

Patología molecular del cáncer urotelial (Francisco X. Real)

Por: Mauricio Lema Medina

Consideraciones iniciales sobre los cánceres uroteliales

El urotelio es un epitelio estratificado no queratinizante que se encuentra en la pelvis renal, los uréteres y en la vejiga. El cáncer urotelial es muy importante en España y otros países industrializados. Es el cuarto cáncer en incidencia en España entre los hombres. La relación hombre : mujer es 3:1 en el Mundo, pero 7:1 en España (posiblemente por el tabaquismo).

Clasificación de los tumores uroteliales

Desde el punto de vista histopatológico los tumores se clasifican en diferenciación urotelial y los no uroteliales (ie, células pequeñas, linfomas, sarcomas). Los tumores uroteliales se clasifican en tres grupos: UCC, SCC y ADC (según si exhiben diferenciación urotelial, escamosa y adenocarcinoma, respectivamente). Según la penetración de la pared vesical, se dividen en Ta que no invaden la lámina propia, T1 que invaden la lámina propia pero no la muscular, T2 que no sobrepasan la muscular, T3 y T4 que son más avanzados. **Los tumores T2 o más los llamamos invasivos de músculo. Los T1 o menos, son no invasivos de músculo.** La relación No invasores de músculo / invasores de músculo son 20-30/80-70%. En los tumores grado 1 hay un aumento de capas uroteliales, pero no se distinguen alteraciones citológicas. Los tumores grado 3 tienen una gran desorganización, pleomorfismo, muchas mitosis. Es difícil clasificar los tumores grado 2. En la última clasificación de la OMS se eliminó la categoría grado 2. La nueva clasificación de la OMS los divide en BAJO GRADO y ALTO GRADO. Aproximadamente 2/3 de los tumores grado 2 se clasifican hoy como bajo grado. El 80% de los tumores músculo invasivos son de alto grado. **El 70-80% de los tumores no músculo invasivos son de bajo grado. La mayoría de los pacientes que presentan con cáncer de vejiga son de bajo grado.** Estos pacientes tienen buen pronóstico pero con alta probabilidad de recaer. El 15% de los pacientes recidivan con PROGRESIÓN a músculo invasivo, alto grado, con un 50% de probabilidad de metastatizar. Los tumores músculo invasivos requieren de cistectomía para su control. Hay diferentes criterios de clasificación: papilar vs sólido, no músculo invasivo vs músculo invasivo, bajo riesgo vs alto riesgo.

Carcinoma escamocelular de vejiga

Se considera carcinoma escamoso de vejiga cuando SÓLO hay diferenciación escamosa. Sólo 5% de los cánceres de vejiga fuera del norte de África son de naturaleza escamosa. En el norte de África se asocia a la infección por Schistosoma haematobium que ubica sus huevos en la capa muscular de la vejiga causando inflamación crónica. En el resto del mundo, se asocia a catheteres urinarios crónicos con inflamación crónica.

Causas de cáncer de vejiga

Entre el 40-50% de los cáncer de vejiga se atribuyen al tabaco. Aproximadamente 10-15% se rexplican por exposiciones laborales. Hay otros factores que se han postulado como la polución (ie, Diesel). Aproximadamente 30% son de origen genética.

El cáncer de vejiga familiar es muy raro. ***El cáncer urotelial ocurre en el síndrome de Lynch, y éste ocurre principalmente en el uréter.*** Existe una fuerte evidencia de que hay un componente genético del cáncer de vejiga, pero con variantes de baja penetrancia que involucran genes que metabolizan xenobióticos, genes de reparación de DNA, y otros genes con función no esclarecido. Hay factores ambientales muy importantes en el cáncer de vejiga que interactúan con los factores genéticos. Hay varios SNPs que han sido identificados por GWAs. Hay dos genes que contribuyen al cáncer de vejiga como GSTM1 y el NAT2 que metabolizan xenobióticos. Incrementan el OR a 1.7 y 1.4. Los portadores de GSTM1 y NAT2 son para GSTM1 y NAT2 nulos y lentos, respectivamente. La mitad de las personas no tienen GSTM1, 40% tienen un solo gen, y 10% tienen las 2 copias. En el NAT2 (acetiladores rápidos). Entre estas 2 variantes se explica el 30% de los cánceres de vejiga. Los portadores de los alelos lentos de NAT2 que no fuman tienen el mismo riesgo que los acetiladores rápidos. Si hay un acetilador lento NAT2 que fuma se incrementa el riesgo a 5 veces el de los acetiladores rápidos en un claro ejemplo de interacción entre factores genéticos y ambientales que pueden modificar el riesgo de neoplasia..

