

# Značaj imunohistokemijskog određivanja PD-L1 statusa u odluci o liječenju urotelnog karcinoma

---

**Karabaić, Laura**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:110637>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-19**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Laura Karabaić**

**Značaj imunohistokemijskog određivanja PD-L1  
statusa u odluci o liječenju urotelnog karcinoma**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu i izrađen na kolegiju Patofiziologija s patologijom pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Stele Bulimbašić.

*Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Steli Bulimbašić na stručnom vodstvu prilikom izrade ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem svojoj dragoj obitelji i prijateljima koji su mi bili podrška tokom cijelog studija, a ponajviše roditeljima Zvezdani i Borisu.*

## SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| 1. UVOD.....  | 1  |
| 1.1. ANATOMIJA I HISTOLOGIJA MOKRAĆNOG SUSTAVA .....                                  | 1  |
| 1.2. UROTELNI KARCINOM .....  | 3  |
| 1.3. EPIDEMIOLOGIJA UROTELNOG KARCINOMA.....  | 3  |
| 1.4. ETIOLOGIJA UROTELNOG KARCINOMA .....   | 5  |
| 1.4.1. Nasljedne bolesti.....   | 5  |
| 1.4.2. Pušenje .....  | 6  |
| 1.4.3. Profesionalna izloženost urotelnim kancerogenima .....                         | 6  |
| 1.4.4. Radioterapija i lijekovi.....  | 6  |
| 1.4.5. Infekcije i bolesti .....  | 7  |
| 1.4.6. Ostali urotelni kancerogeni .....  | 7  |
| 1.5. PATOGENEZA UROTELNOG KARCINOMA .....   | 8  |
| 1.6. HISTOLOŠKI IZGLED .....  | 9  |
| 1.6.1. Histološki izgled nemišićnoinvazivnih urotelnih karcinoma .....                | 9  |
| 1.6.2. Histološki izgled mišićnoinvazivnih urotelnih karcinoma.....                   | 10 |
| 1.7. ODREĐIVANJE STADIJA .....  | 11 |
| 1.8. PROGNOZA UROTELNOG KARCINOMA.....  | 15 |
| 1.9. METODE ANALIZE UROTELNOG KARCINOMA .....   | 16 |
| 1.9.1. Simptomi urotelnog karcinoma .....   | 16 |
| 1.9.2. Postavljanje dijagnoze urotelnog karcinoma.....                                | 16 |
| 1.9.3. Određivanje proširenosti tumora kod mišićnoinvazivnog urotelnog karcinoma..... | 18 |
| 1.10. LIJEČENJE UROTELNOG KARCINOMA.....  | 19 |
| 1.10.1. Liječenje nemišićnoinvazivnog urotelnog karcinoma mokraćnog mjehura .....     | 19 |
| 1.10.2. Liječenje mišićnoinvazivnog urotelnog karcinoma mokraćnog mjehura ..          | 19 |
| 1.10.3. Liječenje proširenog raka mokraćnog mjehura (metastatske bolesti) .....       | 21 |
| 1.10.4. Liječenje urotelnih karcinoma gornjeg dijela mokraćnog sustava .....          | 22 |
| 1.11. PRIMJENA IMUNOTERAPIJE U LIJEČENJU UROTELNIH KARCINOMA ....                     | 22 |
| 1.11.1. Bacillus Calmette Guerin (BCG).....   | 22 |
| 1.11.2. Inhibitori PD-1/ PD-L1 imunostimulirajućih kontrolnih točaka .....            | 22 |
| 1.11.3. Atezolizumab.....   | 23 |

|  |    |
|--|----|
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME .....   | 25 |
| 3. MATERIJALI I METODE .....   | 26 |
| 4. REZULTATI.....  | 29 |
| 4.1. SPOL PACIJENATA.....  | 29 |
| 4.2. DOB PACIJENATA .....  | 30 |
| 4.3. LOKALIZACIJA UROTELNOG KARCINOMA.....   | 31 |
| 4.4. STADIJ UROTELNOG KARCINOMA.....   | 32 |
| 4.5. PD-L1 STATUS I OVISNOST PD-L1 STATUSA O LOKALIZACIJI<br>KARCINOMA.....                  | 33 |
| 4.6. PRIMJENA ATEZOLIZUMABA I OSTALIH VRSTA IMUNOTERAPIJE .....                              | 36 |
| 4.7. ISHODI KOD PACIJENATA LIJEČENIH ATEZOLIZUMABOM I OSTALIM<br>VRSTAMA IMUNOTERAPIJE ..... | 38 |
| 4.8. TERAPIJA U PRVOJ LINIJI LIJEČENJA UROTELNOG KARCINOMA .....                             | 42 |
| 4.9. VREMENSKI PERIOD U KOJEM SU PRAĆENI PACIJENTI.....                                      | 44 |
| 4.10. ZABILJEŽENI ISHOD UROTELNOG KARCINOMA.....   | 45 |
| 5. RASPRAVA .....  | 46 |
| 6. ZAKLJUČCI.....  | 53 |
| 7. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA.....  | 55 |
| 8. LITERATURA.....   | 58 |
| 9. SAŽETAK/ SUMMARY.....   | 64 |

## 1. UVOD

### 1.1. ANATOMIJA I HISTOLOGIJA MOKRAĆNOG SUSTAVA

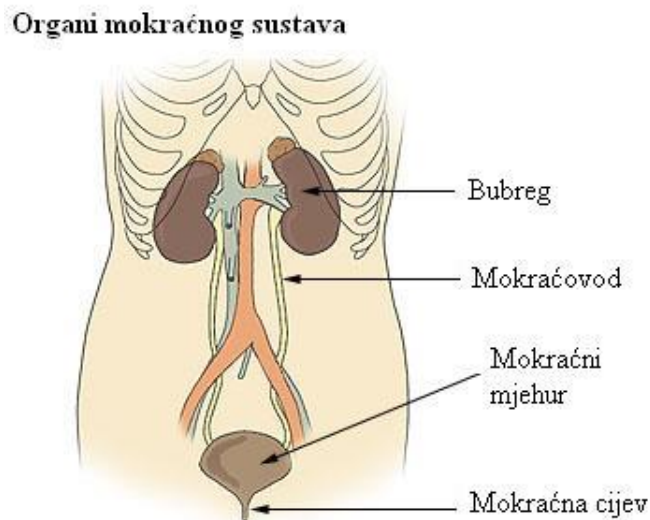
Bubrezi vrše različite zadaće u ljudskom tijelu; izlučuju otpadne tvari, reguliraju ravnotežu vode i otopljenih tvari u krvi, reguliraju krvni tlak i luče hormone. Mokraća formirana u bubregu skuplja se bubrežnim nakapnicama i dovodi u mokraćovode. Mokraćovodi prenose mokraću od bubrega do mokraćnog mjehura. Mokraćni mjehur ima funkciju spremnika mokraće. Izlučivanje mokraće iz organizma vrši se putem mokraćne cijevi (Mills i sur., ured., 2012). Organi mokraćnog sustava prikazani su na Slici 1.

Bubrezi su smješteni u retroperitoneumu, sa gornjom granicom u razini dvanaestog torakalnog kralješka i donjom granicom u razini trećeg lumbalnog kralješka. Dužina bubrega je 11 do 12 cm, širina 5 do 7.5 cm, a debljina je 2.5 do 3 cm. Osnovna gradivna i funkcionalna jedinica bubrega je nefron. Pojednostavljeno, nefron se sastoji od bubrežnog tjelešca (tvore ga kapilarno klupko i Bowmanova čahura) i bubrežnih kanalića (tubula). Dva glavna dijela bubrežnog tkiva su bubrežna kora i bubrežna srž. Tkivo bubrežne kore ima zrnati izgled zbog prisutnosti glomerula i zamršenih kanalića (tubula) nefrona. Tkivo kore okružuje baze bubrežnih piramida te ulazi u područje srži i tvori kolumne. Bubrežna srž se sastoji od bubrežnih piramida i izdanaka kortikalnog parenhima-kolumni, koje ih odjeljuju. Piramide imaju prugasti tj. izbrazdani izgled zbog paralelnog pružanja krakova Henleovih petlji i sabirnih cijevi. Vrhovi piramida- papile su okružene malim bubrežnim čašicama, spajanjem kojih nastaju velike bubrežne čašice, koje kad se ujedine tvore bubrežnu nakapnicu, koja se nastavlja u mokraćovod (Mills i sur., ured., 2012).

Mokraćovodi spajaju bubrežne nakapnice sa mokraćnim mjehurom. Imaju oblik cijevi i dugački su oko 30 cm. Početni dio mokraćovoda nalazi se u retroperitoneumu, a dio podjednake duljine nalazi se u zdjelici. Ovisno o tome gdje su smješteni u odnosu na ostale organe razlikujemo trbušni dio mokraćovoda, zdjelični dio mokraćovoda i dio mokraćovoda unutar stijenke mokraćnog mjehura, koji je znatno kraći (Mills i sur., ured., 2012).

Mokraćni mjehur se kod odraslih osoba nalazi u anterioinferiornom dijelu male zdjelice, ispod peritoneuma. Stijenka mokraćnog mjehura ima sposobnost rastezanja, bez promjene intraluminalnog tlaka mokraćni mjehur može zaprimiti do 500 mL mokraće. Prazni mokraćni mjehur ima oblik obrnute četverostrane piramide. Apex vesicae je anteriosuperiorni kraj

mokraćnog mjehura. Trokutasti dio (trigonum vesicae) je kompleksna struktura smještena na dnu mokraćnog mjehura. Krajnje točke baze trokuta su mjesta ulaska mokraćovoda u mokraćni mjehur. Vrh trokuta se pruža prema vratu mokraćnog mjehura, najdistalnijem dijelu organa, koji je mjesto gdje se posteriorni i inferiolateralni zidovi mjehura spajaju i otvaraju u mokraćnu cijev (Mills i sur., ured., 2012).



Slika 1. Organi mokraćnog sustava. ([www.wikimediacommons.org](http://www.wikimediacommons.org) (public domain), pristupljeno 21.07.2022.)

Stijenke bubrežnih nakapnica, mokraćovoda i mokraćnog mjehura najvećim dijelom su slično građene. Unutarnji sloj stijenke čine epitelne stanice, a prema vani redom slijede: lamina propria (vezivno tkivo), muskularis propria (glatko mišićje) te adventitia (fibroadipozno tkivo). Gornji dio mokraćnog mjehura je u dodiru sa parietalnim peritoneumom te ima i serozni sloj. Debljina urotela (tzv. prijelaznog epitela), koji prekriva mokraćni mjehur, mokraćovode i bubrežne nakapnice, varira ovisno o mjestu unutar mokraćnog sustava i stupnju rastezanja organa. U malim bubrežnim čašicama urotel je građen od samo 2 ili 3 sloja epitelnih stanica. Urotel mokraćovoda debljine je 3 do 5 slojeva stanica. Kod rastezanja mokraćnog mjehura urotel se sastoji od 2 ili 3 slojeva stanica, a kod kontrakcije mokraćnog mjehura urotel se sastoji od 6 ili 7 slojeva stanica. Razlikuju se tri regije epitelnih stanica koje grade urotel; površinske stanice koje su u kontaktu sa unutarnjim prostorom mokraćnih organa, intermedijarne stanice i bazalne stanice koje leže na bazalnoj membrani (Mills i sur., ured., 2012).

## **1.2. UROTELNI KARCINOM**

Urotelni karcinom je tumor prijelaznog epitela (urotela), koji se nalazi u mokraćnom sustavu. Čak 90% tumora bubrežne nakapnice, mokraćovoda i mokraćnog mjehura jesu urotelni karcinomi tj. potječu iz prijelaznog epitela (urotela). Druge vrste tumora u spomenutim dijelovima mokraćnog sustava zastupljene su u puno manjoj mjeri; rak pločastih stanica (3%), adenokarcinom (2%) i rak malih stanica (1%) (Vrdoljak i sur., 2018). Urotelni karcinomi najčešće se pojavljuju u mokraćnom mjehuru, dok iz gornjeg dijela mokraćnog sustava tj. bubrežne nakapnice i/ili mokraćovoda potječe tek 5-10% urotelnih karcinoma (Netto i sur., ured., 2022).

Urotelni karcinom mokraćnog mjehura može biti u obliku nemišićnoinvazivnog karcinoma (površinski karcinom), mišićnoinvazivnog karcinoma te bolesti sa metastazama. Ovisno o obliku primjenjuje se odgovarajuće liječenje i predviđa ishod za pojedinog pacijenta ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). U oko 70% slučajeva dijagnosticira se u nemišićnoinvazivnom stadiju, kada se smatra izlječivom bolesti. No, velika je stopa lokalnog povratka karcinoma (Vrdoljak i sur., 2018). Oko 25% pacijenata ima mišićnoinvazivnu bolest sa prisutnim ili naknadno razvijenim metastazama ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). Postotak preživljavanja kod urotelnog karcinoma mokraćnog mjehura u periodu od 5 godina ovisi o stadiju tumora, pa varira od 97% (za stadij I) do 22% (za stadij IV) (Miyazaki, Nishiyama, 2017).

## **1.3. EPIDEMIOLOGIJA UROTELNOG KARCINOMA**

Tijekom 2020. godine u svijetu je zabilježeno 573 278 novih slučajeva raka mokraćnog mjehura, što čini 3% od ukupnog broja zloćudnih tumora dijagnosticiranih te godine. Rak mokraćnog mjehura zauzima 10. mjesto po učestalosti u svijetu, u odnosu na ostale zloćudne tumore. U 2020. godini 212 536 smrtnih slučajeva u svijetu bilo je posljedica raka mokraćnog mjehura, što ga svrstava na 13. mjesto po smrtnosti, u odnosu na ostale zloćudne tumore. Incidencija i smrtnost RMM-a je četiri puta veća kod muškaraca nego kod žena. RMM je 6. najčešći zloćudni tumor kod muškaraca i 9. najčešći uzrok smrti od malignih bolesti kod muškaraca. Kod većine pacijenata RMM se dijagnosticira u sedmom desetljeću života ili kasnije, no oboljeti mogu i mlađe osobe, uključujući i djecu (Netto i sur., ured., 2022).

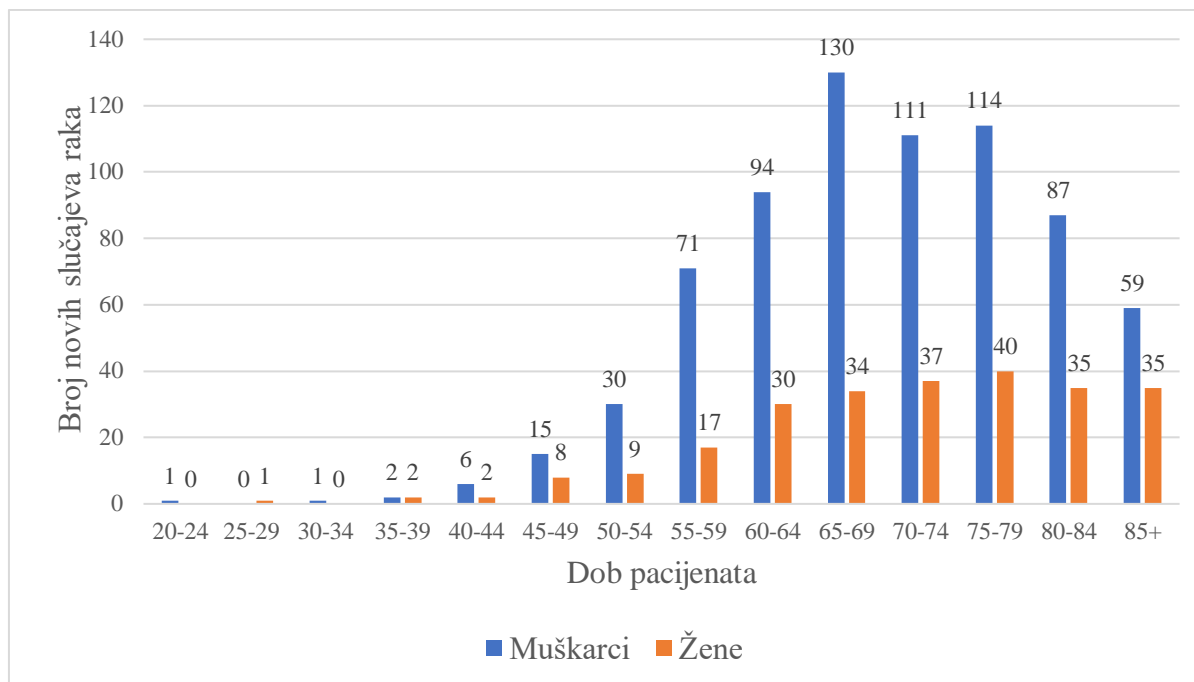
U svijetu RMM ima dobno standardiziranu stopu incidencije od 9,6 za muškarce i 2,4 za žene na 100,000 stanovnika (Wołacewicz i sur., 2020). Međutim, incidencija i smrtnost RMM-a iznimno



se razlikuju po dijelovima svijeta. Znatno veći broj slučajeva, u odnosu na ostatak svijeta, bilježe zemlje juga Europe, Sjeverne Amerike i sjevera Afrike. RMM je šest puta češći u zemljama sa visokim standardom nego u zemljama sa niskim i srednjim standardom (Netto i sur., ured., 2022).

U Europi dobno standardizirana stopa incidencije iznosi 20,2 za muškarce i 4,3 za žene. Navedena stopa se znatno razlikuje u pojedinim europskim zemljama. Najveća je u Grčkoj i iznosi čak 40,4 za muškarce i 4,5 za žene, a u Austriji je najniža i iznosi 9,9 za muškarce i 3,0 za žene (Wołacewicz i sur., 2020). Navedene dobno standardizirane stope koriste se za međunarodne usporedbe kako bi se izbjegao utjecaj razlike u dobnoj strukturi stanovništva (Šekerija i sur., 2021). Stopa incidencije RMM-a se povisila u mnogim europskim zemljama, no stope mortaliteta su ipak u padu u mnogim razvijenim područjima. Očekuje se da će apsolutna incidencija nastaviti rasti zbog starenja populacije (Wołacewicz i sur., 2020).

