y lo triplica en el caso de la progresión.
7. La amplificación y el diagnóstico HER2 fueron predictivos de la respuesta al tratamiento con BCG por su asociación con un incremento del riesgo de recurrencia de alto grado y/o progresión antes de los dos años.
8. Se reconoció la existencia de polisomía 17 en el 54% de la muestra. Se asoció exclusivamente con la sobreexpresión y no demostró valor pronóstico de la SLR-5 o SLP-5.

10 BIBLIOGRAFÍA

- Abdelrahman, A. E., Rashed, H. E., Elkady, E., Elsebai, E. A., El-Azony, A., & Matar, I. (2019). Fatty acid synthase, Her2/neu, and E2F1 as prognostic markers of progression in non-muscle invasive bladder cancer. *Annals of Diagnostic Pathology*, 39, 42-52. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2019.01.002>
- Abufaraj, M., Foerster, B., Schernhammer, E., Moschini, M., Kimura, S., Hassler, M. R., Preston, M. A., Karakiewicz, P. I., Remzi, M., & Shariat, S. F. (2019). Micropapillary Urothelial Carcinoma of the Bladder: A Systematic Review and Meta-analysis of Disease Characteristics and Treatment Outcomes. *European Urology*, 75(4), 649-658. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.11.052>
- Agrawal, V., Bharti, N., & Pandey, R. (2020). Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) gene amplification in non-muscle invasive urothelial bladder cancers: Identification of patients for targeted therapy. *Arab Journal of Urology*, 18(4), 267-272. <https://doi.org/10.1080/2090598X.2020.1814183>
- Ahmadi, H., Ladi-Seyedian, S. S., Konety, B., Pohar, K., Holzbeierlein, J. M., Kates, M., Willard, B., Taylor, J. M., Liao, J. C., Kaimakliotis, H. Z., Porten, S. P., Steinberg, G. D., Tyson, M. D., Lotan, Y., & Daneshmand, S. (2022). Role of blue-light cystoscopy in detecting invasive bladder tumours: data from a multi-institutional registry. *BJU International*, 130(1), 62-67. <https://doi.org/10.1111/bju.15614>
- Akgul, M., MacLennan, G. T., & Cheng, L. (2020). The applicability and utility of immunohistochemical biomarkers in bladder pathology. *Human Pathology*, 98, 32-55. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2020.01.004>
- Akiyama, T., Sudo, C., Ogawara, H., Toyoshima, K., & Yamamoto, T. (1986). The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science (New York, N.Y.)*, 232(4758), 1644-1646. <https://doi.org/10.1126/science.3012781>
- Alanee, S., Alvarado-Cabrero, I., Murugan, P., Kumar, R., Nepple, K. G., Paner, G. P., Patel, M. I., Raspollini, M. R., Lopez-Beltran, A., & Konety, B. R. (2019). Update of the International Consultation on Urological Diseases on bladder cancer 2018: non-urothelial cancers of the urinary bladder. *World Journal of Urology*, 37(1), 107-114. <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2421-5>
- Albagoush, S. A., & Limaïem, F. (2021, enero). *HER2. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. 2022 Oct 24.* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725819/> (acceso: 1-05-2023). StatPearls (Internet).
- Albarrán, V., Rosero, D. I., Chamorro, J., Pozas, J., San Román, M., Barrill, A. M., Alía, V., Sotoca, P., Guerrero, P., Calvo, J. C., Orejana, I., Pérez de Aguado, P., & Gajate, P. (2022). Her-2 Targeted Therapy in Advanced Urothelial Cancer: From Monoclonal Antibodies to Antibody-Drug Conjugates. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12659. <https://doi.org/10.3390/ijms232012659>
- Ali, M. Y., Aboelsaad, A. Y., Abdel Gawad, A. M., Abouelgreed, T. A., El Gammal, A. A., Ghoneimy, O. M., El-Dydamony, E. M., Alrefaey, A. A., Mohamed, E., Azzam, S.,

- Abdulmohaymen, A., Mohammed, Y., Abdelwahed, M. S., Elsayed, A. F. A., Fathi, B. A., Abd Alrahim, N. M., Farag, A. S., Mahmoud, A. R., Mohamed, H. I., ... Hasan, A. (2023). HER2/neu expression status of post BCG recurrent non-muscle-invasive bladder urothelial carcinomas in relation to their primary ones. *Archivio Italiano Di Urologia, Andrologia*, 95(2), 11313. <https://doi.org/10.4081/aiua.2023.11313>
- Aly, A., Johnson, C., Doleh, Y., Chirikov, V., Botteman, M., Shenolikar, R., & Hussain, A. (2020). The Real-World Lifetime Economic Burden of Urothelial Carcinoma by Stage at Diagnosis. *Journal of Clinical Pathways*, 6(4), 51-60.
- Amin M., Edge S. B., Greene F. L., Byrd D. R., Brookland R., et al. (2017). *AJCC cancer staging manual, 8th edn.* (Springer (ed.); 8th edn.).
- Amin, M. B., Greene, F. L., Edge, S. B., Compton, C. C., Gershenwald, J. E., Brookland, R. K., Meyer, L., Gress, D. M., Byrd, D. R., & Winchester, D. P. (2017). The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more «personalized» approach to cancer staging. En *CA: a cancer journal for clinicians* (Vol. 67, Número 2, pp. 93-99). <https://doi.org/10.3322/caac.21388>
- Amin, M. B., Smith, S. C., Reuter, V. E., Epstein, J. I., Grignon, D. J., Hansel, D. E., Lin, O., McKenney, J. K., Montironi, R., Paner, G. P., Al-Ahmadie, H. A., Algaba, F., Ali, S., Alvarado-Cabrero, I., Bubendorf, L., Cheng, L., Chevillet, J. C., Kristiansen, G., Cote, R. J., ... Soloway, M. S. (2015). Update for the practicing pathologist: The International Consultation On Urologic Disease-European association of urology consultation on bladder cancer. *Modern Pathology*, 28(5), 612-630. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2014.158>
- Andersson, K., & McCloskey, K. D. (2014). Lamina Propria : The Functional Center of the Bladder ? *Neurourology and Urodynamics*, 16(1), 9-16. <https://doi.org/10.1002/nau>
- Antoni, S., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Znaor, A., Jemal, A., & Bray, F. (2017). Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends. *European Urology*, 71(1), 96-108. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.06.010>
- Asimakopoulou, A. D., Colalillo, G., Telesca, R., Mauriello, A., Miano, R., Di Stasi, S. M., Germani, S., Finazzi Agrò, E., Petrozza, V., Caruso, G., Carbone, A., Pastore, A. L., & Fuschi, A. (2021). T1 Bladder Cancer: Comparison of the Prognostic Impact of Two Substaging Systems on Disease Recurrence and Progression and Suggestion of a Novel Nomogram. *Frontiers in Surgery*, 8, 704902. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2021.704902>
- Aydın, M., Bitkin, A., Kadihasanoğlu, M., İrkılata, L., Akgüneş, E., Keleş, M., & Atila, M. K. (2019). Correlation of neutrophil-lymphocyte ratio and risk scores in non-muscle invasive bladder cancer. *Actas Urologicas Españolas*, 43(9), 503-508. <https://doi.org/10.1016/j.acuro.2018.12.004>
- Babjuk, M., Burger, M., Capoun, O., Cohen, D., Compérat, E. M., Dominguez Escrig, J. L., Gontero, P., Liedberg, F., Masson-Lecomte, A., Mostafid, A. H., Palou, J., van Rhijn, B. W. G., Roupêt, M., Shariat, S. F., Seisen, T., Soukup, V., & Sylvester, R. J. (2022). European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (Ta, T1, and Carcinoma in Situ). *European Urology*, 81(1), 75-94. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2021.08.010>
- Babjuk, M., Burger, M., Compérat, E. M., Gontero, P., Mostafid, A. H., Palou, J., van Rhijn, B. W. G., Roupêt, M., Shariat, S. F., Sylvester, R., Zigeuner, R., Capoun, O., Cohen, D., Escrig, J. L. D., Hernández, V., Peyronnet, B., Seisen, T., & Soukup, V. (2019). European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (TaT1 and Carcinoma In Situ) - 2019 Update. *European Urology*, 76(5), 639-657. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.08.016>

- Bai, X., He, W., Yin, H., Li, X., Zhou, X., Wei, Z., Yu, H., & Gou, X. (2022). Prognostic significance of HER2 status evaluation using immunohistochemistry in patients with urothelial carcinoma of the bladder: A retrospective single-center experience. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 24(5), 704. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11640>
- Balsara, Z. R., & Li, X. (2017). Sleeping beauty: Awakening urothelium from its slumber. *American Journal of Physiology-Renal*, 312(4), F732-F743. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00337.2016>
- Banerji, U., van Herpen, C. M. L., Saura, C., Thistlethwaite, F., Lord, S., Moreno, V., Macpherson, I. R., Boni, V., Rolfo, C., de Vries, E. G. E., Rottey, S., Geenen, J., Eskens, F., Gil-Martin, M., Mommers, E. C., Koper, N. P., & Aftimos, P. (2019). Trastuzumab duocarmazine in locally advanced and metastatic solid tumours and HER2-expressing breast cancer: a phase 1 dose-escalation and dose-expansion study. *The Lancet. Oncology*, 20(8), 1124-1135. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30328-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30328-6)
- Bang, Y. J., Van Cutsem, E., Feyereislova, A., Chung, H. C., Shen, L., Sawaki, A., Lordick, F., Ohtsu, A., Omuro, Y., Satoh, T., Aprile, G., Kulikov, E., Hill, J., Lehle, M., Rüschoff, J., & Kang, Y.-K. (2010). Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*, 376(9742), 687-697. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61121-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61121-X)
- Bardia, A., & Viale, G. (2023). HER2-Low Breast Cancer-Diagnostic Challenges and Opportunities for Insights from Ongoing Studies: A Podcast. *Targeted oncology*, 18(3), 313-319. <https://doi.org/10.1007/s11523-023-00964-8>
- Bartley, A. N., Washington, M. K., Ventura, C. B., Ismaila, N., Colasacco, C., Benson, A. B. 3rd, Carrato, A., Gulley, M. L., Jain, D., Kakar, S., Mackay, H. J., Streutker, C., Tang, L., Troxell, M., & Ajani, J. A. (2016). HER2 Testing and Clinical Decision Making in Gastroesophageal Adenocarcinoma: Guideline From the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *American Journal of Clinical Pathology*, 146(6), 647-669. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqw206>
- Baselga, J., Coleman, R. E., Cortés, J., & Janni, W. (2017). Advances in the management of HER2-positive early breast cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 119, 113-122. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.10.001>
- Behzatoğlu, K., Yörükoğlu, K., Demir, H., & Bal, N. (2018). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Overexpression in Micropapillary and Other Variants of Urothelial Carcinoma. *European Urology Focus*, 4(3), 399-404. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2016.06.007>
- Bellmunt, J., Werner, L., Bamias, A., Fay, A. P., Park, R. S., Riester, M., Selvarajah, S., Barletta, J. A., Berman, D. M., de Muga, S., Salido, M., Gallardo, E., Rojo, F., Guancial, E. A., Bambury, R., Mullane, S. A., Choueiri, T. K., Loda, M., Stack, E., & Rosenberg, J. (2015). HER2 as a target in invasive urothelial carcinoma. *Cancer Medicine*, 4(6), 844-852. <https://doi.org/10.1002/cam4.432>
- Bernardo, C., Eriksson, P., Marzouka, N.-A.-D., Liedberg, F., Sjö Dahl, G., & Höglund, M. (2022). Molecular pathology of the non-luminal Ba/Sq-like and Sc/NE-like classes of urothelial tumours: An integrated immunohistochemical analysis. *Human Pathology*, 122, 11-24. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2022.01.006>
- Bister, K. (2015). Discovery of oncogenes: The advent of molecular cancer research. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,

- 112(50), 15259-15260. <https://doi.org/10.1073/pnas.1521145112>
- Bolenz, C., Shariat, S. F., Karakiewicz, P. I., Ashfaq, R., Ho, R., Sagalowsky, A. I., & Lotan, Y. (2010). Human epidermal growth factor receptor 2 expression status provides independent prognostic information in patients with urothelial carcinoma of the urinary bladder. *BJU International*, 106(8), 1216-1222. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2009.09190.x>
- Bongiovanni, L., Arena, V., Vecchio, F. M., Racioppi, M., Bassi, P., & Pierconti, F. (2013). HER-2 immunohistochemical expression as prognostic marker in high-grade T1 bladder cancer (T1G3). *Archivio Italiano Di Urologia, Andrologia*, 85(2), 73-77. <https://doi.org/10.4081/aiua.2013.2.73>
- Boss, D., Kühn, J., Jourdain, P., Depeursinge, C., Magistretti, P. J., & Marquet, P. (2013). Measurement of absolute cell volume, osmotic membrane water permeability, and refractive index of transmembrane water and solute flux by digital holographic microscopy. *Journal of Biomedical Optics*, 18(3), 36007. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.3.036007>
- Bray, F., Laversanne, M., Weiderpass, E., & Soerjomataram, I. (2021). The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer*, 127(16), 3029-3030. <https://doi.org/10.1002/cncr.33587>
- Breyer J, Bertz S, M. A. (2016). New pathological features predicting prognosis of early-invasive urothelial carcinoma: quantitative substaging and tumour invasion pattern should assist WHO 1973 grading classification in predicting cancer-specific survival of stage pT1 bladder cancer. *European Urology Supplements*, 15, e392.
- Breyer, J., Otto, W., Wirtz, R. M., Wullich, B., Keck, B., Erben, P., Kriegmair, M. C., Stoeher, R., Eckstein, M., Laible, M., Schlombs, K., Eidt, S., Denzinger, S., Burger, M., & Hartmann, A. (2017). ERBB2 Expression as Potential Risk-Stratification for Early Cystectomy in Patients with pT1 Bladder Cancer and Concomitant Carcinoma in situ. *Urologia Internationalis*, 98(3), 282-289. <https://doi.org/10.1159/000453670>
- Brierley, J. D; Mary K. Gospodarowicz, M.K.; Wittekind, C. (2017). *TNM classification of malignant tumours. 8th ed.* NJ: John Wiley & Sons Inc.
- Brisbane, W. G., Holt, S. K., Winters, B. R., Gore, J. L., Walsh, T. J., Wright, J. L., & Schade, G. R. (2019). Nonmuscle Invasive Bladder Cancer Influences Physical Health Related Quality of Life and Urinary Incontinence. *Urology*, 125, 146-153. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2018.11.038>
- Brüggmann, A., Lelkaitis, G., Nielsen, S., Jensen, K. G., & Jensen, V. (2011). Testing HER2 in breast cancer: a comparative study on BRISH, FISH, and IHC. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 19(3), 203-211. <https://doi.org/10.1097/PAI.0b013e3181f7118e>
- Burandt, E., Schreiber, M., Stein, A., Minner, S., Clauditz, T. S., Bokemeyer, C., Jänicke, F., Fisch, M., Izbicke, J. R., Knecht, R., Sauter, G., & Stahl, P. R. (2014). Continuous tissue microarray based identification of cancers with homogeneous target expression for successful targeted therapy in clinical routine practice. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 53(3), 228-239. <https://doi.org/10.1002/gcc.22130>
- Burger, M., Catto, J. W. F., Dalbagni, G., Grossman, H. B., Herr, H., Karakiewicz, P., Kassouf, W., Kiemeny, L. A., La Vecchia, C., Shariat, S., & Lotan, Y. (2013). Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer. *European Urology*, 63(2), 234-241. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2012.07.033>
- Burger, M., Kamat, A. M., & McConkey, D. (2021). Does Variant Histology Change Management of Non-muscle-invasive Bladder Cancer? *European Urology Oncology*,

- 4(3), 510-514. <https://doi.org/10.1016/j.euo.2019.06.012>
- Cambier, S., Sylvester, R. J., Collette, L., Gontero, P., Brausi, M. A., Van Andel, G., Kirkels, W. J., Silva, F. C. Da, Oosterlinck, W., Prescott, S., Kirkali, Z., Powell, P. H., De Reijke, T. M., Turkeri, L., Collette, S., & Oddens, J. (2016). EORTC Nomograms and Risk Groups for Predicting Recurrence, Progression, and Disease-specific and Overall Survival in Non-Muscle-invasive Stage Ta-T1 Urothelial Bladder Cancer Patients Treated with 1-3 Years of Maintenance Bacillus Calmette-Guérin. *European Urology*, 69(1), 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.06.045>
- Cancer.org. (2019). *Survival Rates for Bladder Cancer*. 2019. <https://www.cancer.org/cancer/bladder-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates.html>
- Catto, J. W. F., Gordon, K., Collinson, M., Poad, H., Twiddy, M., Johnson, M., Jain, S., Chahal, R., Simms, M., Dooldeniya, M., Bell, R., Koenig, P., Conroy, S., Goodwin, L., Noon, A. P., Croft, J., Brown, J. M., Abbasi, Z., Bone, L., ... Wormley, S. (2021). Radical cystectomy against intravesical BCG for high-risk high-grade nonmuscle invasive bladder cancer: Results from the randomized controlled BRAVO-feasibility study. *Journal of Clinical Oncology*, 39(3), 202-214. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.01665>
- Chae, H. K., Nam, W., Kim, H. G., Lim, S., Noh, B.-J., Kim, S. W., Kang, G. H., Park, J. Y., Eom, D.-W., & Kim, S. J. (2022). Identification of New Prognostic Markers and Therapeutic Targets for Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: HER2 as a Potential Target Antigen. *Frontiers in Immunology*, 13, 903297. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.903297>
- Chamie, K., Ballon-Landa, E., Bassett, J. C., Daskivich, T. J., Leventhal, M., Deapen, D., & Litwin, M. S. (2015). Quality of diagnostic staging in patients with bladder cancer: a process-outcomes link. *Cancer*, 121(3), 379-385. <https://doi.org/10.1002/cncr.29071>
- Chamie, K., Litwin, M. S., Bassett, J. C., Daskivich, T. J., Lai, J., Hanley, J. M., Konety, B. R., & Saigal, C. S. (2013). Recurrence of high-risk bladder cancer: a population-based analysis. *Cancer*, 119(17), 3219-3227. <https://doi.org/10.1002/cncr.28147>
- Chang, S. S., Bochner, B. H., Chou, R., Dreicer, R., Kamat, A. M., Lerner, S. P., Lotan, Y., Meeks, J. J., Michalski, J. M., Morgan, T. M., Quale, D. Z., Rosenberg, J. E., Zietman, A. L., & Holzbeierlein, J. M. (2017). Treatment of Non-Metastatic Muscle-Invasive Bladder Cancer: AUA/ASCO/ASTRO/SUO Guideline. *The Journal of Urology*, 198(3), 552-559. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2017.04.086>
- Chang, S. S., Boorjian, S. A., Chou, R., Clark, P. E., Daneshmand, S., Konety, B. R., Pruthi, R., Quale, D. Z., Ritch, C. R., Seigne, J. D., Skinner, E. C., Smith, N. D., & McKiernan, J. M. (2016). Diagnosis and Treatment of Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: AUA/SUO Guideline. *The Journal of Urology*, 196(4), 1021-1029. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.06.049>
- Charfi, S., khabir, A., Mnif, H., Ellouze, S., Mhiri, M. N., & Boudawara-Sellami, T. (2013). Immunohistochemical expression of HER2 in urothelial bladder carcinoma and its correlation with p53 and p63 expression. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 1(1), 17-21. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jmau.2013.06.001>
- Chen, F., Zhuang, X., Lin, L., Yu, P., Wang, Y., Shi, Y., Hu, G., & Sun, Y. (2015). New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities. *BMC Medicine*, 13, 45-57. <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0278-7>
- Chen, P. C., Yu, H. J., Chang, Y. H., & Pan, C. C. (2013). Her2 amplification distinguishes a subset of non-muscle-invasive bladder cancers with a high risk of progression. *Journal*

- of *Clinical Pathology*, 66(2), 113-119. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2012-200944>
- Chen, S., Jiang, L., Zhang, E., Hu, S., Wang, T., Gao, F., Zhang, N., Wang, X., & Zheng, J. (2021). A Novel Nomogram Based on Machine Learning-Pathomics Signature and Neutrophil to Lymphocyte Ratio for Survival Prediction of Bladder Cancer Patients. *Frontiers in Oncology*, 11(June), 1-8. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.703033>
- Choi, W., Czerniak, B., Ochoa, A., Su, X., Siefker-Radtke, A., Dinney, C., & McConkey, D. J. (2014). Intrinsic basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer. *Nature Reviews. Urology*, 11(7), 400-410. <https://doi.org/10.1038/nrrol.2014.129>
- Chou, R., Selph, S., Buckley, D. I., Fu, R., Griffin, J. C., Grusing, S., & Gore, J. L. (2017). Intravesical Therapy for the Treatment of Nonmuscle Invasive Bladder Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Journal of Urology*, 197(5), 1189-1199. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.12.090>
- Choura, M., & Rebaï, A. (2011). Receptor tyrosine kinases: from biology to pathology. *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*, 31(6), 387-394. <https://doi.org/10.3109/10799893.2011.625425>
- Chu, C., Chen, J., Escano, M. de J., Whiting, K., Ostrovnaya, I., Jiang, S., Yip, W., Khaleel, S., Lenis, A., Clinton, T., Alvin, G., Donahue, T., Dalbagni, G., Iyer, G., Solit, D., Sarungbam, J., Al-Ahmadie, H., Bochner, B., & Pietzak, E. (2023). Clinical and Genomic Risk Features of High Grade T1 Non-Muscle Invasive Bladder Cancer. *Journal of Urology*, 209 (Supplement 4), e874. <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000003321.08>
- Cimpean, A. M., Tarlui, V., Cumpănaș, A. A., Bolintineanu, S., Cumpănaș, A., & Raica, M. (2017). Critical Overview of HER2 Assessment in Bladder Cancer: What Is Missing for a Better Therapeutic Approach? *Anticancer Research*, 37(9), 4935-4942. <https://doi.org/10.21873/anticancer.11903>
- Colombo, R., Hurle, R., Moschini, M., Freschi, M., Colombo, P., Colecchia, M., Ferrari, L., Lucianò, R., Conti, G., Magnani, T., Capogrosso, P., Conti, A., Pasini, L., Burgio, G., Guazzoni, G., & Patriarca, C. (2018). Feasibility and Clinical Roles of Different Substaging Systems at First and Second Transurethral Resection in Patients with T1 High-Grade Bladder Cancer. *European Urology Focus*, 4(1), 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2016.06.004>
- Compérat, E., Srigley, J. R., Brimo, F., Delahunt, B., Koch, M., Lopez-Beltran, A., Reuter, V., Samaratunga, H., Shanks, J. H., Tsuzuki, T., van der Kwast, T., Varma, M., Webster, F., & Grignon, D. (2020). Dataset for the reporting of carcinoma of the bladder-cystectomy, cystoprostatectomy and diverticulectomy specimens: recommendations from the International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR). *Virchows Archiv*, 476(4), 521-534. <https://doi.org/10.1007/s00428-019-02727-1>
- Compérat, E., Amin, M. B., Berney, D. M., Cree, I., Menon, S., Moch, H., Netto, G. J., Rao, V., Raspollini, M. R., Rubin, M. A., Srigley, J. R., Tan, P. H., Tickoo, S. K., Turajlic, S., & Tsuzuki, T. (2022). What's new in WHO fifth edition - urinary tract. *Histopathology*, 81(4), 439-446. <https://doi.org/10.1111/his.14764>
- Compérat, E., Amin, M. B., Epstein, J. I., Hansel, D. E., Paner, G., Al-Ahmadie, H., True, L., Baydar, D., Bivalacqua, T., Brimo, F., Cheng, L., Cheville, J., Dalbagni, G., Falzarano, S., Gordetsky, J., Guo, C., Gupta, S., Hes, O., Iyer, G., ... Reuter, V. (2021). The Genitourinary Pathology Society Update on Classification of Variant Histologies, T1 Substaging, Molecular Taxonomy, and Immunotherapy and PD-L1 Testing Implications of Urothelial Cancers. *Advances in Anatomic Pathology*, 28(4), 196-208. <https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000309>

