

Estimación de la prevalencia de PD-L1 sobreexpresado en cáncer de vejiga

Estimate of the prevalence of overexpressed PD-L1 in bladder cancer

Sergio Morales Bayo¹, Soledad Courreges², Michele Bianchini³, Mauricio Colicigno¹, Fernando Iglesias¹, Pablo Geromin¹, Leandro Lamuedra¹, Víctor Rojas¹, Iván Cabeza¹

¹Servicio de Urología, Htal. Munic. Dr. Prof. B. Houssay – Vte. López, Bs. As. Argentina

²Servicio de Anatomía Patológica, Htal. Munic. Dr. Prof. B. Houssay – Vte. López, Bs. As. Argentina

³Servicio de Inmunohistoquímica, Argenomics SA – Pilar, Bs. As. Argentina

RESUMEN

Introducción: el cáncer de vejiga no invasor es el tumor urinario de mayor prevalencia y recurrencia. La expresión aumentada de PD-L1 en estos tumores indican una pobre respuesta a la BCG y mayor tasa de recurrencia. Estimamos la prevalencia de la expresión de PD-L1 en una cohorte de pacientes con cáncer de vejiga no músculo invasor (CVNMI).

Materiales y métodos: a partir de tejidos incluidos en tacos de parafina de una cohorte de 86 pacientes, se detectó PD-L1 mediante inmunohistoquímica automática. Una tasa de tinción $\geq 5\%$ de linfocitos infiltrantes de tumor y células tumorales (PD-L1) se consideró positiva. La prevalencia se calculó utilizando intervalo de confianza del 95% y frecuencias (porcentajes). Para los datos continuos, se utilizó la media (desviación estándar) o la mediana (rango) con una significancia de $p < 0.05$.

Resultados: de los 86 pacientes con CVNMI, 73% fueron masculinos y 27% femeninos. La expresión de PD-L1 se observó en 11% de tumores pTa, 21% de pT1, 25% de pT2a y 31% en pT2b. No se analizaron carcinoma in situ. La expresión de PD-L1 se asoció con tumores de alto grado (razón de posibilidades [OR] = 0.68; $p = 0.0121$; de bajo grado [OR] = 0.38; $p = 0.012$; y la infiltración tumoral por células mononucleares [OR] = 5,5, $p = 0,004$.

Conclusiones: el método IHQ utilizado fue simple, confiable y reproducible. Los resultados coinciden con resultados de estudios previos. Pero en nuestra muestra se hallaron porcentajes de expresión PD-L1 significativamente más altos que los publicados, especialmente en los tumores de bajo grado.

Palabras clave: cáncer vesical, no músculo invasor, inmunohistoquímica, PD-L1, linfocitos infiltrantes del tumor

ABSTRACT

Introduction: non-invasive bladder cancer is the most prevalent and recurring urinary tumor. The increased expression of PD-L1 in these tumors indicates a poor response to BCG and a higher recurrence rate. We estimated the prevalence of PD-L1 expression in a cohort of patients with non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC).

Materials and methods: from tissues embedded in paraffin plugs from a cohort of 86 patients, PD-L1 was detected by automated immunohistochemistry. A staining rate $\geq 5\%$ of tumor-infiltrating lymphocytes and tumor cells (PD-L1) was considered positive. The prevalence was calculated using a 95% confidence interval and frequencies (percentages). For continuous data, the mean (standard deviation) or median (range) was used with a significance of $p < 0.05$.

Results: of the 86 patients with NMIBC I, 73% were male and 27% female. PD-L1 expression was observed in 11% of pTa tumors, 21% in pT1, 25% in pT2a and 31% in pT2b. Carcinoma in situ was not analyzed. PD-L1 expression was associated with high-grade tumors (odds ratio [OR] = 0.68; $p = 0.0121$; low-grade [OR] = 0.38; $p = 0.012$; and tumor infiltration by mononuclear cells [OR] = 5.5, $p = 0.004$.

Conclusions: the IHC method used was simple, reliable and reproducible. The results agree with results of previous studies. But in our sample, significantly higher percentages of PD-L1 expression were found than those published, especially in low-grade tumors.

Keywords: bladder cancer; not muscle invasive; Immunohistochemistry; PD-L1; tumor infiltrating lymphocytes.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de vejiga es el 10° tipo de cáncer diagnosticado con más frecuencia en el mundo (Globocan, 2020). En Argentina, ocupa el noveno puesto con 3.785 nuevos casos cada año y 1.639 muertes anuales (Globocan 2020).¹ La siguiente tabla muestra la incidencia y las tasas globales totales de cáncer de

vejiga en 2020. Grecia tuvo la tasa general más alta de cáncer de vejiga, pero Alemania, Italia y España son los países con mayor cantidad de casos, y representan la mayor inmigración europea en nuestro país (Tabla 1), constituyendo además la mayor proporción de pacientes atendidos en nuestro centro (72%).²

Tabla 1. Incidencia de cáncer vesical a nivel mundial por países (cada 10000 ha) <https://www.wcrf.org/cancer-trends/bladder-cancer-statistics/>