Registar za rak, koji djeluje pri Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo, 2021. objavio je podatke o incidenciji zloćudnih tumora u Republici Hrvatskoj u 2019.godini. Te je godine novodijagnosticiran ukupno 971 slučaj raka mokraćnog mjehura u RH, od čega 250 u žena te gotovo tri puta više u muškaraca; 721 slučaj. 50,7% novodijagnosticiranih slučajeva RMM-a bilo je u lokaliziranom stadiju, 4,8% slučajeva bilo je lokalno prošireno, a udaljene metastaze bile su prisutne u 14 slučajeva. Navedeni postotak od 50,7% dijagnosticiranih u lokaliziranom stadiju čini se znatno niži od svjetskog prosjeka od 70%, no valja napomenuti da je za čak 43% slučajeva RMM-a navedeno kako je stupanj bolesti u trenutku dijagnoze nepoznat sastavljaču izvještaja. Stopa incidencije RMM-a iznosila je 36,6 za muškarce te 11,9 za žene, a ukupna stopa incidencije bila je 23,9 na 100,000 stanovnika. Dobno standardizirana stopa incidencije iznosila je 24,90 za muškarce, 6,49 za žene i ukupno 14,43 na 100,000 stanovnika. Na temelju dobno standardiziranih stopa zamjećuje se da je incidencija u RH nešto viša od prethodno navedenih stopa incidencije za Europu. Slika 2 grafički prikazuje incidenciju RMM-a prema spolu i dobi, u RH tijekom 2019.godine. Prikaz je izrađen prema podacima iz biltena Registra za rak iz 2021.godine. Na temelju ovog prikaza vidljivo je da je RMM češći kod muškaraca te u starijoj životnoj dobi. RMM u Republici Hrvatskoj zauzima 5. mjesto u poretku najčešćih sijela raka kod muškaraca (Šekerija i sur., 2021).



Slika 2. Broj novih slučajeva raka sa sijelom u mokraćnom mjehuru prema spolu i dobi, u RH tijekom 2019.godine. Prikaz je izrađen prema podacima iz biltena Registra za rak (Šekerija i sur., 2021).

## 1.4. ETIOLOGIJA UROTELNOG KARCINOMA

### 1.4.1. Nasljedne bolesti

Lynch sindrom je genetski poremećaj kojeg karakteriziraju mutacije u genima koji kodiraju proteine za popravak DNK (MMR geni tj. mismatch repair geni). Nositelji ovih mutacija imaju povećan rizik oboljenja od pojedinih karcinoma, a među njima je najčešći kolorektalni karcinom (Duraturo i sur., 2018). Urotelni karcinom u gornjem dijelu mokraćnog sustava treća je najčešća maligna bolest vezana uz ovaj sindrom. Također, postoji i malo viši rizik oboljenja od urotelnog karcinoma mokraćnog mjehura (Netto i sur., ured., 2022).

Costello sindrom genetski je poremećaj koji je posljedica mutacija u HRAS genima, koji kodiraju proteine koji sudjeluju u signalnim putevima u stanicama. Oboljeli od ovog sindroma pate, između ostalog, od kognitivnog invaliditeta, abnormalnosti kože, kardiovaskularnog sustava i koštano-mišićnog sustava ([www.genecards.org](http://www.genecards.org)). Također, povećan je rizik od razvoja tumora mokraćnog mjehura, i to u adolescentskoj i ranoj odrasloj dobi (Netto i sur., ured., 2022).

### **1.4.2. Pušenje**

Pušenje je najvažniji dokazani rizični čimbenik za nastanak urotelnog karcinoma. Povezan je sa čak 50-65% slučajeva RMM-a kod muškaraca i 20-30% slučajeva kod žena. Trajanje pušenja cigareta i broj popušanih cigareta u danu izravno su povezani sa incidencijom RMM-a (Wołacewicz i sur., 2020.), a prestanak pušenja dovodi do smanjenja rizika od oboljenja. Aromatski amini iz dima cigareta dovode do stvaranja DNA adukata, pa dolazi do mutacija na DNA. Polimorfizmi GSTM1 i CYP1A1 predstavljaju povišen rizik od oboljenja jer mijenjaju sposobnost detoksifikacije ovih kancerogenih (Netto i sur., ured., 2022).

### **1.4.3. Profesionalna izloženost urotelnim kancerogenima**

Radnici izloženi bojama na bazi benzidina (ili bojama koje se metaboliziraju do benzidina), aromatskim aminima (Netto i sur., ured., 2022), policikličkim aromatskim ugljikovodicima, produktima izgaranja, teškim metalima, duhanu i duhanskom dimu imaju povišen rizik za razvoj raka mokraćnog mjehura. Profesionalna izloženost urotelnim kancerogenima drugi je najvažniji rizični čimbenik za oboljenje od raka mokraćnog mjehura (Wołacewicz i sur., 2020). Izloženost navedenim kemijskim spojevima i pušenje djeluju sinergistički na povećanje rizika od oboljenja zbog epigenetičke metilacije DNA (Netto i sur., ured., 2022).

### **1.4.4. Radioterapija i lijekovi**

Izlaganje zračenju povećava rizik od oboljenja od urotelnog karcinoma i ostalih vrsta tumora mokraćnog mjehura. Do tog zaključka se došlo zbog zamijećenog porasta broja slučajeva raka mokraćnog mjehura kod pacijenata sa rakom prostate i pacijenata sa rakom cerviksa maternice koji su liječeni radioterapijom. Navedeno potvrđuju i incidencije raka mokraćnog mjehura kod liječenja pacijenata s ankilozantnim spondilitisom te kod osoba preživjelih nakon bombardiranja Japana atomskim bombama (Netto i sur., ured., 2022).

Ciklofosfamid, klornafazin i fenacetin su lijekovi za koje je utvrđeno da povećavaju rizik od oboljenja od raka mokraćnog mjehura. Ciklofosfamid je antineoplastični lijek koji se koristi u liječenju limfoma, sarkoma mekih tkiva, osteosarkoma i drugih tumora. Klornafazin je antineoplastik u prošlosti korišten za liječenje Hodgkinovog limfoma i policitemije vere. Fenacetin je analgetik koji je korišten u bezreceptnom režimu izdavanja u 19. i 20. stoljeću, a potom je upotreba u mnogim zemljama zabranjena (Netto i sur., ured., 2022).

### 1.4.5. Infekcije i bolesti

Infekcije *Schistosomom haematobium* su endemske, prisutne su na Srednjem istoku i u Africi. Povezane su sa povećanom incidencijom raka pločastih stanica i urotelnog karcinoma mokraćnog mjehura. Zbog kroničnog upalnog odgovora na jajašca ovog parazita u mokraćnom mjehuru inducira se metaplazija, hiperplazija te na kraju karcinom pločastih stanica (Netto i sur., ured., 2022). Specifičnost karcinoma pločastih stanica je to što se dijagnosticira u 40-tim godinama života. U Egiptu se znatno smanjila incidencija infekcija sa *Schistosomom haematobium* zbog mjera koje su provedene u javnom zdravstvu. Posljedično, došlo je do dominacije udjela urotelnog karcinoma nad rakom pločastih stanica te pojave RMM-a u starijoj životnoj dobi, čime epidemiologija RMM-a više nalikuje onoj zapadne Europe i SAD-a (Miyazaki, Nishiyama, 2017).

Pacijenti koji boluju od neurogenog mokraćnog mjehura imaju povišen rizik od oboljenja od raka mokraćnog mjehura (Netto i sur., ured., 2022). Kod neurogenog mokraćnog mjehura narušena je koordiniranost pohrane i izbacivanja urina iz mokraćnog mjehura. Mjehur može biti pretjerano aktivan ili premalo aktivan. Bolest nastaje zbog narušene funkcije živčanog sustava uslijed bolesti ili ozlijede ([www.medscape.com](http://www.medscape.com)). Razvoj tumora povezan je sa stagnacijom urina, odgovorom na rekonstrukcijsku operaciju, povećavanjem mjehura i dugotrajnim korištenjem katetera. Kongenitalna ekstrofija mokraćnog mjehura također je rizični čimbenik za oboljenje od urotelnog karcinoma i ostalih vrsta tumora mokraćnog mjehura (Netto i sur., ured., 2022).

### 1.4.6. Ostali urotelni kancerogeni

Istraživanjima provedenim u Islamskoj Republici Iran otkrivena je velika povezanost opiuma konzumiranog pušenjem te ingestije sirovog ili minimalno procesuiranog opiuma sa pojavnosti raka mokraćnog mjehura. U svijetu je takva konzumacija najveća u zemljama jugoistočne Azije i Bliskog istoka (Netto i sur., ured., 2022). Opium je droga koja se dobiva iz soka nedozrelih glavica maka i sadrži najmanje 25 različitih alkaloida (morfin, kodein, tebain itd.) i nealkaloidne sastojke ([www.iarc.who.int](http://www.iarc.who.int)).

Aristolohična kiselina, koja se nalazi u biljkama roda *Aristolochia* spp. (vučja stopa), kancerogena je i nefrotoksična. Dokazana je povezanost incidencije urotelnog karcinoma u gornjem dijelu mokraćnog sustava sa ingestijom aristolohične kiseline. Navedeno je primijećeno na određenim područjima Tajvana i Balkana. Aristolohična kiselina se unosi biljnim lijekovima na bazi vučje stope ili putem kontaminiranih žitarica (Netto i sur., ured., 2022).

## 1.5. PATOGENEZA UROTELNOG KARCINOMA

U urotelu mokraćnog mjehura razvijaju se višestruki klonovi mutacija, što ga čini pogodnim za razvoj urotelnog karcinoma putem monoklonalnih ili oligoklonalnih procesa povezanih sa mutacijama zajedničkog podrijetla, kao i mnogim različitim mutacijama kod multifokalne bolesti. Sveobuhvatnom genomskom analizom otkriveno je da se najčešće žarišne delecije događaju na tumor supresorskim genima CDKN2A, RB1, NCOR1 i PTEN, a najčešće žarišne amplifikacije na poznatim onkogenima, kao što su: E2F3, PPARG, CCND1, MYC i MDM2 te genima koji prije nisu bili povezani sa rakom mokraćnog mjehura: YWHAZ, NECTIN4 (PVRL4), BCL2L1 i ZNF703 (Netto i sur., ured., 2022).

U skladu s etiologijom raka mokraćnog mjehura tj. induciranjem istog kancerogenima, velika je stopa somatskih mutacija. Kod dvije trećine mišćinoinvazivnih tumora mokraćnog mjehura identificirana je APOBEC mutagenaza, u kojoj su aktivni citidin deaminaza enzimi (primarno odgovorni u dijelu urođenog imunskog odgovora). Također su prisutne i mutacije na ERCC2, genu za DNA helikazu koja igra središnju ulogu u mehanizmu popravka oštećene DNA izrezivanjem nukleotida. Mnoge rekurentne somatske mutacije, otkrivene kod urotelnih karcinoma, nalaze se na genima odgovornima za veći broj funkcija u stanici; regulaciju staničnog ciklusa (TP53, CDKN2A, RB1,...), modifikaciju kromatina (KMT2A, KMT2C, KDM6A,...), RAS signalne puteve (FGFR3, KRAS, HRAS,...) i ostale funkcije. Najzastupljenije mutacije kod urotelnih karcinoma su mutacije na TERT promotorskoj regiji. Stvaraju se nova vezna mjesta za ETS porodicu transkripcijskih faktora što dovodi do pojačane ekspresije i aktivnosti telomeraza. Ove mutacije omogućuju rast tumora i veću sposobnost preživljavanja. Mogu se naći u svim stadijima i gradusima te morfološkim podtipovima urotelnog karcinoma (Netto i sur., ured., 2022).

Poznavanje mutacija ima kliničku važnost. Mutacije na ERCC2 i ostalim genima zaduženima za popravak oštećene DNA povezane su s odgovorom na terapiju cisplatinom (i u određenoj mjeri s odgovorom na liječenje inhibicijom kontrolnih točaka i na radioterapiju). Zbog te spoznaje navedene mutacije se istražuju kao potencijalni biomarker za odabir protokola liječenja (npr. odabir neoadjuvantne kemoterapije temeljene na cisplatinu i odabir liječenja s namjerom očuvanja mokraćnog mjehura). Ciljano djelovanje na promjene FGFR3 nedavno je ispitano na pacijentima sa uznapredovalim i metastatskim urotelnim karcinomom i dovelo do novih anti- FGFR lijekova. Mutacije na TERT promotoru vidljive su već u ranim stadijima bolesti te kod tumora niskog

gradusa. Uz to, navedene mutacije mogu se detektirati u uzorku urina. Mutacije na TERT promotoru se, iz navedenih razloga, razmatraju kao potencijalni biomarker za neinvazivno otkrivanje urotelnih tumora (Netto i sur., ured., 2022).

## **1.6. HISTOLOŠKI IZGLED**

Određivanje histološke vrste urotelnog karcinoma je važno budući da se pojedine vrste povezuju s lošim ishodom i utječu na odabir liječenja. Ipak, za mnoge histološke vrste još uvijek nije poznato kako su povezane s ishodom bolesti (Alderson i sur., 2020). Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) u određenim vremenskim rasponima objavljuje nove tj. ažurirane klasifikacije podvrsta urotelnog karcinoma, koje se većinom temelje na morfološkim obilježjima patoloških dijelova obojenih hematoksilinom i eozinom (Lobo i sur., 2019). Peto izdanje Klasifikacije tumora mokraćnog sustava i muških spolnih organa objavljeno je 2022. godine (Compérat i sur., 2022). Osnovna podjela urotelnih karcinoma je na neinvazivne (nemišićnoinvazivne) i infiltrativne (mišićnoinvazivne) (Humphrey i sur., 2016).

### **1.6.1. Histološki izgled nemišićnoinvazivnih urotelnih karcinoma**

Svjetska zdravstvena organizacija, prema klasifikaciji iz 2022. godine nemišićnoinvazivne urotelne tumore histološki dijeli na:

- urotelni karcinom *in situ*
- neinvazivni papilarni urotelni karcinom niskoga gradusa
- neinvazivni papilarni urotelni karcinom visokoga gradusa
- papilarnu urotelnu neoplazmu slabog malignog potencijala (PUNLMP)
- urotelni papilom
- invertirani urotelni papilom

Neinvazivne papilarne maligne tumore WHO dijeli u tri skupine: papilarna urotelna neoplazma slabog malignog potencijala (PUNLMP), neinvazivni papilarni urotelni karcinom niskoga gradusa i neinvazivni papilarni urotelni karcinom visokoga gradusa (pTa). Papilarne urotelne neoplazme slabog malignog potencijala (PUNLMP) imaju niži stupanj recidiva i progresije od neinvazivnih papilarnih urotelnih karcinoma (pTa). Prema uputi WHO-a treba ih se smatrati tumorima iznimno niskog rizika i ne upotrebljavati naziv karcinoma (Compérat i sur., 2022). Podjelu urotelnih

karcinoma na one niskoga gradusa i one visokoga gradusa uspostavile su Svjetska zdravstvena organizacija i Međunarodna udruga uroloških patologa (ISUP). Navedena podjela temelji se na stupnju diferencijacije tumora, odnosno stupnju stanične anaplazije i arhitekturne abnormalnosti. Ovisno o tome je li nemišićnoinvazivni tumor visokog ili niskog gradusa značajno se razlikuje procjena rizika. Tumori niskoga gradusa rijetko se razvijaju u agresivniji fenotip, dok su tumori visokog gradusa agresivniji ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). Heterogeni tumori, tj. karcinomi sa komponentama niskoga gradusa i komponentama visokoga gradusa, vrlo su zastupljeni (5-40%, ovisno o izvoru). Takvi tumori će se smatrati tumorima visokog gradusa ukoliko je više od 5% lezija visokog gradusa. Karcinom *in situ* je, prema definiciji, visokoga gradusa (Compérat i sur., 2022). Urotelna displazija je također ravna lezija, kod koje je citološka i arhitektonska abnormalnost značajna (preneoplastičnost), ali nedovoljna da bi se svrstalo ovaj tumor u urotelni karcinom *in situ* (Humphrey i sur., 2016). Navedeni pojam WHO zadržava u uporabi isključivo kao potencijalni prekursor karcinoma *in situ*. Urotelni papilom i invertirani urotelni papilom su benigni tumori. Sukladno tome, ne određuje se njihov stadij ni gradus (Compérat i sur., 2022).

### **1.6.2. Histološki izgled mišićnoinvazivnih urotelnih karcinoma**

Mišićnoinvazivni urotelni karcinomi prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji klasificirani su kao:

- urotelni karcinomi sa divergentnom diferencijacijom
  - sa pločastom diferencijacijom
  - sa žlijezdanom diferencijacijom
  - sa neuroendokrinom diferencijacijom
  - sa trofoblastičnom diferencijacijom
- *nested* (gnjezdasti) urotelni karcinom
- mikrocistični urotelni karcinom
- mikropapilarni urotelni karcinom
- urotelni karcinom nalik limfoepiteliomu
- plazmocitoidni urotelni karcinom / vrčastih stanica / difuzni
- sarkomatoidni urotelni karcinom
- urotelni karcinom gigantskih stanica
- slabo diferenciran urotelni karcinom
- urotelni karcinom bogat lipidima

- svijetlostanični urotelni karcinom
- tumor porijekla müllerovog epitela

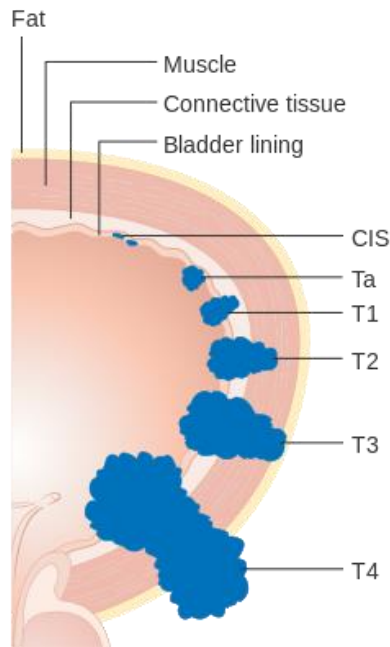
Kod karcinoma sa divergentnom diferencijacijom pomiješana su histološka obilježja; uz neki udio uobičajene vrste urotelnog karcinoma prisutne su i druge morfologije. Karcinomi sa divergentnom diferencijacijom su česti i prisutni su u 33% uzoraka cistektomije. Povezuju se sa visokim gradusom i lokalno uznapredovalom bolesti kod univarijatne analize. Kod multivarijatne analize povezanost nije značajna (Humphrey i sur., 2016).