- Compérat, E., Babjuk, M., Algaba, F., Amin, M., Brimo, F., Grignon, D., Hansel, D., Hes, O., Malavaud, B., Reuter, V., & van der Kwast, T. (2019). SIU–ICUD on bladder cancer: pathology. *World Journal of Urology*, 37(1), 41-50. <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2466-5>
- Compérat, E., Egevad, L., Lopez-Beltran, A., Camparo, P., Algaba, F., Amin, M., Epstein, J. I., Hamberg, H., Hulsbergen-van de Kaa, C., Kristiansen, G., Montironi, R., Pan, C.-C., Heloir, F., Treurniet, K., Sykes, J., & Van der Kwast, T. H. (2013). An interobserver reproducibility study on invasiveness of bladder cancer using virtual microscopy and heatmaps. *Histopathology*, 63(6), 756-766. <https://doi.org/10.1111/his.12214>
- Compérat, E., Oszwald, A., Wasinger, G., Hansel, D. E., Montironi, R., van der Kwast, T., Witjes, J. A., & Amin, M. B. (2021). Updated pathology reporting standards for bladder cancer: biopsies, transurethral resections and radical cystectomies. *World Journal of Urology*. <https://doi.org/10.1007/s00345-021-03831-1>
- Contieri, R., Tan, W. S., Grajales, V., Bree, K., Hensley, P., Guo, C., Navai, N., Dinney, C., & Kamat, A. M. (2023). MP63-15 T1 Sub-Staging is Associated with Worse Oncological Outcomes for Patients Treated with Bacillus Calmette-Guerin or Immediate Radical Cystectomy. *Journal of Urology*, 209 (Supplement 4), e877. <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000003321.15>
- Cormio, L., Sanguedolce, F., Cormio, A., Massenio, P., Pedicillo, M. C., Cagiano, S., Calò, G., Pagliarulo, V., Carrieri, G., & Bufo, P. (2017). Human epidermal growth factor receptor 2 expression is more important than Bacillus Calmette Guerin treatment in predicting the outcome of T1G3 bladder cancer. *Oncotarget*, 8(15), 25433-25441. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15989>
- Coussens, L., Yang-Feng, T. L., Liao, Y. C., Chen, E., Gray, A., McGrath, J., Seeburg, P. H., Libermann, T. A., Schlessinger, J., & Francke, U. (1985). Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science (New York, N.Y.)*, 230(4730), 1132-1139. <https://doi.org/10.1126/science.2999974>
- Cózar, J. M., Miñana, B., Palou-Redorta, J., Medina, R. A., De La Rosa-Kehrmann, F., Lozano-Palacio, F., Ribal-Caparrós, M. J., Hernández-Fernández, C., Castiñeiras-Fernández, J. J., Requena, M. J., Moreno-Sierra, J., Carballido-Rodríguez, J., & Baena-Gonzalez, V. (2015). Análisis comparativo de la incidencia de cáncer de vejiga en las comunidades de Andalucía, Cataluña y Comunidad de Madrid en el año 2011. *Actas Urológicas Españolas*, 39(7), 420-428. <https://doi.org/10.1016/j.acuro.2014.11.003>
- Cumberbatch, M. G. K., Foerster, B., Catto, J. W. F., Kamat, A. M., Kassouf, W., Jubber, I., Shariat, S. F., Sylvester, R. J., & Gontero, P. (2018). Repeat Transurethral Resection in Non-muscle-invasive Bladder Cancer: A Systematic Review. *European Urology*, 73(6), 925-933. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.02.014>
- Cumberbatch, M. G. K., & Noon, A. P. (2019). Epidemiology, aetiology and screening of bladder cancer. *Translational Andrology and Urology*, 8(1), 5-11. <https://doi.org/10.21037/tau.2018.09.11>
- Cumberbatch, Marcus George Kwesi, Jubber, I., Black, P. C., Esperto, F., Figueroa, J. D., Kamat, A. M., Kiemeny, L., Lotan, Y., Pang, K., Silverman, D. T., Znaor, A., & Catto, J. W. F. (2018). Epidemiology of Bladder Cancer: A Systematic Review and Contemporary Update of Risk Factors in 2018. *European Urology*, 74(6), 784-795. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.09.001>
- Cunha, G. R., & Baskin, L. (2018). Development of human male and female urogenital tracts. *Differentiation; Research in Biological Diversity*, 103, 1-4.

- <https://doi.org/10.1016/j.diff.2018.09.002>
- Czerniak, B., Dinney, C., & McConkey, D. (2016). Origins of Bladder Cancer. *Annual Review of Pathology*, 11, 149-174. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012513-104703>
- Dalghi, M. G., Montalbetti, N., Carattino, M. D., & Apodaca, G. (2020). The urothelium: Life in a liquid environment. *Physiological Reviews*, 100(4), 1621-1705. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2019>
- Damrauer, J. S., Hoadley, K. A., Chism, D. D., Fan, C., Tiganelli, C. J., Wobker, S. E., Yeh, J. J., Milowsky, M. I., Iyer, G., Parker, J. S., & Kim, W. Y. (2014). Intrinsic subtypes of high-grade bladder cancer reflect the hallmarks of breast cancer biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(8), 3110-3115. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318376111>
- Damrauer, J. S., Roell, K. R., Smith, M. A., Sun, X., Kirk, E. L., Hoadley, K. A., Benefield, H. C., Iyer, G., Solit, D. B., Milowsky, M. I., Kim, W. Y., Nielsen, M. E., Wobker, S. E., Dalbagni, G., Al-Ahmadie, H. A., Olshan, A. F., Bochner, B. H., Furberg, H., Troester, M. A., & Pietzak, E. J. (2021). Identification of a Novel Inflamed Tumor Microenvironment Signature as a Predictive Biomarker of Bacillus Calmette-Guérin Immunotherapy in Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Clinical Cancer Research*, 27(16), 4599-4609. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-0205>
- De Carlo, C., Valeri, M., Corbitt, D. N., Cieri, M., & Colombo, P. (2022). Non-muscle invasive bladder cancer biomarkers beyond morphology. *Frontiers in Oncology*, 12, 947446. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.947446>
- de Jong, F. C., Hoedemaeker, R. F., Kvikstad, V., Mensink, J. T. M., de Jong, J. J., Boevé, E. R., van der Schoot, D. K. E., Zwarthoff, E. C., Boormans, J. L., & Zuiverloon, T. C. M. (2021). T1 Substaging of Nonmuscle Invasive Bladder Cancer is Associated with bacillus Calmette-Guérin Failure and Improves Patient Stratification at Diagnosis. *The Journal of Urology*, 205(3), 701-708. <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000001422>
- de Vries, E. G. E., Rüschoff, J., Lolkema, M., Tabernero, J., Gianni, L., Voest, E., de Groot, D. J. A., Castellano, D., Erb, G., Naab, J., Donica, M., Deurloo, R., van der Heijden, M. S., & Viale, G. (2023). Phase II study (KAMELEON) of single-agent T-DM1 in patients with HER2-positive advanced urothelial bladder cancer or pancreatic cancer/cholangiocarcinoma. *Cancer Medicine*, 12(11), 12071-12083. <https://doi.org/10.1002/cam4.5893>
- Ding, W., Tong, S., Gou, Y., Sun, C., Wang, H., Chen, Z., Tan, J., Xu, K., Xia, G., & Ding, Q. (2015). Human epidermal growth factor receptor 2: a significant indicator for predicting progression in non-muscle-invasive bladder cancer especially in high-risk groups. *World Journal of Urology*, 33(12), 1951-1957. <https://doi.org/10.1007/s00345-015-1557-9>
- Dobruch, J., Daneshmand, S., Fisch, M., Lotan, Y., Noon, A. P., Resnick, M. J., Shariat, S. F., Zlotta, A. R., & Boorjian, S. A. (2016). Gender and Bladder Cancer: A Collaborative Review of Etiology, Biology, and Outcomes. *European Urology*, 69(2), 300-310. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.08.037>
- Downes, M. R., Weening, B., van Rhijn, B. W. G., Have, C. L., Treurniet, K. M., & van der Kwast, T. H. (2017). Analysis of papillary urothelial carcinomas of the bladder with grade heterogeneity: supportive evidence for an early role of CDKN2A deletions in the FGFR3 pathway. *Histopathology*, 70(2), 281-289. <https://doi.org/10.1111/his.13063>
- Duesberg, P. H., & Vogt, P. K. (1970). Differences between the ribonucleic acids of transforming and nontransforming avian tumor viruses. *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences of the United States of America*, 67(4), 1673-1680.
<https://doi.org/10.1073/pnas.67.4.1673>
- Egbers, L., Grotenhuis, A. J., Aben, K. K., Alfred Witjes, J., Kiemeney, L. A., & Vermeulen, S. H. (2015). The prognostic value of family history among patients with urinary bladder cancer. *International Journal of Cancer*, 136(5), 1117-1124.
<https://doi.org/10.1002/ijc.29062>
- El Gehani, K., Al-Kikhia, L., Emaetig, F., Syrjänen, K., Al-Fituri, O., & Elzagheid, A. (2012). Over-expression of HER-2 is associated with the stage in carcinomas of the urinary bladder. *The Libyan Journal of Medicine*, 7. <https://doi.org/10.3402/ljm.v7i0.14694>
- El Ochi, M. R., Oukabli, M., Bouaiti, E., Chahdi, H., Boudhas, A., Allaoui, M., Ameer, A., Abbar, M., & Al Bouzidi, A. (2017). Expression of human epidermal growth factor receptor 2 in bladder urothelial carcinoma. *BMC Clinical Pathology*, 17(1), 13-17.
<https://doi.org/10.1186/s12907-017-0046-z>
- Elizalde, P. V., Cordo Russo, R. I., Chervo, M. F., & Schillaci, R. (2016). ErbB-2 nuclear function in breast cancer growth, metastasis and resistance to therapy. *Endocrine-Related Cancer*, 23(12), T243-T257. <https://doi.org/10.1530/ERC-16-0360>
- Eriksson, P., Sjö Dahl, G., Chebil, G., Liedberg, F., & Höglund, M. (2017). HER2 and EGFR amplification and expression in urothelial carcinoma occurs in distinct biological and molecular contexts. *Oncotarget*, 8(30), 48905-48914.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.16554>
- Escrivá-de-Romaní, S., Arumí, M., Bellet, M., & Saura, C. (2018). HER2-positive breast cancer: Current and new therapeutic strategies. *Breast (Edinburgh, Scotland)*, 39, 80-88.
<https://doi.org/10.1016/j.breast.2018.03.006>
- Fang, D., & Kitamura, H. (2018). Cancer stem cells and epithelial–mesenchymal transition in urothelial carcinoma: Possible pathways and potential therapeutic approaches. *International Journal of Urology*, 25(1), 7-17. <https://doi.org/10.1111/iju.13404>
- Fenton, S. E., & VanderWeele, D. J. (2022). Antibody-drug conjugates and predictive biomarkers in advanced urothelial carcinoma. *Frontiers in Oncology*, 12, 1069356.
<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1069356>
- Ferguson, J. E. 3rd, & Kamat, A. M. (2018). It's all about the perspective: Removing bias when co-managing patients with high-grade T1 bladder cancer and localized prostate cancer-A competing risks analysis. *Urologic Oncology*, 36(2), 39-42.
<https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2017.10.019>
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2019). Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International Journal of Cancer*, 144(8), 1941-1953.
<https://doi.org/10.1002/ijc.31937>
- Fernández-Gómez, J., Madero, R., Solsona, E., Unda, M., Martínez-Piñero, L., Ojea, A., Portillo, J., Montesinos, M., Gonzalez, M., Pertusa, C., Rodríguez-Molina, J., Camacho, J. E., Rabadán, M., Astobieta, A., Isorna, S., Muntanola, P., Gimeno, A., Blas, M., & Martínez-Piñero, J. A. (2011). The EORTC tables overestimate the risk of recurrence and progression in patients with non-muscle-invasive bladder cancer treated with bacillus Calmette-Guérin: External validation of the EORTC risk tables. *European Urology*, 60(3), 423-430. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.05.033>
- Fernández-Gómez, J., Madero, R., Solsona, E., Unda, M., Martínez-Piñero, L., González, M., Portillo, J., Ojea, A., Pertusa, C., Rodríguez-Molina, J., Camacho, J. E., Rabadan, M., Astobieta, A., Montesinos, M., Isorna, S., Muntanola, P., Gimeno, A., Blas, M., & Martínez-Piñero, J. A. (2009). Predicting nonmuscle invasive bladder cancer recurrence

- and progression in patients treated with bacillus Calmette-Guerin: the CUETO scoring model. *The Journal of Urology*, 182(5), 2195-2203.
<https://doi.org/10.1016/j.juro.2009.07.016>
- Fernández-Gómez, J., Solsona, E., Unda, M., Martínez-Piñeiro, L., González, M., Hernández, R., Madero, R., Ojea, A., Pertusa, C., Rodríguez-Molina, J., Camacho, J. E., Isorna, S., Rabadán, M., Astobieta, A., Montesinos, M., Muntañola, P., Gimeno, A., Blas, M., & Martínez-Piñeiro, J. A. (2008). Prognostic factors in patients with non-muscle-invasive bladder cancer treated with bacillus Calmette-Guérin: multivariate analysis of data from four randomized CUETO trials. *European Urology*, 53(5), 992-1001.
<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2007.10.006>
- Fisher, S. (2010). Not Beyond Reasonable Doubt: Howard Temin's Provirus Hypothesis Revisited. *Journal of the History of Biology*, 43(4), 661-696.
<https://doi.org/10.1007/s10739-009-9202-3>
- Fitzgibbons, P. L., Page, D. L., Weaver, D., Thor, A. D., Allred, D. C., Clark, G. M., Ruby, S. G., O'Malley, F., Simpson, J. F., Connolly, J. L., Hayes, D. F., Edge, S. B., Lichter, A., & Schnitt, S. J. (2000). Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 124(7), 966-978. <https://doi.org/10.5858/2000-124-0966-PFIBC>
- Flaig, T. W., Spiess, P. E., Agarwal, N., Bangs, R., Boorjian, S. A., Buyyounouski, M. K., Chang, S., Downs, T. M., Efstathiou, J. A., Friedlander, T., Greenberg, R. E., Guru, K. A., Guzzo, T., Herr, H. W., Hoffman-Censits, J., Hoimes, C., Inman, B. A., Jimbo, M., Kader, A. K., ... Johnson-Chilla, A. (2020). Bladder Cancer, Version 3.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*, 18(3), 329-354. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2020.0011>
- Fleischmann, A., Rotzer, D., Seiler, R., Studer, U. E., & Thalmann, G. N. (2011). Her2 amplification is significantly more frequent in lymph node metastases from urothelial bladder cancer than in the primary tumours. *European Urology*, 60(2), 350-357.
<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.05.035>
- Fong, M. H. Y., Feng, M., McConkey, D. J., & Choi, W. (2020). Update on bladder cancer molecular subtypes. *Translational Andrology and Urology*, 9(6), 2881-2889.
<https://doi.org/10.21037/tau-2019-mibc-12>
- Franceschini, T., Capizzi, E., Massari, F., Schiavina, R., Fiorentino, M., & Giunchi, F. (2020). Immunohistochemical over-expression of HER2 does not always match with gene amplification in invasive bladder cancer. *Pathology Research and Practice*, 216(8), 153012. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2020.153012>
- Gadzinski, A. J., & Psutka, S. P. (2020). Risk stratification metrics for bladder cancer: Comprehensive Geriatric Assessments. *Urologic Oncology*, 38(9), 725-733.
<https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2020.01.003>
- Galceran, J., Ameijide, A., Carulla, M., Mateos, A., Quirós, J. R., Rojas, D., Alemán, A., Torrella, A., Chico, M., Vicente, M., Díaz, J. M., Larrañaga, N., Marcos-Gragera, R., Sánchez, M. J., Perucha, J., Franch, P., Navarro, C., Ardanaz, E., Bigorra, J., ... Bonet, R. P. (2017). Cancer incidence in Spain, 2015. *Clinical and Translational Oncology*, 19(7), 799-825. <https://doi.org/10.1007/s12094-016-1607-9>
- Galsky M. (2022). HER-2 is new again in bladder cancer. 2022 ASCO annual meeting; 2022 jun 3-7; Chicago, IL, USA. *Journal Clinical Oncology*, 4572.
- Gan, K., Gao, Y., Liu, K., Xu, B., & Qin, W. (2021). The Clinical Significance and Prognostic Value of HER2 Expression in Bladder Cancer: A Meta-Analysis and a Bioinformatic Analysis. En *Frontiers in oncology* (Vol. 11, p. 653491).

<https://doi.org/10.3389/fonc.2021.653491>

- García-Caballero, T., Prieto, O., Vázquez-Boquete, A., Gude, F., Viaño, P., Otero, M., Curiel, T., Fernández-Rodríguez, B., Parrado, C., Fraga, M., & Antúnez, J. R. (2014). Dual-colour CISH is a reliable alternative to FISH for assessment of topoisomerase 2- α amplification in breast carcinomas. *Breast Cancer Research and Treatment*, 143(1), 81-89. <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2791-8>
- Garczyk, S., Bischoff, F., Schneider, U., Golz, R., von Rundstedt, F.-C., Knüchel, R., & Degener, S. (2021). Intratumoral heterogeneity of surrogate molecular subtypes in urothelial carcinoma in situ of the urinary bladder: implications for prognostic stratification of high-risk non-muscle-invasive bladder cancer. *Virchows Archiv*, 479(2), 325-335. <https://doi.org/10.1007/s00428-021-03054-0>
- Giunchi, F., Panzacchi, R., Capizzi, E., Schiavina, R., Brunocilla, E., Martorana, G., D'Errico, A., & Fiorentino, M. (2016). Role of Inter-Observer Variability and Quantification of Muscularis Propria in the Pathological Staging of Bladder Cancer. *Clinical Genitourinary Cancer*, 14(4), e307-12. <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2016.01.002>
- Goel, A., Ward, D. G., Noyvert, B., Yu, M., Gordon, N. S., Abbotts, B., Colbourne, J. K., Kissane, S., James, N. D., Zeegers, M. P., Cheng, K. K., Cazier, J.-B., Whalley, C. M., Beggs, A. D., Palles, C., Arnold, R., & Bryan, R. T. (2022). Combined exome and transcriptome sequencing of non-muscle-invasive bladder cancer: associations between genomic changes, expression subtypes, and clinical outcomes. *Genome Medicine*, 14(1), 59. <https://doi.org/10.1186/s13073-022-01056-4>
- Gómez-de María, C., Ortiz-Rey, J. A., Fernández-Costas, A., Martínez-Otero, M., Gándara-Cortés, M., Blanco-Fernández, M. J., Barbosa-Barreiro, M. J., San Miguel-Fraile, M. P., Castro-Iglesias, M., Antón-Badiola, I., González-Carreró, J., & López-Díez, M. E. (2018). Matrices tisulares: presentación de dos métodos sencillos y económicos de elaboración manual. *Archivos Españoles de Urología*, 71(10), 832-839.
- Gontero, P., Sylvester, R., Pisano, F., Joniau, S., Oderda, M., Serretta, V., Larré, S., Di Stasi, S., Van Rhijn, B., Witjes, A. J., Grotenhuis, A. J., Colombo, R., Briganti, A., Babjuk, M., Soukup, V., Malmström, P.-U., Irani, J., Malats, N., Baniel, J., ... Palou, J. (2016). The impact of re-transurethral resection on clinical outcomes in a large multicentre cohort of patients with T1 high-grade/Grade 3 bladder cancer treated with bacille Calmette-Guérin. *BJU International*, 118(1), 44-52. <https://doi.org/10.1111/bju.13354>
- Goodson, D., & Friedlander, T. (2023). The Future of Antibody–Drug Conjugates in Urothelial Cancer. New Indications and Novel Targets. *Advances in Oncology*, 3, 137-159. <https://doi.org/10.1016/j.yao.2023.01.010>
- Gordian-Arroyo, A. M., Zynger, D. L., & Tozbikian, G. H. (2019). Impact of the 2018 ASCO/CAP HER2 Guideline Focused Update. *American Journal of Clinical Pathology*, 152(1), 17-26. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqz012>
- Grant, S. R., Tang, L., Wei, L., Foster, B. A., Paragh, G., & Huss, W. J. (2023). Mutation Hotspots Found in Bladder Cancer Aid Prediction of Carcinogenic Risk in Normal Urothelium. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9). <https://doi.org/10.3390/ijms24097852>
- Grigg, C. M., Livasy, C., He, J., Hartman, A., Clark, P. E., Zhu, J., Raghavan, D., & Burgess, E. F. (2021). Human epidermal growth factor receptor 2 overexpression is frequently discordant between primary and metastatic urothelial carcinoma and is associated with intratumoral human epidermal growth factor receptor 2 heterogeneity. *Human Pathology*, 107, 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2020.10.006>

- Guerrero Ramos, F., Subiela, J., Rodríguez-Faba, O., Aumatell, J., Manfredi, C., Bozzini, G., Romero-Otero, J., & Couñago, F. (2022). Predicting Recurrence and Progression in Patients with Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer: Systematic Review on the Performance of Risk Stratification Models. *Bladder Cancer*, 8(4), 339-357. <https://doi.org/10.3233/BLC-220055>
- Guo, C. C., Bondaruk, J., Yao, H., Wang, Z., Zhang, L., Lee, S., Lee, J.-G., Cogdell, D., Zhang, M., Yang, G., Dadhanian, V., Choi, W., Wei, P., Gao, J., Theodorescu, D., Logothetis, C., Dinney, C., Kimmel, M., Weinstein, J. N., ... Czerniak, B. (2020). Assessment of Luminal and Basal Phenotypes in Bladder Cancer. *Scientific Reports*, 10(1), 9743. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66747-7>
- Guo, C. C., & Czerniak, B. (2019). Bladder Cancer in the Genomic Era. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 143(6), 695-704. <https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0329-RA>
- Hammam, O., Nour, H. H., Mosaad, M., Akl, M., Khalil, H., Al Ganzory, H., & Hindawi, A. (2015). The clinical significance of HER2 protein amplification/expression in urinary bladder lesion. *Arab Journal of Urology*, 13(2), 146-152. <https://doi.org/10.1016/j.aju.2015.01.004>
- Han, J., Gu, X., Li, Y., & Wu, Q. (2020). Mechanisms of BCG in the treatment of bladder cancer-current understanding and the prospect. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 129, 110393. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110393>
- Hartage, R., Li, A. C., Hammond, S., & Parwani, A. V. (2020). A Validation Study of Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Immunohistochemistry Digital Imaging Analysis and its Correlation with Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Fluorescence In situ Hybridization Results in Breast Carcinoma. *Journal of Pathology Informatics*, 11, 2. https://doi.org/10.4103/jpi.jpi_52_19
- Haruna M. S., Atanda A. T. (2022). Pattern of HER overexpression in urinary bladder carcinomas in Kano, Nigeria. *Annals of African Surgery*, 20(1), 7-13. <https://doi.org/10.4314/aas.v20i1.3>
- Hatina, J., & Schulz, W. A. (2012). Stem cells in the biology of normal urothelium and urothelial carcinoma. *Neoplasia*, 59(6), 728-736. https://doi.org/10.4149/neo_2012_089
- Hayes, D. F. (2019). HER2 and Breast Cancer - A Phenomenal Success Story. *The New England Journal of Medicine*, 381(13), 1284-1286. <https://doi.org/10.1056/NEJMcibr1909386>
- Hechtman, J. F., & Ross, D. S. (2019). The past, present, and future of HER2 (ERBB2) in cancer: Approaches to molecular testing and an evolving role in targeted therapy. *Cancer Cytopathology*, 127(7), 428-431. <https://doi.org/10.1002/cncy.22124>
- Hedegaard, J., Lamy, P., Nordentoft, I., Algaba, F., Høyer, S., Ulhøi, B. P., Vang, S., Reinert, T., Hermann, G. G., Mogensen, K., Thomsen, M. B. H., Nielsen, M. M., Marquez, M., Segersten, U., Aine, M., Höglund, M., Birkenkamp-Demtröder, K., Fristrup, N., Borre, M., ... Dyrskjød, L. (2016). Comprehensive Transcriptional Analysis of Early-Stage Urothelial Carcinoma. *Cancer Cell*, 30(1), 27-42. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.05.004>
- Hegazy, R, Hegazy, A., Kamel, M., El-Faragy, O., Nawar, N., & El-Atar, A. (2018). Role of Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Antagonist (Trastuzumab) in the Management of Nonmuscle - invasive Urinary Bladder Carcinoma. *Tumor Microenviron*, 1(1), 25-29. <https://doi.org/10.4103/tme.tme>
- Hegazy, R., Kamel, M., Salem, E. A., Salem, N. A., Fawzy, A., Sakr, A., El-Faragy, O., Nawar, N., El-Atar, A., Shahin, A. M. S., & Hegazy, A. (2015). The prognostic