Los tumores no músculo invasivos (80%) se tratan a resección transuretral. Un 20% se curan, y 60% recaen. Se han descrito hasta 33 recidivas en el mismo paciente. La mayoría de las recidivas son de bajo riesgo, pero puede haber progresión a enfermedad de alto riesgo.

Patogenia de los cánceres de vejiga. Las patogenia histológica y molecular es diferente para los tumores de bajo riesgo y de alto riesgo.

Desde el punto de vista morfológico los tumores papilares de bajo grado evolucionan desde el epitelio normal pasando por estadio intermedio de hiperplasia. Los tumores músculo invasores de alto grado pasan por un estadio de displasia/CIS. Comunes a todos (bajo riesgo y alto riesgo) son las alteraciones en el cromosoma 9 (9p-/9q-, RAS). En la ruta para tumores de bajo grado se alteran el gen FGFR3/PI3KCA. En la ruta para los tumores músculo invasores se involucra el p53/RB/PTEN, seguida por alteraciones en la E-Cadherina. Cuando los tumores de bajo grado se convierten a tumores de alto grado lo hacen adquiriendo mutaciones en p53/RB/PTEN típicamente asociadas a tumores de alto grado. Los CIS urotelial son lesiones con MUY alto riesgo de progresión, a pesar de ser plana.

Retos para el estudio de los tumores uroteliales

Aproximadamente el 20% de los tumores uroteliales son MULTICÉNTRICOS. Se plantea la pregunta de si son monoclonales u oligoclonales. Se considera que son MONOCLONALES así hayan tumores multicéntricos. Los tumores recurrentes pueden no serlo, sino tumores multicéntricos de crecimiento lento que no se detectaron antes.

Anormalidades genéticas en los carcinomas uroteliales

Cromosoma 9

Alteración precoz de los cánceres de vejiga, tanto en tumores de bajo grado. En los tumores de bajo grado se ha encontrado pérdida de 9p o 9q en el 50%. En el 9p está el p16 y p15. En el 9q está el TSC, DBC1 y PATCH.

FGFR3

El oncogén más importante para carcinoma de vejiga es el FGFR3. Los FGFR3 son tirosinas kinasas que tienen isoformas epiteliales y mesenquimales (por splicing alternativos, denominados b y c, respectivamente), con múltiples ligandos. La forma como señalizan los FGFR unidos al ligando (hay más de 20) y a heparán sulfato extracelular que favorece la dimerización de receptores, con transfosforilación. La activación de la vía requiere de una proteína adaptadora denominada FRS2 alfa que activa a su vez la vía RAS, por un lado, y PI3K por otro. Sin necesidad de la proteína adaptadora, también puede activar la fosfolipasa C y la proteín kinasa C. Todos causa expresión génica compleja.

Esta vía se activa en cáncer por: 1. Producción masiva del ligando. 2. Por splicing alternativo. 3. Amplificación génica. 4. Se puede activar por translocación como en el Mieloma Múltiple. 5. La forma más frecuente de activación del FGFR3 en cáncer de vejiga es por mutación puntual. La aparición anómala de Cisteínas en el dominio extracelular favorece la formación de puentes disulfuro entre los receptores causando activación constitutiva que no requiere de ligando. Una minoría tiene mutación en el dominio intracelular del FGFR3 con actividad constitutiva tirosina kinasa. Hay mutaciones yuxtamembrana que favorecen dimerizaciones del receptor, pero son raros.

Las mutaciones FGFR3 son MUCHO más prevalentes en los tumores de comportamiento benigno de vejiga (50% de TaG1 vs 20% en T3). Los tumores que tienen mutaciones de FGFR3 tienen un menor riesgo de progresión y muerte en pacientes con enfermedad no músculo invasivo.