## **1.7. ODREĐIVANJE STADIJA**

Procjena uznapredovalosti bolesti iznimno je važna zbog ispravnog izbora terapije za pacijenta i što točnije prognoze ishoda (Vrdoljak i sur., 2018). Određivanje stadija urotelnog karcinoma vrši se prema trenutno važećoj TNM klasifikaciji iz 2017. godine, iz 8. verzije priručnika za stupnjevanje Američkog zajedničkog odbora za rak (AJCC). Urotelnom karcinomu se pridodaje stadij Ois, Oa, I, II, III (A, A, B), IV (A, A, B) ovisno o primarnom tumoru (T), metastazama u regionalnim limfnim čvorovima (N) i udaljenim metastazama (M) (Jazvić i sur., 2019).

Poznavanje dubine invazije primarnog tumora u zid mokraćnog mjehura je iznimno važno jer omogućuje predviđanje tijeka bolesti. Kod pacijenata gdje je bolest još uvijek ograničena na mokraćni mjehur dubina invazije primarnog tumora je najvažnija prognostička informacija koja određuje rizik za recidiv i progresiju ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). Na Slici 3. prikazani su slojevi zida mokraćnog mjehura i vrste urotelnih karcinoma ovisno o dubini zahvaćenosti stijenke.





Slika 3. Slojevi zida mokraćnog mjehura i položaj Ta, CIS, T1-T4 karcinoma. (Cancer Research UK/ Wikimedia commons, [Creative Commons — Attribution-ShareAlike 4.0 International — CC BY-SA 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/), pristupljeno 26.7.2022.)

Sukladno TNM- klasifikaciji iz 2017. godine prema primarnom tumoru RMM može biti:

- TX – primarni tumor ne može se procijeniti
- T0 – nema dokaza o postojanju primarnog tumora
- Ta – neinvazivni papilarni karcinom
- Tis – karcinom *in situ* („ravni tumor“)
- T1 – tumor invadira subepitelno vezivno tkivo (*lamina propria*)
- T2 – tumor invadira mišićni sloj (*muscularis propria*)
  - pT2a – tumor invadira superficialnu muskularis propriju- unutarnju polovicu
  - PT2b – tumor invadira duboki dio muskularis proprije- vanjsku polovicu
- T3 – tumor se širi u perivezikalno tkivo
  - pT3a - mikroskopski
  - pT3b – makroskopski (ekstravezikalna masa)
- T4 – tumor invadira bilo koju od slijedećih struktura: stromu prostate, sjemenske mjehuriće, maternicu, vaginu, zdjeličnu ili trbušnu stijenku
  - T4a – tumor invadira stromu prostate, sjemenske mjehuriće, maternicu ili vaginu
  - T4b – tumor invadira zdjeličnu ili trbušnu stijenku

U nemišićnoinvazivne karcinome spadaju Ta- neinvazivni papilarni karcinom, Tis (CIS)- karcinom in situ i T1- karcinom koji invadira laminu propriju/ subepitelno vezivno tkivo. Tis karcinomu pridružuje se Ois stadij, Ta karcinomu Oa stadij, a T1 karcinomu I. stadij (Jazvić i sur., 2019).

T2 karcinom je mišićnoinvazivan, T3 invadira i perivezikalno masno tkivo, a T4 i susjedne organe ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). T2 karcinom spada u II. stadij, a T3 i T4 u III. stadij (Jazvić i sur., 2019).

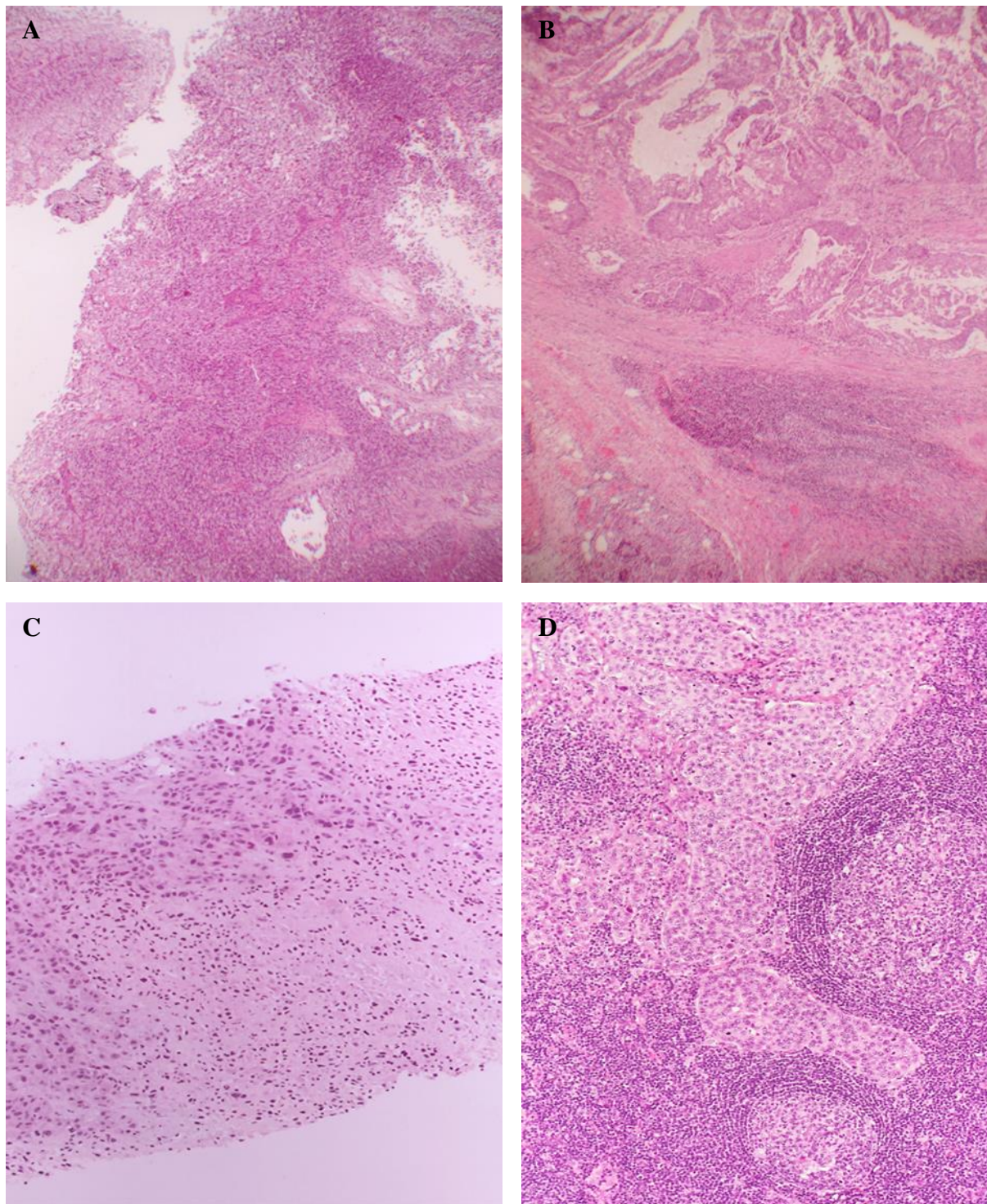
Kada je invadiran mišićni sloj, veća je vjerojatnost da će se pojaviti metastaze u regionalnim limfnim čvorovima i udaljene metastaze ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). Prema potencijalnim metastazama u regionalnim limfnim čvorovima RMM se prema TNM klasifikaciji iz 2017. godine svrstava u:

- NX – regionalni limfni čvorovi ne daju se procijeniti
- N0 – nema metastaza u regionalne limfne čvorove
- N1 – metastaza u jednome limfnom čvoru zdjelice (hipogastrični, opturatorni, vanjski ilijakalni ili presakralni)
- N2 – metastaza u više od jednoga regionalnog limfnog čvora (hipogastrični, opturatorni, vanjski ilijakalni ili presakralni)
- N3 – metastaza u limfnom čvoru ili limfnim čvorovima uza zajedničku ilijakalnu arteriju

Prema udaljenim metastazama RMM može biti:

- M0 – nema udaljenih metastaza
- M1 – udaljene metastaze
  - M1a – metastaze u neregionalnim limfnim čvorovima
  - M1b – ostale udaljene metastaze

Ukoliko su tumorom zahvaćeni regionalni limfni čvorovi ili postoje udaljene metastaze bolest je uznapredovala. T1-4a tumori kod kojih postoje metastaze u regionalne limfne čvorove (N1, N2, N3) spadaju u III. stadij. T4b tumori kod kojih postoje metastaze u regionalne limfne čvorove, a nema udaljenih metastaza svrstavaju se u IV. stadij. U IV. stadij također se svrstavaju bilo koji T tumori kod kojih postoje metastaze u regionalne limfne čvorove i udaljene metastaze (Jazvić i sur., 2019). Na Slici 4. su prikazani bioptički uzorci urotelnog karcinoma različitih lokalizacija i proširenosti.



Slika 4. Urotelni karcinomi (UC) različitih lokalizacija. Mišićno invazivni UC mokraćnog mjehura (A); Invazivni UC uretera (B); UC u core biopsiji tumorskog infiltrata tkiva zdjelice (C); Metastaza UC u limfni čvor (D). (mikrofotografije iz baze Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC Zagreb)

## 1.8. PROGNOZA UROTELNOG KARCINOMA

Presudan čimbenik u predviđanju ishoda urotelog karcinoma i odabiru liječenja pacijenata je stadij tumora, koji se razmatra u kontekstu većeg broja kliničkih i patoloških obilježja tumora. Već spomenuti gradus tumora također je važan prognostički čimbenik kod urotelnih karcinoma. Papilarni karcinomi niskoga gradusa često recidiviraju, ali rijetko progrediraju, dok se papilarni karcinomi visokoga gradusa i karcinomi *in situ* smatraju pretečom mišićnoinvazivnog karcinoma mokraćnog mjehura. Mišićnoinvazivni urotelni karcinomi većinski su visokog gradusa (Netto i sur., 2022).

Nemišićnoinvazivni rak mokraćnog mjehura (Ta-T1) može se svrstati u kategoriju niskog, srednjeg ili visokog rizika. Pri tome se u obzir uzimaju slijedeće kliničke i patološke značajke tumora: gradus tumora, dubina invazije (da li je zahvaćena lamina propria), veličina tumora, postojanje recidiva, multifokalnost tumora ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)) i histološka vrsta tumora. Europsko (EAU) i Američko urološko udruženje (AUA) donose relativno slične smjernice za stupnjevanje rizika (Jazvić i sur., 2019).

Urotelni karcinomi *in situ* (CIS) u 50% slučajeva progrediraju u mišićnoinvazivni karcinom ukoliko se ne liječe. Dodatni nepovoljni čimbenici su multifokalni CIS, CIS u prostatičkoj uretri i izostanak odgovora na intravezikalnu terapiju (Netto i sur., ured., 2022).

Na ishod kod mišićnoinvazivnog raka mokraćnog mjehura (T2-T4) utječe stadij, prisutnost agresivnih histoloških podtipova (posebice mikropapilarnog, plazmocitoidnog i sarkomatoidnog podtipa), status čvorova, zahvaćenost limfnih žila, odgovor na neoadjuvantnu terapiju i vremenski period u kojem je izvršena operacija (Netto i sur., ured., 2022).

Neovisno o zahvaćenosti limfnih čvorova, provođenje disekcije limfnih čvorova pri cistektomiji je povezano sa većom stopom preživljavanja. Veći broj pozitivnih limfnih čvorova, gustoća čvorova i vankapsularna širenja tumora imaju negativan utjecaj na preživljavanje. Zahvaćenost prostora limfnih žila tumorom kada nema metastaza u limfnim čvorovima pri cistektomiji, također ukazuje na lošiji ishod kod urotelnog karcinoma (Netto i sur., ured., 2022).

Imunosni odgovor pacijenata na tumor utječe na ishod mnogih vrsta tumora. Prisutnost povećanog broja imunskih stanica u uzorku nakon transuretralne resekcije (u okolišu tumora nalaze se T stanice, supresorske stanice mijeloidnog podrijetla, s tumorima povezani makrofagi, citokini i razni

kemokini) povezana je sa boljim ishodom nakon intravezikalne terapije, kao i nakon cistektomije. Ukoliko je kod tumora prisutna velika ekspresija PD-L1, terapija inhibitorima imunskih kontrolnih točaka smanjuje vjerojatnost progresije i povećava stopu preživljavanja (Netto i sur., ured., 2022).

## **1.9. METODE ANALIZE UROTELNOG KARCINOMA**

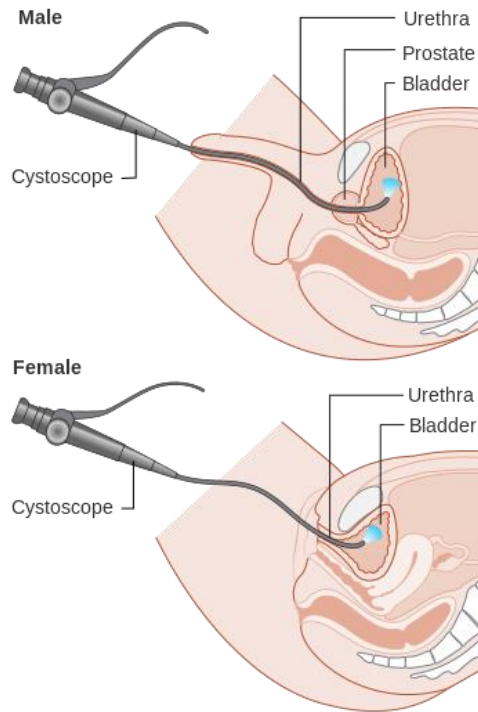
### **1.9.1. Simptomi urotelnog karcinoma**

Kod 90% pacijenata sa rakom mokraćnog mjehura prisutna je hematurija, koja može biti mikroskopska ili makroskopska (Vrdoljak i sur., 2018). Osim toga, mogu biti zastupljeni i simptomi nadražaja i urinarne opstrukcije: učestalo mokrenje, urgencija (neodgodiva potreba za mokrenjem), disurija (bolno mokrenje) i nokturija (noćno mokrenje) ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). Hidronefroza, opstipacija, limfedem i palpabilna masa u maloj zdjelici su znakovi lokalnog širenja karcinoma. Najčešće metastaze urotelnog karcinoma su trbušni limfni čvorovi, jetra, pluća i kosti. Kod uznapredovale bolesti simptomi su vezani uz sjelo metastaze (Vrdoljak i sur., 2018).

### **1.9.2. Postavljanje dijagnoze urotelnog karcinoma**

Pri postavljanju dijagnoze raka mokraćnog mjehura u obzir se uzima anamneza i klinički pregled, kompletna krvna slika, biokemijske pretrage krvi i sedimenta urina uz citologiju urina i ultrazvuk urotakta. Konačna dijagnoza postavlja se nakon cistoskopije sa transuretralnom resekcijom tumora mokraćnog mjehura (Jazvić i sur., 2019).

Pomoću cistoskopije se otkriva makroskopski izgled tumora; veličina, ishodište, broj lezija, konfiguracija lezija i abnormalnost sluznice (Jazvić i sur., 2019). Kod cistoskopije se vrši i biopsija ili transuretralna resekcija tumora koje omogućavaju postavljanje histopatološke dijagnoze i početno ispitivanje dubine invazije tumora (u mukoza- prijelazni epitel, submukoza- subepitelno vezivno tkivo i mišić) ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). Patohistološki nalaz nakon transuretralne resekcije, uz histološku vrstu tumora i dubinu invazije, sadrži i podatke o stupnju zloćudnosti, prisutnosti mišićnog sloja (detruzora) i prisutnosti CIS-a. Budući da transuretralna resekcija tumora ima i dijagnostičku i terapijsku ulogu, ukoliko je ona neadekvatno izvršena, nedovoljno je zahvaćen mišićni sloj ili je izostavljena komponenta CIS-a, dolazi do ranog povrata bolesti i neodgovarajućeg stupnjevanja (Jazvić i sur., 2019). Na Slici 5. je prikazan postupak cistoskopije kod muškaraca i kod žena.



Slika 5. Postupak cistoskopije kod muškaraca i kod žena. (Cancer Research UK/ Wikimedia Commons, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>, pristupljeno 29.7.2022.)

Citološki pregled sedimenta urina također je od iznimne važnosti jer omogućuje da se otkriju tumori koji nisu uvijek vidljivi kod cistoskopije (karcinom *in situ* (Jazvić i sur., 2019.)) te tumori gornjeg dijela mokraćnog sustava (mokračovoda, bubrežne nakapnice) ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). Ukoliko citološki nalaz ukazuje na postojanje tumora, a cistoskopski nalaz ne, pristupa se CT urografiji i nasumičnoj biopsiji mokraćnog mjehura. Slikovna obrada gornjeg dijela mokraćnog sustava je poželjna kod multiplih tumora, visokorizičnih tumora i nalaza tumora blizu trigonuma (Jazvić i sur., 2019). Vršiti se pomoću računalne tomografije (CT), magnetske rezonancije (MR) ili retrogradne uretropijelografije za vrijeme transuretralne resekcije. Time se isključuje nastanak drugog primarnog tumora, čak i kod pacijenata sa dijagnosticiranim urotelnim karcinomom mokraćnog mjehura ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). Na slici 6. nalazi se urotelni karcinom mokraćnog mjehura prikazan CT-om.