- significance of p53, p63 and her2 expression in non-muscle-invasive bladder cancer in relation to treatment with bacille Calmette-Guerin. *Arab Journal of Urology*, 13(3), 225-230. <https://doi.org/10.1016/j.aju.2015.05.001>
- Helal, D. S., Darwish, S. A., Awad, R. A., Ali, D. A., & El-Guindy, D. M. (2023). Immunohistochemical based molecular subtypes of muscle-invasive bladder cancer: association with HER2 and EGFR alterations, neoadjuvant chemotherapy response and survival. *Diagnostic Pathology*, 18(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s13000-023-01295-y>
- Herr, H. (2018). History of Transurethral Resection and Fulguration of Bladder Tumors. En S. R. Patel, M. E. Moran, & S. Y. Nakada (Eds.), *The History of Technologic Advancements in Urology* (pp. 59-68). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61691-9_6
- Herr, H. W. (2021). The First Two Total Cystectomies – A brief history of failed-successes. *The International Journal of Urologic History*, 1(1), 25-28.
- Herr, H. W. (1999). The value of a second transurethral resection in evaluating patients with bladder tumors. *The Journal of Urology*, 162(1), 74-76. <https://doi.org/10.1097/00005392-199907000-00018>
- Herr, H. W., & Sogani, P. C. (2001). Does early cystectomy improve the survival of patients with high risk superficial bladder tumors? *The Journal of Urology*, 166(4), 1296-1299.
- Herr, H. W., Dalbagni, G., & Donat, S. M. (2011). Bacillus Calmette-Guérin without maintenance therapy for high-risk non-muscle-invasive bladder cancer. *European Urology*, 60(1), 32-36. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.03.051>
- Herr, H. W., Donat, S. M., & Dalbagni, G. (2007). Can restaging transurethral resection of T1 bladder cancer select patients for immediate cystectomy? *The Journal of Urology*, 177(1), 75-79; discussion 79. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2006.08.070>
- Herr, H. W., & Morales, A. (2008). History of bacillus Calmette-Guerin and bladder cancer: an immunotherapy success story. *The Journal of Urology*, 179(1), 53-56. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2007.08.122>
- Hofmann, M., Stoss, O., Shi, D., Büttner, R., van de Vijver, M., Kim, W., Ochiai, A., Rüschoff, J., & Henkel, T. (2008). Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology*, 52(7), 797-805. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2008.03028.x>
- Hofmarcher, T., Lindgren, P., Wilking, N., & Jönsson, B. (2020). The cost of cancer in Europe 2018. *European Journal of Cancer*, 129, 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2020.01.011>
- Hong, J. H., Tong, Z. J., Wei, T. E., Lu, Y. C., Huang, C. Y., Huang, C. Y., Chiang, C. H., Jaw, F. S., Cheng, H. W., & Wang, H. T. (2022). Cigarette Smoke Containing Acrolein Contributes to Cisplatin Resistance in Human Bladder Cancers through the Regulation of HER2 Pathway or FGFR3 Pathway. *Molecular Cancer Therapeutics*, 21(6), 1010-1019. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-21-0725>
- Humphrey, P. A., Moch, H., Cubilla, A. L., Ulbright, T. M., & Reuter, V. E. (2016). The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. *European Urology*, 70(1), 106-119. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.028>
- Hurst, C. D., Alder, O., Platt, F. M., Droop, A., Stead, L. F., Burns, J. E., Burghel, G. J., Jain, S., Klimczak, L. J., Lindsay, H., Roulson, J. A., Taylor, C. F., Thygesen, H., Cameron, A. J., Ridley, A. J., Mott, H. R., Gordenin, D. A., & Knowles, M. A. (2017). Genomic Subtypes of Non-invasive Bladder Cancer with Distinct Metabolic Profile and Female Gender Bias in KDM6A Mutation Frequency. *Cancer Cell*, 32(5), 701--715.e7.

- <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.08.005>
- Hurst, C. D., Cheng, G., Platt, F. M., Castro, M. A. A., Marzouka, N.-A.-D. S., Eriksson, P., Black, E. V. I., Alder, O., Lawson, A. R. J., Lindsborg, S. V., Burns, J. E., Jain, S., Roulson, J.-A., Brown, J. C., Koster, J., Robertson, A. G., Martincorena, I., Dyrskjød, L., Höglund, M., & Knowles, M. A. (2021). Stage-stratified molecular profiling of non-muscle-invasive bladder cancer enhances biological, clinical, and therapeutic insight. *Cell Reports. Medicine*, 2(12), 100472. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100472>
- Hussein, S., Fathi, A., Abouhashem, N. S., Amer, S., Hemeda, M., & Mosaad, H. (2021). SATB-1 and Her2 as predictive molecular and immunohistochemical markers for urothelial cell carcinoma of the bladder. *Cancer Biomarkers : Section A of Disease Markers*, 30(2), 249-259. <https://doi.org/10.3233/CBM-200072>
- Instituto Nacional de Estadística (INE). (2022). *Defunciones según la causa de muerte*. <https://www.ine.es/jaxiT3/Tabla.htm?t=6609>
- Islam, S. S., Mokhtari, R. B., Kumar, S., Maalouf, J., Arab, S., Yeager, H., & Farhat, W. A. (2013). Spatio-temporal distribution of Smads and role of Smads/TGF- β /BMP-4 in the regulation of mouse bladder organogenesis. *PLoS One*, 8(4), e61340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061340>
- Jackson, C. L., Chen, L., Hardy, C. S., Ren, K. Y., Visram, K., Bratti, V. F., Johnstone, J., Sjö Dahl, G., Siemens, D. R., Gooding, R. J., & Berman, D. M. (2022). Diagnostic and prognostic implications of a three-antibody molecular subtyping algorithm for non-muscle invasive bladder cancer. *The Journal of Pathology. Clinical Research*, 8(2), 143-154. <https://doi.org/10.1002/cjp2.245>
- Jahnsen, S., Aliabad, A. H., Holmäng, S., Jancke, G., Liedberg, F., Ljungberg, B., Malmström, P. U., & Rosell, J. (2016). Swedish National Registry of Urinary Bladder Cancer: No difference in relative survival over time despite more aggressive treatment. *Scandinavian Journal of Urology*, 50(1), 14-20. <https://doi.org/10.3109/21681805.2015.1085089>
- Janane, A., Hajji, F., Ismail, T. O., Elondo, J. C., Ghadouane, M., Ameer, A., Abbar, M., & Bouzidi, A. (2011). Evaluation of HER2 protein overexpression in non-muscle invasive bladder cancer with emphasis on tumour grade and recurrence. *Actas Urológicas Españolas (English Edition)*, 35(4), 189-194. [https://doi.org/10.1016/s2173-5786\(11\)70048-8](https://doi.org/10.1016/s2173-5786(11)70048-8)
- Jian, X., Shen, M., & Liao, G. (2019). Definitive BCG immunotherapy versus radical cystectomy in intermediate or high-risk nonmuscle invasive bladder cancer patients: A retrospective study. *Medicine (United States)*, 98(36), 1-7. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016873>
- Jin, D., Jin, K., Qiu, S., Zhou, X., Yuan, Q., Yang, L., & Wei, Q. (2020). Prognostic values of the clinicopathological characteristics and survival outcomes in micropapillary urothelial carcinoma of the bladder: A SEER database analysis. *Cancer Medicine*, 9(14), 4897-4906. <https://doi.org/10.1002/cam4.3147>
- Jobczyk, M., Stawiski, K., Kaszkowiak, M., Rajwa, P., Różański, W., Soria, F., Shariat, S. F., & Fendler, W. (2022). Deep Learning-based Recalibration of the CUETO and EORTC Prediction Tools for Recurrence and Progression of Non-muscle-invasive Bladder Cancer. *European Urology Oncology*, 5(1), 109-112. <https://doi.org/10.1016/j.euo.2021.05.006>
- Jordan, B., & Meeks, J. J. (2019). T1 bladder cancer: current considerations for diagnosis and management. *Nature Reviews Urology*, 16(1), 23-34. <https://doi.org/10.1038/s41585-018-0105-y>

- Kamat, A M, Li, R., O'Donnell, M. A., Black, P. C., Roupert, M., Catto, J. W., Comperat, E., Ingersoll, M. A., Witjes, W. P., McConkey, D. J., & Witjes, J. A. (2018). Predicting Response to Intravesical Bacillus Calmette-Guérin Immunotherapy: Are We There Yet? A Systematic Review. *European Urology*, 73(5), 738-748. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.10.003>
- Kamat, Ashish M., Hahn, N. M., Efstathiou, J. A., Lerner, S. P., Malmström, P. U., Choi, W., Guo, C. C., Lotan, Y., & Kassouf, W. (2016). Bladder cancer. *The Lancet*, 388(10061), 2796-2810. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30512-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30512-8)
- 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., Castro, M. A. A., Fontugne, J., Eriksson, P., Mo, Q., Kardos, J., Zlotta, A., Hartmann, A., Dinney, C. P., Bellmunt, J., ... Weinstein, J. (2020). A Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer. *European Urology*, 77(4), 420-433. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.09.006>
- Karakas, C., Tyburski, H., Turner, B. M., Wang, X., Schiffhauer, L. M., Katerji, H., Hicks, D. G., & Zhang, H. (2023). Interobserver and Interantibody Reproducibility of HER2 Immunohistochemical Scoring in an Enriched HER2-Low-Expressing Breast Cancer Cohort. *American Journal of Clinical Pathology*, 159(5), 484-491. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqac184>
- Kardoust Parizi, M., Enikeev, D., Glybochko, P. V, Seebacher, V., Janisch, F., Fajkovic, H., Chłosta, P. L., & Shariat, S. F. (2020). Prognostic value of T1 substaging on oncological outcomes in patients with non-muscle-invasive bladder urothelial carcinoma: a systematic literature review and meta-analysis. *World Journal of Urology*, 38(6), 1437-1449. <https://doi.org/10.1007/s00345-019-02936-y>
- Kaushik, V., Kulkarni, Y., Felix, K., Azad, N., Iyer, A. K. V, & Yakisich, J. S. (2021). Alternative models of cancer stem cells: The stemness phenotype model, 10 years later. *World Journal of Stem Cells*, 13(7), 934-943. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v13.i7.934>
- Khandelwal, P., Abraham, S. N., & Apodaca, G. (2009). Cell biology and physiology of the uroepithelium. *American Journal of Physiology-Renal*, 297(6), F1477-F1501. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00327.2009>
- Khandelwal, P., Abraham, S. N., & Apodaca, G. (2009). Cell biology and physiology of the uroepithelium. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 297(6). <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00327.2009>
- Kikuchi, H., Abe, T., Matsumoto, R., Osawa, T., Maruyama, S., Murai, S., & Shinohara, N. (2022). Outcomes of bacillus Calmette-Guérin therapy without a maintenance schedule for high-risk non-muscle-invasive bladder cancer in the second transurethral resection era. *International Journal of Urology*, 29(3), 251-258. <https://doi.org/10.1111/iju.14761>
- Kim, S., Jeong, Y., Chae, H., Nam, W., Kim, H., & Park, J. (2023). Human epidermal growth factor receptor 2 overexpression is a significant prognostic biomarker in de novo non-muscle invasive bladder cancer. *European Urology Supplements*, 83(S1), S615-S616.
- Kiss, B., Wyatt, A., Douglas, J., Skuginna, V., Mo, F., Anderson, S., Rotzer, D., Fleischmann, A., Genitsch, V., Hayashi, T., Neuenschwander, M., Bürki, C., Davicioni, E., Collins, C., Thalmann, G., Black, P., & Seiler, R. (2017). Her2 alterations in muscle-invasive bladder cancer: There is more than protein expression in patient selection for targeted therapy. *European Urology Supplements*, 16(530), 917-918. [https://doi.org/10.1016/S1569-9056\(17\)30588-2](https://doi.org/10.1016/S1569-9056(17)30588-2)
- Kiss, B., Wyatt, A. W., Douglas, J., Skuginna, V., Mo, F., Anderson, S., Rotzer, D., Fleischmann, A., Genitsch, V., Hayashi, T., Neuenschwander, M., Buerki, C., Davicioni,

- E., Collins, C., Thalmann, G. N., Black, P. C., & Seiler, R. (2017). Her2 alterations in muscle-invasive bladder cancer: Patient selection beyond protein expression for targeted therapy. *Scientific Reports*, 7(January), 1-10. <https://doi.org/10.1038/srep42713>
- Klaassen, Z., Kamat, A. M., Kassouf, W., Gontero, P., Villavicencio, H., Bellmunt, J., van Rhijn, B. W. G., Hartmann, A., Catto, J. W. F., & Kulkarni, G. S. (2018). Treatment Strategy for Newly Diagnosed T1 High-grade Bladder Urothelial Carcinoma: New Insights and Updated Recommendations. *European Urology*, 74(5), 597-608. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.06.024>
- Kocsmár, I., Kocsmár, É., Pajor, G., Kulka, J., Székely, E., Kristiansen, G., Schilling, O., Nyirády, P., Kiss, A., Schaff, Z., Riesz, P., & Lotz, G. (2022). Addition of Chromosome 17 Polysomy and HER2 Amplification Status Improves the Accuracy of Clinicopathological Factor-Based Progression Risk Stratification and Tumor Grading of Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cancers*, 14(19), 4570. <https://doi.org/10.3390/cancers14194570>
- Koshkin, V. S., O'donnell, P., Yu, E. Y., & Grivas, P. (2019). Systematic review: Targeting HER2 in bladder cancer. *Bladder Cancer*, 5(1), 1-12. <https://doi.org/10.3233/BLC-180196>
- Koutros, S., Kogevinas, M., Friesen, M. C., Stewart, P. A., Baris, D., Karagas, M. R., Schwenn, M., Johnson, A., Monawar Hosain, G. M., Serra, C., Tardon, A., Carrato, A., Garcia-Closas, R., Moore, L. E., Nickerson, M. L., Hewitt, S. M., Lenz, P., Schned, A. R., Lloreta, J., ... Silverman, D. T. (2020). Diesel exhaust and bladder cancer risk by pathologic stage and grade subtypes. *Environment International*, 135, 105346. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105346>
- Kovacs, E., Zorn, J. A., Huang, Y., Barros, T., & Kuriyan, J. (2015). A Structural Perspective on the Regulation of the Epidermal Growth Factor Receptor. *Annual Review of Biochemistry*, 84(1), 739-764. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-034402>
- Kripnerova, M., Parmar, H. S., Pesta, M., Kohoutova, M., Kuncova, J., Drbal, K., Rajtmajerova, M., & Hatina, J. (2019). Urothelial Cancer Stem Cell Heterogeneity. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1139, 127-151. https://doi.org/10.1007/978-3-030-14366-4_8
- Krüger, S., Weitsch, G., Büttner, H., Matthiensen, A., Böhmer, T., Marquardt, T., Sayk, F., Feller, A. C., & Böhle, A. (2002). HER2 overexpression in muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: prognostic implications. *International Journal of Cancer*, 102(5), 514-518. <https://doi.org/10.1002/ijc.10731>
- Krüger, S., Lange, I., Kausch, I., & Feller, A. C. (2005). Protein expression and gene copy number analysis of topoisomerase 2alpha, HER2 and P53 in minimally invasive urothelial carcinoma of the urinary bladder--a multitissue array study with prognostic implications. *Anticancer Research*, 25(1A), 263-271. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15816547>
- Kumar, S., Prajapati, O., Vaiphei, K., Parmar, K. M., Sriharsha, A. S., & Singh, S. K. (2015). Human epidermal growth factor receptor 2/neu overexpression in urothelial carcinoma of the bladder and its prognostic significance: Is it worth hype? *South Asian Journal of Cancer*, 4(3), 115-117. <https://doi.org/10.4103/2278-330X.173164>
- Kunte, S., Abraham, J., & Montero, A. J. (2020). Novel HER2-targeted therapies for HER2-positive metastatic breast cancer. *Cancer*, 126(19), 4278-4288. <https://doi.org/10.1002/cncr.33102>
- Laé, M., Couturier, J., Oudard, S., Radvanyi, F., Beuzeboc, P., & Vieillefond, A. (2010). Assessing HER2 gene amplification as a potential target for therapy in invasive

- urothelial bladder cancer with a standardized methodology: results in 1005 patients. *Annals of Oncology*, 21(4), 815-819. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdp488>
- Lara, H., Li, Z., Abels, E., Aeffner, F., Bui, M. M., ElGabry, E. A., Kozlowski, C., Montalto, M. C., Parwani, A. V, Zarella, M. D., Bowman, D., Rimm, D., & Pantanowitz, L. (2021). Quantitative Image Analysis for Tissue Biomarker Use: A White Paper From the Digital Pathology Association. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology* : AIMM, 29(7), 479-493. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000930>
- Latif, Z., Watters, A. D., Dunn, I., Grigor, K. M., Underwood, M. A., & Bartlett, J. M. S. (2003). HER2/neu overexpression in the development of muscle-invasive transitional cell carcinoma of the bladder. *British Journal of Cancer*, 89(7), 1305-1309. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601245>
- Lattanzi, M., Niederhausern, A., Zheng, J., Bahadur, N., Nichols, C., Barton, L., Gandhi, F., Chan, K., Insinga, A., Philip, J., Bakker, T., Regazzi, A. M., Guercio, B. J., Teo, M. Y., Aggen, D. H., Pietzak, E. J., Solit, D. B., Ostrovnaya, I., Shah, N. J., & Iyer, G. (2022). Incidence and clinical outcomes of HER2-altered bladder cancer (BC) patients (pts). *Journal of Clinical Oncology*, 40(6_suppl), 556. https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.6_suppl.556
- Lawless, M., Gulati, R., & Tretiakova, M. (2017). Stalk versus base invasion in pT1 papillary cancers of the bladder: improved substaging system predicting the risk of progression. *Histopathology*, 71(3), 406-414. <https://doi.org/10.1111/his.13247>
- Leal, J., Luengo-Fernandez, R., Sullivan, R., & Witjes, J. A. (2016). Economic Burden of Bladder Cancer Across the European Union. *European Urology*, 69(3), 438-447. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.10.024>
- Lee, L. J., Kwon, C. S., Forsythe, A., Mamolo, C. M., Masters, E. T., & Jacobs, I. A. (2020). Humanistic and economic burden of non-muscle invasive bladder cancer: Results of two systematic literature reviews. *ClinicoEconomics and Outcomes Research*, 12, 693-709. <https://doi.org/10.2147/CEOR.S274951>
- Lei H., Ling Y., Yuan P., Guo J., Sheng X., Zhou A. P., et al. (2022). Assessment of a HER-2 scoring system and its correlation of HER2-targeting antibody-drug conjugate therapy in urothelial carcinoma 2022 ASCO annual meeting; 2022 jun 3-7; Chicago, IL, USA. *Journal of Clinical Oncology*, 40(16_suppl), 4572.
- Lei, H., Ling, Y., Yuan, P., Yan, X., Wang, L., Shi, Y., Yao, X., Luo, H., Shi, B., Liu, J., He, Z., Yu, G., Han, W., Hu, C., Chi, Z., Cui, C., Si, L., Fang, J., Guo, J., ... Ying, J. (2023). Assessment of the expression pattern of HER2 and its correlation with HER2-targeting antibody-drug conjugate therapy in urothelial cancer. *Journal of the National Cancer Center*, 3(2), 121-128. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jncc.2023.02.003>
- Leivo, M. Z., Elson, P. J., Tacha, D. E., Delahunt, B., & Hansel, D. E. (2016). A combination of p40, GATA-3 and uroplakin II shows utility in the diagnosis and prognosis of muscle-invasive urothelial carcinoma. *Pathology*, 48(6), 543-549. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2016.05.008>
- Leivo, M. Z., Sahoo, D., Hamilton, Z., Mirsadraei, L., Shabaik, A., Parsons, J. K., Kader, A. K., Derweesh, I., Kane, C., & Hansel, D. E. (2018). Analysis of T1 Bladder Cancer on Biopsy and Transurethral Resection Specimens: Comparison and Ranking of T1 Quantification Approaches to Predict Progression to Muscularis Propria Invasion. *The American Journal of Surgical Pathology*, 42(1), e1-e10. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000964>
- Lemmon, M. A., & Schlessinger, J. (2010). Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*, 141(7), 1117-1134. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.011>

- Leow, J. J., Bedke, J., Chamie, K., Collins, J. W., Daneshmand, S., Grivas, P., Heidenreich, A., Messing, E. M., Royce, T. J., Sankin, A. I., Schoenberg, M. P., Shipley, W. U., Villers, A., Efstathiou, J. A., Bellmunt, J., & Stenzl, A. (2019). SIU-ICUD consultation on bladder cancer: treatment of muscle-invasive bladder cancer. *World Journal of Urology*, 37(1), 61-83. <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2606-y>
- Li, E., & Hristova, K. (2010). Receptor tyrosine kinase transmembrane domains: Function, dimer structure and dimerization energetics. *Cell Adhesion & Migration*, 4(2), 249-254. <https://doi.org/10.4161/cam.4.2.10725>
- Li, X., Liu, J., Li, A., Liu, X., Miao, Y., & Wang, Z. (2023). Analysis of the Relationship between Bladder Cancer Gene Mutation and Clinical Prognosis by High-Throughput Sequencing. *Laboratory Medicine*, 54(2), 142-152. <https://doi.org/10.1093/labmed/lmac083>
- Liaw, A., Cunha, G. R., Shen, J., Cao, M., Liu, G., Sinclair, A., & Baskin, L. (2018). Development of the human bladder and ureterovesical junction. *Differentiation; Research in Biological Diversity*, 103, 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.diff.2018.08.004>
- Lim, S. D., Cho, Y. M., Choi, G. S., Park, H. K., Paick, S. H., Kim, W. Y., Kim, S. N., & Yoon, G. (2015). Clinical significance of substaging and her2 expression in papillary nonmuscle invasive urothelial cancers of the urinary bladder. *Journal of Korean Medical Science*, 30(8), 1068-1077. <https://doi.org/10.3346/jkms.2015.30.8.1068>
- Lima, L., Dinis-Ribeiro, M., Longatto-Filho, A., & Santos, L. (2012). Predictive biomarkers of bacillus calmette-guérin immunotherapy response in bladder cancer: where are we now? *Advances in Urology*, 2012, 232609: 1--17. <https://doi.org/10.1155/2012/232609>
- Lindskrog, S. V., Prip, F., Lamy, P., Taber, A., Groeneveld, C. S., Birkenkamp-Demtröder, K., Jensen, J. B., Strandgaard, T., Nordentoft, I., Christensen, E., Sokac, M., Birkbak, N. J., Maretty, L., Hermann, G. G., Petersen, A. C., Weyerer, V., Grimm, M. O., Horstmann, M., Sjødahl, G., ... Dyrskjød, L. (2021). An integrated multi-omics analysis identifies prognostic molecular subtypes of non-muscle-invasive bladder cancer. *Nature Communications*, 12(1), 1-18. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22465-w>
- Liu, Z.-H., Wang, K., Lin, D.-Y., Xu, J., Chen, J., Long, X.-Y., Ge, Y., Luo, X.-L., Zhang, K.-P., Liu, Y.-H., & Xu, F.-P. (2019). Impact of the updated 2018 ASCO/CAP guidelines on HER2 FISH testing in invasive breast cancer: a retrospective study of HER2 fish results of 2233 cases. *Breast Cancer Research and Treatment*, 175(1), 51-57. <https://doi.org/10.1007/s10549-019-05148-5>
- Lobo, N., Brooks, N. A., Zlotta, A. R., Cirillo, J. D., Boorjian, S., Black, P. C., Meeks, J. J., Bivalacqua, T. J., Gontero, P., Steinberg, G. D., McConkey, D., Babjuk, M., Alfred Witjes, J., & Kamat, A. M. (2021). 100 years of Bacillus Calmette–Guérin immunotherapy: from cattle to COVID-19. *Nature Reviews Urology*, 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41585-021-00481-1>
- Lobo, N., Hensley, P. J., Bree, K. K., Nogueras-Gonzalez, G. M., Navai, N., Dinney, C. P., Sylvester, R. J., & Kamat, A. M. (2022). Updated European Association of Urology (EAU) Prognostic Factor Risk Groups Overestimate the Risk of Progression in Patients with Non-muscle-invasive Bladder Cancer Treated with Bacillus Calmette-Guérin. *European Urology Oncology*, 5(1), 84-91. <https://doi.org/10.1016/j.euo.2021.11.006>
- Lobo, N., Shariat, S. F., Guo, C. C., Fernandez, M. I., Kassouf, W., Choudhury, A., Gao, J., Williams, S. B., Galsky, M. D., Taylor, J. A., Roupert, M., & Kamat, A. M. (2020). What Is the Significance of Variant Histology in Urothelial Carcinoma? *European Urology Focus*, 6(4), 653-663. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2019.09.003>
- Lokeshwar, S. D., Ruiz-Cordero, R., Hupe, M. C., Jorda, M., & Soloway, M. S. (2015).