Rango	País	Número	ASR/100,000
	<i>Mundo</i>	<i>573,278</i>	<i>5.6</i>
1	Grecia	5,645	21.2
2	Los países bajos	7,417	17.2
3	Italia	28,336	16.4
4	Dinamarca	2,323	16.2
5	Bélgica	4,527	16.0
6	España	18,512	15.8
7	Alemania	35,147	15.3
8	Hungría	3,239	15.2
9	Serbia	2,549	14.1
10	Croacia	1,398	14.1

Respecto a los ligandos de estudio, PD-1 es una proteína que se encuentra en los linfocitos T y que interviene en la regulación de la respuesta inmunitaria. Cuando PD-1 se une a la proteína PD-L1 presente en el resto de las células, evita que los linfocitos T destruyan células propias del organismo.³ Cuando las células cancerosas expresan PD-L1, evitan ser atacadas y destruidas por el sistema inmune.⁴ La sobreexpresión de PD-L1 es un indicador de mal pronóstico en la enfermedad tumoral.⁵

Los tumores uroteliales de vejiga de alto grado (y en menor medida de bajo grado) de malignidad músculo invasor (CVMI) son portadores de una mayor expresión de PD-L1 en relación a las células no tumorales, lo que sugiere que esta expresión incrementada estaría relacionada a la actividad y agresividad tumoral, dada por el aumento de la capacidad

infiltrante, la mayor tasa de recurrencia y un mayor poder metastásico.⁶ En tumores uroteliales no músculo invasor (CVNMI), tanto PD-1 como PD-L1 se expresan más en aquellos de alto grado que en los de bajo grado ($p < 0,050$ y $p < 0,010$). Además, PD-L1 se correlacionó positivamente con las expresiones de los genes STAT1 ($r = 0,681$, $p < 0,001$) y FGFR3 ($r = 0,444$, $p < 0,001$).⁶

Los resultados de estudios previos en pacientes con cáncer urotelial con invasión muscular que presentaban sobre expresión de PD-1/ PD-L1 ($\geq 5\%$) en las células linfocíticas/tumorales presentes en las muestras histopatológicas respondieron mejor al tratamiento con drogas Anti-PD-1/PD-L1 como Nivolumab, Pembrolizumab o Atezolisumab solos o asociadas a BCG en comparación con BCG sola, mediante instilaciones endovesicales utilizan-

do el esquema de Lamb (Anexo 1).⁷⁻¹² Los estudios previos que brindaron el marco teórico para este protocolo informaron una prevalencia de la sobreexpresión de PD-L1 en células tumorales uroteliales entre el 7 y 45%, estando menos expresado en tumores de bajo grado respecto a los de alto grado e, igualmente, en los no invasores respecto de los músculos invasores.^{13,14} En todos los casos, se utilizó una técnica de Inmunohistoquímica automática con la prueba Ventana SP263 (Ventana Medical Systems, Inc/Roche), ya que los estudios previos sobre rendimiento para detección de PD-L1 mostraron que el ensayo SP263 resulta comparable a Dako 28.8 (PD-L1 IHC 28-8 pharmDx is a qualitative immunohistochemical assay using Monoclonal Rabbit Anti-PD-L1), al 22c3 (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx) y es superior a la prueba SP142 (Ventana Medical Systems, Inc/Roche), la cual identifica menos células tumorales con expresión PD-L1.^{13,14} Otros estudios demostraron que la expresión de PD-L1 era extremadamente abundante en los granulomas de vejiga inducidos por BCG,¹⁵ especialmente en pacientes que fracasaron en el tratamiento con BCG al estar correlacionado con una mayor tasa de recurrencia tumoral, peor respuesta a la terapéutica coadyuvante con BCG y menor sobrevida vinculable a la enfermedad.¹⁶ Es probable que esta sobreexpresión de PD-L1 en las células tumorales surjan debido a un proceso mitótico aumentado, en respuesta adaptativa al medio ambiente tumoral y como mecanismo tumoral de escape a la inmunovigilancia mediante presión de selección.¹⁷⁻²¹ Los estudios de prevalencia de la sobreexpresión a partir de meta-análisis de muestras tumorales del Atlas de Genomas del Cáncer (TCGA), de pacientes con carcinoma urotelial-transicional de alto y bajo grado de malignidad indican que aproximadamente el 20% de los pacientes con cáncer localizado en la vejiga tienen sobreexpresión moderada o alta del ligando PD-L1.²² Por lo tanto, se consideró de gran utilidad investigar de manera retrospectiva y prospectiva la expresión de PD-L1 en muestras histopatológicas de pacientes operados en nuestro Hospital con el fin de identificar la tasa de sobre expresión del ligando PD-L1 en nuestra población, quienes podrían beneficiarse con

las nuevas drogas dirigidas contra PD-L1, las cuales han mostrado buenos resultados terapéuticos en estudios previos en este y otro tipo de tumores que sobreexpresan el ligando de estudio.²³ Revisiones sistematizadas y metaanálisis informaron una tasa de respuesta de hasta el 43% en tumores con alta expresión de PD-L1 y del 11% en tumores con poca o ninguna expresión de PD-L1. Lo más notable de estos estudios fue la duración de las respuestas, algunas de las cuales se extendieron mucho más allá de un año.²⁴⁻²⁸ La respuesta prolongada a cualquier agente quimioterápico en este tipo de enfermedad es claramente inusual y rara vez se informa en la literatura, lo que hace muy prometedora esta investigación para conocer el potencial terapéutico de los anti PD-L1 en todos los estadios de la enfermedad.