Slika 6. Urotelni karcinom mokraćnog mjehura. (James Heilman, MD, [Creative Commons — Attribution-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) — CC BY-SA 4.0, pristupljeno: 28.07.2022.)

### 1.9.3. Određivanje proširenosti tumora kod mišićnoinvazivnog urotelnog karcinoma

Kod dijagnosticiranog mišićnoinvazivnog urotelnog karcinoma proširenost tumora tj. eventualno postojanje metastaza određuje se slikovnom dijagnostikom koja se provodi u zdjelici, abdomenu i prsištu. Računalna tomografija (CT) i magnetska rezonancija (MR) smatraju se jednako učinkovitima u dijagnosticiranju lokalne proširenosti tumora i udaljenih metastaza u abdomenu. Za dijagnosticiranje metastaza u plućima koristi se računalna tomografija (CT). Pregled i određivanje stadija tumora u gornjem dijelu mokraćnog sustava vrši se CT urografijom, dok se ureteroskopija i biopsija provode jedino pri procjeni da će nalazi utjecati na odluku o liječenju. Kod pacijenata kod kojih je CT urografija kontraindicirana zbog primjene kontrasta ili razine zračenja, provodi se magnetska rezonancija (MR) ([www.medscape.com](http://www.medscape.com)). Kod pacijenata sa bolovima u kostima ili povišenom razinom alkalne fosfataze provodi se i scintigrafija kosti (Jazvić i sur., 2019).

## 1.10. LIJEČENJE UROTELNOG KARCINOMA

### 1.10.1. Liječenje nemišićnoinvazivnog urotelnog karcinoma mokraćnog mjehura

Kao što je već spomenuto, kod oko 70% pacijenata rak mokraćnog mjehura dijagnosticira se u nemišićnoinvazivnom stadiju (Vrdoljak i sur., 2018). Ovisno o kategoriji u koju se nemišićnoinvazivni rak svrstao (niski, srednji ili visoki rizik) procjenjuje se vjerojatnost recidiva i progresije bolesti te odlučuje o procesu liječenja (Jazvić i sur., 2019). Osnova liječenja je transuretralna resekcija tumora (TUR). Adjuvantno se intravezikalno aplicira kemoterapija ili imunoterapija, čime se postiže manji broj recidiva i produljuje preživljavanje bez znakova bolesti, u odnosu na pacijente kod kojih je izvršena samo TUR (Vrdoljak i sur., 2018). Kemoterapija (mitomicin i gemcitabin) se aplicira 24 sata nakon TUR-e. Pokazalo se da smanjuje povrat bolesti kod niskorizičnih pacijenata (Jazvić i sur., 2019). U adjuvantnoj intravezikalnoj imunoterapiji koristi se živa atenuirana BCG (Bacillus Calmette Guerin) bakterija izvedena iz *Mycobacterium bovis* ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)), čime se sprječava recidiv kod pacijenata sa srednjim i visokim rizikom. Kod takvih pacijenata preporučuje se i intravezikalna terapija održavanja sa BCG-om, kod koje se BCG aplicira propisanom shemom u periodu od godinu dana (kod srednjeg rizika od povrata bolesti) ili tri godine (kod visokog rizika od povrata bolesti).

Radikalnu cistektomiju na početku liječenja nemišićnoinvazivnog karcinoma razmatra se samo kod visokog rizika od progresije bolesti:

- tumor T1 trećeg/visokog gradusa, uz nalaz CIS-a na sluznici mjehura
- multifokalni tumori
- tumor T1 trećeg/visokog gradusa koji je velik ili rekurentan
- tumor T1 trećeg/visokog gradusa, uz nalaz CIS-a u prostatičkoj uretri
- prisutnost histoloških varijanata
- limfovaskularna invazija.

Kod tumora koji nisu reagirali na provedeno liječenje TUR-om i intravezikalnom terapijom BCG-om također se provodi radikalna cistektomija (Jazvić i sur., 2019).

### 1.10.2. Liječenje mišićnoinvazivnog urotelnog karcinoma mokraćnog mjehura

Već je spomenuto kako su mišićnoinvazivni tumori gotovo uvijek visokog gradusa (Humphrey i sur., 2016). Osnova liječenja (zlatni standard) je radikalna cistektomija s proširenom



limfadenektomijom i potom urinarnom derivacijom. Prije ovog zahvata, kod pacijenata koji mogu primiti cisplatinu, daje se neoadjuvantna kemoterapija (NKT) temeljena na cisplatinu. Navedeno se vrši prema protokolu DDMVAC, koji podrazumijeva primjenu metotreksata, vinblastina, doksorubicina i cisplatine velike gustoće doze (engl. dose dense) u 3-4 ciklusa, uz potporu faktorima stimulacije rasta granulocita. Ukoliko protokol DDMVAC nije prikladan za pacijenta, primjenjuje se protokol GC, kod kojeg se primjenjuju gemcitabin i cisplatina u 4 ciklusa. Karboplatina se ne preporučuje kao zamjena za cisplatinu pri neoadjuvantnom liječenju. Kod muškaraca zahvat radikalne cistektomije obuhvaća uklanjanje mokraćnog mjehura, prostate, sjemenskih mjehurića, proksimalnog vas deferensa i proksimalne uretre. Kod žena se vrši uklanjanje mokraćnog mjehura, maternice, jajnika, jajovoda, uretre i dijela rodnice. Uklanjanje regionalnih limfnih čvorova, koje se vrši pri cistektomiji, doprinosi većoj stopi preživljavanja. Nakon cistektomije, kod određenih pacijenata, preporuča se provesti adjuvantno liječenje koje podrazumijeva kemoterapiju, radioterapiju ili kombinaciju i jednog i drugog oblika liječenja. Adjuvantna kemoterapija, bazirana na cisplatinu, se provodi kod visokorizičnih tumora (pT3, pT4 i pN0-2) koji nisu primili NKT, i to prema protokolu DDMVAC, GC ili CMV (cisplatina, metotreksat, vinblastin), u 3-4 ciklusa. Adjuvantna radioterapija se provodi kod bolesnika s visokim rizikom od lokalnog povrata bolesti (primarno- pozitivni resekcijski rubovi i visokorizični tumori). Ako pacijenti nisu liječeni NKT- om, radioterapija se uklapa između ciklusa adjuvantne kemoterapije (Jazvić i sur., 2019).

Neki bolesnici se liječe s namjerom očuvanja mokraćnog mjehura jer nisu spremni za kirurško liječenje ili žele izbjeći ovakav radikalan zahvat. Takvoj odluci pridonose slijedeće značajke tumora:

- mali tumori ( $\leq 5$ cm), bez komponente CIS-a
- kompletna TUR vidljivog tumora
- tumor T2-T4a, N1, M0
- odsutnost hidronefroze
- odsutnost limfadenopatije.

U tom slučaju provodi se transuretralna resekcija mokraćnog mjehura praćena sa radioterapijom, kemoterapijom ili kombinacijom radioterapije i kemoterapije. Primjenjuje se sama cisplatina, kombinacija cisplatine sa 5- fluorouracilom ili paklitaxelom, kombinacija 5-fluorouracila i

mitomicina. Ako se na evaluaciji nakon 2- 3 mjeseca otkrije Ta, T1 i CIS karcinome, može se primijeniti intravezikalna terapija, no ako je prisutan mišićnoinvazivni karcinom potrebno je provesti cistektomiju spašavanja (Jazvić i sur., 2019).

### **1.10.3. Liječenje proširenog raka mokraćnog mjehura (metastatske bolesti)**

Kod 4-6% pacijenata rak mokraćnog mjehura dijagnosticira se kad je bolest već proširena. Uz to, kod 50% pacijenata kod kojih je provedena cistektomija, doći će do povrata bolesti. U liječenju metastatske bolesti koristi se kemoterapija i imunoterapija.

Terapija se započinje kemoterapijom temeljenom na cisplatinu, pri čemu se odabire protokol GC (gemcitabin i cisplatin) ili protokol DDMVAC (dose- dense metotreksat, vinblastin, doksorubicin (adriamicin), cisplatin). Protokolu GC moguće je dodati paklitaksel, kod odabranih pacijenata. Nakon 2-3 ciklusa kemoterapije provodi se evaluacija i pri pozitivnom odgovoru nastavlja liječenje- do 6 ciklusa kemoterapije ukupno.

Polovica pacijenata u prvoj liniji liječenja proširene bolesti nije u mogućnosti primiti cisplatinu iz različitih razloga; loša bubrežna funkcija, loše opće stanje, srčano zatajenje, oštećenje sluha, periferna neuropatija. U tim slučajevima, u prvoj liniji liječenja će se koristiti drugačija kemoterapija- kombinacija karboplatine i gemcitabina. Kod određenih pacijenata može se primijeniti i samo gemcitabin ili kombinacija gemcitabina i paklitaksela.

Imunoterapija atezolizumabom se može primijeniti u prvoj liniji liječenja ukoliko pacijent ne može primiti cisplatinu i ukoliko više od 5% tumorske površine čine upalne stanice koje su PD-L1 pozitivne. Pacijent se može liječiti pembrolizumabom kada se ne može liječiti cisplatinom i kada je PD-L1 CPS (Combined positive Score) jednak ili veći od 10 . Imunoterapiju mogu dobiti pacijenti u prvoj liniji liječenja bez obzira na udio PD-L1 pozitivnih stanica ukoliko ne mogu dobiti niti jednu kemoterapiju temeljenu na platini.

U drugoj liniji liječenja, pacijent koji je u prvoj liniji liječen cisplatinom, primiti će pembrolizumab, atezolizumab ili nivolumab, neovisno o izraženosti PD-L1. Radiološka kontrola se provodi svakih 3 mjeseca te se liječenje nastavlja ukoliko ne dođe do progresije bolesti ili neprihvatljive nuspojave lijeka. Ukoliko je u prvoj liniji pacijent primao imunoterapiju u drugoj liniji se liječi kemoterapijom po protokolu GC ili DDMVAC, a ako ne može primiti cisplatinu liječi se karboplatinom i gemcitabinom. Osim o vrsti terapije koja je korištena u prvoj liniji liječenja, druga linija liječenja

ovisi o općem stanju pacijenta i laboratorijskim nalazima. Kod određenih pacijenata može se primijeniti i monoterapija gemcitabinom, docetakselom i paklitakselom (Jazvić i sur., 2019).

#### **1.10.4. Liječenje urotelnih karcinoma gornjeg dijela mokraćnog sustava**

Osnova liječenja je nefroureterektomija. Kod manjih i površinskih lezija dolazi u obzir lokalna ekscizija. Uznapredovala bolest liječi se kemoterapijom temeljenom na cispladini (Vrdoljak i sur., 2018).

### **1.11. PRIMJENA IMUNOTERAPIJE U LIJEČENJU UROTELNIH KARCINOMA**

Kao što je prethodno spomenuto, uz kirurško liječenje, kemoterapiju i radioterapiju, u liječenju urotelnih karcinoma primjenjuju se i različite vrste imunoterapije. Princip djelovanja imunoterapije je modificiranje ili povećanje obrambenih mehanizama protiv raka, pomoću imunskog sustava pacijenta (Wołącewicz i sur., 2020).

#### **1.11.1. Bacillus Calmette Guerin (BCG)**

Iako mehanizam djelovanja nije u potpunosti objašnjen, poznato je da BCG terapija izaziva upalnu reakciju koja uključuje različite vrste imunskih stanica koje ubijaju stanice raka direktnim citotoksičnim djelovanjem ili sekrecijom toksičnih spojeva, a neke stanice raka direktno ubija BCG (Wołącewicz i sur., 2020). BCG potiče rad slezene, pojačava funkciju makrofaga u slezeni i aktivira NK stanice (stanice prirodni ubojice). BCG lokalno, u mokraćnom mjehuru, aktivira imunski sustav na što ukazuje porast makrofaga, granulocita i T limfocita. Dolazi i do porasta razine citokina: IL-1, IL-2, IL-6 i TNF- $\alpha$  ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Kod velikog broja pacijenata prisutan je pozitivan odgovor na BCG terapiju; 55-65% pacijenata sa visokorizičnim papilarnim tumorom i 70-75% pacijenata sa karcinomom- *in situ*. Ipak, kod 40% pacijenata doći će do recidiva iako je početno ostvaren uspjeh BCG-om. Kod 25-45% pacijenata uporaba BCG- a ne ostvaruje nikakav uspjeh (Wołącewicz i sur., 2020).

#### **1.11.2. Inhibitori PD-1/ PD-L1 imunosne kontrolne točke**

PD-1 i PD-L1 inhibitori spadaju u inhibitore imunosnih kontrolnih točaka. Receptor programirane stanične smrti- 1 (PD-1) je eksprimiran na površini aktiviranih T i B limfocita i makrofaga, a ligand (receptora) programirane stanične smrti- 1 (PD-L1) je jako eksprimiran na antigen prezentirajućim stanicama. Vezanje liganda PD-L1 za receptor PD-1 blokira aktivaciju T stanica, što potiče

toleranciju na vlastito tj. sprječava imunosti sustav da neselektivno napada stanice organizma (Wołacewicz i sur., 2020). Ekspresija liganda PD-L1 na tumorskim stanicama i/ili imunostimulirajućim stanicama koje infiltriraju tumor je adaptivni odgovor tumora pomoću kojeg tumor izbjegava prepoznavanje i uništenje od strane imunostimulirajućeg sustava. Vežanjem liganda PD-L1 na receptore PD-1 i CD80 (B7.1) blokira se funkcija T stanica; potiskuje se aktivnost i proliferacija citotoksičnih T stanica te proizvodnja citokina ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Inhibicijom PD-1 i PD-L1 sprječava se inhibicija aktivacije T stanica koja bi spriječila imunosti sustav u napadanju stanica raka koje ekspresiraju PD-L1. Poništavanjem aktivnosti ove kontrolne točke dolazi do aktivacije T stanica. PD-1 inhibitori su pembrolizumab i nivolumab. PD-L1 inhibitori su atezolizumab, avelumab i durvalumab (Wołacewicz i sur., 2020).

### **1.11.3. Atezolizumab**

Atezolizumab je humanizirano monoklonsko protutijelo (IgG1) na ligand receptora programirane stanične smrti-1 (PD-L1). Mehanizam djelovanja atezolizumaba je dvojnja blokada receptora PD-1 i B7.1 zbog izravnog vežanja na njihov ligand PD-L1. Prekida se inhibicija imunostimulirajućeg odgovora posredovana kompleksom PD-L1/ PD-1, što znači da dolazi do reaktivacije imunostimulirajućeg odgovora na tumor. Nema utjecaja na interakciju liganda PD-L2 i receptora PD-1, zbog čega se inhibicijski signali posredovani tim putem i dalje prenose ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Indiciran je kao monoterapija za liječenje lokalno uznapredovalog i metastatskog urotelnog karcinoma. U prvoj liniji liječenja mogu ga primiti pacijenti za koje je procijenjeno da se ne smiju liječiti cisplatinom i čiji tumor pokazuje razinu ekspresije PD-L1 jednaku ili veću od 5%. U drugoj liniji liječenja primaju ga pacijenti koji su prethodno primili kemoterapiju koja je sadržavala platinu, neovisno o PD-L1 statusu. Osim za liječenje urotelnog karcinoma indiciran je i za liječenje raka pluća nemalih stanica, raka pluća malih stanica, trostruko negativnog raka dojke i hepatocelularnog karcinoma ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Atezolizumab se primjenjuje intravenski. Po farmaceutskom obliku lijek Tecentriq je koncentrat za otopinu za infuziju te dolazi u dozi od 840 mg atezolizumaba (u 14 mL koncentrata) i 1200 mg atezolizumaba (u 20 mL koncentrata). Preporučena doza lijeka Tecentriq je 840 mg primijenjenih svaka dva tjedna ili 1200 mg primijenjenih svaka tri tjedna ili 1680 mg primijenjenih svaka četiri tjedna ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Svaka tri mjeseca potrebno je provesti kliničku i dijagnostičku obradu nakon koje se liječenje nastavlja, do najdulje 24 mjeseca, samo ako se utvrdi kompletna ili

djelomična remisija bolesti ili pak stabilna bolest. Liječenje se prekida ukoliko dođe do progresije bolesti za vrijeme liječenja ili nepodnošljive toksičnosti lijeka ([www.hzzo.hr](http://www.hzzo.hr)).

S obzirom da se atezolizumabom (kao i drugim PD-1/PD-L1 inhibitorima) inhibira imunosnu kontrolnu točku, koja za ulogu ima spriječiti prekomjernu aktivaciju imunosnog sustava, mogu se pojaviti nuspojave koje su posljedica autoimunog djelovanja. Imunološki uzrokovane nuspojave zabilježene kod atezolizumaba su: pneumonitis, hepatitis, kolitis, hipotireoza i hipertireoza, osip i teške kožne nuspojave (SJS i TEN), pankreatitis, miokarditis, nefritis, miozitis i druge. Potrebno je isključiti druge uzroke te procijeniti težinu nuspojave. Imunološki uzrokovane nuspojave uzrokovane atezolizumabom većinom se povlače kad se imunoterapija privremeno prekine i uvedu se kortikosteroidi i/ili potporna skrb. Kod imunološki uzrokovanih nuspojava većeg stupnja liječenje se mora trajno prekinuti ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

Inhibitori imunosnih kontrolnih točaka u posljednjem su desetljeću uvelike promijenili pristup liječenju urotelnog karcinoma. Atezolizumab je jedan od inhibitora PD-1/PD-L1 imunosne kontrolne točke koji se koristi za liječenje lokalno uznapredovalog i metastatskog urotelnog karcinoma. Cilj ovog diplomskog rada je ispitati učestalost PD-L1 pozitivnih urotelnih karcinoma u ovisnosti o primarnom sijelu te koliko je navedeni nalaz utjecao na primjenu atezolizumaba. Osim ovih podataka, za ispitivanu skupinu će se prikazati zastupljenost pacijenata s obzirom na dob i spol te lokalizaciju i stadij urotelnog karcinoma. Iznijet će se podaci o zastupljenosti svih ostalih vrsta terapije urotelnog karcinoma u prvoj liniji liječenja te razmotriti primjena atezolizumaba i ostalih inhibitora PD-1/ PD-L1 imunosne kontrolne točke u kasnijim linijama liječenja.