- Impact of 2004 ISUP/WHO classification on bladder cancer grading. *World Journal of Urology*, 33(12), 1929-1936. <https://doi.org/10.1007/s00345-015-1548-x>
- Lonati, C., Baumeister, P., Afferi, L., Mari, A., Minervini, A., Krajewski, W., Azizi, S., Hendricksen, K., Martini, A., Necchi, A., Montorsi, F., Briganti, A., Colombo, R., Tafuri, A., Antonelli, A., Cerruto, M. A., Rouprêt, M., Masson-Lecomte, A., Laukhtina, E., ... Moschini, M. (2022). Survival Outcomes After Immediate Radical Cystectomy Versus Conservative Management with Bacillus Calmette-Guérin Among T1 High-grade Micropapillary Bladder Cancer Patients: Results from a Multicentre Collaboration. *European Urology Focus*, 8(5), 1270-1277. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2021.07.015>
- López-Beltrán, A., Blanca, A., Cimadamore, A., Montironi, R., Luque, R. J., Volavšek, M., & Cheng, L. (2022). T1 bladder carcinoma with variant histology: pathological features and clinical significance. *Virchows Archiv*, 480(5), 989-998. <https://doi.org/10.1007/s00428-021-03264-6>
- López-Cortés, R., Vázquez-Estévez, S., Fernández, J. Á., & Núñez, C. (2021). Proteomics as a Complementary Technique to Characterize Bladder Cancer. *Cancers*, 13(21). <https://doi.org/10.3390/cancers13215537>
- Luchey, A. M., Manimala, N. J., Dickinson, S., Dhillon, J., Agarwal, G., Lockhart, J. L., Spiess, P. E., Sexton, W. J., Pow-Sang, J. M., Gilbert, S. M., & Poch, M. A. (2016). Change in Management Based on Pathologic Second Opinion Among Bladder Cancer Patients Presenting to a Comprehensive Cancer Center: Implications for Clinical Practice. *Urology*, 93, 130-134. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2016.01.048>
- Magers, M. J., Lopez-Beltran, A., Montironi, R., Williamson, S. R., Kaimakliotis, H. Z., & Cheng, L. (2019). Staging of bladder cancer. *Histopathology*, 74(1), 112-134. <https://doi.org/10.1111/his.13734>
- Maisch, P., Koziarz, A., Vajgrt, J., Narayan, V., Kim, M. H., & Dahm, P. (2021). Blue versus white light for transurethral resection of non-muscle invasive bladder cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 12(12), CD013776. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013776.pub2>
- Malats, N., & Real, F. X. (2015). Epidemiology of bladder cancer. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 29(2), 177-189, vii. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2014.10.001>
- Malik A. I., Jabeen R., Zaheer A., Kiran N, S. N. (2022). HER-2 expression status in different histopathological grades of urothelial carcinoma. *Pakistan Journal Of Medical & Health Sciences*, 16(5), 221-223. <https://doi.org/10.53350/pjmhs22165221>
- Marchiò, C., Annaratone, L., Marques, A., Casorzo, L., Berrino, E., & Sapino, A. (2021). Evolving concepts in HER2 evaluation in breast cancer: Heterogeneity, HER2-low carcinomas and beyond. *Seminars in Cancer Biology*, 72, 123-135. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.02.016>
- Martin-Doyle, W., Leow, J. J., Orsola, A., Chang, S. L., & Bellmunt, J. (2015). Improving selection criteria for early cystectomy in high-grade t1 bladder cancer: a meta-analysis of 15,215 patients. *Journal of Clinical Oncology*, 33(6), 643-650. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.57.6967>
- Marzouka, N. A. D., Eriksson, P., Bernardo, C., Hurst, C. D., Knowles, M. A., Sjö Dahl, G., Liedberg, F., & Höglund, M. (2022). The Lund Molecular Taxonomy Applied to Non-Muscle-Invasive Urothelial Carcinoma. *The Journal of Molecular Diagnostics : JMD*, 24(9), 992-1008. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2022.05.006>
- Mathieu, R., Lucca, I., Rouprêt, M., Briganti, A., & Shariat, S. F. (2016). The prognostic role of lymphovascular invasion in urothelial carcinoma of the bladder. *Nature Reviews Urology*, 13(8), 471-479. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.126>

- Matulay, J. T., Narayan, V. M., & Kamat, A. M. (2019). Clinical and Genomic Considerations for Variant Histology in Bladder Cancer. *Current Oncology Reports*, 21(3), 23. <https://doi.org/10.1007/s11912-019-0772-8>
- Matulewicz, R. S., Frainey, B. T., Oberlin, D. T., & Meeks, J. J. (2016). High-Risk of Adverse Pathologic Features in Patients With Clinical T1 High-Grade Bladder Cancer Undergoing Radical Cystectomy. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 14(11), 1403-1411. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2016.0150>
- Meeks, J. J., Al-Ahmadie, H., Faltas, B. M., Taylor, J. A., Flaig, T. W., DeGraff, D. J., Christensen, E., Woolbright, B. L., McConkey, D. J., & Dyrskjöt, L. (2020). Genomic heterogeneity in bladder cancer: challenges and possible solutions to improve outcomes. *Nature Reviews Urology*, 17(5), 259-270. <https://doi.org/10.1038/s41585-020-0304-1>
- Memoria 2014. Xerencia de Xestión Integrada de Vigo. SERGAS. Xunta de Galicia. <https://xxivigo.sergas.gal/DPAAnosaorganizacion/Memoria%20EOXI%20Vigo%202014.pdf> (acceso 1-10-2023)
- Mikulowski, P., & Hellsten, S. (2005). T1 G1 urinary bladder carcinoma: fact or fiction? *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 39(2), 135-137. <https://doi.org/10.1080/00365590510031219>
- Millis, S. Z., Bryant, D., Basu, G., Bender, R., Vranic, S., Gatalica, Z., & Vogelzang, N. J. (2015). Molecular profiling of infiltrating urothelial carcinoma of bladder and nonbladder origin. *Clinical Genitourinary Cancer*, 13(1), e37--e49. <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2014.07.010>
- Miñana, B., Cózar, J. M., Palou, J., Unda Urzaiz, M., Medina-Lopez, R. A., Subirá Ríos, J., De La Rosa-Kehrmann, F., Chantada-Abal, V., Lozano, F., Ribal, M. J., Rodríguez Fernández, E., Castiñeiras Fernández, J., Concepción Masip, T., Requena-Tapia, M. J., Moreno-Sierra, J., Hevia, M., Gómez Rodríguez, A., Martínez-Ballesteros, C., Ramos, M., ... Serrano, O. (2014). Bladder cancer in Spain 2011: Population based study. *The Journal of Urology*, 191(2), 323-328. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2013.08.049>
- Minardi, D., Milanese, G., Parri, G., Lacetera, V., & Muzzonigro, G. (2016). Non-muscle invasive high grade urothelial carcinoma of the bladder. Which factors can influence understaging at the time of radical cystectomy? *Archivio Italiano di Urologia e Andrologia*, 88(1), 13-16. <https://doi.org/10.4081/aiua.2016.1.13>
- Mitsudomi, T., & Yatabe, Y. (2010). Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR gene and cancer. *The FEBS Journal*, 277(2), 301-308. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07448.x>
- Miyake, M., Nishimura, N., Iida, K., Fujii, T., Nishikawa, R., Teraoka, S., Takenaka, A., Kikuchi, H., Abe, T., Shinohara, N., Okajima, E., Shimizu, T., Hori, S., Tsuchiya, N., Owari, T., Murakami, Y., Taoka, R., Kobayashi, T., Kojima, T., ... Fujimoto, K. (2021). Intravesical Bacillus Calmette-Guérin Treatment for T1 High-Grade Non-Muscle Invasive Bladder Cancer with Divergent Differentiation or Variant Morphologies. *Cancers*, 13(11). <https://doi.org/10.3390/cancers13112615>
- Mmeje, C. O., Guo, C. C., Shah, J. B., Navai, N., Grossman, H. B., Dinney, C. P., & Kamat, A. M. (2016). Papillary Recurrence of Bladder Cancer at First Evaluation after Induction Bacillus Calmette-Guérin Therapy: Implication for Clinical Trial Design. *European Urology*, 70(5), 778-785. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.031>
- Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, R. V. (s. f.). *Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter V (2016) WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs. 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer (IARC).*
- Modi, S., Jacot, W., Yamashita, T., Sohn, J., Vidal, M., Tokunaga, E., Tsurutani, J., Ueno, N.

- T., Prat, A., Chae, Y. S., Lee, K. S., Niikura, N., Park, Y. H., Xu, B., Wang, X., Gil-Gil, M., Li, W., Pierga, J.-Y., Im, S.-A., ... Cameron, D. A. (2022). Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Low Advanced Breast Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 387(1), 9-20. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2203690>
- Modi, S., Park, H., Murthy, R. K., Iwata, H., Tamura, K., Tsurutani, J., Moreno-Aspitia, A., Doi, T., Sagara, Y., Redfern, C., Krop, I. E., Lee, C., Fujisaki, Y., Sugihara, M., Zhang, L., Shahidi, J., & Takahashi, S. (2020). Antitumor Activity and Safety of Trastuzumab Deruxtecan in Patients With HER2-Low-Expressing Advanced Breast Cancer: Results From a Phase Ib Study. *Journal of Clinical Oncology*, 38(17), 1887-1896. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02318>
- Mohamed, M. B., Ali, M. H., Shamaa, M. A., & Shaaban, S. M. (2020). Single course of intravesical Bacillus Calmette-Guerin versus single course with maintenance therapy in the management of nonmuscle invasive bladder cancer: A prospective randomized study. *Urology Annals*, 12(4), 360-365. https://doi.org/10.4103/UA.UA_137_19
- Mohanty, S. K., Mishra, S. K., Tiwari, A., Sharma, S., Bhardwaj, M., Pattnaik, N., Jaiswal, S., Baisakh, M. R., Das, S., Pradhan, M. R., Swain, T. R., Satpathy, K., Williamson, S. R., & Parwani, A. V. (2021). Reappraisal of HER2 Amplification in High-Grade Urothelial Carcinoma Based on 2018 ASCO/CAP Clinical Practice Guidelines. *American Journal of Clinical Pathology*, 156(6), 1130-1141. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqab083>
- Moktefi, A., Pouessel, D., Liu, J., Sirab, N., Maille, P., Soyeux, P., Bergman, C. C., Auriault, M. L., Vordos, D., Taille, A. de la, Culine, S., & Allory, Y. (2018). Reappraisal of HER2 status in the spectrum of advanced urothelial carcinoma: a need of guidelines for treatment eligibility. *Modern Pathology*, 31(8), 1270-1281. <https://doi.org/10.1038/s41379-018-0023-9>
- Mooso, B. A., Vinall, R. L., Mudryj, M., Yap, S. A., deVere White, R. W., & Ghosh, P. M. (2015). The Role of EGFR Family Inhibitors in Muscle Invasive Bladder Cancer: A Review of Clinical Data and Molecular Evidence. *The Journal of Urology*, 193(1), 19-29. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2014.07.121>
- Morales, A., Eidinger, D., & Bruce, A. W. (1976). Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *The Journal of Urology*, 116(2), 180-183. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)58737-6](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)58737-6)
- Morales, Alvaro. (2017). BCG: A throwback from the stone age of vaccines opened the path for bladder cancer immunotherapy. *Canadian Journal of Urology*, 24(3), 8788-8793.
- Moschini, M., Shariat, S. F., Black, P., Kamat, A. M., Stabile, A., Cathelineau, X., Kassouf, W., Bochner, B. H., Xylinas, E., Roupret, M., Boorjian, S. A., Catto, J. W., & Sanchez-Salas, R. (2020). Do Not Learn a Technique, Learn the Biology Underlying the Disease: Techniques Evolve, Biology Prevails. *European Urology*, 77(1), 1-2. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.08.021>
- Mossanen, M., & Gore, J. L. (2014). The burden of bladder cancer care: direct and indirect costs. *Current Opinion in Urology*, 24(5), 487-491. <https://doi.org/10.1097/MOU.0000000000000078>
- Mossanen, M., Wang, Y., Szymaniak, J., Tan, W. S., Huynh, M. J., Preston, M. A., Trinh, Q.-D., Sonpavde, G., Kibel, A. S., & Chang, S. L. (2019). Evaluating the cost of surveillance for non-muscle-invasive bladder cancer: an analysis based on risk categories. *World Journal of Urology*, 37(10), 2059-2065. <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2550-x>
- Moustakas, G., Kampantais, S., Nikolaidou, A., Vakalopoulos, I., Tzioufa, V., & Dimitriadis,

- G. (2020). HER-2 overexpression is a negative predictive factor for recurrence in patients with non-muscle-invasive bladder cancer on intravesical therapy. *The Journal of International Medical Research*, 48(1), 300060519895847. <https://doi.org/10.1177/0300060519895847>
- Naselli, A., Hurle, R., Paparella, S., Buffi, N. M., Lughezzani, G., Lista, G., Casale, P., Saita, A., Lazzeri, M., & Guazzoni, G. (2018). Role of Restaging Transurethral Resection for T1 Non-muscle invasive Bladder Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *European Urology Focus*, 4(4), 558-567. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2016.12.011>
- NCCN. (2023). *NCCN Guideline version 2.2023. Bladder Cancer*. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/bladder.pdf
- Nedjadi, T., Al-Maghrabi, J., Assidi, M., Dallol, A., Al-Kattabi, H., Chaudhary, A., Al-Sayyad, A., Al-Ammari, A., Abuzenadah, A., Buhmeida, A., & Al-Qahtani, M. (2016). Prognostic value of HER2 status in bladder transitional cell carcinoma revealed by both IHC and BDISH techniques. *BMC Cancer*, 16, 653. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2703-5>
- Neuhaus, J., Schröppel, B., Dass, M., Zimmermann, H., Wolburg, H., Fallier-Becker, P., Gevaert, T., Burkhardt, C. J., Do, H. M., & Stolzenburg, J.-U. (2018). 3D-electron microscopic characterization of interstitial cells in the human bladder upper lamina propria. *Neurourology and Urodynamics*, 37(1), 89-98. <https://doi.org/10.1002/nau.23270>
- Nogueira March, J. L., Ojea Calvo, A., Castro Iglesias, A. M., & Rodríguez Iglesias, B. (1992). Carcinoma superficial de vejiga. El tumor pT1G3: progresión, recurrencia y supervivencia. Tratamiento. *Actas Urológicas Españolas*, 16(9), 682-690. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1488920>
- Oddens, J. R., Sylvester, R. J., Brausi, M. A., Kirkels, W. J., van de Beek, C., van Andel, G., de Reijke, T. M., Prescott, S., Alfred Witjes, J., & Oosterlinck, W. (2016). Increasing age is not associated with toxicity leading to discontinuation of treatment in patients with urothelial non-muscle-invasive bladder cancer randomised to receive 3 years of maintenance bacille Calmette-Guérin: results from European Organisation. *BJU International*, 118(3), 423-428. <https://doi.org/10.1111/bju.13474>
- Oh, D., & Bang, Y. (2020). HER2-targeted therapies — a role beyond breast cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 17, 33-48. <https://doi.org/10.1038/s41571-019-0268-3>
- Olsson, H., Fyhr, I.-M., Hultman, P., & Jahnson, S. (2012). HER2 status in primary stage T1 urothelial cell carcinoma of the urinary bladder. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 46(2), 102-107. <https://doi.org/10.3109/00365599.2011.637955>
- Olsson, H., Hultman, P., Rosell, J., & Jahnson, S. (2013). Population-based study on prognostic factors for recurrence and progression in primary stage T1 bladder tumours. *Scandinavian Journal of Urology*, 47(3), 188-195. <https://doi.org/10.3109/00365599.2012.719539>
- Orsola, A., Werner, L., De Torres, I., Martin-Doyle, W., Raventos, C. X., Lozano, F., Mullane, S. A., Leow, J. J., Barletta, J. A., Bellmunt, J., & Morote, J. (2015). Reexamining treatment of high-grade T1 bladder cancer according to depth of lamina propria invasion: A prospective trial of 200 patients. *British Journal of Cancer*, 112(3), 468-474. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.633>
- Otto, W. (2018). Stage T1 bladder cancer: historic background and latest tracks for its demystification. *Translational Andrology and Urology*, 7 (4), 760-763. <https://doi.org/10.21037/tau.2018.06.13>
- Palou, J., Pisano, F., Sylvester, R., Joniau, S., Serretta, V., Larré, S., Di Stasi, S., van Rhijn,

- B., Witjes, A. J., Grotenhuis, A., Colombo, R., Briganti, A., Babjuk, M., Soukup, V., Malmstrom, P. U., Irani, J., Malats, N., Baniel, J., Mano, R., ... Gontero, P. (2018). Recurrence, progression and cancer-specific mortality according to stage at re-TUR in T1G3 bladder cancer patients treated with BCG: not as bad as previously thought. *World Journal of Urology*, 36(10), 1621-1627. <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2299-2>
- Paner, G. P., Kamat, A., Netto, G. J., Samaratunga, H., Varma, M., Bubendorf, L., van der Kwast, T. H., & Cheng, L. (2023). International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Current Issues in Bladder Cancer. Working Group 2: Grading of Mixed Grade, Invasive Urothelial Carcinoma Including Histologic Subtypes and Divergent Differentiations, and Non-Uro. *The American Journal of Surgical Pathology*. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000002077>
- Paner, G. P., Montironi, R., & Amin, M. B. (2017). Challenges in Pathologic Staging of Bladder Cancer: Proposals for Fresh Approaches of Assessing Pathologic Stage in Light of Recent Studies and Observations Pertaining to Bladder Histoanatomic Variances. *Advances in Anatomic Pathology*, 24(3), 113-127. <https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000152>
- Papafotiou, G., Paraskevopoulou, V., Vasilaki, E., Kanaki, Z., Paschalidis, N., & Klinakis, A. (2016). KRT14 marks a subpopulation of bladder basal cells with pivotal role in regeneration and tumorigenesis. *Nature Communications*, 7(May), 1-11. <https://doi.org/10.1038/ncomms11914>
- Patelli, G., Zeppellini, A., Spina, F., Righetti, E., Stabile, S., Amatu, A., Tosi, F., Ghezzi, S., Siena, S., & Sartore-Bianchi, A. (2022). The evolving panorama of HER2-targeted treatments in metastatic urothelial cancer: A systematic review and future perspectives. *Cancer Treatment Reviews*, 104, 102351. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2022.102351>
- Patriarca, C., Hurle, R., Moschini, M., Freschi, M., Colombo, P., Colecchia, M., Ferrari, L., Guazzoni, G., Conti, A., Conti, G., Lucianò, R., Magnani, T., & Colombo, R. (2016). Usefulness of pT1 substaging in papillary urothelial bladder carcinoma. *Diagnostic Pathology*, 11(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13000-016-0466-6>
- Patschan, O., Holmäng, S., Hosseini, A., Jancke, G., Liedberg, F., Ljungberg, B., Malmström, P.-U., Rosell, J., & Jahnson, S. (2017). Second-look resection for primary stage T1 bladder cancer: a population-based study. *Scandinavian Journal of Urology*, 51(4), 301-307. <https://doi.org/10.1080/21681805.2017.1303846>
- Patschan, O., Sjö Dahl, G., Chebil, G., Lövgren, K., Lauss, M., Gudjonsson, S., Kollberg, P., Eriksson, P., Aine, M., Månsson, W., Fernö, M., Liedberg, F., & Höglund, M. (2015). A Molecular Pathologic Framework for Risk Stratification of Stage T1 Urothelial Carcinoma. *European Urology*, 68(5), 824-826. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.02.021>
- Pesch, B., Taeger, D., Johnen, G., Gawrych, K., Bonberg, N., Schwentner, C., Wellhäusser, H., Kluckert, M., Leng, G., Nasterlack, M., Lotan, Y., Stenzl, A., & Brüning, T. (2014). Screening for bladder cancer with urinary tumor markers in chemical workers with exposure to aromatic amines. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 87(7), 715-724. <https://doi.org/10.1007/s00420-013-0916-3>
- Pietzak, E. J., Bagrodia, A., Cha, E. K., Drill, E. N., Iyer, G., Isharwal, S., Ostrovnaya, I., Baez, P., Li, Q., Berger, M. F., Zehir, A., Schultz, N., Rosenberg, J. E., Bajorin, D. F., Dalbagni, G., Al-Ahmadie, H., Solit, D. B., & Bochner, B. H. (2017). Next-generation Sequencing of Nonmuscle Invasive Bladder Cancer Reveals Potential Biomarkers and Rational Therapeutic Targets. *European Urology*, 72(6), 952-959. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.05.032>