La principal justificación del estudio de prevalencia de PD-L1 en “nuestra población” se basa en el hecho que los pacientes del Servicio de Urología presentan un claro sesgo etario (Tabla 2). Más del 80% son mayores de 60-65 años (PAMI) con un rasgo demográfico particular; alrededor del 72% de ellos son provenientes esencialmente del centro y sur de Europa Occidental, población con una alta incidencia de tumores uroteliales (ver Tabla 1).

El objetivo primario del estudio de investigación fue estimar la prevalencia de la sobreexpresión de PD-L1 en muestras de tejido tumoral recolectada en pacientes operados en el Servicio de Urología (Htal. Prof. B. Houssay) entre 2019 y 2022, con diagnóstico de carcinoma urotelial de alto y bajo grado no músculo invasor. Por otro lado, como un objetivo secundario de este trabajo, se analizaron los factores de riesgo conocidos para la enfermedad tumoral y fueron correctamente categorizados e incorporados en las variables interviniente como potenciales agentes etiológicos e incluso correlacionados con el grado de expresión de PD-L1 en el tejido tumoral (Tabla 4; Figura 4).

El análisis del ligando PD-L1 expresada en los pacientes con CVNMI, en general con alta tasa de recurrencia, permitió inferir la respuesta terapéutica a la BCG y seleccionar potenciales candidatos al tratamiento con Anti PD-L1.⁷⁻¹²

Tabla II. Pacientes (rango/edad) con cáncer urotelial/Serv. de Urología – Htal. Houssay/datos demográficos.²

EDAD	Pacientes con Ca vesical (2019 – 2021)	Sexo M/F	Cobertura PAMI / Profe	Italianos	Españoles	Alemanes	Criollos / otros
21 – 40	8	7 / 1	1	1	2	0	5
41 – 50	30	22 / 8	4	4	3	2	21
51 – 60	89	61 / 28	26	23	16	6	44
61 – 70	229	152 / 77	201	91	89	10	39
71 – 80	195	139 / 56	173	72	51	31	41
81 o más	124	85 / 39	111	54	22	10	38
TOTAL	675	466 / 209	416	245	183	59	188

MATERIAL Y MÉTODO

Se revisaron 86 tacos en parafina de pacientes atendidos en el Servicio de Urología del Hospital Dr. Prof. B. Houssay, que corresponden al período 2019-2022. Se seleccionaron aquellos pacientes que tuvieran diagnóstico de carcinoma urotelial de alto y bajo grado de malignidad no músculo invasor (CVNMI) corroborado por la revisión de las muestras fijadas en hematoxilina y eosina asociadas al taco de estudio. Algunos pacientes presentaban en forma concomitante carcinoma invasor y no invasor (se incluyeron analizando solo los tacos con CVNMI). Se analizaron los tacos de pacientes con estadios pTa, pT1, pT2a y pT2b. No se consideraron los carcinomas in situ (Cis) por la baja prevalencia que presenta en nuestra población (<2%). Todos los pacientes fueron tratados y diagnosticados mediante resección quirúrgica transuretral (RTU). Se incluyeron tumores primarios y recurrencias con más de 6 meses de haber finalizado la instilación de BCG, ya sea cumpliendo solo el ciclo de inducción (120 ml/semanal durante 6 semanas) o completando de uno a tres ciclos de mantenimiento según el esquema de Lamb (Anexo 1).²⁹

Se realizó la detección del ligando PD-L1 mediante Inmunohistoquímica automática con la prueba Ventana PD-L1 (SP263). Sistema Benchmark ULTRA. Kit Monoclonal Mouse 22C3-pharmDx (SK 006) Peroxidase reagent (Ventana Medical Systems, Inc / Roche) (Figura 1). Se consideró positivo para sobreexpresión de los ligandos cuando PD-L1 $\geq 5\%$. El cálculo de prevalencia se resumió utilizando

porcentajes (intervalo de confianza del 95%). Para los datos discretos, se usaron frecuencias (porcentajes). Los datos continuos se resumieron descriptivamente utilizando la media (desviación estándar) o la mediana (rango) de $p < 0.05$. Por otro lado, se resumieron los factores de riesgo asociados a cáncer vesical y se analizó la tasa de expresión de PD-L1 entre pacientes expuestos y no expuestos a esos factores de riesgo. Los criterios de exclusión del estudio fueron: haber recibido o estar realizando quimioterapia sistémica neoadyuvante, tratamiento radiante pélvico previo, tejido inadecuado o insuficiente para evaluación inmunohistoquímica y falta de consentimiento informado (CI). Se obtuvo la autorización del centro participante y de un comité de ética independiente (CEI-CEMER). Todos los pacientes que aceptaron participar en la investigación lo asentaron mediante la firma de un CI.