### 3. MATERIJALI I METODE

U ovom su radu analizirani pacijenti s urotelnim karcinomom kojima je na Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KBC-a Zagreb učinjena dodatna imunohistokemijska analiza na PD-L1 te određen PD-L1 status tumora. Patohistološki podaci dobiveni su iz baze podataka Kliničkog zavoda za patologiju KBC-a Zagreb, a iz bolničkog informatičkog sustava dobiveni su podaci o kliničkoj manifestaciji i stadiju bolesti, primijenjenoj terapiji i tijeku liječenja. U rad su uključeni pacijenti kojima je određen PD-L1 status u razdoblju od ožujka 2019. do kolovoza 2022. Klinički podaci o primijenjenoj terapiji i ishodima liječenja skupljeni su do 25.09.2022.

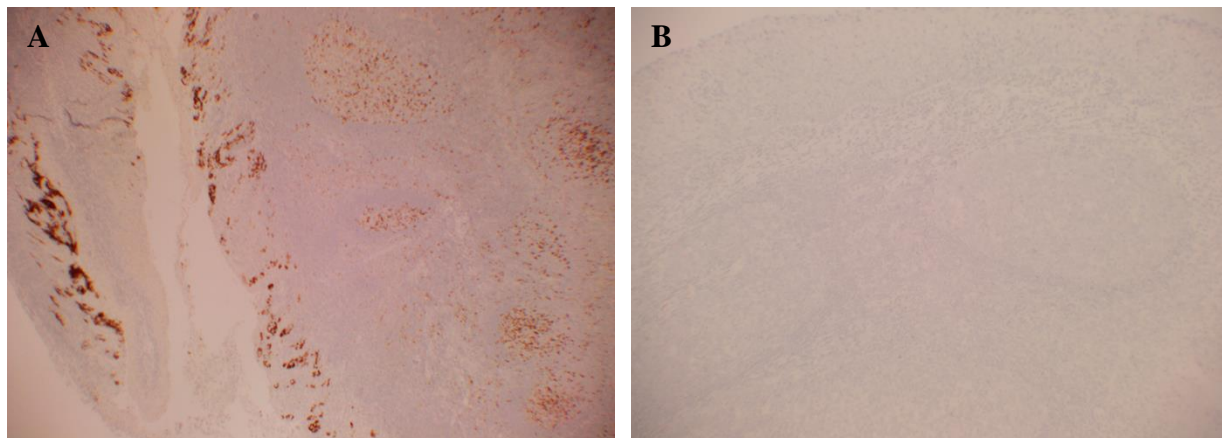
Bolesnici su podijeljeni po spolu te u dobne skupine 30-39 godina; 40-49 godina; 50-59 godina; 60-69 godina; 70-79 godina i 80-89 godina. Pacijenti su dodatno podijeljeni u skupine prema lokalizaciji tumora i stadiju bolesti. Analizirani uzorci uključivali su biopsije dobivene transuretralnom resekcijom tumora mokraćnog mjehura, uzorke cistoprostatektomije te cistektomije s histerektomijom, sa i bez regionalne limfadenektomije, uzorke resekcije uretera i nefroureterektomije te metastatske tumore. Ovisno o dubini invazije te eventualnom širenju u okolna tkiva i organe, tumori su podijeljeni na lokalizirane, lokalno uznapredovale ili metastatske.

Za analizu je korišten materijal fiksiran u formalinu koji je rutinski procesuiran te uklopljen u parafin. Da bi se materijal smatrao adekvatnim za određivanje PD-L1 statusa, morao je sadržavati minimalno 100 tumorskih stanica sa okolnom stromom i peritumorskim i intratumorskim upalnim infiltratom. Nakon preliminarnog pregleda i potvrde adekvatnosti materijala za dodatno testiranje, reprezentativan parafinski blok je dodatno izrezan te je učinjen preparat obojen rutinski hematoksilinom i eozinom (HE preparat). Na silanizirana stakalca su izrezani preparati za dodatnu IHC analizu. U analizi je korišteno anti-PD-L1 protutijelo tvrtke Ventana, klon SP142, a postupak obrade se provodio na automatiziranoj Ventana Benchmark platformi. Na ista silanizirana stakalca s uzorkom tumora je stavljen i uzorak tkiva nepčane tonzile koji je služio kao pozitivna kontrola reakcije. Drugo izrezano stakalce je inkubirano i obrađeno bez primarnog protutijela te je služilo kao negativna kontrola. Tipični izgled uzorka za analizu (HE stakalce), testirani uzorak i uzorak obrađen bez primarnog protutijela prikazani su na Slici 7.



Slika 7. Reprezentativno HE stakalce s uzorkom tumora te stakalca obrađena imunohistokemijski sa i bez primarnog protutijela. (fotografija preparata iz baze Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC Zagreb)

U pozitivnoj kontroli nepčane tonzile (Slika 8A) očekuje se pozitivna reakcija kriptalnog epitela te u dijelu podležućeg limfatičnog tkiva. U negativnoj kontroli bez primarnog protutijela (Slika 8B), reakcija mora biti negativna. Ukoliko se u pozitivnoj kontroli ne dobije adekvatna pozitivna reakcija, ili se u negativnoj kontroli dobije nespecifični pozitivitet, reakcija nije adekvatna te se postupak mora ponoviti (Eckstein i sur., 2019).



Slika 8. Nepčana tonzila kao pozitivna kontrola reakcije na PD-L1 (A) i negativna kontrola obrađena bez primarnog protutijela (B). (mikrofotografije iz baze Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC Zagreb)



Određivanje PD-L1 statusa protutijelom SP142 (Ventana) temelji se na određivanju postotka pozitivnih imunskih stanica (engl. immune cells - IC) u tumoru i peritumorskoj stromi, dok se u postotak ne uključuju same tumorske stanice koje također mogu biti pozitivne. Za analizu treba izbjegavati područja s opsežnom nekrozom jer ona značajno otežava interpretaciju. Reakcija se smatra pozitivnom (PD-L1 status pozitivan) ukoliko se dobije pozitivitet upalnih stanica na 5% i više analizirane tumorske površine (IC jednako i više od 5%). Za tumore bez nađenog pozitiviteta upalnih stanica ili je on niži od 5%, radi se o PD-L1 negativnom tumoru. Ovaj tip određivanja PD-L1 statusa (analiza pozitiviteta imunskih stanica klonom SP142), koristi se isključivo za selekciju pacijenata kojima se u liječenju imunoterapijom daje atezolizumab, a ne može se koristiti kao mjerilo za eventualnu primjenu određenih drugih oblika imunoterapije (npr. pembrolizumab) (Eckstein i sur., 2019).

Nakon određenog PD-L1 statusa, pregledom kliničkih podataka utvrđeno je koliko je rezultat utjecao na dodatni postupak s pacijentom, tj. da li je pacijentu dana imunoterapija, bilo u prvoj ili kasnijim linijama. Također se opisala i eventualna primjena drugih oblika liječenja (kemoterapijski protokoli bez primjene imunoterapije). Za pacijente koji su nastavili onkološko liječenje u KBC-u Zagreb, praćen je ishod do 25.09.2022. Pacijenti su svrstani u kategorije: bez progresije i bez potrebe za dodatnom terapijom, stabilna bolest na ili nakon sistemske terapije, bolest u progresiji, pacijent izgubljen u fazi progresije, izgubljeni, smrtni ishod.

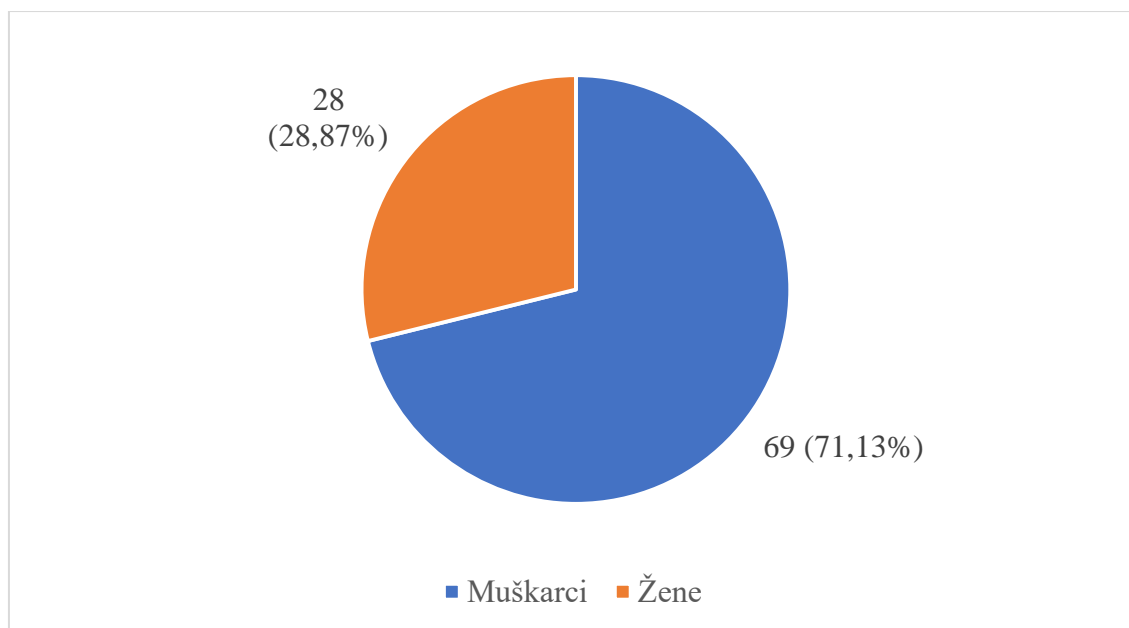
Učinjena je osnovna deskriptivna statistika te su rezultati prikazani u apsolutnom broju i postotku, numerički u tekstu te slikovno u obliku grafikona.

## 4. REZULTATI

Podaci izneseni u ovom radu se odnose na pacijente s urotelnim karcinomom kojima je u periodu od 15.3.2019. do 4.8.2022. učinjena imunohistokemijska analiza utvrđivanja PD-L1 statusa na Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KBC-a Zagreb. U rad su uključeni pacijenti za koje su bili poznati ključni podaci koje rad razmatra. Ukupni broj pacijenata uključenih u ovaj rad je 97, a podaci o liječenju poznati su za 90 pacijenata.

### 4.1. SPOL PACIJENATA

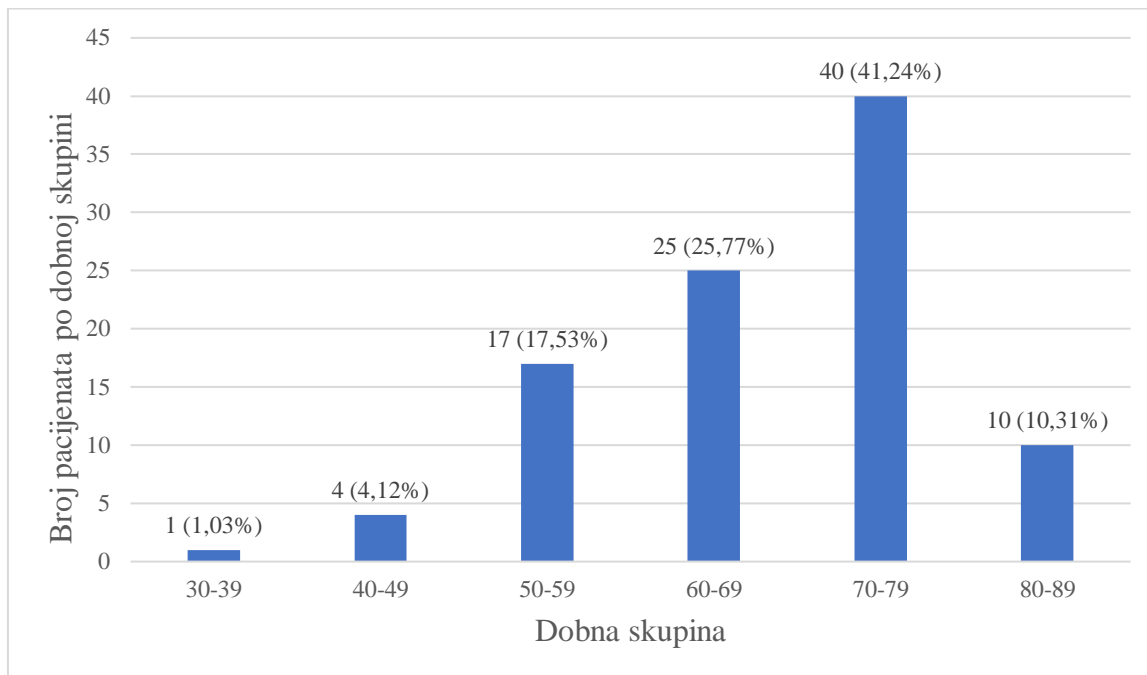
Među razmatranim pacijentima muškaraca je 69, odnosno 71,13% od ukupnog broja pacijenata (97). Broj ženskih pacijentica je 28, odnosno 28,87% od ukupnog broja pacijenata. Omjer broja muškaraca prema broju žena iznosi 2,46:1. Grafički prikaz zastupljenosti muškog i ženskog spola kod pacijenata daje Slika 9.



Slika 9. Podjela pacijenata prema spolu.

## 4.2. DOB PACIJENATA

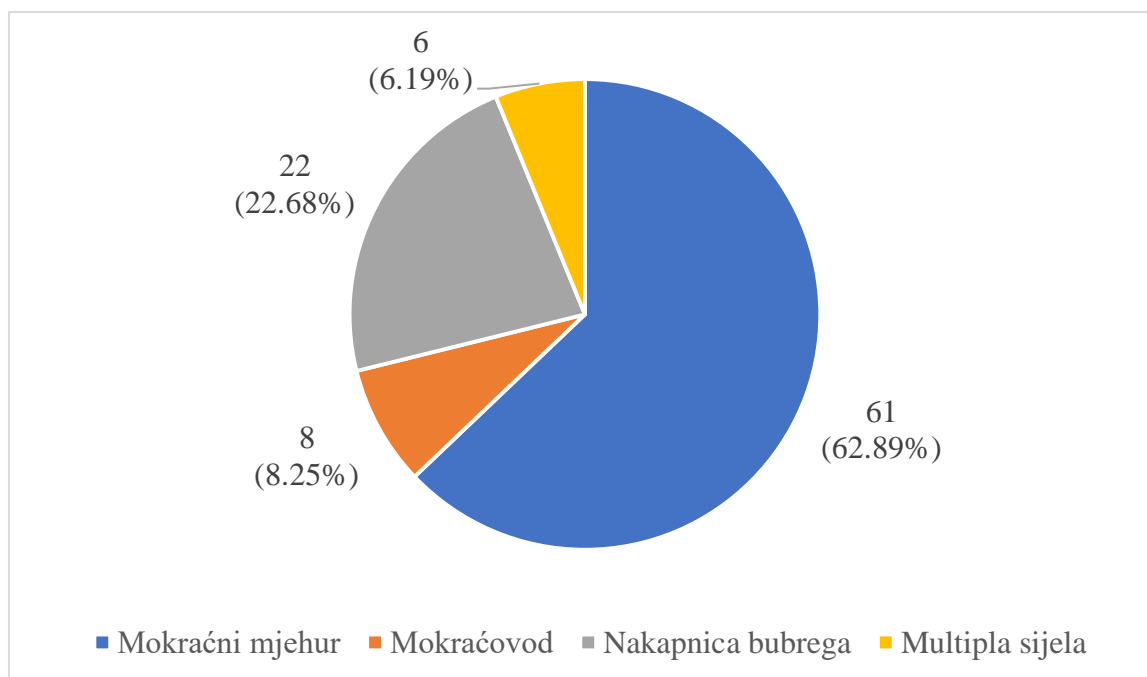
Najveći broj pacijenata, kojima je učinjena imunohistokemijska analiza utvrđivanja PD-L1 statusa, u vrijeme rađenja biopsije bio je dobi od 70 do 79 godina, čak 40 (41,24%) pacijenata. 25 (25,77%) pacijenata bilo je dobi od 60 do 69 godina, 17 (17,53%) dobi od 50 do 59 godina, a 10 (10,31%) pacijenata dobi od 80 do 89 godina. Tek su 4 (4,12%) pacijenta bila dobi od 40 do 49 godina, a samo 1 (1,03%) u dobi od 30 do 39 godina. 65 (67,01%) pacijenata bilo je starije od 65 godina, tj. spada u stariju životnu dob. Najmlađi pacijent imao je 38 godina, a najstariji je imao 85 godina. Aritmetička sredina dobi pacijenata iznosi 68,12 dok je medijan dobi 70 godina. Podjela pacijenata po dobnim skupinama grafički je prikazana na Slici 10.



Slika 10. Podjela pacijenata prema dobnim skupinama.