- Pokuri, V. K., Syed, J. R., Yang, Z., Field, E. P., Cyriac, S., Pili, R., Levine, E. G., Azabdaftari, G., Trump, D. L., Guru, K., & George, S. (2016). Predictors of Complete Pathologic Response (pT0) to Neoadjuvant Chemotherapy in Muscle-invasive Bladder Carcinoma. *Clinical Genitourinary Cancer*, 14(1), e59-65. <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2015.09.013>
- Press, M. F., Sauter, G., Buyse, M., Fourmanoir, H., Quinaux, E., Tsao-Wei, D. D., Eiermann, W., Robert, N., Pienkowski, T., Crown, J., Martin, M., Valero, V., Mackey, J. R., Bee, V., Ma, Y., Villalobos, I., Campeau, A., Mirlacher, M., Lindsay, M.-A., & Slamon, D. J. (2016). HER2 Gene Amplification Testing by Fluorescent In Situ Hybridization (FISH): Comparison of the ASCO-College of American Pathologists Guidelines With FISH Scores Used for Enrollment in Breast Cancer International Research Group Clinical Trials. *Journal of Clinical Oncology* 34(29), 3518-3528. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.66.6693>
- Prieto-Gómez, O. (2014). *Evaluación de HER2, Topoisomerasa 2-alfa y Ki67 por técnicas de hibridación in situ (DuoCISH vs. FISH) e inmunohistoquímica en cáncer de mama* [tesis. Universidad Santiago de Compostela]. <http://hdl.handle.net/10347/12303>
- Rasouly, H. M., & Lu, W. (2013). Lower urinary tract development and disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Systems Biology and Medicine*, 5(3), 307-342. <https://doi.org/10.1002/wsbm.1212>
- Raspolini, M. R., Montironi, R., Mazzucchelli, R., Cimadamore, A., Cheng, L., & Lopez-Beltran, A. (2020). pT1 high-grade bladder cancer: histologic criteria, pitfalls in the assessment of invasion, and substaging. *Virchows Archiv*, 477(1), 3-16. <https://doi.org/10.1007/s00428-020-02808-6>
- Reddy, E. P., Reynolds, R. K., Santos, E., & Barbacid, M. (1982). A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene. *Nature*, 300(5888), 149-152. <https://doi.org/10.1038/300149a0>
- Redondo-Gonzalez, E., de Castro, L. N., Moreno-Sierra, J., Maestro de las Casas, M. L., Vera-Gonzalez, V., Ferrari, D. G., & Corchado, J. M. (2015). Bladder carcinoma data with clinical risk factors and molecular markers: a cluster analysis. *BioMed Research International*, 2015, 168682. <https://doi.org/10.1155/2015/168682>
- REGAT: Registro Galego de Tumores, ano 2022. Xunta de Galicia. Octubre 2023. https://www.sergas.es/Saude-publica/Documents/7322/Informe%202022_REGAT.pdf
- Richters, A., Aben, K. K. H., & Kiemeny, L. A. L. M. (2020). The global burden of urinary bladder cancer: an update. *World Journal of Urology*, 38(8), 1895-1904. <https://doi.org/10.1007/s00345-019-02984-4>
- Robboy, S. J., Kurita, T., Baskin, L., & Cunha, G. R. (2017). New insights into human female reproductive tract development. *Differentiation; Research in Biological Diversity*, 97, 9-22. <https://doi.org/10.1016/j.diff.2017.08.002>
- Robertson, A. G., Groeneveld, C. S., Jordan, B., Lin, X., McLaughlin, K. A., Das, A., Fall, L. A., Fantini, D., Taxter, T. J., Mogil, L. S., Lindskrog, S. V., Dyrskjot, L., McConkey, D. J., Svatek, R. S., de Reyniès, A., Castro, M. A. A., & Meeks, J. J. (2020). Identification of Differential Tumor Subtypes of T1 Bladder Cancer. *European Urology*, 78(4), 533-537. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.06.048>
- Robertson, A. G., Kim, J., Al-Ahmadie, H., Bellmunt, J., Guo, G., Cherniack, A. D., Hinoue, T., Laird, P. W., Hoadley, K. A., Akbani, R., Castro, M. A. A., Gibb, E. A., Kanchi, R. S., Gordenin, D. A., Shukla, S. A., Sanchez-Vega, F., Hansel, D. E., Czerniak, B. A., Reuter, V. E., ... Lerner, S. P. (2017). Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cell*, 171(3), 540--556.e25.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.007>

- Rodríguez-Pena, M. C., Chaux, A., Eich, M., Tregnago, A., Taheri, D., Borhan, W., Sharma, R., Rezaei, M. K., & Netto, G. J. (2019). Immunohistochemical assessment of basal and luminal markers in non-muscle invasive urothelial carcinoma of bladder. *Virchows Archiv*, 475(3), 349-356. <https://doi.org/10.1007/s00428-019-02618-5>.
- Rodriguez-Vida, A., Lerner, S. P., & Bellmunt, J. (2018). The cancer genome atlas project in bladder cancer. En *Cancer Treatment and Research* (Vol. 175). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-93339-9_12
- Roskoski, R. (2014). The ErbB / HER family of protein - tyrosine kinases and cancer. *Pharmacological Research*, 79, 34-74. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2013.11.002>.
- Rosli, N., Mahasin, M., Mohd Saleh, M. F., & Abd Shukor, N. (2022). The prognostic significance of HER2 expression in urothelial carcinoma. *The Malaysian Journal of Pathology*, 44(2), 245-252.
- Ross, D. S., Zehir, A., Cheng, D. T., Benayed, R., Nafa, K., Hechtman, J. F., Janjigian, Y. Y., Weigelt, B., Razavi, P., Hyman, D. M., Baselga, J., Berger, M. F., Ladanyi, M., & Arcila, M. E. (2017). Next-Generation Assessment of Human Growth Factor Receptor 2 (ERBB2) Amplification Status: Clinical Validation in the Context of a Hybrid Capture-Based, Comprehensive Solid Tumor Genomic Profiling Assay. *Journal of Molecular Diagnostics*, 19(2), 244-254. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2016.09.010>
- Ross, J. S., Fletcher, J. A., Linette, G. P., Stec, J., Clark, E., Ayers, M., Symmans, W. F., Pusztai, L., & Bloom, K. J. (2003). The Her-2/neu gene and protein in breast cancer 2003: biomarker and target of therapy. *The Oncologist*, 8(4), 307-325. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.8-4-307>
- Ross, J. S., Wang, K., Khaira, D., Ali, S. M., Fisher, H. A. G., Mian, B., Nazeer, T., Elvin, J. A., Palma, N., Yelensky, R., Lipson, D., Miller, V. A., Stephens, P. J., Subbiah, V., & Pal, S. K. (2016). Comprehensive genomic profiling of 295 cases of clinically advanced urothelial carcinoma of the urinary bladder reveals a high frequency of clinically relevant genomic alterations. *Cancer*, 122(5), 702-711. <https://doi.org/10.1002/cncr.29826>
- Saluja, M., & Gilling, P. (2018). Intravesical bacillus Calmette-Guérin instillation in non-muscle-invasive bladder cancer: A review. *International Journal of Urology*, 25(1), 18-24. <https://doi.org/10.1111/iju.13410>
- Samra, S., Nibhoria, S., Sandhu, V. K., & Singh, A. (2023). Evaluation of the immunohistochemical expression of HER2/NEU in urinary bladder neoplasms in a tertiary care hospital. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 11(5), 1687-1692. <https://doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20231337>
- Sanfrancesco, J., McKenney, J. K., Leivo, M. Z., Gupta, S., Elson, P., & Hansel, D. E. (2016). Sarcomatoid Urothelial Carcinoma of the Bladder: Analysis of 28 Cases With Emphasis on Clinicopathologic Features and Markers of Epithelial-to-Mesenchymal Transition. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 140(6), 543-551. <https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0085-OA>
- Sangoi, A. R., Cox, R. M., Higgins, J. P., Quick, C. M., & McKenney, J. K. (2020). Non-invasive papillary urothelial carcinoma with «micropapillary» architecture: clinicopathological study of 18 patients emphasising clinical outcomes. *Histopathology*, 77(5), 728-733. <https://doi.org/10.1111/his.14161>
- Sanguedolce, F; Russo, D; Mancini, V; Selvaggio, O; Calò, B; Carrieri, G; Cormio, L. (2019). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 in Non-Muscle Invasive Bladder Cancer : Issues in Assessment Methods and Its Role as Prognostic / Predictive Marker and Putative Therapeutic Target : A Comprehensive Review. *Urologia Internationalis*,

- 102(3), 249-261. <https://doi.org/10.1159/000494359>
- Sanguedolce, F., Brunelli, M., D'amuri, A., Calò, B., Mancini, V., Carrieri, G., & Cormio, L. (2018). Evolving concepts and use of immunohistochemical biomarkers in flat non-neoplastic urothelial lesions: WHO 2016 classification update with diagnostic algorithm. *Biomarkers : Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, 23(4), 305-314. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2018.1428360>
- Sanguedolce, F., Calò, B., Mancini, V., Zanelli, M., Palicelli, A., Zizzo, M., Ascani, S., Carrieri, G., & Cormio, L. (2021). Non-Muscle Invasive Bladder Cancer with Variant Histology: Biological Features and Clinical Implications. *Oncology*, 99(6), 345-358. <https://doi.org/10.1159/000514759>
- Sanguedolce, F., Cormio, A., Massenio, P., Pedicillo, M. C., Cagiano, S., Fortunato, F., Calò, B., Di Fino, G., Carrieri, G., Bufo, P., & Cormio, L. (2018). Altered expression of HER-2 and the mismatch repair genes MLH1 and MSH2 predicts the outcome of T1 high-grade bladder cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 144(4), 637-644. <https://doi.org/10.1007/s00432-018-2593-9>
- Sanguedolce, F., Zanelli, M., Palicelli, A., Ascani, S., Zizzo, M., Cocco, G., Björnebo, L., Lantz, A., Landriscina, M., Conteduca, V., Falagario, U. G., Cormio, L., & Carrieri, G. (2022). Are We Ready to Implement Molecular Subtyping of Bladder Cancer in Clinical Practice? Part 2: Subtypes and Divergent Differentiation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14). <https://doi.org/10.3390/ijms23147844>
- Sanguedolce, F., Zanelli, M., Palicelli, A., Bisagni, A., Zizzo, M., Ascani, S., Pedicillo, M. C., Cormio, A., Falagario, U. G., Carrieri, G., & Cormio, L. (2023). HER2 Expression in Bladder Cancer: A Focused View on Its Diagnostic, Prognostic, and Predictive Role. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4). <https://doi.org/10.3390/ijms24043720>
- Sanli, O., Dobruch, J., Knowles, M. A., Burger, M., Alemozaffar, M., Nielsen, M. E., & Lotan, Y. (2017). Bladder cancer. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17022. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.22>
- Scherrer, E., Kang, A., Bloudek, L. M., & Koshkin, V. S. (2022). HER2 expression in urothelial carcinoma, a systematic literature review. *Frontiers in oncology*, 12, p. 1011885. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1011885>
- Schiffmann, J., Gandaglia, G., Larcher, A., Sun, M., Tian, Z., Shariat, S. F., McCormack, M., Valiquette, L., Montorsi, F., Graefen, M., Saad, F., & Karakiewicz, P. I. (2014). Contemporary 90-day mortality rates after radical cystectomy in the elderly. *European Journal of Surgical Oncology*, 40(12), 1738-1745. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2014.10.004>
- Schmidt, S., Kunath, F., Coles, B., Draeger, D. L., Krabbe, L.-M., Dersch, R., Kilian, S., Jensen, K., Dahm, P., & Meerpohl, J. J. (2020). Intravesical Bacillus Calmette-Guérin versus mitomycin C for Ta and T1 bladder cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1(1), CD011935. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011935.pub2>
- Schnitzler, T., Ortiz-Brüchle, N., Schneider, U., Lurje, I., Guricova, K., Buchner, A., Schulz, G. B., Heidenreich, A., Gaisa, N. T., Knüchel, R., & Garczyk, S. (2020). Pure high-grade papillary urothelial bladder cancer: a luminal-like subgroup with potential for targeted therapy. *Cellular Oncology*, 43(5), 807-819. <https://doi.org/10.1007/s13402-020-00524-6>
- SEOM. (2023). *Las cifras del cáncer en España 2023*. https://seom.org/images/Las_cifras_del_Cancer_en_Espana_2023.pdf

- Serag-Eldien, M. M., Abdou, A. G., Elghrabawy, G. R. A., Alhanafy, A. M., & Mahmoud, S. F. (2021). Stratification of urothelial bladder carcinoma depending on immunohistochemical expression of GATA3 and CK5/6. *Journal of Immunoassay & Immunochemistry*, 42(6), 662-678. <https://doi.org/10.1080/15321819.2021.1937212>
- Shahin, O., Thalman, G. N., Rentsch, C., Mazzucchelli, L., & Studer, U. E. (2003). A retrospective analysis of 153 patients treated with or without intravesical bacillus Calmette-Guerin for primary stage T1 grade 3 bladder cancer: Recurrence, progression and survival. *The Journal of Urology*, 169(1), 96-100. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000035543.69161.58>
- Shariat, S. F., Ashfaq, R., Sagalowsky, A. I., & Lotan, Y. (2007). Predictive value of cell cycle biomarkers in nonmuscle invasive bladder transitional cell carcinoma. *The Journal of Urology*, 177(2), 481-487; discussion 487. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2006.09.038>
- Shariat, S. F., Enikeev, D. V., & Mostafaei, H. (2019). Six essential conditions for bladder-sparing strategies in bacillus Calmette-Guérin unresponsive bladder cancer. *Immunotherapy*, 11(13), 1083-1086. <https://doi.org/10.2217/imt-2019-0083>
- Shen, P., Jing, Y., Zhang, R., Cai, M.-C., Ma, P., Chen, H., & Zhuang, G. (2018). Comprehensive genomic profiling of neuroendocrine bladder cancer pinpoints molecular origin and potential therapeutics. *Oncogene*, 37(22), 3039-3044. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0192-5>
- Sheng, X., Yan, X., Wang, L., Shi, Y., Yao, X., Luo, H., Shi, B., Liu, J., He, Z., Yu, G., Ying, J., Han, W., Hu, C., Ling, Y., Chi, Z., Cui, C., Si, L., Fang, J., Zhou, A., & Guo, J. (2021). Open-label, Multicenter, Phase II Study of RC48-ADC, a HER2-Targeting Antibody-Drug Conjugate, in Patients with Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 27(1), 43-51. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2488>
- Shin, K., Lim, A., Odegaard, J. I., Honeycutt, J. D., Kawano, S., Hsieh, M. H., & Beachy, P. A. (2014). Cellular origin of bladder neoplasia and tissue dynamics of its progression to invasive carcinoma. *Nature Cell Biology*, 16(5), 469-478. <https://doi.org/10.1038/ncb2956>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., & Jemal, A. (2021). Cancer Statistics, 2021. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(1), 7-33. <https://doi.org/10.3322/caac.21654>
- Sikic, D., Eckstein, M., Weyerer, V., Kubon, J., Breyer, J., Roghmann, F., Kunath, F., Keck, B., Erben, P., Hartmann, A., Wirtz, R. M., Wullich, B., Taubert, H., & Wach, S. (2022). High expression of ERBB2 is an independent risk factor for reduced recurrence-free survival in patients with stage T1 non-muscle-invasive bladder cancer. *Urologic Oncology*, 40(2), 63.e9-63.e18. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2021.06.021>
- Silverman DT, Koutros S, Figueroa JD, Prokunina-Olsson L, R. N. (2018). Bladder cancer. En S. D. Thun M, Linet MS, Cerhan JR, Haiman CA (Ed.), *Cancer Epidemiology and Prevention* (4th ed., pp. 977-996). Oxford University Press.
- Simon, R., Atefy, R., Wagner, U., Forster, T., Fijan, A., Bruderer, J., Wilber, K., Mihatsch, M. J., Gasser, T., & Sauter, G. (2003). HER-2 and TOP2A coamplification in urinary bladder cancer. *International Journal of Cancer*, 107(5), 764-772. <https://doi.org/10.1002/ijc.11477>
- Siracusano, S., Silvestri, T., Bassi, S., Porcaro, A. B., Cerruto, M. A., Talamini, R., & Artibani, W. (2018). Health-related quality of life after BCG or MMC induction for non-muscle invasive bladder cancer. *The Canadian Journal of Urology*, 25(5), 9480-9485.
- Sjödahl, G., Jackson, C. L., Bartlett, J. M. S., Siemens, D. R., & Berman, D. M. (2019). Molecular profiling in muscle-invasive bladder cancer: more than the sum of its parts.

- Journal of Pathology*, 247(5), 563-573. <https://doi.org/10.1002/path.5230>
- Sjödahl, 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. (2012). A molecular taxonomy for urothelial carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 18(12), 3377-3386. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0077-T>
- Slamon, D. J., Clark, G. M., Wong, S. G., Levin, W. J., Ullrich, A., & McGuire, W. L. (1987). Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*, 235(4785), 177-182. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3798106>
- Smith, A. B., Jaeger, B., Pinheiro, L. C., Edwards, L. J., Tan, H.-J., Nielsen, M. E., & Reeve, B. B. (2018). Impact of bladder cancer on health-related quality of life. *BJU International*, 121(4), 549-557. <https://doi.org/10.1111/bju.14047>
- Soria, F., Moschini, M., Haitel, A., Wirth, G. J., Gust, K. M., Briganti, A., Rouprêt, M., Klatte, T., Hassler, M. R., Karakiewicz, P. I., & Shariat, S. F. (2016). The effect of HER2 status on oncological outcomes of patients with invasive bladder cancer. *Urologic Oncology*, 34(12), 533.e1--533.e10. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2016.07.006>
- Soria, F., Sanchez-Carbayo, M., Benderska-Söder, N., Schmidz-Dräger, B. J., Zamboni, S., Moschini, M., Mitra, A. P., & Lotan, Y. (2021). *Bladder Cancer Tissue-Based Biomarkers*, 2(1 SE-Molecular Biomarkers in Urologic Oncology), 53-71. <https://siuj.org/index.php/siuj/article/view/41>
- Soukup, V., Čapoun, O., Cohen, D., Hernández, V., Babjuk, M., Burger, M., Compérat, E., Gontero, P., Lam, T., MacLennan, S., Mostafid, A. H., Palou, J., van Rhijn, B. W. G., Rouprêt, M., Shariat, S. F., Sylvester, R., Yuan, Y., & Zigeuner, R. (2017). Prognostic Performance and Reproducibility of the 1973 and 2004/2016 World Health Organization Grading Classification Systems in Non-muscle-invasive Bladder Cancer: A European Association of Urology Non-muscle Invasive Bladder Cancer Guidelines Panel Syst. *European Urology*, 72(5), 801-813. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.04.015>
- Soukup, V., Čapoun, O., Cohen, D., Hernández, V., Burger, M., Compérat, E., Gontero, P., Lam, T., Mostafid, A. H., Palou, J., van Rhijn, B. W. G., Rouprêt, M., Shariat, S. F., Sylvester, R., Yuan, Y., Zigeuner, R., & Babjuk, M. (2020). Risk Stratification Tools and Prognostic Models in Non-muscle-invasive Bladder Cancer: A Critical Assessment from the European Association of Urology Non-muscle-invasive Bladder Cancer Guidelines Panel. *European Urology Focus*, 6(3), 479-489. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2018.11.005>
- Steeghs, E. M. P., Kroeze, L. I., Tops, B. B. J., van Kempen, L. C., Ter Elst, A., Kastner-van Raaij, A. W. M., Hendriks-Cornelissen, S. J. B., Hermsen, M. J. W., Jansen, E. A. M., Nederlof, P. M., Schuur, E., Ligtenberg, M. J. L., & Eijkelenboom, A. (2020). Comprehensive routine diagnostic screening to identify predictive mutations, gene amplifications, and microsatellite instability in FFPE tumor material. *BMC Cancer*, 20(1), 291. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-06785-6>
- Stehelin, D., Varmus, H. E., Bishop, J. M., & Vogt, P. K. (1976). DNA related to the transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. *Nature*, 260(5547), 170-173. <https://doi.org/10.1038/260170a0>
- Strandgaard, T., Nordentoft, I., Lamy, P., Christensen, E., Thomsen, M. B. H., Jensen, J. B., & Dyrskjöt, L. (2020). Mutational Analysis of Field Cancerization in Bladder Cancer. *Bladder Cancer*, 6, 253-264. <https://doi.org/10.3233/BLC-200282>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and

- Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Svatek, R. S., Hollenbeck, B. K., Holmäng, S., Lee, R., Kim, S. P., Stenzl, A., & Lotan, Y. (2014). The economics of bladder cancer: Costs and considerations of caring for this disease. *European Urology*, 66(2), 253-262. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.01.006>
- Sylvester, R. J. (2015). Maintenance Bacillus Calmette-Guérin Therapy: The Search for the Optimum Treatment Schedule Continues. *European Urology*, 68(2), 263-264. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.03.029>
- Sylvester, R. J., Oosterlinck, W., Holmang, S., Sydes, M. R., Birtle, A., Gudjonsson, S., De Nunzio, C., Okamura, K., Kaasinen, E., Solsona, E., Ali-El-Dein, B., Tatar, C. A., Inman, B. A., N'Dow, J., Oddens, J. R., & Babjuk, M. (2016). Systematic Review and Individual Patient Data Meta-analysis of Randomized Trials Comparing a Single Immediate Instillation of Chemotherapy after Transurethral Resection with Transurethral Resection Alone in Patients with Stage pTa-pT1 Urothelial Carcinoma. *European Urology*, 69(2), 231-244. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.05.050>
- Sylvester, R. J., Rodríguez, O., Hernández, V., Turturica, D., Bauerová, L., Bruins, H. M., Bründl, J., van der Kwast, T. H., Brisuda, A., Rubio-Briones, J., Seles, M., Hentschel, A. E., Kusuma, V. R. M., Huebner, N., Cotte, J., Mertens, L. S., Volanis, D., Cussenot, O., Subiela Henríquez, J. D., ... van Rhijn, B. W. G. (2021). European Association of Urology (EAU) Prognostic Factor Risk Groups for Non-muscle-invasive Bladder Cancer (NMIBC) Incorporating the WHO 2004/2016 and WHO 1973 Classification Systems for Grade: An Update from the EAU NMIBC Guidelines Panel. *European Urology*, 79(4), 480-488. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.12.033>
- Sylvester, R. J., Van Der Meijden, A. P. M., Oosterlinck, W., Witjes, J. A., Bouffieux, C., Denis, L., Newling, D. W. W., & Kurth, K. (2006). Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: A combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *European Urology*, 49(3), 466-475. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2005.12.031>
- Takahara, T., Murase, Y., & Tsuzuki, T. (2021). Urothelial carcinoma: variant histology, molecular subtyping, and immunophenotyping significant for treatment outcomes. *Pathology*, 53(1), 56-66. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2020.09.004>
- Tan, T. Z., Rouanne, M., Tan, K. T., Huang, R. Y. J., & Thiery, J. P. (2019). Molecular Subtypes of Urothelial Bladder Cancer: Results from a Meta-cohort Analysis of 2411 Tumors. *European Urology*, 75(3), 423-432. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.08.027>
- Tarantino, P., Hamilton, E., Tolaney, S. M., Cortes, J., Morganti, S., Ferraro, E., Marra, A., Viale, G., Trapani, D., Cardoso, F., Penault-Llorca, F., Viale, G., André, F., & Curigliano, G. (2020). HER2-Low Breast Cancer: Pathological and Clinical Landscape. *Journal of Clinical Oncology*, 38(17), 1951-1962. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02488>
- Taylor, C. R. (2019). Introduction to Predictive Biomarkers: Definitions and Characteristics. En S. Badve & G. L. Kumar (Eds.), *Predictive Biomarkers in Oncology: Applications in Precision Medicine* (pp. 3-18). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-95228-4_1
- Taylor, J., Becher, E., & Steinberg, G. D. (2020). Update on the guideline of guidelines: non-muscle-invasive bladder cancer. *BJU International*, 125(2), 197-205. <https://doi.org/10.1111/bju.14915>
- Teoh, J. Y. C., MacLennan, S., Chan, V. W. S., Miki, J., Lee, H. Y., Chiong, E., Lee, L. S., Wei, Y., Yuan, Y., Yu, C. P., Chow, W. K., Poon, D. M. C., Chan, R., Lai, F., Ng, C. F.,