RESULTADOS

En nuestra cohorte de 86 pacientes diagnosticados con carcinomas uroteliales, 63 (73%) correspondieron al sexo masculino y 23 (27%) al femenino. La edad media de presentación fue 69 años (rango 52-89 años), Relación hombre / Mujer 3:1; La edad de aparición en la mujer fue de 4 años menos, diferencia con significación estadística ($p = 0.002$).

En relación a la clasificación histopatológica se diagnosticó pTa a 32 pacientes (36.6%), pT1 a 27 (31.7%), pT2a a 11 (12.2%) y pT2b a 16 pacientes (19.5%) (Figura 2).

El promedio de instilaciones endovesicales de BCG en todos los grupos fue de 9 dosis (rango

6-18). La expresión de PD-L1 mayor al 5% se observó en promedio en el 11% de los tumores pTa (9% en los de bajo grado y 13% los de alto grado); el 21% de pT1 (19% en bajo grado y 23% en los de alto grado), el 25% de pT2a (23% en bajo grado y 27% en alto grado) y el 31% en pT2b (25% en bajo grado y 37% en alto grado) (Figura 3). No se analizaron los tumores de carcinoma in situ (CIS). La expresión de PD-L1 se asoció con tumores de alto grado (razón de posibilidades [OR] = 0.68; $p = 0.0121$; de bajo grado [OR] = 0.38; $p = 0.012$; y la infiltración tumoral por células mononucleares [OR] = 5,5, $p = 0,004$ (Figura 3).

Figura 1. Expresión de PD-L1 en muestras de cáncer vesical teñidas con anticuerpo anti-PD-L1 (22C3). Los controles positivos y negativos para la expresión de PD-L1 se presentan en (A) y (B), respectivamente. La tinción membranosa positiva está presente en las células tumorales en (C). En (D), las células tumorales son negativas y las células mononucleares que infiltran el tumor son positivas para PD-1.

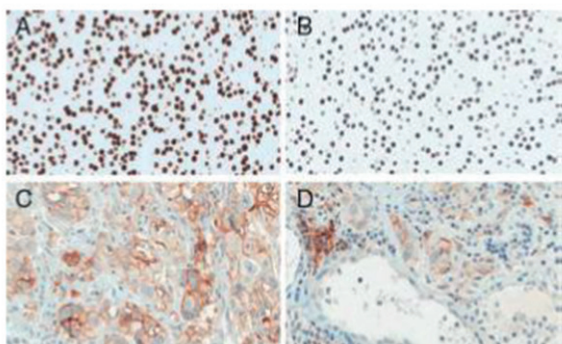
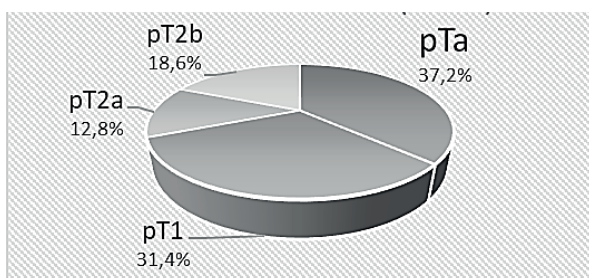


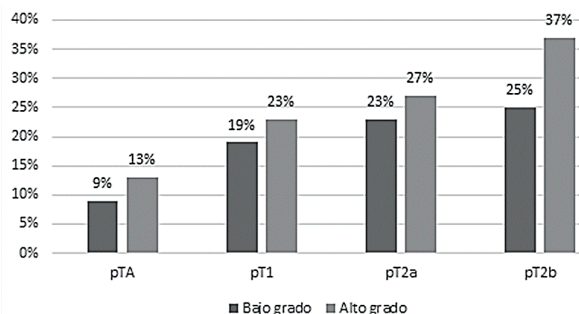
Figura 2. Conformación histopatológica de la muestra (n=86).



En el análisis de investigaciones prospectivas, meta-análisis y revisiones sistematizadas,²⁰⁻²⁷ la expresión de PD-L1 se observó en promedio sobre 2902 pacientes, en el 7% de los tumores pTa, el 16% con pT1, el 23% con pT2a, 30% con pT2b, 39% con pT3/4 y el 45% de los tumores con carcinoma in situ

(CIS). La expresión de PD-L1 se asoció con tumores de alto grado (razón de posibilidades [OR] = 2,7, $p = 0,008$) e infiltración tumoral por células mononucleares [OR] = 5,9, $p = 0,006$ (Tabla 3).

Figura 3. El ligando PD-L1 se expresó más en el cáncer de vejiga de alto grado que en el cáncer de vejiga de bajo grado de malignidad ($p < 0,009$ y $p < 0,010$).