### 4.3. LOKALIZACIJA UROTELNOG KARCINOMA

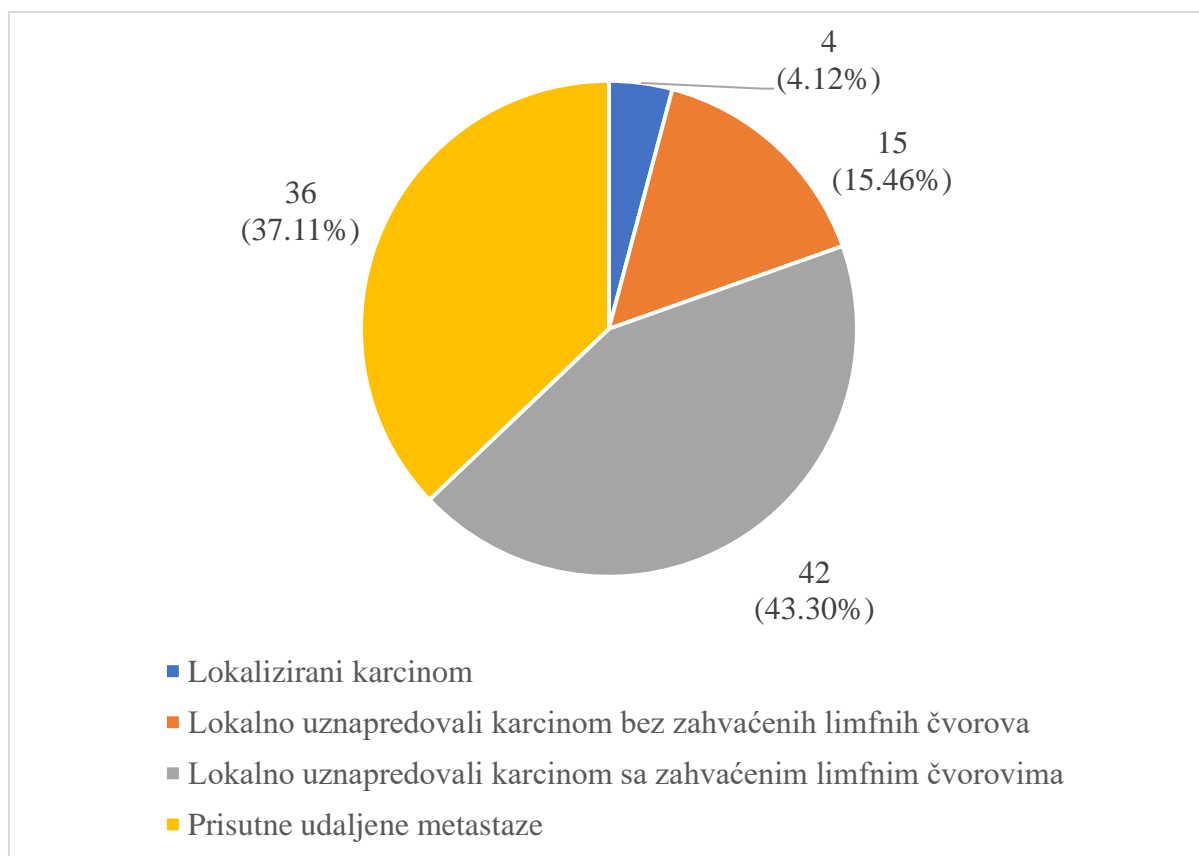
Urotelni karcinom najčešće je bio lokaliziran u mokraćnom mjehuru, kod 61 (62,89%) ispitanog pacijenta. Kod 22 (22,68%) pacijenta bio je lokaliziran u nakapnici bubrega. U ureteru je bio najrjeđe lokaliziran- kod 8 (8,25%) pacijenata. Multipla sijela bila su prisutna kod 6 (6,19%) pacijenata. Slika 11. grafički prikazuje zastupljenost pojedine lokalizacije urotelnog karcinoma među analiziranim pacijentima.



Slika 11. Podjela urotelnih karcinoma prema lokalizaciji.

#### 4.4. STADIJ UROTELNOG KARCINOMA

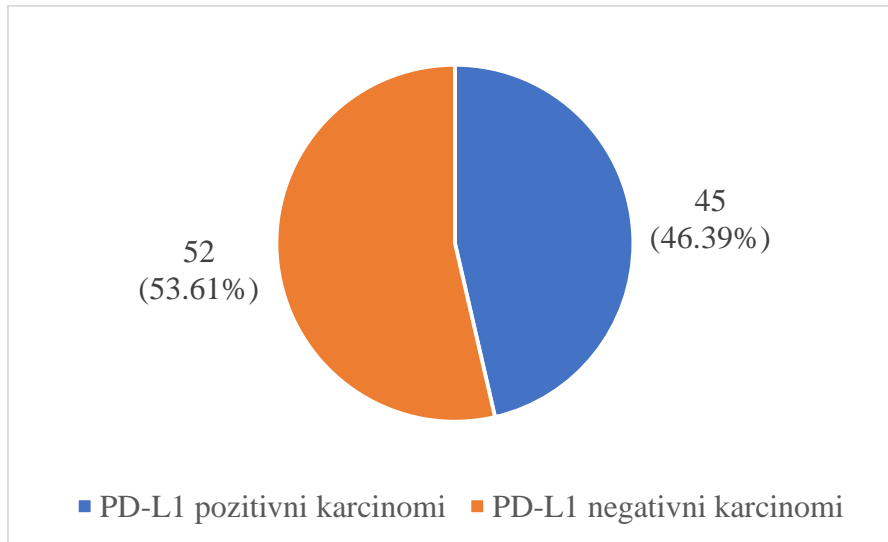
Bolest je bila lokalizirana tek kod 4 (4,12%) pacijenata. Lokalno uznapredovala bolest bez zahvaćenih limfnih čvorova bila je prisutna kod 15 (15,46%) pacijenata. Najveći broj pacijenata imao je lokalno uznapredovalu bolest sa zahvaćenim limfnim čvorovima- 42 (43,30%) pacijenta. Veliki broj pacijenata imao je udaljene metastaze- 36 (37,11%). Grafički prikaz zastupljenosti pojedinog stadija urotelnog karcinoma daje Slika 12.



Slika 12. Podjela urotelnih karcinoma prema stadiju.

#### 4.5. PD-L1 STATUS I OVISNOST PD-L1 STATUSA O LOKALIZACIJI KARCINOMA

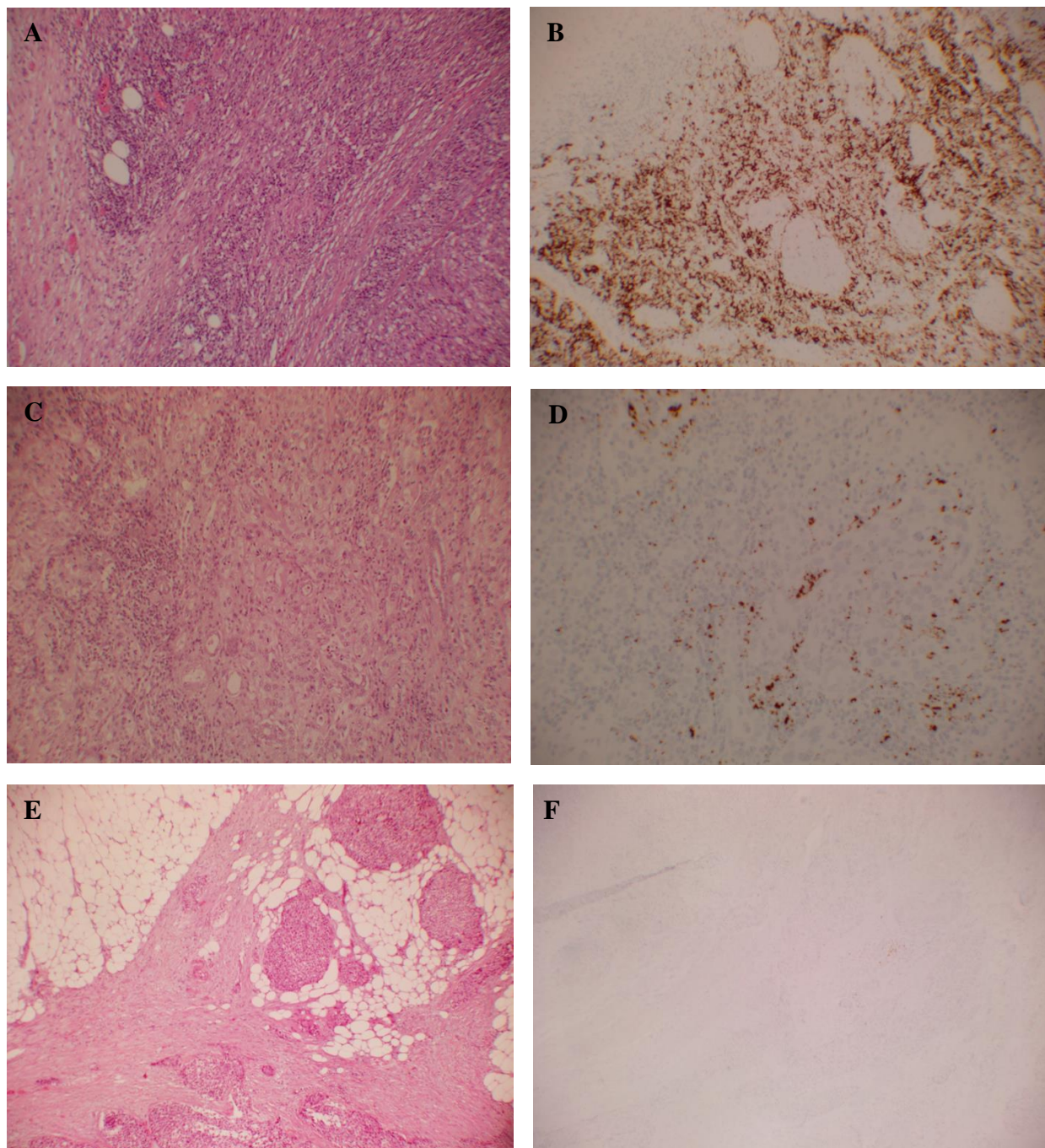
U analiziranoj skupini 45 (46,39%) pacijenata imalo je PD-L1 pozitivan urotelni karcinom (više od 5% pozitivnih imunih stanica u tumorskoj stromi), a 52 (53,61%) su imala PD-L1 negativan urotelni karcinom (manje od 5% pozitivnih imunih stanica u tumorskoj stromi). Slika 13. grafički prikazuje podjelu pacijenata prema PD-L1 statusu.



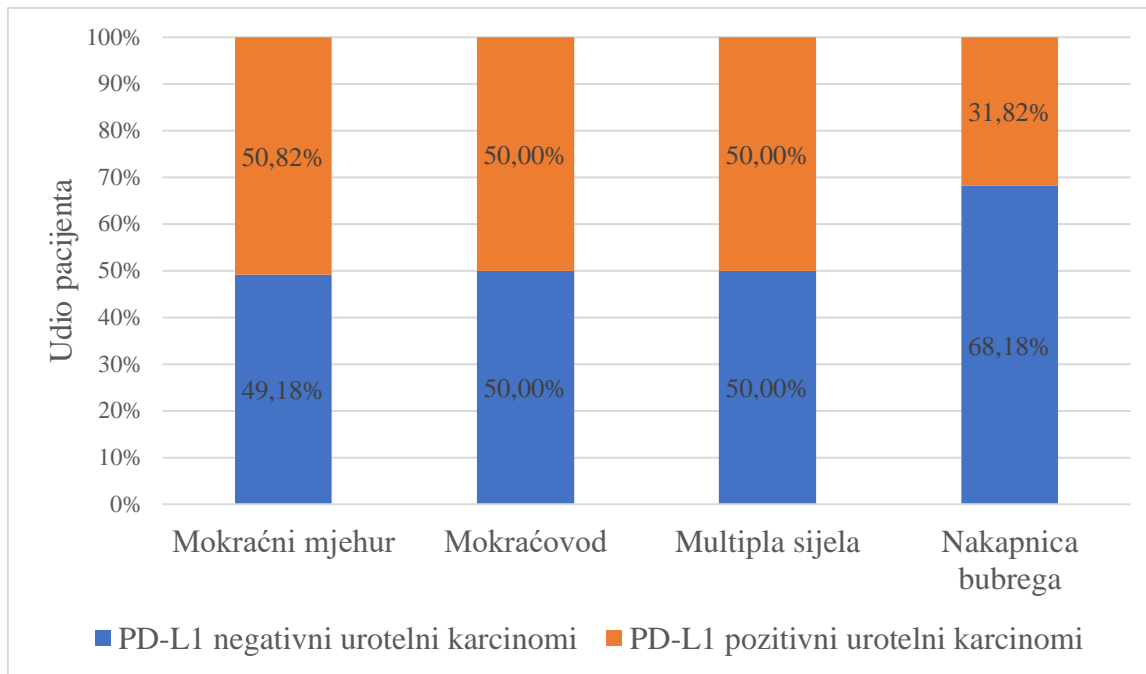
Slika 13. Podjela urotelnih karcinoma prema PD-L1 statusu.

Ukoliko se razmotri učestalost PD-L1 pozitivnih karcinoma u ovisnosti o primarnom sijelu, dolazi se do slijedećih podataka. Kod pacijenata s lokalizacijom urotelnog karcinoma u mokraćnom mjehuru (61 pacijent); 31 (50,82%) pacijent ima PD-L1 pozitivan urotelni karcinom, a 30 (49,18%) ima PD-L1 negativan urotelni karcinom. Kod 8 pacijenata s lokalizacijom urotelnog karcinoma u mokraćovodu, PD-L1 pozitivan i PD-L1 negativan urotelni karcinom imaju po 4 pacijenata (50% i 50%). Također je i kod 6 pacijenata sa multiplim sijelima nađen jednaki broj PD-L1 pozitivnih i negativnih karcinoma, po 3 u svakoj skupini. Od 22 pacijenta sa urotelnim karcinomom u nakapnici bubrega, njih 7 (31,82%) ima PD-L1 pozitivan urotelni karcinom, a 15 (68,18%) pacijenata ima PD-L1 negativan urotelni karcinom. Omjer pacijenata sa PD-L1 pozitivnim i PD-L1 negativnim karcinomom iznosi 1:2,14 za urotelni karcinom lokaliziran u bubregu. Primjeri pozitivne i

negativne reakcije su prikazani na Slici 14, dok zastupljenost PD-L1 pozitivnih karcinoma u ovisnosti o primarnom sijelu grafički prikazuje Slika 15.



Slika 14. Primjeri rezultata analize PD-L1 protutijelom. Mišićno invazivni UC mokraćnog mjehura (A) gdje se uz više od 5% IC vide i pozitivne tumorske stanice (B); Infiltrativni tumor pijelona (C) s više od 5% IC (D); Infiltrativni UC uretera (E) PD-L1 negativan (F). (mikrofotografije iz baze Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC Zagreb)



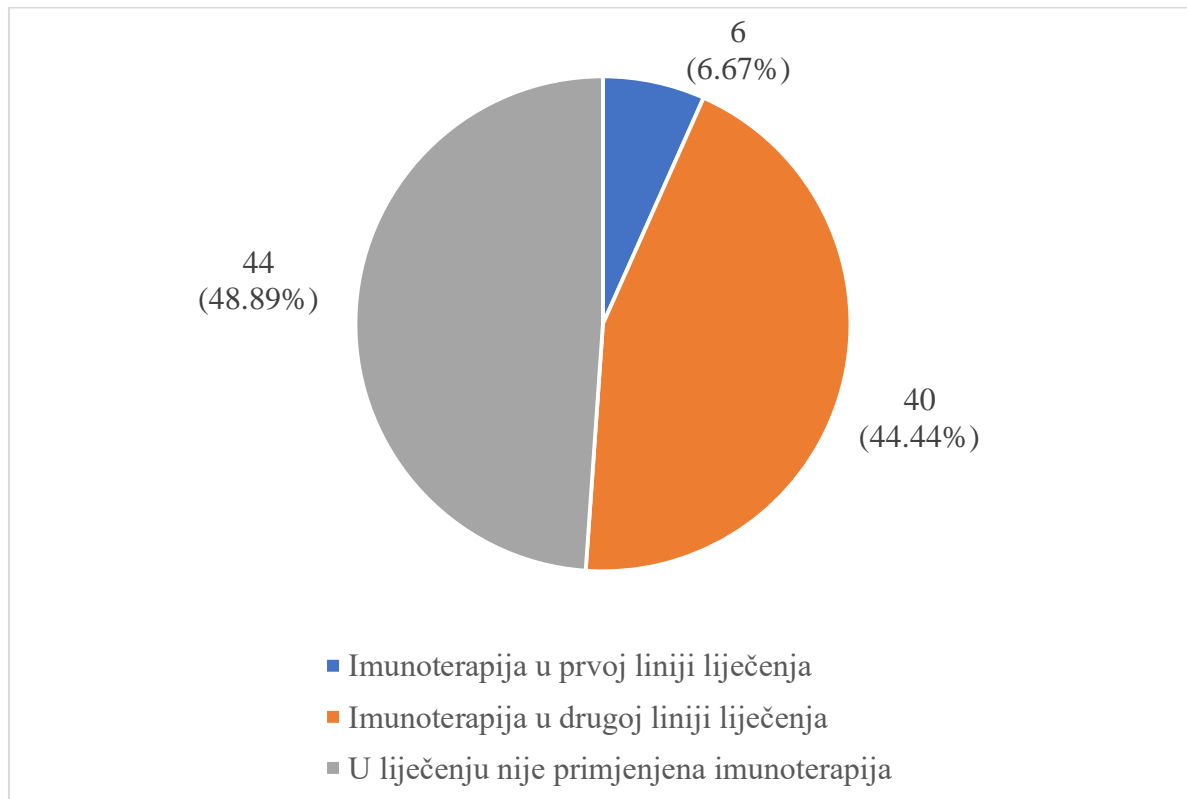
Slika 15. Udio PD-L1 pozitivnih karcinoma u ovisnosti o primarnom sjelju.