- Breda, A., Kramer, M. W., Malavaud, B., Mostafid, H., ... Babjuk, M. (2020). An International Collaborative Consensus Statement on En Bloc Resection of Bladder Tumour Incorporating Two Systematic Reviews, a Two-round Delphi Survey, and a Consensus Meeting. *European Urology*, 78(4), 546-569. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.04.059>
- Turan, T., Efiloglu, Ö., Günaydin, B., Özkanli, Ş., Nikerel, E., Atiş, G., Çaşkurulu, T., & Yildirim, A. (2018). Comparative differences between T1a/b and T1e/m as substages in T1 urothelial carcinoma of the bladder. *International Brazilian Journal of Urology*, 44(2), 267-272. <https://doi.org/10.1590/S1677-5538.IBJU.2017.0424>
- Van De Putte, E. E. F., Behrendt, M. A., Pigot, G. L. S., Van Der Kwast, T. H., & Van Rhijn, B. W. G. (2015). Prognostic significance of substage and WHO classification systems in T1 urothelial carcinoma of the bladder. *Current Opinion in Urology*, 25(5), 427-435. <https://doi.org/10.1097/MOU.0000000000000202>
- van den Bosch, S., & Alfred Witjes, J. (2011). Long-term cancer-specific survival in patients with high-risk, non-muscle-invasive bladder cancer and tumour progression: a systematic review. *European Urology*, 60(3), 493-500. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.05.045>
- van Osch, F. H., Jochems, S. H., van Schooten, F.-J., Bryan, R. T., & Zeegers, M. P. (2016). Quantified relations between exposure to tobacco smoking and bladder cancer risk: a meta-analysis of 89 observational studies. *International Journal of Epidemiology*, 45(3), 857-870. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw044>
- van Rhijn, B. W. G., & Burger, M. (2016). Bladder cancer: Low adherence to guidelines in non-muscle-invasive disease. *Nature Reviews. Urology*, 13(10), 570-571. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.165>
- Varma, M., Srigley, J. R., Brimo, F., Compérat, E., Delahunt, B., Koch, M., Lopez-Beltran, A., Reuter, V., Samaratunga, H., Shanks, J. H., Tsuzuki, T., van der Kwast, T., Webster, F., & Grignon, D. (2020). Dataset for the reporting of urinary tract carcinoma-biopsy and transurethral resection specimen: recommendations from the International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR). *Modern Pathology*, 33(4), 700-712. <https://doi.org/10.1038/s41379-019-0403-9>
- Vartolomei, M. D., Porav-Hodade, D., Ferro, M., Mathieu, R., Abufaraj, M., Foerster, B., Kimura, S., & Shariat, S. F. (2018). Prognostic role of pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in patients with non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC): A systematic review and meta-analysis. *Urologic Oncology*, 36(9), 389-399. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2018.05.014>
- Verger-Kuhnke A. B., Reuter MA, B. M. (2007). La biografía de Philipp Bozzini (1773-1809) un idealista de la endoscopia. *Actas Urológicas Españolas*, 31(7), 697-704.
- Veronese, N., Custodero, C., Demurtas, J., Smith, L., Barbagallo, M., Maggi, S., Cella, A., Vanacore, N., Aprile, P. L., Ferrucci, L., & Pilotto, A. (2022). Comprehensive geriatric assessment in older people: an umbrella review of health outcomes. *Age and Ageing*, 51(5). <https://doi.org/10.1093/ageing/afac104>
- Vogt, P. K. (2012). Retroviral oncogenes: a historical primer. En *Nature reviews. Cancer* (Vol. 12, Número 9, pp. 639-648). <https://doi.org/10.1038/nrc3320>
- Vranić, S., Bešlija, S., & Gatalica, Z. (2021). Targeting HER2 expression in cancer: New drugs and new indications. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(1), 1-4. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2020.4908>
- Wan, J. C. M. (2020). Survival Outcomes of Early versus Deferred Cystectomy for High-Grade Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer: A Systematic Review. *Current Urology*, 14(2), 66-73. <https://doi.org/10.1159/000499257>

- Wang, C., Ross, W. T., & Mysorekar, I. U. (2017). Urothelial generation and regeneration in development, injury, and cancer. *Developmental Dynamics*, 246(4), 336-343. <https://doi.org/10.1002/dvdy.24487>
- Wang, C., Wang, J., Borer, J. G., & Li, X. (2013). Embryonic origin and remodeling of the urinary and digestive outlets. *PloS One*, 8(2), e55587. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055587>
- Wang, J., Batourina, E., Schneider, K., Souza, S., Swayne, T., Liu, C., George, C. D., Tate, T., Dan, H., Wiessner, G., Zhuravlev, Y., Canman, J. C., Mysorekar, I. U., & Mendelsohn, C. L. (2018). Polyploid Superficial Cells that Maintain the Urothelial Barrier Are Produced via Incomplete Cytokinesis and Endoreplication. *Cell Reports*, 25(2), 464-477.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.09.042>
- Wang, Z. (2017). ErbB Receptors and Cancer. En *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* (Vol. 1652, pp. 3-35). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7219-7_1
- Warrick, J. I., Al-Ahmadie, H., Berman, D. M., Black, P. C., Flaig, T. W., Höglund, M., Bubendorf, L., van der Kwast, T. H., & Cheng, L. (2023). International Society of Urological Pathology Consensus Conference on Current Issues in Bladder Cancer. Working Group 4: Molecular Subtypes of Bladder Cancer-Principles of Classification and Emerging Clinical Utility. *The American Journal of Surgical Pathology*. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000002053>
- Weinstein, J. N., Akbani, R., Broom, B. M., Wang, W., Verhaak, R. G. W., McConkey, D., Lerner, S., Morgan, M., Creighton, C. J., Smith, C., Cherniack, A. D., Kim, J., Pedomallu, C. S., Noble, M. S., Al-Ahmadie, H. A., Reuter, V. E., Rosenberg, J. E., F.Bajorin, D., Bochner, B. H., ... Eley, G. (2014). Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature*, 507(7492), 315-322. <https://doi.org/10.1038/nature12965>
- Weiss, R. A., & Vogt, P. K. (2011). 100 Years of Rous Sarcoma Virus. *Journal of Experimental Medicine*, 208(12), 2351-2355. <https://doi.org/10.1084/jem.20112160>
- WHO. Classification of Tumours Editorial Board. (2022). *WHO Classification of Tumours 5th Edition Urinary and Male Geniyal Tumours*.
- Williams, S. B., Kamat, A. M., Chamie, K., Froehner, M., Wirth, M. P., Wiklund, P. N., Black, P. C., Steinberg, G. D., Boorjian, S. A., Daneshmand, S., Goebell, P. J., Pohar, K. S., Shariat, S. F., & Thalmann, G. N. (2018). Systematic Review of Comorbidity and Competing-risks Assessments for Bladder Cancer Patients. *European Urology Oncology*, 1(2), 91-100. <https://doi.org/10.1016/j.euo.2018.03.005>
- Wolff, A.C., Somerfield M.R., Doestt NM., Hammond M.E.H., Hayes D.F., McShane L.M., Saphner T.J., Spears P.A., Allison K.H. (2023). HUman Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: ASCO-College of American Pathologists Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*, 41(22), 3867-3872. <https://doi.org/10.1200/JCO.22.02864>.
- Wolff, A. C., Elizabeth Hale Hammond, M., Allison, K. H., Harvey, B. E., Mangu, P. B., Bartlett, J. M. S., Bilous, M., Ellis, I. O., Fitzgibbons, P., Hanna, W., Jenkins, R. B., Press, M. F., Spears, P. A., Vance, G. H., Viale, G., McShane, L. M., & Dowsett, M. (2018). Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American society of clinical oncology/ college of American pathologists clinical practice guideline focused update. *Journal of Clinical Oncology*, 36(20), 2105-2122. <https://doi.org/10.1200/JCO.2018.77.8738>
- Wolff, A. C., Hammond, M. E. H., Hicks, D. G., Dowsett, M., McShane, L. M., Allison, K. H., Allred, D. C., Bartlett, J. M. S., Bilous, M., Fitzgibbons, P., Hanna, W., Jenkins, R.

- B., Mangu, P. B., Paik, S., Perez, E. A., Press, M. F., Spears, P. A., Vance, G. H., Viale, G., & Hayes, D. F. (2013). Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*, 31(31), 3997-4013. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.50.9984>
- Wolff, A. C., Hammond, M. E. H., Schwartz, J. N., Hagerty, K. L., Allred, D. C., Cote, R. J., Dowsett, M., Fitzgibbons, P. L., Hanna, W. M., Langer, A., McShane, L. M., Paik, S., Pegram, M. D., Perez, E. A., Press, M. F., Rhodes, A., Sturgeon, C., Taube, S. E., Tubbs, R., ... Hayes, D. F. (2007). American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 131(1), 18-43. <https://doi.org/10.5858/2007-131-18-ASOCCO>
- Wu, X.-R., Kong, X.-P., Pellicer, A., Kreibich, G., & Sun, T.-T. (2009). Uroplakins in urothelial biology, function, and disease. *Kidney International*, 75(11), 1153-1165. <https://doi.org/10.1038/ki.2009.73>
- Wyman O. (2020). *El impacto económico y social del cáncer en España*. AECC. <https://www.contraelcancer.es/sites/default/files/content-file/Informe-Los-costes-cancer.pdf>.
- Xiao, G.-Q., & Rashid, H. (2015). Bladder Neck Urothelial Carcinoma: A Urinary Bladder Subsite Carcinoma With Distinct Clinicopathology. *International Journal of Surgical Pathology*, 23(7), 517-523. <https://doi.org/10.1177/1066896915591271>
- Xu, B., Shen, J., Guo, W., Zhao, W., Zhuang, Y., & Wang, L. (2019). Impact of the 2018 ASCO/CAP HER2 guidelines update for HER2 testing by FISH in breast cancer. *Pathology, Research and Practice*, 215(2), 251-255. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2018.10.035>
- Xunta de Galicia. Consellería de Sanidade. SERGAS. (2022). “Estratexia de xestión do cancro en Galicia 2022-2028”. sergas.es/Asistencia-sanitaria/Documents/1635/Estratexia_de_xestion_do_cancro_en_Galicia_22-28.pdf
- Yakisich, J. S., Azad, N., Kaushik, V., & Iyer, A. K. V. (2017). Cancer Cell Plasticity: Rapid Reversal of Chemosensitivity and Expression of Stemness Markers in Lung and Breast Cancer Tumorspheres. *Journal of Cellular Physiology*, 232(9), 2280-2286. <https://doi.org/10.1002/jcp.25725>
- Yan, M., Schwaederle, M., Arguello, D., Millis, S. Z., Gatalica, Z., & Kurzrock, R. (2015). HER2 expression status in diverse cancers: review of results from 37,992 patients. *Cancer Metastasis Rev*, 34(1), 157-164. <https://doi.org/10.1007/s10555-015-9552-6>
- Yarden, Y., & Pines, G. (2012). The ERBB network: At last, cancer therapy meets systems biology. *Nature Reviews Cancer*, 12(8), 553-563. <https://doi.org/10.1038/nrc3309>
- Yip, W., Ashrafi, A., & Daneshmand, S. (2019). High-grade T1 Urothelial Carcinoma: Where Do We Stand? *Current Urology Reports*, 20(12), 79. <https://doi.org/10.1007/s11934-019-0945-x>
- Yorozu, T., Sato, S., Kimura, T., Iwatani, K., Onuma, H., Yanagisawa, T., Miki, J., Egawa, S., Ikegami, M., & Takahashi, H. (2020). HER2 Status in Molecular Subtypes of Urothelial Carcinoma of the Renal Pelvis and Ureter. *Clinical Genitourinary Cancer*, 18(4), e443-e449. <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2019.12.003>
- Younes, M., Sussman, J., & True, L. D. (1990). The usefulness of the level of the muscularis mucosae in the staging of invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Cancer*, 66(3), 543-548. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19900801\)66:3<543::aid-cncr2820660323>3.0.co;2-r](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19900801)66:3<543::aid-cncr2820660323>3.0.co;2-r)

- Young, R. H., & Eble, J. N. (2019). The history of urologic pathology: an overview. *Histopathology*, 74(1), 184-212. <https://doi.org/10.1111/his.13753>
- Zhang, H., & Peng, Y. (2023). Current Biological, Pathological and Clinical Landscape of HER2-Low Breast Cancer. *Cancers*, 15(1): 126. <https://doi.org/10.3390/cancers15010126>
- Zhao, J., Xu, W., Zhang, Z., Song, R., Zeng, S., Sun, Y., & Xu, C. (2015). Prognostic role of HER2 expression in bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *International Urology and Nephrology*, 47(1), 87-94. <https://doi.org/10.1007/s11255-014-0866-z>
- Zhou, H. E., Zhang, X., von Eschenbach, A. C., Scorsone, K., Babaian, R. J., Ro, J. Y., & Hung, M. C. (1990). Amplification and expression of the c-erb B-2/neu proto-oncogene in human bladder cancer. *Molecular Carcinogenesis*, 3(5), 254-257. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1978777>
- Zhou, L., Shao, Z., Liu, Y., Yan, X., Li, J., Wu, X., Tang, B., Li, S., Cui, C., Chi, Z., Si, L., Kong, Y., Mao, L., Lian, B., Wang, X., Bai, X., Dai, J., Guo, J., & Sheng, X. (2023). HER2 Expression Associated with Clinical Characteristics and Prognosis of Urothelial Carcinoma in a Chinese Population. *The Oncologist*, 28(8), e617-e624. <https://doi.org/10.1093/oncolo/oyad070>
- Zimpfer, A., Kdimati, S., Mosig, M., Rudolf, H., Zettl, H., Erbersdobler, A., Hakenberg, O. W., Maruschke, M., & Schneider, B. (2023). ERBB2 Amplification as a Predictive and Prognostic Biomarker in Upper Tract Urothelial Carcinoma. *Cancers*, 15(9). <https://doi.org/10.3390/cancers15092414>
- Zinnall, U., Weyerer, V., Compérat, E., Camparo, P., Gaisa, N. T., Knuechel-Clarke, R., Perren, A., Lugli, A., Toma, M., Baretton, G., Kristiansen, G., Wirtz, R. M., Cheng, L., Wullich, B., Stoehr, R., Hartmann, A., & Bertz, S. (2018). Micropapillary urothelial carcinoma: evaluation of HER2 status and immunohistochemical characterization of the molecular subtype. *Human Pathology*, 80, 55-64. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.05.022>
- Zupan  i  , D., & Romih, R. (2021). Immunohistochemistry as a paramount tool in research of normal urothelium, bladder cancer and bladder pain syndrome. *European Journal of Histochemistry*, 65(2), 1-8. <https://doi.org/10.4081/ejh.2021.3242>

11 ÍNDICES COMPLEMENTARIOS

11.1 ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Orígenes del cáncer de vejiga.	30
Figura 2. Carcinoma urotelial de vejiga T1 micropapilar.	35
Figura 3. Carcinoma de vejiga: diagnóstico por imagen.	36
Figura 4. Subestadificación T1: clasificación histológica de Younes, 1990.	40
Figura 5. Clasificaciones de Grado histológico OMS-1973 y OMS-2004: relación	41
Figura 6. Cáncer de vejiga: cistoscopia.	43
Figura 7. Preparación de sección de macromatriz tisular tras tinción IHQ-HER2.....	63
Figura 8. Tasa de incidencia anual de cáncer de vejiga en CHUVI, años 2009-2018.	71
Figura 9. Cáncer de vejiga primario en CHUVI, años 2009-2021.	72
Figura 10. Cáncer de vejiga NMICV primario en CHUVI, años 2009-2021.....	72
Figura 11. Diagnóstico de NMICV-T1 primarios / año, en CHUVI, años 2009-2021.	73
Figura 12. Subestadificación de NMICV-T1 primarios, años 2016- 2021.....	73
Figura 13. Diagrama de flujo de inclusión y pérdida de pacientes.	74
Figura 14. Inclusión de pacientes x año.	75
Figura 15. Número de muestras biópsicas estudiadas por paciente.	76
Figura 16. Clasificación de la muestra en relación con los modelos de estratificación de riesgo.	78
Figura 17. Patrones IHQ-HER2 en carcinoma urotelial T1AG	80
Figura 18. Sobreexpresión del receptor HER2 determinada por IHQ.....	81
Figura 19. Patrones FISH-ERBB2 en carcinoma urotelial T1AG.....	82
Figura 20. Amplificación del gen ERBB2 determinada por FISH.	83
Figura 21. FISH: Polisomía 17 y relación con estado HER2.	83
Figura 22. Diagnóstico HER2.	84
Figura 23. Migración diagnóstica de la amplificación entre criterios ASCO/CAP 2013 y 2018.....	86
Figura 24. Heterogeneidad del estado HER2 en T1AG.	86
Figura 25. Evolución por paciente.....	90
Figura 26. Evolución de la recurrencia y la progresión. Subcohorte 150.	91

Figura 27. Relación del estado HER2 con la recurrencia y progresión. Subcohorte 150.	92
Figura 28. Supervivencia libre de recurrencia a 5 años y estado HER2. Subcohorte 150.	93
Figura 29. Supervivencia libre de progresión a 5 años y estado HER2. Cohorte 150	94
Figura 30. Supervivencia libre de recurrencia a 5 años y estado HER2. Subcohorte 104.....	95
Figura 31. Supervivencia libre de progresión a 5 años y estado HER2. Subcohorte 104.....	96
Figura 32. Recurrencia. Análisis univariante. Subcohorte 150.....	97
Figura 33. Progresión. Análisis univariante. Subcohorte 150.	98
Figura 34. Recurrencia y progresión. Análisis univariante. Subcohorte 104.	99
Figura 35. Algoritmo diagnóstico de HER2	121

11.2 ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación OMS-2022 del carcinoma urotelial: subtipos y diferenciación divergente	33
Tabla 2. Clasificación de estadios del cáncer de vejiga localizado.....	37
Tabla 3. Modelo de estratificación de riesgo EORTC–2006.....	46
Tabla 4. Modelo de estratificación de riesgo CUETO.....	47
Tabla 5. Modelo de estratificación por grupo de riesgo EAU-2021.....	48
Tabla 6. Métodos de detección de HER2-ERBB2.	54
Tabla 7. Características descriptivas de la cohorte 166 subcohortes 150 y 104.	77
Tabla 8. Estado HER2 y polisomía 17 en la cohorte 166 y subcohortes 150 y 104.....	79
Tabla 9. Análisis de la concordancia de los anticuerpos A0485 y 4B5 en la IHQ de HER2.....	85
Tabla 10. Análisis de la concordancia entre sobreexpresión y amplificación.....	85
Tabla 11. Asociación entre variables pronóstico y estado HER2. Cohorte 166.	87
Tabla 12. Asociación entre modelos de estratificación de riesgo y estado HER2. Cohorte 166.	88
Tabla 13. Asociación polisomía 17 y sobreexpresión HER2.	89
Tabla 14. Recurrencia. Análisis multivariante. Subcohorte 150.	97
Tabla 15. Progresión. Análisis multivariante. Subcohorte 150.	98
Tabla 16. Progresión. Análisis multivariante. Subcohorte 104.	99
Tabla 17. Asociación variables pronósticas/estado HER2 y tratamiento BCG. Subcohorte 104.	100
Tabla 18. Tratamiento BCG. Análisis multivariante. Subcohorte 104.....	101
Tabla 19. Estado HER2 en el carcinoma urotelial de vejiga. Literatura comparada	111
Tabla 20. Factores pronóstico (Sobreexpresión HER2) en NMICV.	116

11.3 ÍNDICE DE APÉNDICES

Apéndice 1. Asociación entre variables de riesgo y estado HER2. Subcohorte 104.	163
Apéndice 2. Asociación entre modelos de riesgo y estado HER2. Subcohorte 104.	164
Apéndice 3. Evolución de la recurrencia y de la progresión. Subcohorte 104.	165
Apéndice 4. Recurrencia-progresión y relación con el estado HER2. Subcohorte 104.	165
Apéndice 5. Supervivencia libre de recurrencia a 5 años y estado HER2. Subcohorte 104.....	166
Apéndice 6. Supervivencia libre de progresión a 5 años y estado HER2. Subcohorte 104.....	167
Apéndice 7. Polisomía 17 y pronóstico. Subcohorte 150.	168
Apéndice 8. Recurrencia. Cox multivariante. Método de Wald. Subcohorte 150.	169
Apéndice 9. Progresión. Cox multivariante. Método de Wald. Subcohorte 150.	170
Apéndice 10. Recurrencia. Análisis univariante. Subcohorte 104.	171
Apéndice 11. Recurrencia. Análisis multivariante. Método de Wald. Subcohorte 104.....	171
Apéndice 12. Progresión. Análisis univariante. Subcohorte 104.	173
Apéndice 13. Progresión. Análisis multivariante. Método de Wald. Subcohorte 104.	173
Apéndice 14. Sobreexpresión – Fallo BCG. Análisis multivariante (Wald). Subcohorte 104.	175
Apéndice 15. Amplificación – Fallo BCG. Análisis multivariante (Wald). Subcohorte 104.	176
Apéndice 16. Diagnóstico HER2 – Fallo BCG. Análisis multivariante (Wald). Subcohorte 104.....	176

Apéndice 1. Asociación entre variables de riesgo y estado HER2. Subcohorte 104.