RAS

Sólo el 5-10% de los tumores de vejiga tienen mutación del ras, tanto en las variedades H, K y N-Ras. Las mutaciones son constitutivamente activas. No se asocia ni a grado, ni a estadío. Las mutaciones de Ras son MUTUAMENTE excluyentes con las mutaciones de FGFR3. Las señales de Ras son altamente pleiotrópicas, pero culminan exhibiendo el fenotipo oncológico.

PI3K

El oncogén en cáncer de vejiga de esta vía es el PIK3CA que está mutado en 3 o 4 hotspots como en otras neoplasias (codón 542, 545 y 1047). La mayoría de las mutaciones del PI3KCA en tumores uroteliales ocurren en el codón 1047. Las mutaciones del la PIK3CA son también de mejor pronóstico. Las mutaciones del PI3KCA ocurren en el 15% de los cánceres de vejiga, y no son mutuamente excluyentes para FGFR3. La vía PI3K también puede es importante en la formación de

proteínas a través de la vía del mTOR donde el gen TSC1 es importante. La inactivación del TSC1 también favorece la formación de carcinoma de vejiga. Su inactivación es un factor predictor de respuesta a inhibidores de mTOR como el Everolimus (ver abajo).

Distribución de oncogenes en cáncer de vejiga

Cuando tomamos todos los cánceres de vejiga, encontramos que el FGFR3 está mutado en aproximadamente la mitad de los pacientes con cáncer de vejiga. El 75% de ellos no tiene mutación del PI3KCA, y el restante 25% tiene la mutación FGFR3 en combinación con mutación de PI3KCA. En un 15-20% de los cánceres de vejiga hay mutación de PI3KCA o RAS aisladas. En el 25% restante no se identifica ninguna de estas mutaciones.

Los tumores de alto grado T1G3 y los tumores músculo invasivos exhiben pocas mutaciones del FGFR2, RAS y PI3KCA

Si analizamos los cánceres de vejiga de ALTO RIESGO observamos que no se encuentra las mutaciones de FGFR3, RAS y PIT3CA sino en una proporción mucho menor. Los tumores músculo invasivos y los tumores no músculo invasivos de alto grado comparten el mismo perfil de mutación genómica.

p53

En los 1990s se estableció que los pacientes cistectomizados que tienen sobre-expresión de p53 nuclear (p53 inactivado) tienen peor pronóstico que los pacientes con p53 no mutado. Las mutaciones del p53 ocurren en todo el gen, pero hay una preponderancia a las mutaciones que involucran el dominio que se une al DNA. ***No se ha demostrado ninguna utilidad clínica en el estudio del p53 como marcador tumoral en tumores uroteliales.*** Hay varias razones para esto: falibilidad de la inmunohistoquímica, efecto NO muy potente de la mutación del p53, diseño inapropiado del estudio, pobre validación de las técnicas de laboratorio, metodología heterogénea, tratamiento heterogéneo, y sesgo de publicación, etc.

Pescando con Genome Wide Arrays (GWAs)

Las GWAs están informando cada vez más sobre el cáncer de Vejiga: p53, FGFR3, RAS, etc. Se encontraron otros genes como los de remodelación de la cromatina y mecanismos epigenéticos, así como el ErbB3 (15% de tumores) con mutaciones activantes.

Cambios genómicos

Los tumores de bajo grado son genómicamente estables. Con relativamente pocas anormalidades cromosomales, con alteración en el cromosoma 9 como la anormalidad más común.

Los tumores T1G3 (no músculo invasivos de alto riesgo) muestran grandes alteraciones genómicas con aneuploidía, al igual que los tumores músculo invasores de alto riesgo. Se han encontrado muchas alteraciones en los números de copias, etc. Los tumores más genómicamente inestables hay amplificación de la PI3KCA en 30%, y pérdida de actividad del PTEN.

Los tumores uroteliales superiores frecuentemente tienen alteraciones en los genes MMR comprometidos en el síndrome de Lynch

Hay diferencias entre los tumores del tracto urotelial superior vs vejiga. Los carcinomas del tracto urotelial superior constituyen el 5-10% de los cánceres de vejiga. En la pelvis y uréter hay mayor proporción de alto riesgo, y un 15% tienen alteraciones en los genes de reparación de "mismatches" similar a los observados en el síndrome de Lynch. En estos tumores se pueden utilizar la IHQ de los genes MMR.