Respecto a los factores de riesgo asociados a CVNMI, de los 86 pacientes, 34 (39%) pacientes eran fumadores en el momento del diagnóstico. 7 de un total de 20 mujeres fueron fumadoras (35%) frente a un 41% de varones fumadores. Se halló una clara asociación entre tabaco y cáncer de vejiga en esta muestra [OR] = 1.82, $p = 0.005$ (Tabla 3 y Figura 4). Los pacientes fumadores presentaron significativamente más tumores de alto grado que los pacientes no fumadores [OR] 0.68, $p = 0,046$, pero no así una mayor expresión de PD-L1 (43% vs. 24%, $p = 0,18$) (Figura 5).

Tabla III. Comparación de la expresión de PD-L1 en células tumorales entre la población general y nuestra población de pacientes con CVNMI.

ESTADIO TUMORAL	Expresión PD-L1 (>5%)	Expresión PD-L1 (>5%)
	Población general = 2902	Nuestra cohorte = 86
pTa	7% (1-12)	11%
pT1	16% (6-20)	21%
pT2a	23% (12-25)	25%
pT2b	30% (23-33)	31%
pT3/4	39% (21- 44)	-
Cis	45% (16- 53)	-

Tabla IV. Chi Cuadrado: 24.4652; $p < 0.00001$; ² (Yates) 22.3269; $p < 0.00001$ (Sign $p < .05$).

Correlación entre tabaquismo y cáncer de vejiga/por sexos			
	Fuman	No fuman	Marginal row totals
Cáncer Mujeres	7 (18.19) [6.88]	39 (27.81) [4.5]	46
Cáncer Hombres	27 (15.81) [7.91]	13 (24.19) [5.17]	40
Marginal Column Totals	34	52	86 (Grand Total)

Figura 4. Fuerte asociación entre tabaquismo y cáncer vesical.

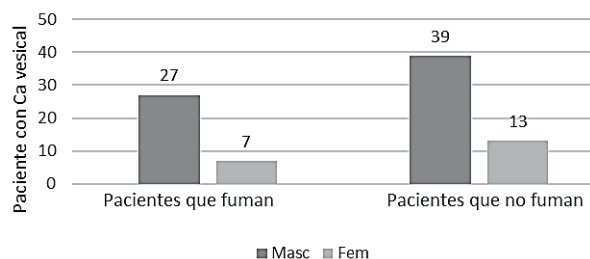
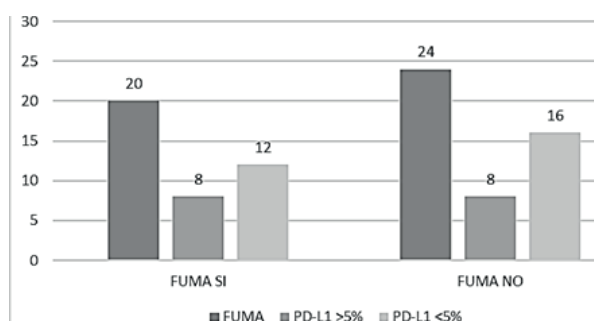


Figura 5. Sin asociación entre tabaquismo y expresión aumentada de PD-L1 en células tumorales.



DISCUSIÓN

Las características generales en esta cohorte de pacientes coinciden en general con resultados de estudios previos. Pero se advierte, en este caso, que el sesgo poblacional o las características propias de cada población de estudio, sea en relación a la edad u otras características demográficas señaladas, podrían hacer diferir los porcentajes de expresión del ligando PD-L1, especialmente en los tumores no músculo invasor de bajo grado que presentan una alta tasa de recurrencia.

De acuerdo a la literatura, estos pacientes presentarían baja respuesta terapéutica a la BCG y son potenciales candidatos al tratamiento con Anti PD-L1. No obstante, y dado que no se alcanzó a reclutar el "n" requerido en el estudio, para obtener resultados más concluyentes se requerirán análisis con mayor número de pacientes. De resultar concluyentes estos datos, se podría proponer la detección de PD-L1

como método de screening en todos los pacientes con diagnóstico de cáncer vesical, especialmente aquellos que presentan recurrencias, sean de bajo o alto grado no invasores para ofrecer como alternativa terapéutica a los inhibidores de este blanco molecular, conociendo la resistencia a la BCG que presentan los pacientes con sobreexpresión del ligando estudiado y la elevada tasa de recurrencia observada en los mismos. De acuerdo a los resultados preliminares de un estudio en curso que realizamos actualmente, la administración de BCG en cada recurrencia tumoral induciría mayor expresión de PD-L1 debido a un mecanismo evolutivo por presión de selección. De confirmarse esta hipótesis, la determinación de PD-L1, así como de otros blancos moleculares, sería imperiosa ante la capacidad creciente del tumor de escapar a la vigilancia inmunológica.

CONCLUSIÓN

Se analizaron muestras preservadas en tacos de parafina de 86 pacientes con diagnóstico de cáncer vesical no músculo invasor y se estimó el porcentaje de expresión de PD-L1 en el tejido tumoral. La edad media de presentación del cáncer urotelial en la muestra estudiada fue de 69 años. Relación hombre/mujer 3:1, mostrando semejanza a los datos de la literatura.