ASOCIACIÓN VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS Y ESTADO HER2. Subcohorte 104										
166	SOBREEXPRESIÓN				AMPLIFICACIÓN			DIAGNÓSTICO HER2		
	Neg	n - % Equiv	Pos	p	Neg	Pos	p	Neg	Pos	p
GÉNERO										
Hombre	25 - 27,2%	50 - 54,3%	17 - 18,5%	0,796	66 - 75,0%	22 - 25,0%	0,731	65 - 71,4%	26 - 28,6%	0,529
Mujer	2 - 18,2%	7 - 63,6%	2 - 18,2%		7 - 70,0%	3 - 30,0%		7 - 63,6%	4 - 36,4%	
EDAD										
≤ 70 a	16 - 30,8%	30 - 57,7%	6 - 11,5%	0,161	41 - 80,4%	10 - 19,6%	0,163	41 - 78,8%	11 - 21,2%	0,062
> 70 a	11 - 21,6%	27 - 52,9%	13 - 25,5%		32 - 68,1%	15 - 31,9%		31 - 62,0%	19 - 38,0%	
TABACO										
No	4 - 25,0%	10 - 62,5%	2 - 12,5%	0,766	12 - 85,7%	2 - 14,3%	0,371	12 - 80,0%	3 - 20,0%	0,453
Sí / Ex	21 - 26,9%	42 - 53,8%	15 - 19,3%		37 - 74,7%	11 - 25,3%		37 - 70,5%	13 - 29,5%	
IMC										
< 25	3 - 14,3%	13 - 61,9%	5 - 23,8%	0,354	15 - 78,9%	4 - 21,1%	0,768	15 - 75,0%	5 - 25,0%	0,714
≥ 25	21 - 29,6%	38 - 53,5%	12 - 16,9%		53 - 75,7%	17 - 24,3%		51 - 70,8%	21 - 29,2%	
ÍNDICE DE CHARLSON										
< 4	6 - 23,1%	17 - 65,4%	3 - 11,5%	0,435	22 - 88,0%	3 - 12,0%	0,073	22 - 84,6%	4 - 15,4%	0,069
≥ 5	21 - 27,3%	40 - 51,9%	16 - 20,8%		51 - 69,9%	22 - 30,1%		50 - 65,8%	26 - 34,2%	
NEUTRÓFILOS / LINFOCITOS										
< 3	26 - 28,8%	45 - 50,0%	19 - 21,2%	0,015	65 - 75,3%	21 - 24,7%	0,636	64 - 70,4%	26 - 29,6%	0,429
≥ 3	1 - 7,6%	12 - 92,3%	0,0%		8 - 81,8%	4 - 18,2%		8 - 81,8%	4 - 18,2%	
SUBESTADIFICACIÓN T1										
T1a	21 - 35,6%	31 - 52,5%	7 - 11,9%	0,018	43 - 76,8%	13 - 23,2%	0,547	45 - 77,6%	13 - 22,4%	0,075
T1b+c	6 - 13,6%	26 - 59,1%	12 - 27,3%		30 - 71,4%	12 - 28,6%		27 - 61,4%	17 - 38,6%	
PATRÓN DE CRECIMIENTO										
Sólido	6 - 26,1%	14 - 60,9%	3 - 13,0%	0,729	17 - 77,3%	5 - 22,7%	0,734	17 - 73,9%	6 - 26,1%	0,691
Papilar	21 - 26,3%	43 - 53,8%	16 - 20,0%		56 - 73,7%	20 - 26,3%		55 - 69,6%	24 - 30,4%	
CARCINOMA IN SITU										
No	25 - 29,4%	46 - 54,1%	14 - 16,5%	0,217	64 - 79,0%	17 - 21,0%	0,025	63 - 75,0%	21 - 25,0%	0,035
Sí	2 - 11,1%	11 - 61,1%	5 - 27,8%		9 - 52,9%	8 - 47,1%		9 - 50,0%	9 - 50,0%	
INFILTRACIÓN LINFOVASCULAR										
No	26 - 26,3%	56 - 56,6%	17 - 17,2%	0,230	72 - 75,8%	23 - 24,2%	0,097	71 - 72,4%	27 - 27,6%	0,041
Sí	1 - 25,0%	1 - 25,0%	2 - 50,0%		1 - 33,3%	2 - 66,7%		1 - 25,0%	3 - 75,0%	
SUBTIPO HISTOLÓGICO NO/SI										
No	22 - 27,2%	45 - 55,6%	14 - 17,3%	0,814	57 - 73,1%	21 - 26,9%	0,526	57 - 71,3%	23 - 28,8%	0,780
Sí	5 - 22,7%	12 - 54,5%	5 - 22,7%		16 - 80,0%	4 - 20,0%		15 - 68,2%	7 - 31,8%	
SUBTIPO HISTOLÓGICO NO/AR										
No-Otro	27 - 29,3%	49 - 53,3%	16 - 17,4%	0,110	65 - 73,9%	23 - 26,1%	0,673	65 - 71,4%	26 - 28,6%	0,592
Alto ries	0,0%	8 - 72,7%	3 - 27,3%		8 - 80,0%	2 - 20,0%		7 - 63,6%	4 - 36,4%	
NÚMERO										
único	21 - 30,9%	38 - 55,9%	9 - 13,2%	0,099	50 - 76,9%	15 - 23,1%	0,438	51 - 76,1%	16 - 23,9%	0,090
múlti	6 - 17,1%	19 - 54,3%	10 - 28,6%		23 - 69,7%	10 - 30,3%		21 - 60,0%	14 - 40,0%	
TAMAÑO										
< 30	15 - 29,4%	28 - 54,9%	8 - 15,7%	0,665	36 - 73,5%	13 - 26,5%	0,817	36 - 70,6%	15 - 29,4%	1,000
≥ 30	12 - 23,1%	29 - 55,8%	11 - 21,2%		37 - 75,5%	12 - 24,5%		36 - 70,6%	15 - 29,4%	
LOCALIZACIÓN										
resto	16 - 24,2%	40 - 60,6%	10 - 15,2%	0,375	45 - 71,4%	18 - 28,6%	0,435	45 - 69,2%	20 - 30,8%	0,819
tríg/cuell	9 - 25,7%	17 - 48,6%	9 - 25,7%		26 - 78,8%	7 - 21,2%		25 - 71,4%	10 - 28,6%	

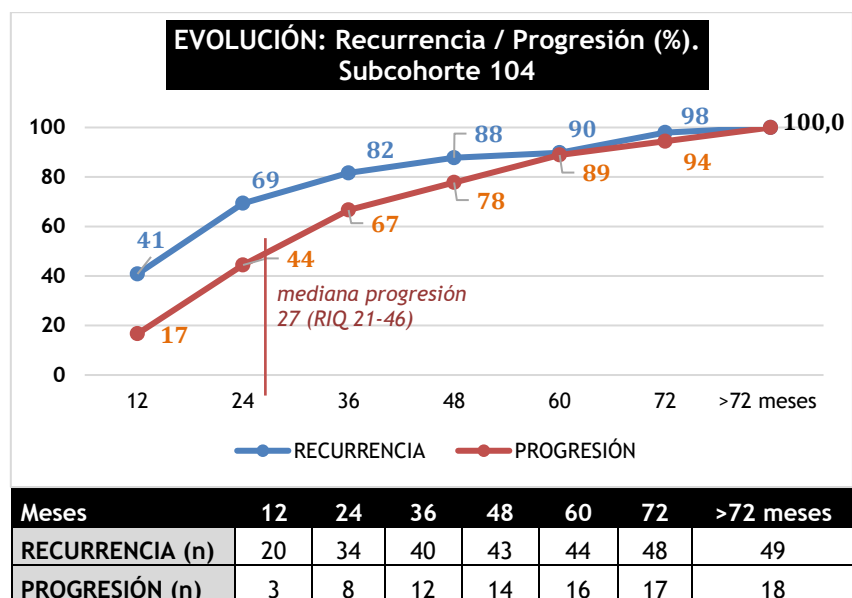
Apéndice 2.

Asociación entre modelos de riesgo y estado HER2. Subcohorte 104.

ASOCIACIÓN MODELOS ESTRATIFICACIÓN DE RIESGO Y EL ESTADO HER2 (Subcohorte 104)										
Total	SOBREEXPRESIÓN				AMPLIFICACIÓN			DIAGNÓSTICO HER2		
	n - %				n - %			n - %		
	Neg	Equ	Pos	p	Neg	Pos	p	Neg	Pos	p
EAU-2021										
PROGRESIÓN										
Alto	23 - 29,1%	45 - 57,0%	11 - 13,9%	0,082	59 - 78,7%	16 -21,3%	0,087	59 - 75,6%	19 - 24,4%	0,043
Muy Alt	4 - 16,7%	12 - 50,0%	8 - 33,3%		14 - 60,9%	9 -39,1%		13 - 54,2%	11 - 45,8%	
EORTC-200										
RECURRENCIA										
Intermed	11 - 37,9%	14 - 48,3%	4 - 13,8%	0,363	22 - 78,6%	6 -21,4%	0,635	22 - 75,9%	7 - 24,1%	0,644
Inter-Alt	16 - 22,2%	42 - 58,3%	14 - 19,4%		50 - 73,5%	18 -26,5%		49 - 69,0%	22 - 31,0%	
Alto	0 - 0,0%	1 - 50,0%	1 - 50,0%		1 - 73,5%	1 -26,5%		1 - 50,0%	1 - 50,0%	
PROGRESIÓN										
Intermed	0,0%	3 - 100%	0,0%	0,074	2 - 66,7%	1 -33,3%	0,240	2 - 66,7%	1 - 33,3%	0,063
Inter-Alt	23 - 31,9%	39 - 54,2%	10 - 13,9%		54 - 79,4%	14 -20,6%		55 - 77,5%	16 - 22,5%	
Alto	4 - 14,3%	15 - 53,6%	9 - 32,1%		17 - 63,0%	10 -37,0%		15 - 53,6%	13 - 46,4%	
CUETO										
RECURRENCIA										
1 a 4	14 - 37,8%	20 - 54,1%	3 - 8,1%	0,019	29 -82,9%	6 -17,1%	0,061	30 - 83,3%	6 - 16,7%	0,008
5 a 6	9 - 19,1%	28 - 59,6%	10 - 21,3%		35 -76,1%	11 -23,9%		33 - 70,2%	14 - 29,8%	
7 a 9	4 - 30,8%	7 - 53,8%	2 - 15,4%		7 -63,6%	4 -36,4%		8 - 61,5%	5 - 38,5%	
≥ 10	0,0%	2 - 33,3%	4 - 66,7%		2 -33,3%	4 -66,7%		1 - 16,7%	5 - 83,3%	
PROGRESIÓN										
1 a 4	0,0%	2 - 100%	0,0%	0,125	1 -50,0%	1 -50,0%	0,110	1 - 50,0%	1 - 50,0%	0,046
5 a 6	0,0%	3 - 100%	0,0%		3 - 100%	0,0%		3 - 100%	0,0%	
7 a 9	16 - 32,7%	28 - 57,1%	5 - 10,2%		40 -83,3%	8 -16,7%		40 - 81,6%	9 - 18,4%	
≥ 10	11 - 22,4%	24 - 49,0%	14 - 28,6%		29 -64,4%	16 -35,6%		28 - 58,3%	20 - 41,7%	

Apéndice 3.

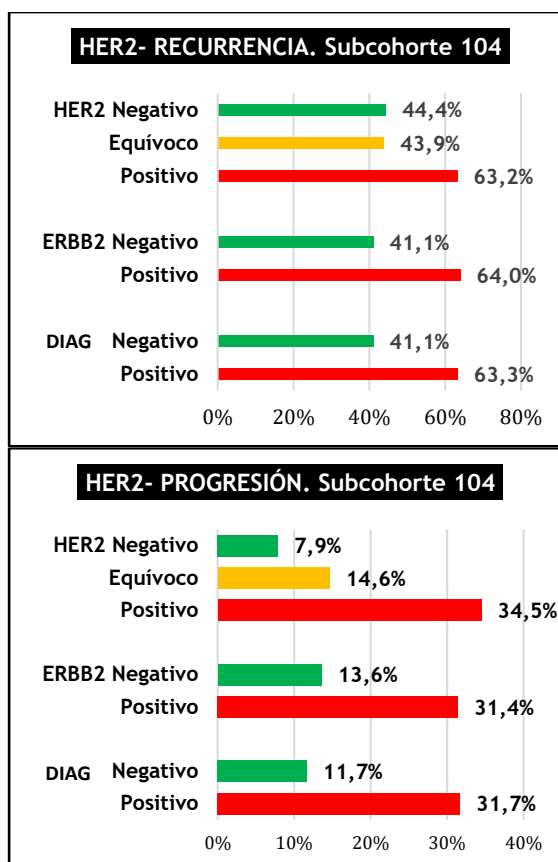
Evolución de la recurrencia y de la progresión. Subcohorte 104.



Apéndice 4.

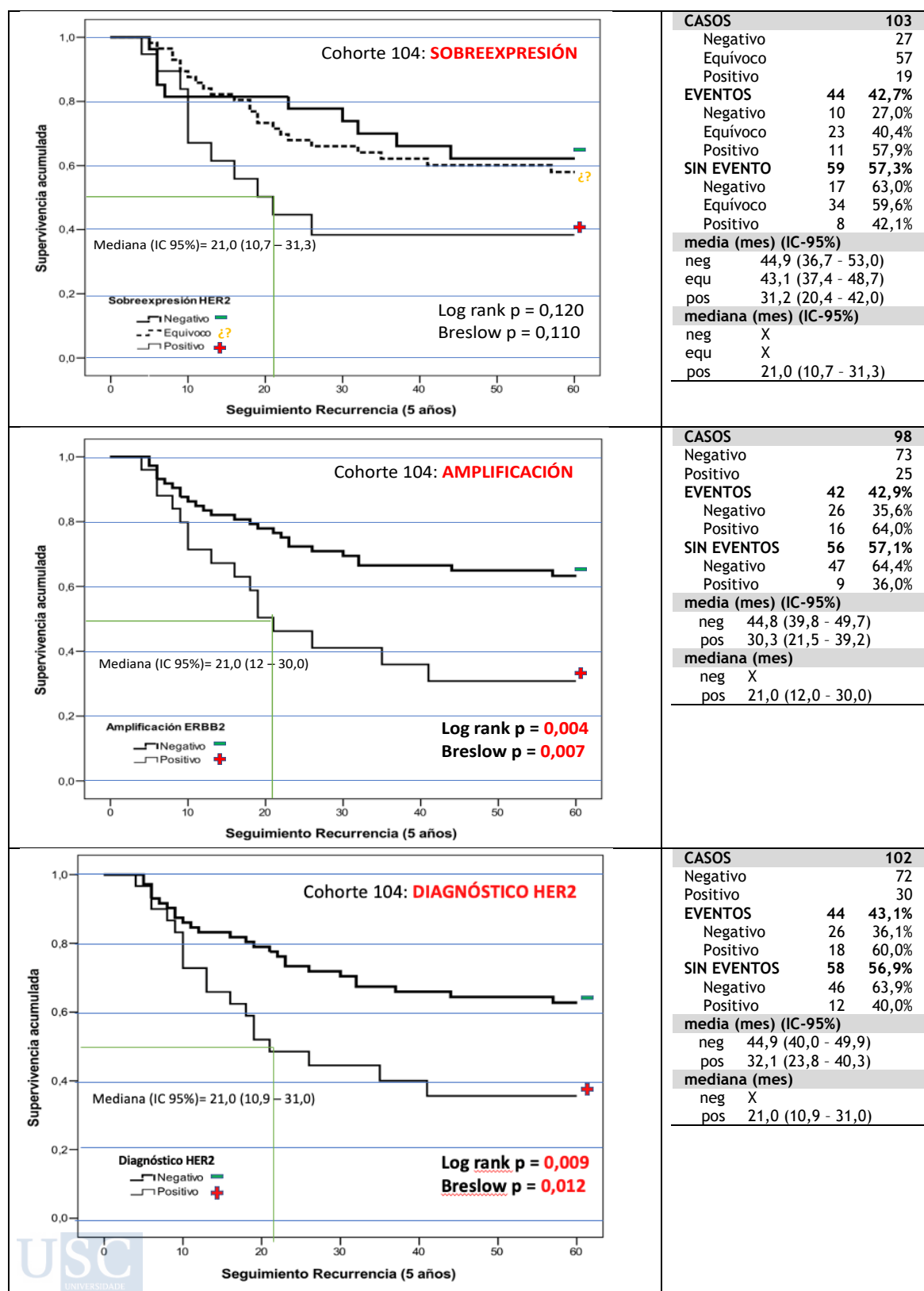
Recurrencia-progresión y relación con el estado HER2. Subcohorte 104.

EVENTOS RECURRENCIA - PROGRESIÓN SUBCOHORTE 104					
Tumores		Recurrencia		Progresión	
n		n	%	n	%
HER2					
0+	6	3	50,0%	0	0,0%
1+	21	9	42,9%	2	9,5%
2+	57	25	43,9%	10	17,5%
3+	19	12	63,2%	6	31,6%
NEGATIVO					
EQUIVOCO					
POSITIVO					
ERBB2					
NEGATIVO	73	30	41,1%	10	13,7%
POSITIVO	25	16	64,0%	8	32,0%
DIAGNÓSTICO HER2 (CLÍNICO)					
NEGATIVO	72	30	41,7%	9	12,5%
POSITIVO	30	19	63,3%	9	30,0%



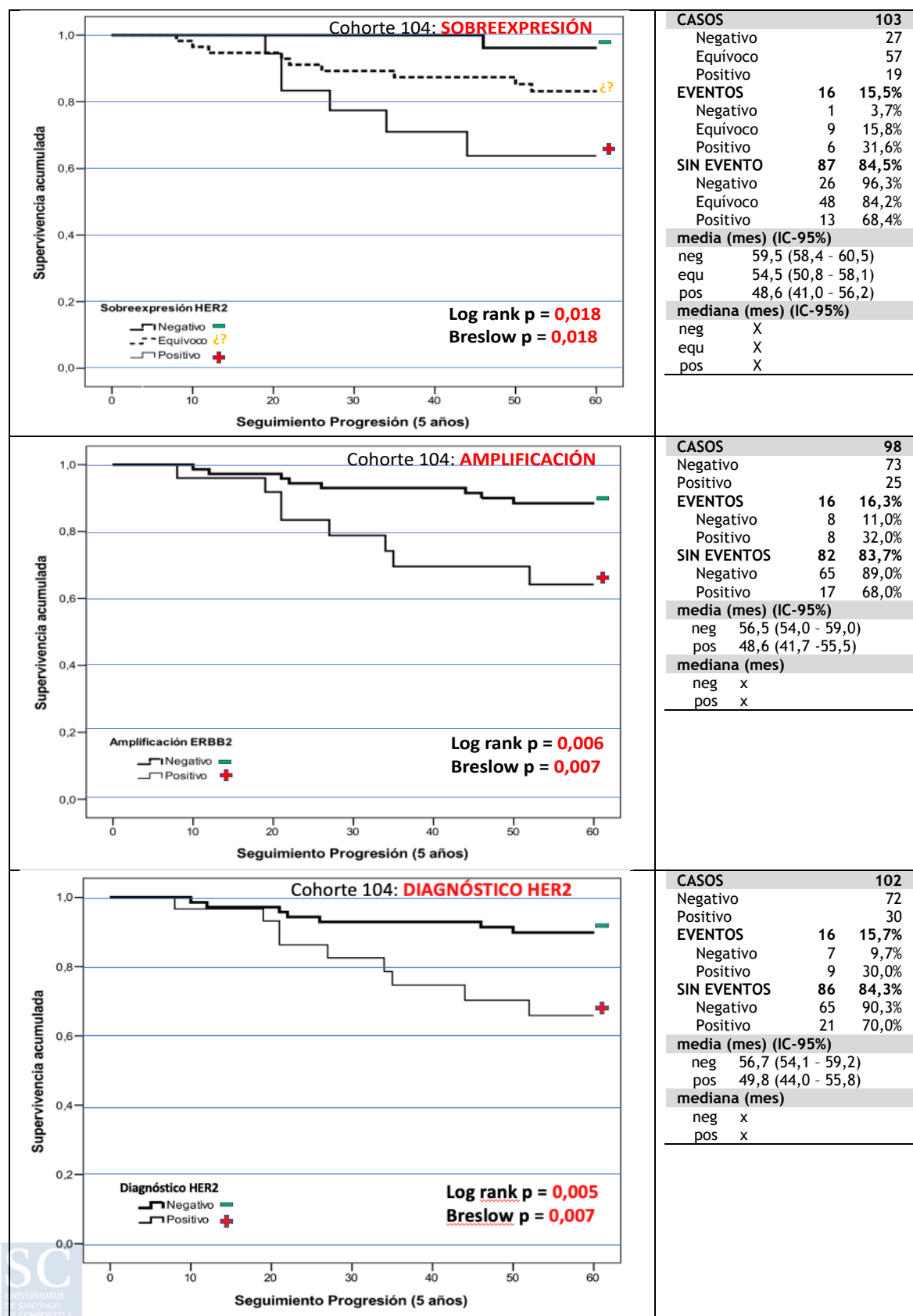
Apéndice 5.

Supervivencia libre de recurrencia a 5 años y estado HER2. Subcohorte 104.



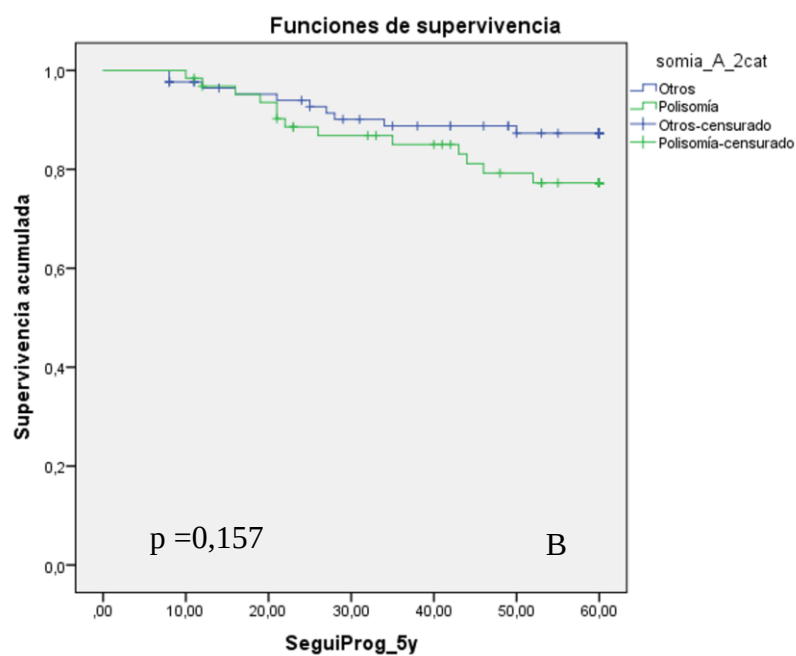
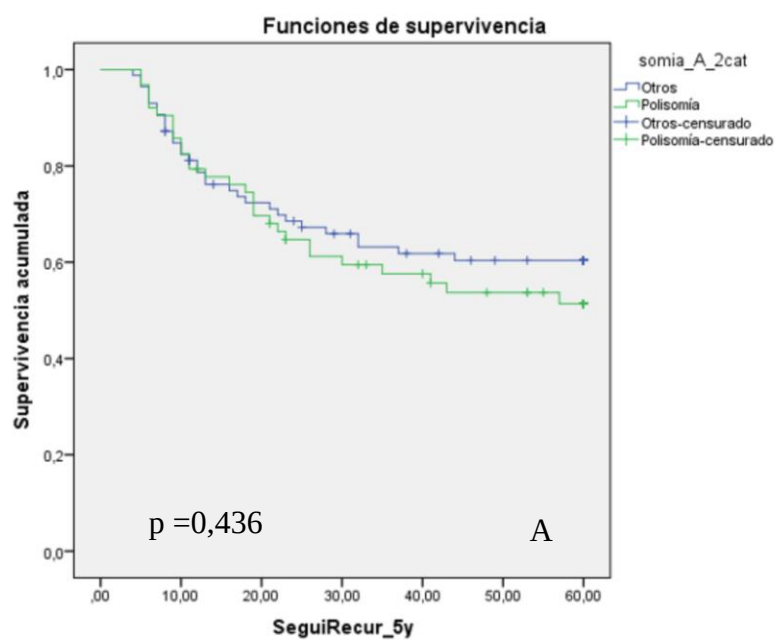
Apéndice 6.

Supervivencia libre de progresión a 5 años y estado HER2. Subcohorte 104.



Apéndice 7.

Polisomía 17 y pronóstico. Subcohorte 150.



Nota: A.- Supervivencia libre de recurrencia 5 años. B.- Supervivencia libre de progresión a 5 años.

Apéndice 8.

Recurrencia. Cox multivariante. Método de Wald. Subcohorte 150.