#### 4.6. PRIMJENA ATEZOLIZUMABA I OSTALIH VRSTA IMUNOTERAPIJE

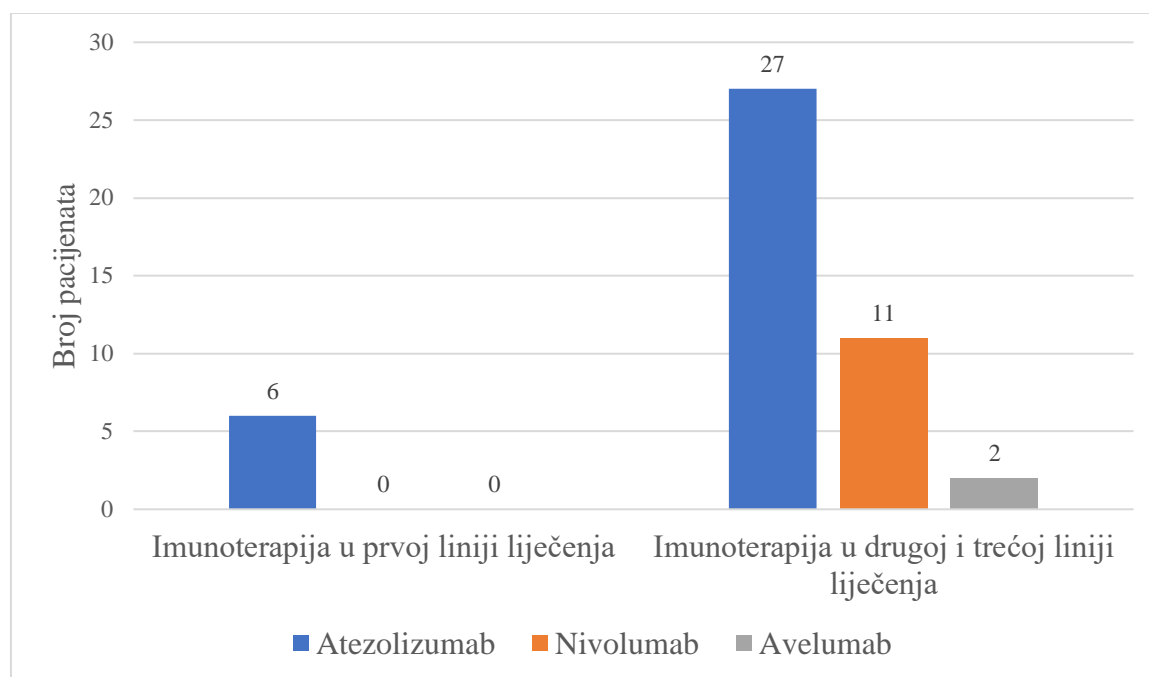
Kao što je već spomenuto, podaci o liječenju poznati su za 90 pacijenata. Razlog tome je što se kod 7 analiziranih pacijenata s određenim PD-L1 statusom, praćenje i eventualno dodatno liječenje nastavilo u drugim ustanovama.

U ukupnom broju pacijenata za koje su dostupni podaci o liječenju (90), njih 6 (6,67%) je dobilo imunoterapiju u prvoj liniji liječenja, a 40 (44,44%) pacijenata primilo je imunoterapiju u drugoj ili trećoj liniji liječenja. 44 pacijenta (48,89%) nisu primila imunoterapiju za vrijeme liječenja urotelnog karcinoma. Zastupljenost primjene imunoterapije u liječenju urotelnog karcinoma grafički prikazuje Slika 16. Iz navedenih podataka je vidljivo da je manji broj pacijenata nakon pozitivnog nalaza PD-L1 statusa u prvoj liniji liječen imunoterapijom (13,04% od ukupne primjene imunoterapije bilo je u prvoj liniji). Većina pacijenata imunoterapiju je primala u drugoj i trećoj liniji liječenja (86,96% od ukupne primjene imunoterapije bilo je kasnijim linijama liječenja).



Slika 16. Zastupljenost imunoterapije u liječenju urotelnog karcinoma.

Kod svih pacijenata koji su u prvoj liniji liječenja dobili imunoterapiju korišten je atezolizumab, a riječ je o 6 pacijenata. U kasnijim linijama liječenja imunoterapiju je primilo 40 pacijenata, među kojima je 27 pacijenata primilo atezolizumab, 11 pacijenata nivolumab, a 2 pacijenta primila su avelumab. Omjer uporabe atezolizumaba i nivolumaba u kasnijim linijama liječenja je 2,45:1. Slika 17. grafički prikazuje zastupljenost pojedine imunoterapije u prvoj i drugoj liniji liječenja urotelnog karcinoma.

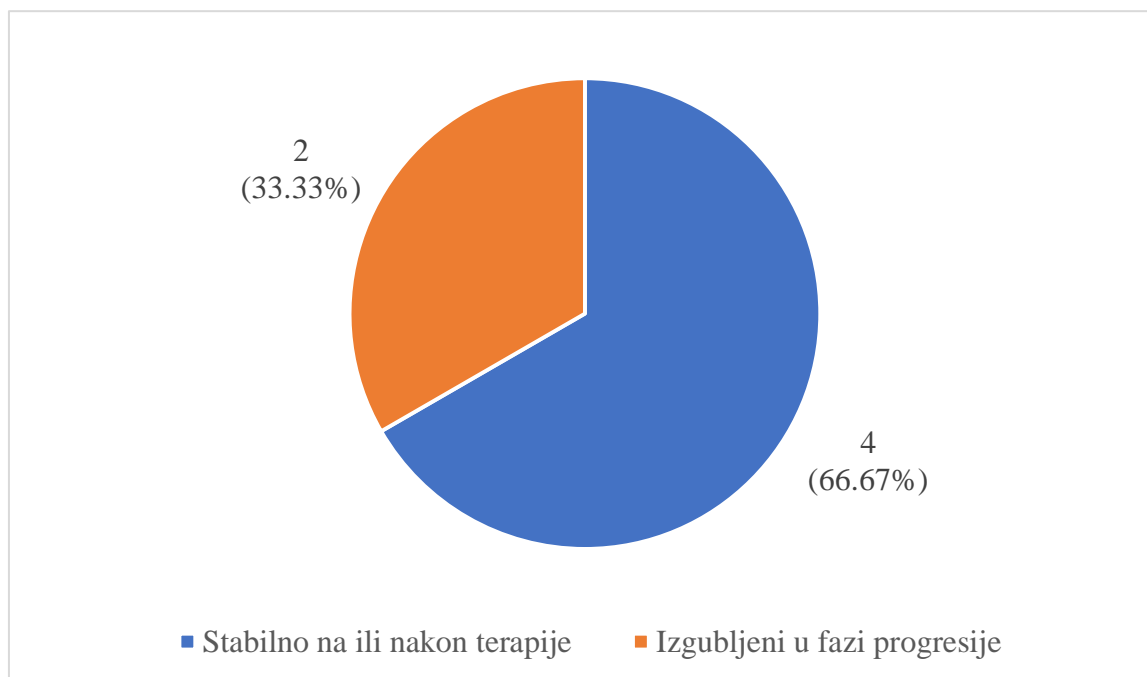


Slika 17. Vrsta imunoterapije primijenjena u prvoj te drugoj i trećoj liniji liječenja urotelnih karcinoma.

Svi pacijenti koji su u prvoj liniji liječenja primili atezolizumab (6) imali su PD-L1 pozitivan urotelni karcinom. U ukupnom broju pacijenata sa PD-L1 pozitivnim karcinomom (45) oni čine udio od 13,33%. 17 (37,78%) pacijenata sa PD-L1 pozitivnim urotelnim karcinomom primilo je atezolizumab u drugoj (14 pacijenata) ili trećoj (3 pacijenta) liniji liječenja. 2 (4,44%) pacijenta sa PD-L1 pozitivnim urotelnim karcinomom liječena su nivolumabom u drugoj liniji liječenja, a 1 (2,22%) pacijent je liječen avelumabom u drugoj liniji liječenja. 19 (42,22%) pacijenata sa PD-L1 pozitivnim karcinomom nije primilo imunoterapiju u liječenju urotelnog karcinoma.

#### 4.7. ISHODI KOD PACIJENATA LIJEČENIH ATEZOLIZUMABOM I OSTALIM VRSTAMA IMUNOTERAPIJE

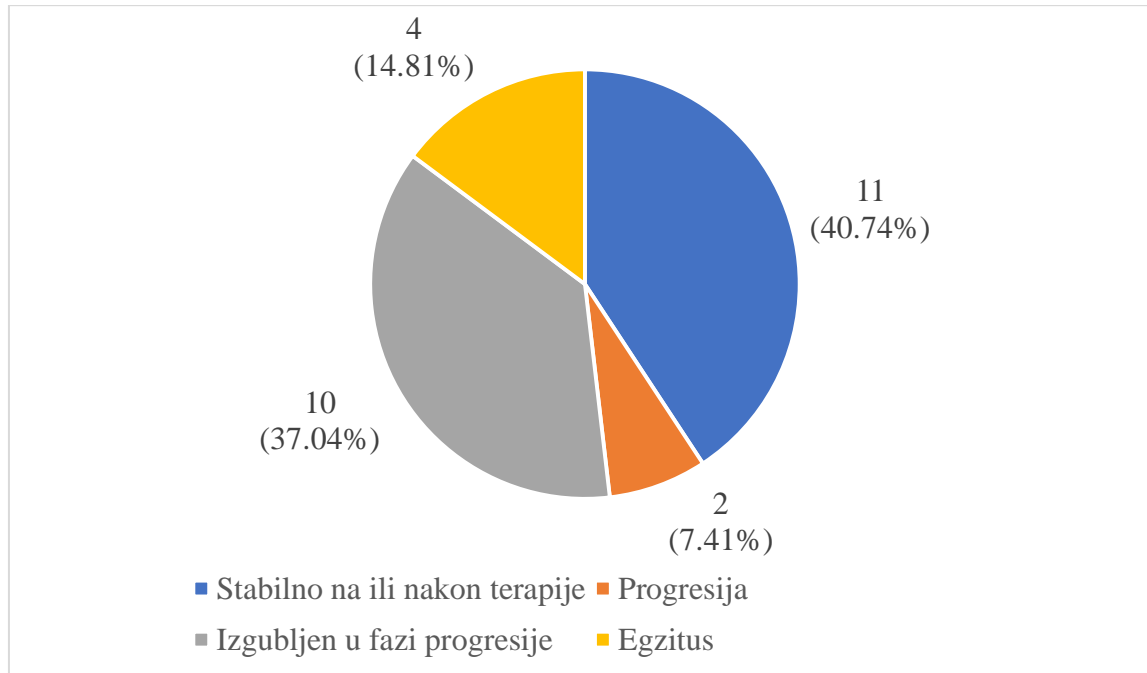
Od ukupnog broja pacijenata liječenih atezolizumabom u prvoj liniji liječenja (6 pacijenata), kod 4 (66,67%) pacijenata zabilježeno je da je stanje pacijenata stabilno na terapiji ili nakon terapije atezolizumabom, a 2 (33,33%) pacijenta izgubljena su u fazi progresije. Kao što je spomenuto, svih šestero pacijenata imalo je PD-L1 pozitivan urotelni karcinom. Ishodi liječenja pacijenata atezolizumabom u prvoj liniji liječenja prikazani su grafički na Slici 18.



Slika 18. Ishodi liječenja kod pacijenata liječenih atezolizumabom u prvoj liniji liječenja.

27 pacijenata primilo je atezolizumab u kasnijim linijama liječenja, 24 pacijenta u drugoj i 3 pacijenta u trećoj liniji. Kod 11 (40,74%) pacijenata liječenih atezolizumabom u drugoj liniji zabilježeno je stabilno stanje na ili nakon terapije. Kod 2 (7,41%) pacijenta zabilježena je progresija, 10 (37,04%) pacijenata izgubljeno je u fazi progresije, a kod 4 (14,81%) pacijenata zabilježen je egzitus. Među pacijentima liječenim atezolizumabom u drugoj ili trećoj liniji, 17 pacijenata imalo je PD-L1 pozitivan urotelni karcinom, a 10 pacijenata PD-L1 negativan karcinom.

Ishodi liječenja pacijenata atezolizumabom u drugoj liniji liječenja prikazani su grafički na Slici 19.



Slika 19. Prikaz ishoda liječenja kod pacijenata liječenih atezolizumabom u drugoj ili trećoj liniji liječenja.

Ishodi liječenja isključivo kod pacijenata sa PD-L1 pozitivnim urotelnim karcinomom koji su primili atezolizumab u drugoj ili trećoj liniji liječenja (17 pacijenata) bili su slijedeći: 9 (52,94%) pacijenata bilo je stabilno na ili nakon primljene terapije dok je kod 1 (5,88%) pacijenta zabilježena progresija, 6 (35,29%) pacijenata je izgubljeno u fazi progresije, a 1 (5,88%) pacijent je preminuo. Kod pacijenata sa PD-L1 negativnim karcinomom koji su primili atezolizumab u drugoj ili trećoj liniji liječenja (10 pacijenata) zabilježeni su slijedeći ishodi: 2 (20,00%) pacijenta su bila stabilno na ili nakon terapije, kod 1 (10,00%) pacijenta nastupila je progresija, 4 (40,00%) pacijenata izgubljeno je u fazi progresije, a kod 3 (30,00%) pacijenta zabilježen je smrtni ishod. Usporedbu zastupljenosti pojedinih ishoda, ovisno o PD-L1 statusu urotelnog karcinoma, kod pacijenata liječenih atezolizumabom u drugoj ili trećoj liniji daje tablica 1.

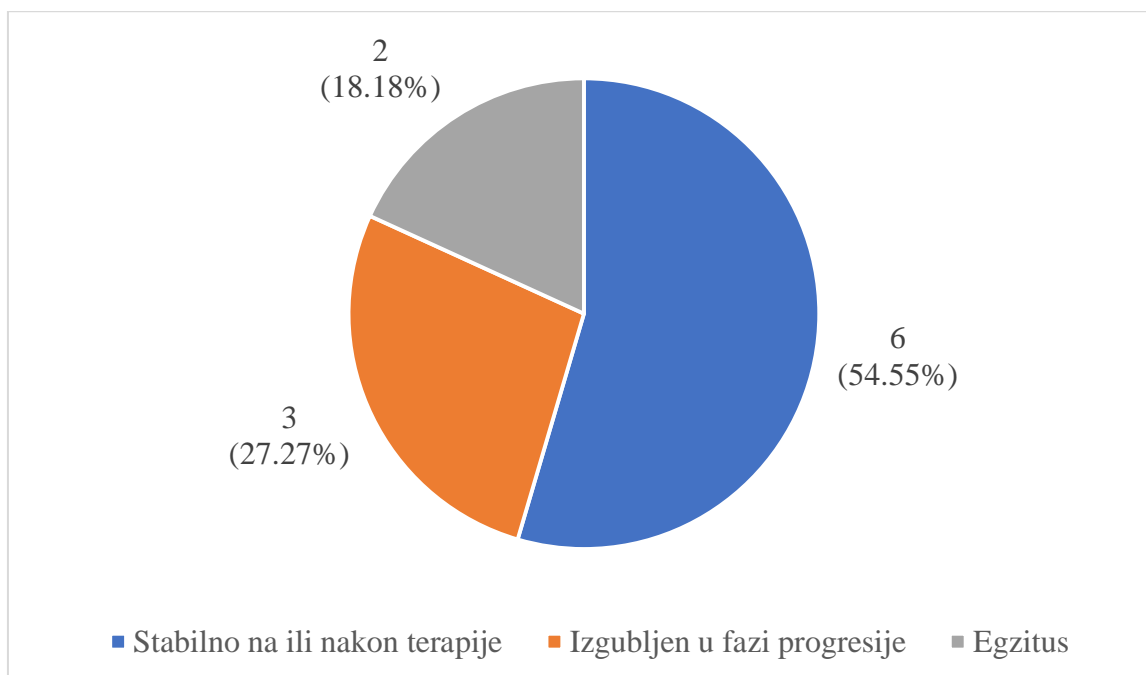
Tablica 1. Ishodi kod urotelnih karcinoma različitog PD-L1 statusa, kod pacijenata liječenih atezolizumabom u drugoj ili trećoj liniji liječenja

|                                | <b>PD-L1 status</b>   |                            |                       |
|--------------------------------|---|----------------------------|-----------------------|
|                                | PD-L1 pozitivan UC<br>n=17  | PD-L1 negativan UC<br>n=10 | Svi pacijenti<br>n=27 |
| <b>Ishod UC</b>                | <b>Broj i udio pacijenata s pojedinim ishodom u navedenoj skupini</b> |                            |                       |
| Stabilno na ili nakon terapije | 9 (52,94%)  | 2 (20,00%)                 | 11 (40,74%)           |
| Progresija                     | 1 (5,88%)   | 1 (10,00%)                 | 2 (7,41%)             |
| Izgubljen u fazi progresije    | 6 (35,29%)  | 4 (40,00%)                 | 10 (37,04%)           |
| Egzitus                        | 1 (5,88%)   | 3 (30,00%)                 | 4 (14,81%)            |

Kao što je već spomenuto, ukupno je 40 pacijenata liječeno imunoterapijom u drugoj ili trećoj liniji liječenja; 27 pacijenata je primilo atezolizumab, 11 pacijenata primilo je nivolumab, a 2 pacijenta su primila avelumab. Kod 1 pacijenta koji je primio avelumab zabilježeno je da je pacijent stabilno na ili nakon terapije, a kod 1 pacijenta zabilježena je progresija. Među pacijentima koji su primili nivolumab u drugoj liniji liječenja: 6 (54,55%) pacijenata bilo je stabilno na ili nakon terapije, 3 (27,27%) pacijenta je izgubljeno u fazi progresije, a za 2 (18,18%) pacijenta je zabilježen smrtni ishod (egzitus). Pacijenti liječeni nivolumabom većinom su imali PD-L1 negativan urotelni karcinom prema određivanju protutijelom Ventana SP142 (9 pacijenata), a tek 2 pacijenta imala su PD-L1 pozitivan urotelni karcinom. Grafički prikaz ishoda liječenja pacijenata avelumabom i nivolumabom u kasnijim linijama liječenja daju Slika 20. i Slika 21.