El método de detección mediante IHQ utilizado, así como el kit comercial en base al anticuerpo monoclonal anti PD-L1 y peroxidasa fue simple, robusto, confiable y reproducible.

De acuerdo con nuestra hipótesis de trabajo, se hallaron porcentajes de expresión del ligando PD-L1 significativamente más altas que los publicados hasta ahora, especialmente en los tumores no músculo invasor de bajo grado.

De acuerdo a la literatura, estos pacientes presentarían baja respuesta terapéutica a la BCG y son potenciales candidatos al tratamiento con Anti PD-L1.

Anexo 1

ESTIMACIÓN DE LA PREVALENCIA DE PD-L1 SOBREEXPRESADO EN CÁNCER DE VEJIGA

Esquema de Lamb para el tratamiento coadyuvante con instilaciones de vacuna BCG endovesical en cáncer de vejiga no músculo invasor

Intravesical BCG Treatment/Cystoscopy Schedule

Please write the date of each treatment in the shaded fields below.

Patients, please bring this log with you to all your appointments. This will help your clinician to easily determine the status of your therapy.

Month	BCG Induction		15	Approximately 9-12 weeks from last BCG	Cystoscopy		
	BCG # 1		18	~3 months from last Cystoscopy	Cystoscopy		
	BCG # 2						
	BCG # 3						
	BCG # 4		BCG Maintenance # 4 - start within 0 to 3 weeks				
	BCG # 5		BCG # 1				
	BCG # 6		BCG # 2				
		BCG # 3					
			21	Approximately 9-12 weeks from last BCG	Cystoscopy		
			24	~3 months from last Cystoscopy	Cystoscopy		
3	Approximately 6-8 weeks from 6th BCG	Cystoscopy					
BCG Maintenance # 1 - start within 0 to 3 weeks							
BCG # 1		BCG Maintenance # 5 - start within 0 to 3 weeks					
BCG # 2		BCG # 1					
BCG # 3		BCG # 2					
		BCG # 3					
			6	Approximately 9-12 weeks from last BCG	Cystoscopy		
			30	Approximately 21-24 weeks from last BCG	Cystoscopy		
BCG Maintenance # 2 - start within 0 to 3 weeks							
BCG # 1		BCG Maintenance # 6 - start within 0 to 3 weeks					
BCG # 2		BCG # 1					
BCG # 3		BCG # 2					
		BCG # 3					
			9	Approximately 9-12 weeks from last BCG	Cystoscopy		
			12	~3 months from last Cystoscopy	Cystoscopy		
BCG Maintenance # 3 - start within 0 to 3 weeks							
BCG # 1		BCG Maintenance # 7 - start within 0 to 3 weeks					
BCG # 2		BCG # 1					
BCG # 3		BCG # 2					
		BCG # 3					
			36	Approximately 21-24 weeks from last BCG	Cystoscopy		

Note: Your doctor may modify schedule based on your individual needs.

©Karnat & Abraham (2015)

Society for Immunotherapy of Cancer consensus statement on immunotherapy for the treatment of bladder carcinoma. <https://jitc.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40425-017-0271-0>

BIBLIOGRAFÍA

- GLOBOCAN 2020: El cáncer de vejiga es el 10° tipo de cáncer diagnosticado con más frecuencia en el mundo. 14 diciembre 2020. Lyon, France. <https://worldbladdercancer.org/es/novedades-eventos/globocan-2020-el-cancer-de-vejiga-es-el-10-tipo-de-cancer-diagnosticado-con-mas-frecuencia-en-el-mundo/>
- Estadística general, incidencia y prevalencia, Servicio de Urología, Htal Dr. Porf. B. Houssay (2020)
- Abbas A., Lichtman A.; Inmunología Celular y Molecular (Elsevier, 5ta Ed.) 170-171.
- Christian Blank 1, Thomas F Gajewski, Andreas Mackensen Interaction of PD-L1 on tumor cells with PD-1 on tumor-specific T cells as a mechanism of immune evasion: implications for tumor immunotherapy.
- Cancer Immunol Immunother. 2005 Apr;54(4):307-14. doi: 10.1007/s00262-004-0593-x. Epub 2004 Dec 15.
- Fukumoto K, Kikuchi E, Mikami S, Hayakawa N, Matsumoto K, Niwa N, Oya M. Clinical Role of Programmed Cell Death-1 Expression in Patients with Non-muscle-invasive Bladder Cancer Recurring After Initial Bacillus Calmette-Guérin Therapy. Ann Surg Oncol. 2018 Aug;25(8):2484-2491. doi: 10.1245/s10434-018-6498-2. Epub 2018 May 1. PMID: 29717423.
- Tian C, Zhou M.D., Alexander I, Sankin M.D., Steven A, Porcelli M.D., David S, Perlin Ph.D., Mark P, Schoenberg M.D., Xingxing Zang Ph.D... A review of the PD-1/PD-L1 checkpoint in bladder cancer: From mediator of immune escape to target for