Subcohorte 150. RECURRENCIA. COX MULTIVARIANTE (Método de Wald)					
		p	HR	IC - 95% (Inf - Sup)	
Paso 1	Infiltración LV	0,016	4,021	1,303	12,415
	CIS	0,450	1,320	0,642	2,712
	Localización	0,024	1,970	1,095	3,544
	Número	0,109	1,580	0,904	2,764
	Patrón de crecimiento	0,162	1,681	0,811	3,486
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,473	1,758	0,377	8,195
	Diagnóstico HER2	0,927	1,086	0,187	6,307
	Sobreexpresión HER2	0,385			
	Sobreexpr neg vs equiv	0,219	1,642	0,744	3,622
	Sobreexpr neg vs pos	0,787	1,189	0,340	4,153
Paso 2	Infiltración LV	0,016	4,009	1,301	12,348
	CIS	0,453	1,317	0,642	2,700
	Localización	0,023	1,963	1,096	3,515
	Número	0,100	1,587	0,916	2,752
	Patrón de crecimiento	0,162	1,682	0,812	3,486
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,117	1,871	0,856	4,092
	Sobreexpr neg vs equiv	0,214	1,647	0,750	3,620
	Sobreexpr neg vs pos	0,724	1,221	0,403	3,702
Paso 3	Infiltración LV	0,009	4,337	1,436	13,103
	Localización	0,015	2,035	1,146	3,616
	Número	0,092	1,603	0,926	2,774
	Patrón de crecimiento	0,180	1,642	0,796	3,387
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,076	1,990	0,929	4,262
	Sobreexpr neg vs equiv	0,184	1,702	0,777	3,729
	Sobreexpr neg vs pos	0,690	1,251	0,415	3,773
Paso 4	Infiltración LV	0,020	3,548	1,221	10,315
	Localización	0,023	1,889	1,092	3,266
	Número	0,085	1,605	0,938	2,747
	Patrón de crecimiento	0,199	1,602	0,780	3,293
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,023	1,905	1,092	3,323
Paso 5	Infiltración LV	0,012	3,898	1,349	11,261
	Localización	0,025	1,872	1,082	3,238
	Número	0,072	1,636	0,957	2,799
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,027	1,869	1,072	3,258
Paso 6	Infiltración LV	0,012	3,872	1,342	11,173
	Localización	0,021	1,908	1,103	3,301
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,014	2,003	1,154	3,479

Apéndice 9.

Progresión. Cox multivariante. Método de Wald. Subcohorte 150.

Subcohorte 150. PROGRESIÓN. COX MULTIVARIANTE				
		p	HR	IC - 95% (Inf - Sup)
Paso 1	Localización	0,030	2,706	1,104 6,634
	Subestadificación T1	0,002	5,130	1,837 14,323
	Tamaño	0,193	1,866	0,729 4,778
	Número	0,287	1,646	0,658 4,117
	Sobreexpresión HER2	0,594		
	Sobreexpr neg vs equiv	0,308	2,255	0,472 10,783
	Sobreexpr neg vs pos	0,487	2,093	0,260 16,834
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,321	2,305	0,444 11,976
	Diag. Clínico HER2	0,811	1,302	0,150 11,333
Paso 2	Localización	0,029	2,651	1,104 6,366
	Subestadificación T1	0,001	5,215	1,888 14,404
	Tamaño	0,195	1,858	0,727 4,744
	Número	0,253	1,683	0,689 4,109
	Sobreexpresión HER2	0,556		
	Sobreexpr neg vs equiv	0,290	2,308	0,490 10,869
	Sobreexpr neg vs pos	0,337	2,393	0,402 14,228
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,087	2,680	0,865 8,299
Paso 3	Localización	0,031	2,518	1,090 5,818
	Subestadificación T1	0,001	5,293	1,925 14,551
	Tamaño	0,193	1,831	0,737 4,549
	Número	0,213	1,722	0,732 4,049
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,006	3,293	1,402 7,734
Paso 4	Localización	0,018	2,727	1,187 6,266
	Subestadificación T1	0,001	5,776	2,115 15,770
	TAMAÑO_A	0,295	1,606	0,662 3,898
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,006	3,282	1,401 7,685
Paso 5	Localización	0,103	2,842	1,244 6,491
	Subestadificación T1	0,000	6,029	2,216 16,401
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,010	2,969	1,299 6,783

Apéndice 10.

Recurrencia. Análisis univariante. Subcohorte 104.

Subcohorte 104. RECURRENCIA. COX UNIVARIADO				
Variable	Categorías	HR (IC-95%)	p	
Género	Hombre/Mujer	0,92 (0,37 - 2,36)	0,878	
Edad	≤ 70 / > 70 años	1,83 (1,00 - 3,36)	0,050	
Subestad. T1	T1a/T1b ó T1c	1,44 (0,80 - 2,60)	0,227	
Patrón crecim.	Sólido/Papilar	1,66 (0,74 - 3,73)	0,217	
CIS	No / Si	1,51 (0,73 - 3,14)	0,269	
Infiltración LV	No / Si	3,19 (0,98 - 10,42)	0,054	
Subt. Histológ	No+Bajo/Alto R	0,58 (0,18 - 1,88)	0,364	
Número	Único/>1	1,18 (0,64 - 2,18)	0,600	
Tamaño	< 3 / ≥ 3 cm	1,42 (0,78 - 2,58)	0,246	
Localización	Otro/Tríg-Cue	1,41 (0,76 - 2,63)	0,281	
Expresión HER2			0,135	
Expresión A(1)	Negat / Equív	1,13 (0,54 - 2,38)	0,744	
Expresión A(2)	Negat / Posit	2,18 (0,92 - 5,16)	0,077	
Amplif. ERBB2	Negat / Posit	2,4 (1,28 - 4,50)	0,006	
Diagnóst. HER2	Negat / Posit	2,15 (1,18 - 3,95)	0,013	

Apéndice 11.

Recurrencia. Análisis multivariante. Método de Wald. Subcohorte 104.

Resumen de procesamiento de casos		
	N	Porcentaje
Casos disponibles en el análisis	Evento	40 41,2%
	Censurado	55 56,7%
	Total	95 97,9%
Casos eliminados	Casos con valores perdidos	2 2,1%
	Total	2 2,1%
Total	97	100,0%

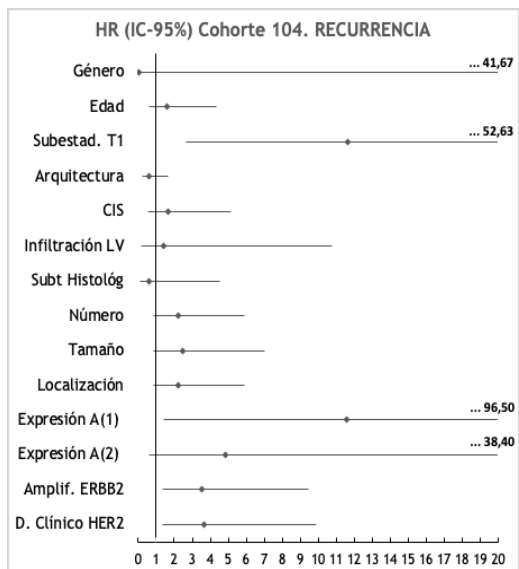
Subcohorte 104. RECURRENCIA. COX MULTIVARIANTE					
			95,0% CI		
	P		HR	Inferior	Superior
Paso 1					
Patrón crecimiento	0,153		1,963	0,778	4,952
CIS	0,363		1,471	0,641	3,378
Infiltración LV	0,234		2,602	0,539	12,565
Localización	0,110		1,780	0,877	3,612
Número	0,317		1,422	0,713	2,834
Sobreexpresión HER2	0,854				
Sobre negativo vs equivoco	0,616		1,267	0,503	3,192
Sobre negativo vs positivo	0,893		1,101	0,271	4,475

	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,273	3,258	0,395	26,901
	Diagnóstico HER2	0,742	,680	0,068	6,760
Paso 2	Patrón crecimiento	0,150	1,967	0,784	4,939
	CIS	0,311	1,526	0,674	3,457
	Infiltración LV	0,276	2,322	0,509	10,586
	Localización	0,114	1,704	0,879	3,302
	Número	0,301	1,434	0,724	2,839
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,248	3,404	0,426	27,222
	Diagnóstico HER2	0,677	,643	0,080	5,154
Paso 3	Patrón crecimiento	0,162	1,918	0,769	4,782
	CIS	0,308	1,531	0,676	3,470
	Infiltración LV	0,273	2,338	0,513	10,658
	Localización	0,124	1,678	0,868	3,245
	Número	0,344	1,375	0,711	2,660
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,019	2,254	1,144	4,441
Paso 4	Patrón crecimiento	0,204	1,781	0,731	4,337
	CIS	0,356	1,456	0,655	3,235
	Infiltración LV	0,252	2,406	0,535	10,813
	Localización	0,117	1,697	0,876	3,285
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,009	2,417	1,246	4,690
Paso 5	Patrón crecimiento	0,262	1,650	0,688	3,958
	Infiltración LV	0,176	2,753	0,635	11,945
	Localización	0,090	1,766	0,915	3,406
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,004	2,597	1,361	4,953
Paso 6	Infiltración LV	0,138	3,024	0,701	13,047
	Localización	0,095	1,750	0,907	3,376
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,003	2,678	1,405	5,104
Paso 7	Localización	0,128	1,651	0,866	3,151
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,003	2,681	1,410	5,098
Paso 8	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,004	2,544	1,344	4,817

Apéndice 12.

Progresión. Análisis univariante. Subcohorte 104.

Subcohorte 104. PROGRESIÓN. COX UNIVARIANTE				
Variable	Categorías	HR (IC-95%)	p	
Género	Hombre/Mujer	0,04 (0,00 - 41,67)	0,366	
Edad	≤ 70 / > 70 años	1,62 (0,60 - 4,35)	0,342	
Subestad. T1	T1a/T1b ó T1c	11,63 (2,65-52,63)	0,001	
Patrón crecim.	Sólido/Papilar	0,57 (0,20 - 1,65)	0,302	
CIS	No / Si	1,66 (0,53 - 5,15)	0,380	
Infiltración LV	No / Si	1,42 (0,18 - 10,75)	0,735	
Subt. Histológ	No+Bajo/Alto R	0,59 (0,08 - 4,50)	0,614	
Número	Único/>1	2,22 (0,83 - 5,92)	0,111	
Tamaño	< 3 / ≥ 3 cm	2,44 (0,85 - 7,04)	0,097	
Localización	Otro/Tríg-Cue	2,22 (0,83 - 5,92)	0,111	
Expresión HER2			0,046	
Expresión A(1)	Negat / Posit	11,58 (1,39-96,50)	0,024	
Expresión A(2)	Negat / Equiv	4,86 (0,62 - 38,40)	0,134	
Amplif. ERBB2	Negat / Posit	3,54 (1,33 - 9,47)	0,012	
Diagnóst. HER2	Negat / Posit	3,66 (1,36 - 9,86)	0,010	



Apéndice 13.

Progresión. Análisis multivariante. Método de Wald. Subcohorte 104.

Resumen de procesamiento de casos		N	Porcentaje
Casos disponibles en el análisis	Evento	16	16,5%
	Censurado	79	81,4%
	Total	95	97,9%
Casos eliminados	Casos con valores perdidos	2	2,1%
	Total	2	2,1%
Total		97	100,0%

Subcohorte 104. PROGRESIÓN. COX MULTIVARIANTE					
			IC - 95,0%		
		p	HR	Inferior	Superior
Paso 1	Localización	0,023	3,682	1,197	11,327
	Número	0,178	2,189	0,701	6,839
	Tamaño	0,268	2,043	0,577	7,232
	Subestadificación T1	0,002	11,411	2,403	54,180
	Sobreexpresión HER2	0,728			
	Sobre neg vs pos	0,433	2,362	0,276	20,221
	Sobre neg vs equ	0,614	1,999	0,136	29,486
	Amplificación ERBB2	0,105	6,390	0,680	60,082
	Diagnóstico HER2	0,701	0,590	0,040	8,706

Paso 2	Localización	0,022	3,463	1,196	10,031
	Número	0,167	2,188	0,720	6,647
	Tamaño	0,278	1,912	0,592	6,172
	Subestadificación T1	0,001	12,772	2,753	59,254
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,090	6,700	0,742	60,465
	Diagnóstico HER2	0,660	,601	0,062	5,822
Paso 3	Localización	0,025	3,372	1,168	9,739
	Número	0,194	1,983	0,706	5,573
	Tamaño	0,299	1,844	0,581	5,858
	Subestadificación T1	0,001	12,332	2,662	57,134
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,005	4,391	1,561	12,352
Paso 4	Localización	0,008	3,994	1,426	11,189
	Número	0,297	1,695	0,628	4,571
	Subestadificación T1	0,001	14,215	3,109	64,993
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,004	4,499	1,605	12,617
Paso 5	Localización	0,008	3,982	1,433	11,070
	Subestadificación T1	0,000	14,994	3,297	68,181
	Amplificación <i>ERBB2</i>	0,003	4,686	1,691	12,991

Apéndice 14.

Sobreexpresión – Fallo BCG. Análisis multivariante (Wald). Subcohorte 104.

Subcohorte 104. SOBREENPRESIÓN - FALLO BCG. COX MULTIVARIANTE					
			IC - 95%		
p			OR	Inferior	Superior
Paso 1	Género	0,091	0,148	0,016	1,355
	Edad	0,069	2,496	0,933	6,680
	Subestadificación T1	0,215	1,873	0,695	5,047
	Infiltración LV	0,188	5,424	0,437	67,284
	Tamaño	0,212	1,874	0,698	5,028
	Sobreexpresión HER2	0,189			
	Sobre neg vs equ	0,354	1,791	0,523	6,139
	Sobre neg vs pos	0,070	4,217	0,891	19,968
Paso 2	Género	0,083	0,142	0,016	1,292
	Edad	0,065	2,506	0,943	6,661
	Infiltración LV	0,188	5,343	0,442	64,611
	Tamaño	0,179	1,958	0,735	5,215
	Sobreexpresión HER2	0,081			
	Sobre neg vs equ	0,207	2,159	0,654	7,129
	Sobre neg vs pos	0,025	5,531	1,240	24,673
Paso 3	Género	0,071	0,131	0,014	1,187
	Edad	0,069	2,434	0,932	6,353
	Tamaño	0,169	1,956	0,752	5,090
	Sobreexpresión HER2	0,054			
	Sobre neg vs equ	0,235	2,041	0,630	6,615
	Sobre neg vs pos	0,017	5,977	1,385	25,792
Paso 4	Género	0,045	,104	0,011	,952
	Edad	0,034	2,760	1,082	7,042
	Sobreexpresión HER2	0,039			
	Sobre neg vs equ	0,193	2,171	0,676	6,972
	Sobre neg vs pos	0,011	6.469	1.524	27.456

Apéndice 15.

Amplificación – Fallo BCG. Análisis multivariante (Wald). Subcohorte 104.

Subcohorte 104. AMPLIFICACIÓN - FALLO BCG. COX MULTIVARIANTE				
		p	OR	IC - 95% Inferior Superior
Paso 1	Género	0,097	0,149	0,016 1,407
	Edad	0,048	2,827	1,007 7,934
	Subestadificación T1	0,150	2,101	0,765 5,768
	Infiltración LV	0,535	2,427	0,148 39,836
	Tamaño	0,058	2,775	0,965 7,981
	Amplificación	0,006	5,350	1,609 17,786
Paso 2	Género	0,089	0,143	0,015 1,349
	Edad	0,051	2,789	0,998 7,796
	Subestadificación T1	0,164	2,037	0,747 5,553
	Tamaño	0,052	2,838	0,992 8,119
	Amplificación	0,004	5,755	1,766 18,757
Paso 3	Género	0,082	0,131	0,013 1,292
	Edad	0,054	2,712	0,984 7,473
	Tamaño	0,033	3,094	1,095 8,738
	Amplificación	0,003	6,012	1,873 19,292

Apéndice 16.

Diagnóstico HER2 – Fallo BCG. Análisis multivariante (Wald). Subcohorte 104.

Subcohorte 104. DIAGNÓSTICO HER2 - FALLO BCG. COX MULTIVARIANTE				
		p	OR	IC - 95% Inferior Superior
Paso 1	Género	0,074	0,132	0,014 1,219
	Edad	0,058	2,623	0,966 7,125
	Subestadificación T1	0,228	1,835	0,684 4,921
	Infiltración LV	0,313	3,679	0,293 46,235
	Tamaño	0,111	2,264	0,828 6,192
	Diagnóstico HER2	0,019	3,699	1,239 11,039
Paso 2	Género	0,061	0,119	0,013 1,105
	Edad	0,056	2,625	0,976 7,062
	Subestadificación T1	0,247	1,782	0,671 4,734
	Tamaño	0,108	2,262	0,836 6,121
	Diagnóstico HER2	0,008	4,196	1,442 12,206
Paso 3	Género	0,053	0,110	0,012 1,033
	Edad	0,054	2,625	0,983 7,011
	Tamaño	0,078	2,426	0,906 6,498
	Diagnóstico HER2	0,004	4,716	1,655 13,436

11.4 ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Clasificación TNM 8ª ed. 2017 AJCC para cáncer de vejiga	178
Anexo 2. Dictamen del Comité de Ética de la Investigación.....	179
Anexo 3. Permiso de reproducción de figuras.....	180

Anexo 1. Clasificación TNM 8ª ed. 2017 AJCC para cáncer de vejiga

Clasificación TNM para cáncer de vejiga		
T – Tumor primario		
TX	Tumor primario no puede ser valorado	
T0	Sin evidencia de tumor primario	
Ta	Carcinoma papilar no invasivo	
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : tumor plano	
T1	Tumor invade el tejido conectivo subepitelial	
T2	Tumor invade músculo	
	T2a	Tumor invade músculo superficial (mitad interna)
	T2b	Tumor invade músculo profundo (mitad externa)
T3	Tumor invade grasa perivesical	
	T3a	Microscópicamente
	T3b	Macroscópicamente (masa extravesical)
T4	Tumor invade cualquiera de los siguientes: estroma prostático, vesículas seminales, útero, vagina, pared pélvica, pared abdominal	
	T4a	Tumor invade estroma próstata, vesículas seminales, útero o vagina
	T4b	Tumor invade pared pélvica o pared abdominal
N – Ganglios linfáticos regionales		
NX	Ganglios linfáticos regionales no pueden ser identificados en el tejido	
N0	No metástasis en ganglios linfáticos regionales	
N1	Metástasis en un ganglio linfático en la pelvis verdadera (hipogástrico, obturador, ilíaca externa, o presacro)	
N2	Metástasis en ganglios linfáticos regionales múltiples en la pelvis verdadera (hipogástrico, obturador, ilíaca externa, o presacro)	
N3	Metástasis en ganglio(s) linfático(s) ilíaca común	
M – Metástasis a distancia		
M0	No metástasis a distancia	
	M1a	Ganglios linfáticos no-regionales
	M1b	Otras metástasis a distancia

Nota: Amin et al., AJCC cancer staging manual. New York, NY: Springer, 2017 (*Amin et al., 2017*)

Anexo 2.

Dictamen del Comité de Ética de la Investigación.

	XUNTA DE GALICIA CONSELLERÍA DE SANIDADE Secretaría Xeral Técnica	Secretaría Técnica Comité Autonómico de Ética da Investigación de Galicia Secretaría Xeral, Consellería de Sanidade Edificio Administrativo San Lázaro 15703 SANTIAGO DE COMPOSTELA Tel: 881 549425; ceic@sergas.es				
						
DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE PONTEVEDRA-VIGO-OURENSE						
María Asunción Verdejo González, Secretaria del Comité de Ética de la Investigación de Pontevedra-Vigo-Ourense						
CERTIFICA:						
Que este Comité evaluó en su reunión del día 24/02/2015 el estudio:						
Título: HER2 como marcador predictivo do cancro non musculo-invasivo de vexiga						
Promotor: Elena López Díez						
Código de Registro: 2015/072						
Y, tomando en consideración las siguientes cuestiones:						
- La pertinencia del estudio, teniendo en cuenta el conocimiento disponible, así como los requisitos legales aplicables, y en particular la Ley 14/2007, de investigación biomédica, el Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica, la ORDEN SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las Directrices sobre estudios Posautorización de Tipo Observacional para medicamentos de uso humano, y el la Circular nº 07 / 2004, investigaciones clínicas con productos sanitarios. - La idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio, justificación de los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, así como los beneficios esperados. - Los principios éticos de la Declaración de Helsinki vigente. - Los Procedimientos Normalizados de Trabajo del Comité.						
Emite un INFORME FAVORABLE para la realización del estudio por el/la investigador/a del centro:						
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">Centros</th> <th style="text-align: center;">Investigadores Principales</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>C.H. Universitario de Vigo (Hospital do Meixoeiro)</td> <td>Elena López Díez</td> </tr> </tbody> </table>			Centros	Investigadores Principales	C.H. Universitario de Vigo (Hospital do Meixoeiro)	Elena López Díez
Centros	Investigadores Principales					
C.H. Universitario de Vigo (Hospital do Meixoeiro)	Elena López Díez					
* Nota: Deberán presentar la memoria económica del estudio y subsanar las siguientes erratas: el título de la hoja de información al participante (HIP) en castellano y los años en los que se espera tenga lugar el estudio en la HIP en gallego.						
En Vigo, a 06 de marzo de 2015						
La secretaria						
						
						

Anexo 3. Permiso de reproducción de figuras

    					
Request Date ▾	Request ID ▾	Publication ▾	Title ▾	Type of Use ▾	Status ▾
09 May 2023	600121701	Annual review of pathology	Origins of Bladder Cancer.	Republish in a thesis/dissertation	Accepted

							
My Orders		My Library	My Profile	Welcome maxesmenos00@gmail.com Log out Help FAQ			
Date ▾	Article Title ▾	Publication ▾	Type Of Use ▾	Price ▾	Status ▾	Expiration Date ▾	Order Number ▾
9-Dec-2023	European Association of Urology (EAU) Prognostic Factor Risk Groups for Non-muscle-invasive Bladder Cancer (NMIBC) Incorporating the WHO 2004/2016 and WHO 1973 Classification Systems for Grade: An Update from the EAU NMIBC Guidelines Panel	European Urology	reuse in a thesis/dissertation	0.00 €	Completed 		5684840127643
9-Dec-2023	Predicting Recurrence and Progression in Individual Patients with Stage Ta T1 Bladder Cancer Using EORTC Risk Tables: A Combined Analysis of 2596 Patients from Seven EORTC Trials	European Urology	reuse in a thesis/dissertation	0.00 \$	Completed 		5684830908712
9-Dec-2023	Predicting Nonmuscle Invasive Bladder Cancer Recurrence and Progression in Patients Treated With Bacillus Calmette-Guerin: The CUETO Scoring Model	Journal of Urology	Dissertation/Thesis	0.00 \$	Completed 		5684830406803
9-Dec-2023	Human epidermal growth factor receptor 2: a significant indicator for predicting progression in non-muscle-invasive bladder cancer especially in high-risk groups	World Journal of Urology	Thesis/Dissertation	0.00 \$	Completed 		5684821161795
9-Dec-2023	The past, present, and future of HER2 (ERBB2) in cancer: Approaches to molecular testing and an evolving role in targeted therapy	Cancer Cytopathology	Dissertation/Thesis	0.00 €	Completed 		5684811159587



El carcinoma urotelial de vejiga estadio T1 alto grado presenta una evolución clínica heterogénea, un no desdeñable riesgo de mortalidad y una problemática decisión terapéutica entre la conservación del órgano y su exéresis. Los actuales modelos de pronóstico a partir de variables clínicas y patológicas tienen una eficacia limitada. El estudio del estado HER2 es útil en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama y en el gástrico. Realizamos un estudio observacional del valor pronóstico de HER2 en un grupo homogéneo de tumores T1 alto grado. La sobreexpresión resultó ser del 19,3%, la amplificación del 25,3% y el diagnóstico HER2 del 28,8%. La amplificación fue un factor pronóstico independiente que duplica el riesgo de recurrencia y triplica el de progresión del estadio tumoral.