Cambios epigenéticos en el cáncer de vejiga tienen más que ver con modificaciones postraduccionales de histonas que con el silenciamiento epigenético por metilación – fenotipo MRES.

Se han descrito muchas alteraciones, pero no hay un patrón epigenético característico. Se ha encontrado que los tumores de alto riesgo tienen un patrón epigenético similar al de los tumores músculo invasivos. Se ha descrito un subtipo de tumores de vejigas que tienen un patrón epigenético que tienen que ver con cambios postraduccionales de histonas con un silenciamiento de zonas amplias del cromosoma. Se denomina silenciamiento epigenético regional múltiple (MRES) que afecta a varios cromosomas. La mayoría de estos tumores NO tienen mutación del FGFR3, con compartimiento biológico MÁS agresivo. No está relacionado con metilación de DNA, sino cambios en las histonas.

miRNAs

Varios estudios han mostrado sobre-expresión y disminución de mi-RNAs. La sobre-expresión se observa en los tumores y en el urotelio circundante (que no es necesariamente normal). Se sobre-expresan miR-96, miR-183, etc. Con expresión disminuida de miR-145. Se ha observado que los pacientes con progresión incrementa el miR-21 que suprime el p53. La pérdida de miRNA99a/100 por hipermetilación se asocia a incremento de la expresión de FGFR3.

Oportunidades para el uso de análisis moleculares en el manejo de cáncer de vejiga

Especula el expositor que se puede usar la información molecular para el tamizaje, predicción de recaída, predicción de progresión, detección precoz, análisis de respuesta de tratamiento, reemplazo de la cistoscopia para la detección de recidiva, diagnóstico del carcinoma in-situ, estratificación para quimioterapia neoadyuvante, estratificación para enfermedad metastásica y marcadores de respuesta.

Marcadores moleculares para tamizaje y detección precoz de recidiva: NADA

En tamizaje para individuos de alto riesgo se han utilizado los mismos tests que se usa en pacientes para la detección de la recurrencia. Ninguna ha reemplazado la cistoscopia. En la detección precoz de recidiva para reemplazar la cistoscopia. De nuevo, nada aún.

Marcadores moleculares como factores pronóstico: promesas que aún no se materializan

Predicción del pronóstico. Los marcadores moleculares pueden ser útiles en los tumores antiguamente denominados Grado 2. Se ha establecido un sistema de gradación molecular. Es grado molecular 1 los genes importantes es el FGFR3 y el MIB-1 (Ki-67) de bajo índice. Bueno / Bueno es grado 1, Malo / Malo es grado 3. En análisis retrospectivo muestra que el grado molecular funciona bien. Las firmas mRNA también están siendo estudiadas. Se analizan los factores de predicción de respuesta al BCG.

Biomarcadores de respuesta al tratamiento: ERCC1, MRE11 y cisplatino y radioterapia, respectivamente

Biomarcadores de respuesta a tratamiento. El ERCC1 (y la vía de reparación NER) remueve aductos de cisplatino – DNA. La expresión baja de ERCC1 se asocia a mejor respuesta al tratamiento. El MRE11-RAD50-NBS1 se encarga de la reparación de DNA luego de daño de doble cadena por RT.

Terapia dirigida en cáncer urotelial: “a big pile of nothingNESS”

Terapias dirigidas. Los inhibidores de FGFR no han sido muy útiles. Se están estudiando los inhibidores de PI3K/mTOR, el RAS no es una diana particularmente fácil. Los inhibidores de EGFR y HER2 no han sido particularmente útiles. Esperamos los inhibidores de HER3 y HDAC...

Stumbling upon something, maybe!

Los individuos que tienen respuesta al Everolimus tienen mutación del TSC1 (sólo mutado en el 7%, no siempre inactivantes).

No resumible, difícilmente escuchable

Termina con unas diapositivas algo filosóficas sobre las oportunidades y retos de biomarcadores en general.