- treatment. *Urol Oncol*. 2017 Jan;35(1):14-20. doi: 10.1016/j.urolonc.2016.10.004. Epub 2016 Nov 3. PMID: 27816403.
8. Jun Gong, Alexander Chehrazi-Raffle, Srikanth Reddi and Ravi Salgia; Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations. Gong et al. *Journal for Immunotherapy of Cancer* (2018) 6:8. DOI 10.1186/s40425-018-0316-z
 9. A Study Comparing the Efficacy and Safety of Nivolumab in Combination With Bacillus Calmette-Guerin (BCG) Versus BCG Alone in Participants With High-Risk Non-Muscle Invasive Bladder Cancer (HR NMIBC) (CheckMate 7G8) Interventional (Clinical Trial) A study comparing nivolumab and bacterial drugs given to help the body's immune system in the bladder versus bacterial drugs alone in high risk bladder cancer participants. A Phase 3, Randomized, Double-blind Trial of Nivolumab in Combination With Intravesical BCG Versus Standard of Care BCG Alone in Participants With High-risk Non-muscle Invasive Bladder Cancer That Is Persistent or Recurrent After Treatment With BCG. Sponsor: Bristol-Myers Squibb <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04149574>
 10. Arjun V Balar, A., Kamat A., et al. Pembrolizumab monotherapy for the treatment of high-risk non-muscle-invasive bladder cancer unresponsive to BCG (KEYNOTE-057): an open-label, single-arm, multicentre, phase 2 study. *the LANCET*, VOLUME 22, ISSUE 7, P919-930, JULY 2021. May 26, 2021 DOI:[https://doi.org/10.1016/S1473-2045\(21\)00147-9](https://doi.org/10.1016/S1473-2045(21)00147-9) - Merck Sharp & Dohme.
 11. Peter C. Black, Catherine Tangen, Parminder Singh, David James McConkey, Scott Lucia, William Thomas Lowrance, et. Al. Phase II trial of atezolizumab in BCG-unresponsive non-muscle invasive bladder cancer: SWOG S1605 (NCT #02844816). *Journal of Clinical Oncology* > Volume 38, Issue 15_suppl > https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.5022
 12. Powles T, Necchi A, Rosen G, Hariharan S, Apolo AB. Anti-Programmed Cell Death 1/Ligand 1 (PD-1/PD-L1) Antibodies for the Treatment of Urothelial Carcinoma: State of the Art and Future Development. *Clin Genitourin Cancer*. 2018 Apr;16(2):117-129. doi: 10.1016/j.clgc.2017.11.002. Epub 2017 Dec 6. PMID: 29325739; PMCID: PMC5878995.
 13. Rouanne M, Radulescu C, Adam J, Allory Y. PD-L1 testing in urothelial bladder cancer: essentials of clinical practice. *World J Urol*. 2021 May;39(5):1345-1355. doi: 10.1007/s00345-020-03498-0. Epub 2020 Nov 3. PMID: 33141317.
 14. Zavalishina L, Tsimafeyeu I, Povilaitite P, Raskin G, Andreeva Y, Petrov A, Kharitonova E, Rummyantsev A, Pugach I, Frank G, Tjulandin S. RUSSCO-RSP comparative study of immunohistochemistry diagnostic assays for PD-L1 expression in urothelial bladder cancer. *Virchows Arch*. 2018 Dec;473(6):719-724. doi: 10.1007/s00428-018-2453-7. Epub 2018 Sep 13. PMID: 30209552.
 15. Eckstein M, Erben P, Kriegmair MC, Worst TS, Weiß CA, Wirtz RM, Wach S, Stoehr R, Sikic D, Geppert CI, Weyerer V, Bertz S, Breyer J, Otto W, Keck B, Burger M, Taubert H, Weichert W, Wullich B, Bolenz C, Hartmann A, Erlmeier F. Performance of the Food and Drug Administration/EMA-approved programmed cell death ligand-1 assays in urothelial carcinoma with emphasis on therapy stratification for first-line use of atezolizumab and pembrolizumab. *Eur J Cancer*. 2019 Jan;106:234-243. doi: 10.1016/j.ejca.2018.11.007. Epub 2018 Dec 5. PMID: 30528808.
 16. de Jong F, et al., Improving Anti-PD-1/PD-L1 Therapy for Localized Bladder Cancer. *Sist. Rev. Int J Mol Sci*. 2021 Mar; 22(6): 2800. doi: 10.3390/ijms22062800
 17. Inman BA, Sebo TJ, Frigola X, Dong H, Bergstrahl EJ, Frank I, Fradet Y, Lacombe L, Kwon ED. PD-L1 (B7-H1) expression by urothelial carcinoma of the bladder and BCG-induced granulomata: associations with localized stage progression. *Cancer*. 2007 Apr 15;109(8):1499-505. doi: 10.1002/cncr.22588. PMID: 17340590.
 18. Krabbe M. L., Heitplatz B., Preuss S., Hutchinson R, et. al. Prognostic Value of PD-1 and PD-L1 Expression in Patients with High Grade Upper Tract Urothelial Carcinoma. *J Urol*. 2017 Dec;198(6):1253-1262. doi: 10.1016/j.juro.2017.06.086. Epub 2017 Jun 28.
 19. Fei Su, Ming Liu, Wei Zhang, Min Tang, Jinsong Zhang, Hexin Li, Lihui Zou, Rui Zhang, Yudong Liu, Lin Li, Jie Ma, Yaquin Zhang, Meng Chen and Fei Xiao.: Bacillus Calmette-Guérin Treatment Changes the Tumor Microenvironment of Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Frontiers of Oncology* (2022) doi: 10.3389/fonc.2022.842182.
 20. Akihito Hashizume, Susumu Umamoto, Tomoyuki Yokose, Yoshiyasu Nakamura, Mitsuyo Yoshihara, Kahori Shoji, Satoshi Wada, Yohei Miyagi, Takeshi Kishida, and Tetsuro Sasada.: Enhanced expression of PD-L1 in non-muscle-invasive bladder cancer after treatment with Bacillus Calmette-Guerin. *Oncotarget*. 2018 Sep 25; 9(75): 34066-34078. Published online 2018 Sep 25. doi: 10.18632/oncotarget.26122.

21. Christian Blank, Thomas F Gajewski, Andreas Mackensen.: Interaction of PD-L1 on tumor cells with PD-1 on tumor-specific T cells as a mechanism of immune evasion: implications for tumor immunotherapy. *Review Cancer Immunol Immunother.* 2005 Apr;54(4):307-14. doi: 10.1007/s00262-004-0593-x. Epub 2004 Dec 15.
22. Monica Khunger , Sagar Rakshit , Kurt Alex Schaller , Paul Elson , Nathan A. Pennell , James Stevenson , ... Metanálisis de la expresión tumoral de PD-L1 como biomarcador predictivo del beneficio de los inhibidores del eje PD-1/PD-L1 en tumores sólidos. Volumen 34, Número 15_suppl >Reunión Resumen | Reunión Anual I de ASCO 2016. https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.11603
23. Zhongyuan Fan, Ye Liang , Xuecheng Yang , Bin Li , Lili Cui , Lei Luo , Yuefeng Jia , Yonghua Wang , y Haitao Niu Un metanálisis de la eficacia y seguridad de los inhibidores del punto de control inmunitario PD-1/PD-L1 como tratamientos para el cáncer de vejiga metastásico *Onco Targets and Therapy.* 019; 12: 1791-1801. 4 de marzo, 2019. doi: 10.2147/OTT.S186271- PMID: PMC6404681 - PMID: 30881032
24. Yaoan Wen, Yeda Chen, Xiaolu Duan, Wei Zhu, Chao Cai, Tuo Deng, Guohua Zeng *Review, Clin Exp Med.* 2019 Nov;19(4):407-416. doi: 10.1007/s10238-019-00572-9. Epub 2019 Aug 12. The clinicopathological and prognostic value of PD-L1 in urothelial carcinoma: a meta-analysis - PMID: 31407099 - DOI: 10.1007/s10238-019-00572-9
25. Ou SL, Luo J, Wei H, Qin XL, Du SY, Wang S, Jiang Q. Safety and Efficacy of Programmed Cell Death 1 and Programmed Death Ligand-1 Inhibitors in the Treatment of Cancer: An Overview of Systematic Reviews. *Front Immunol.* 2022 Jul 13;13:953761. doi: 10.3389/fimmu.2022.953761. PMID: 35911744; PMCID: PMC9326177.
26. Rui X, Gu TT, Pan HF, Zhang HZ. Evaluation of PD-L1 biomarker for immune checkpoint inhibitor (PD-1/PD-L1 inhibitors) treatments for urothelial carcinoma patients: A meta-analysis. *Int Immunopharmacol.* 2019 Feb; 67:378-385. doi: 10.1016/j.intimp.2018.12.018. Epub 2018 Dec 22. PMID: 30584967.
27. Wankowicz SAM, Werner L, Orsola A, Novak J, Bowden M, Choueiri TK, de Torres I, Morote J, Freeman GJ, Signoretti S, Bellmunt J. Differential Expression of PD-L1 in High Grade T1 vs Muscle Invasive Bladder Carcinoma and its Prognostic Implications. *J Urol.* 2017 Oct;198(4):817-823. doi: 10.1016/j.juro.2017.04.102. Epub 2017 May 6. PMID: 28487100.
28. Clinical Trials: KEYNOTE -045 (Pembrolizumab) 542 Patients; KEYNOTE - 052 (Pembrolizumab) 370 Patients; CheckMate 275 (Nivolumab) 270 Patients; IMVigor 210 (Atezolizumab) 310 Patients; IMVigor 210 (Atezolizumab) 310 Patients; Study 1108 (Durvalumab) 42 Patients.
29. Chang SS, Boorjian SA, Chou R et al: Diagnosis and treatment of non-muscle invasive bladder cancer: AUA/SUO guideline. *J Urol.* 2016; **196**: 1021.