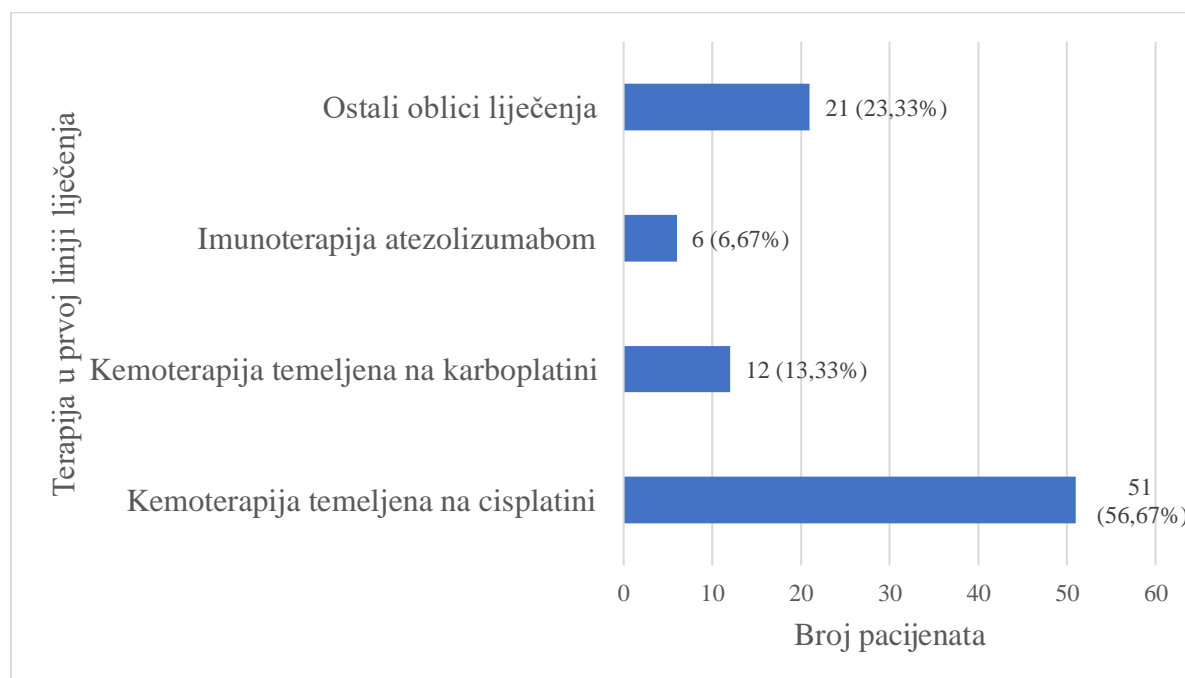
Slika 20. Ishodi liječenja kod pacijenata liječenih avelumabom u kasnijim linijama liječenja.



Slika 21. Ishodi liječenja kod pacijenata liječenih nivolumabom u kasnijim linijama liječenja.

#### 4.8. TERAPIJA U PRVOJ LINIJI LIJEČENJA UROTELNOG KARCINOMA

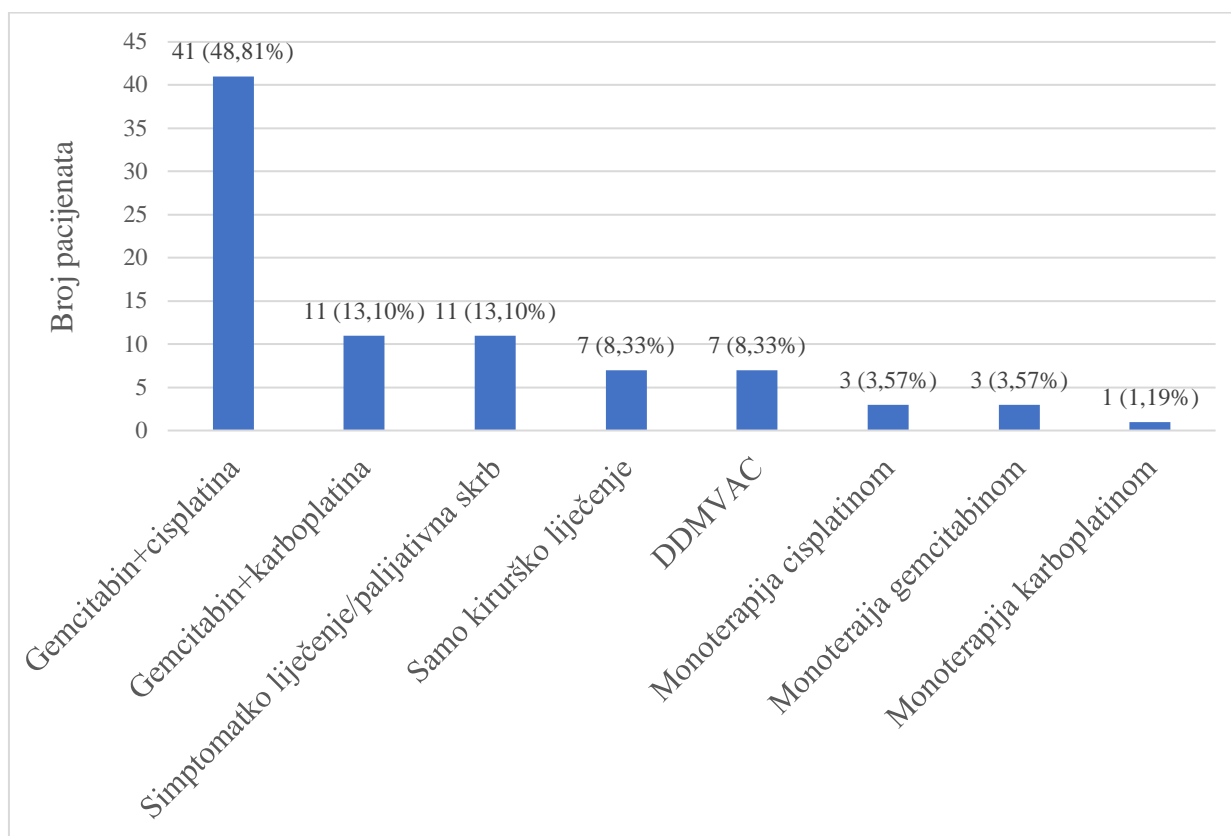
Među 90 pacijenata za koje su dostupni podaci o tijeku liječenja najveći je broj onih koji su u prvoj liniji liječeni kemoterapijom temeljenom na cispladini, a riječ je o 51 (56,67%) pacijentu. Kemoterapijom temeljenom na karboplatini liječeno je 12 (13,33%) pacijenata. Ukupno je terapijom temeljenom na platini u prvoj liniji liječeno 63 (70,00%) pacijenata. Već spomenuti je podatak da je 6 (6,67%) pacijenata u prvoj liniji liječeno atezolizumabom. Ostali oblici liječenja u prvoj liniji primijenjeni su kod 21 (23,33%) pacijenta. Grafički prikaz prethodno navedenih podataka daje Slika 22.



Slika 22. Zastupljenosti pojedinih vrsta terapije u prvoj liniji liječenja.

Za 84 pacijenta (93,33%) koji u prvoj liniji nisu primili imunoterapiju- atezolizumab, redom po zastupljenosti, bit će navedene kemoterapije koje su pacijenti primili (dijelom kao neoadjuvantnu terapiju prije operacije) te ostali oblici liječenja u prvoj liniji liječenja urotelnih karcinoma. Grafički prikaz tih podataka daje Slika 23. Kombinacijom gemcitabina i cisplatine liječen je 41 (48,81%) pacijent. Kombinacijom gemcitabina i karboplatine liječeno je 11 (13,10%) pacijenata. Protokolom DDMVAC liječeno je 7 (8,33%) pacijenata. Monoterapiju cisplatinom te monoterapiju

gemcitabinom primila su po 3 (3,57%) pacijenta, a monoterapiju karboplatinom primio je 1 (1,19%) pacijent. Isključivo kirurški, bez dodatne sistemne terapije, liječeno je 7 (8,33%) pacijenata. Nakon primarne dijagnostike, 11 (13,10%) pacijenata je zbog lošeg općeg stanja bilo liječeno samo simptomatski uz ostalu suportivnu palijativnu skrb.



Slika 23. Zastupljenost pojedinih vrsta terapije u prvoj liniji liječenja kod pacijenata kod kojih nije primijenjena imunoterapija. Dijelom su neoadjuvantne, prije kirurškog liječenja.

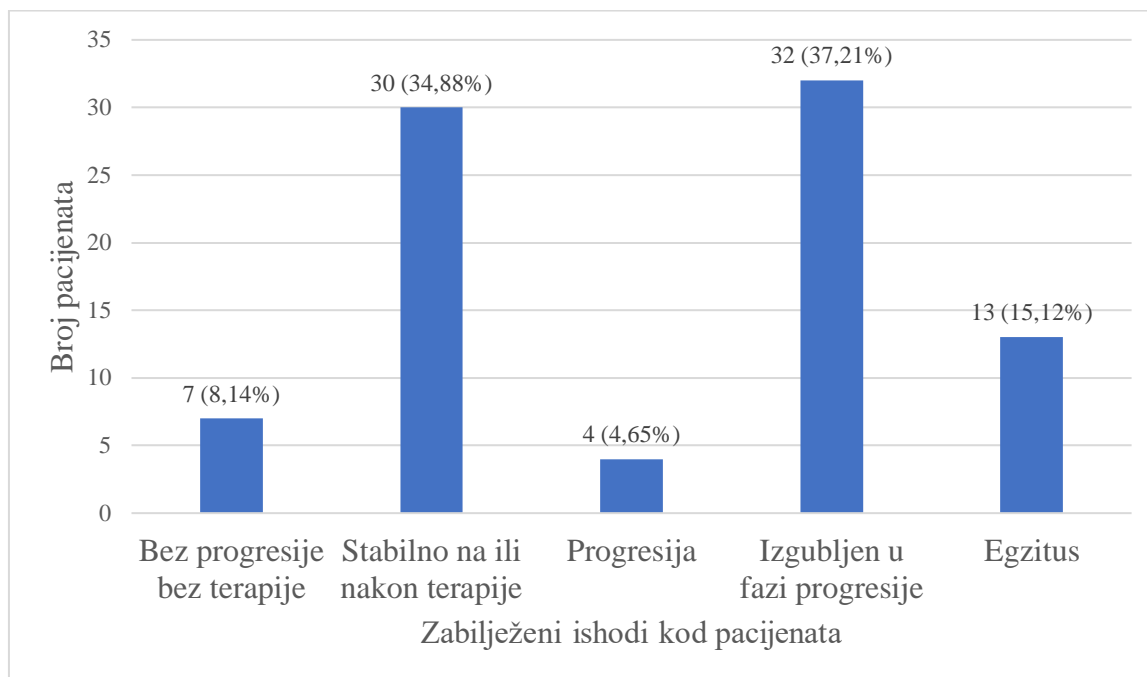


#### **4.9. VREMENSKI PERIOD U KOJEM SU PRAĆENI PACIJENTI**

Od ukupno 97 pacijenata, nakon provođenja imunohistokemijske analize određivanja PD-L1 statusa, 11 (11,34%) pacijenata je praćeno kraće od 1 mjeseca ili uopće nije praćeno zbog liječenja u drugoj ustanovi. Manje od 6 mjeseci nakon određivanja PD-L1 statusa praćeno je 25 (25,77%) pacijenata. 14 (14,43%) pacijenata praćeno je u vremenskom periodu duljine od 6 mjeseci do 1 godine; 11 (11,34%) u periodu od 1 godine do 1,5 godine; 14 (14,43%) u periodu duljine od 1,5 godine do 2 godine, a samo su 22 (22,68%) pacijenta praćena u periodu duljem od 2 godine.

#### 4.10. ZABILJEŽENI ISHOD UROTELNOG KARCINOMA

Od ukupno 97 analiziranih pacijenata s određenim PD-L1 statusom, za 11 (11,34%) pacijenata nije bilo adekvatnih podataka o daljnjem liječenju i praćenju te informacije o ishodu za ovu grupu pacijenata nisu dostupne. Od preostalih 86 pacijenata, kod 7 (8,14%) pacijenata nakon primarnog kirurškog liječenja i bez primjene dodatne terapije nisu nađeni znakovi progresije. Stabilno je, na terapiji ili nakon nje, 30 (34,88%) pacijenata. Progresija bolesti je zabilježena kod 4 (4,65%) pacijenta. Za 13 (15,12%) pacijenata je poznat podatak o smrtnom ishodu, dok su sljedeća 32 (37,21%) pacijenta izgubljena u fazi značajnije progresije. Podaci o ishodu urotelnog karcinoma grafički su prikazani na Slici 24.



Slika 24. Podjela pacijenata prema ishodu.

## 5. RASPRAVA

Među pacijentima s urotelnim karcinomom razmatranim u ovom radu omjer broja muškaraca prema broju žena iznosi 2,46:1, što znači da je muški spol nešto manje zastupljen u ovom istraživanju u usporedbi sa podacima Registra za rak o novodijagnosticiranim slučajevima raka mokraćnog mjehura u Republici Hrvatskoj u 2019. godini, gdje je omjer muškaraca i žena iznosio 2,88:1 (Šekerija i sur., 2021). Razlog tome je najvjerojatnije u činjenici da su u ovom radu korišteni podaci za već selekcionirane pacijente za koje je zatraženo određivanje PD-L1 statusa, podatak koji služi u odabiru terapije za lokalno uznapredovali i metastatski karcinom, a kod raka mokraćnog mjehura literatura navodi da je prognoza općenito lošija za ženski spol ([www.medscape.com](http://www.medscape.com)). Spomenuti omjer muškaraca i žena oboljelih od raka mokraćnog mjehura u Republici Hrvatskoj (2,88:1) manji je od prosječnog za rak mokraćnog mjehura u 40 zemalja na području Europe- 3,31:1 (Dyba i sur., 2021.) te od istog podatka za Sjedinjene Američke Države - 3,17:1 (Siegel i sur., 2022.). Službena epidemiološka istraživanja, kako na području Europe tako i u Sjedinjenim Američkim Državama, navode podatke za rak bubrega i za rak mokraćnog mjehura. Daleko najzastupljeniji rak bubrega je karcinom bubrežnih stanica ([www.cancer.org](http://www.cancer.org)), dok je rak mokraćnog mjehura, na području Europe i SAD-a, u 90% slučajeva urotelni karcinom ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). Iz tog razloga neki od podataka dobivenih u ovom radu uspoređivati će se sa podacima koji se odnose na rak mokraćnog mjehura, kao što je učinjeno i u ovom slučaju.

Razmatranjem dobi pacijenata u vrijeme izvođenja biopsije dobiven je medijan koji iznosi 70 godina. Prema epidemiološkim istraživanjima u SAD-u medijan dobi pri dijagnosticiranju raka mokraćnog mjehura je viši od navedenog i iznosi 73 godine, kako navodi National Cancer Institute ([www.healthline.com](http://www.healthline.com)). Postotak pacijenata razmatranih u ovom radu koji su u trenutku izvođenja biopsije bili stariji od 65 godina je 67,01%. Navedeni postotak, kao i prethodno navedeni medijan, ukazuje da pacijenti oboljevaju ranije od prosjeka na području Europe (73,45% pacijenata je starije od 65 godina u trenutku dijagnoze raka mokraćnog mjehura (Dyba i sur., 2021.)) te ranije od pacijenata u SAD-u (75,2% pacijenata je starije od 65 godina u trenutku dijagnoze raka mokraćnog mjehura ([www.healthline.com](http://www.healthline.com))). Niža dob obolijevanja pacijenata može biti posljedica veće izloženosti urotelnim kancerogenima, koji su navedeni u uvodu ovog rada (u poglavlju Etiologija urotelnog karcinoma). Međutim takvo što nije moguće potvrditi ovim radom jer se nisu razmatrale životne navike i potencijalna izloženost urotelnim kancerogenima.

Literatura uglavnom navodi da je preko 90% urotelnih karcinoma lokalizirano u mokraćnom mjehuru, a da urotelni karcinomi gornjeg dijela mokraćnog sustava čine tek 5-10% urotelnih karcinoma (Netto i sur., ured., 2022., [www.medscape.com](http://www.medscape.com)), pri čemu je urotelni karcinom bubrežne nakapnice zastupljen sa 5%, a mokraćovoda duplo rjeđe ([www.medscape.com](http://www.medscape.com)). Nedavno istraživanje provedeno u Nizozemskoj pokazalo je da su urotelni karcinomi gornjeg dijela mokraćnog sustava posljednjih nekoliko godina učestaliji te čine 12,6% urotelnih karcinoma. Usporedbom lokalizacije urotelnog karcinoma kod 97 pacijenata iz ovog rada sa podacima iz prethodno navedenog istraživanja, uočava se znatno veća zastupljenost pacijenata s urotelnim karcinomom gornjeg dijela mokraćnog sustava; karcinomi u bubrežnoj nakapnici zastupljeni su gotovo tri puta više (22,68% pacijenata, u odnosu na 7,71%), a karcinomi u mokraćovodu gotovo dva puta više (8,25% pacijenata, u odnosu na 4,89%). Karcinomi lokalizirani u mokraćnom mjehuru znatno su manje zastupljeni u ovom radu u odnosu na incidenciju prema epidemiološkim podacima (62,89% pacijenata, u odnosu na 86,22%) (Almås i sur., 2021.). Razlog ovim odstupanjima je obuhvaćanje pacijenata s urotelnim karcinomom kojima je učinjena imunohistokemijska analiza PD-L1 statusa, kako bi se potom mogla donijeti odluka o odabiru liječenja kod lokalno uznapredovalog ili metastatskog urotelnog karcinoma. Naime, urotelni karcinomi gornjeg dijela mokraćnog sustava su agresivnijeg biološkog ponašanja; tek u 40% slučajeva su mišićno neinvazivni ([www.medscape.com](http://www.medscape.com)), dok su u mokraćnom mjehuru u 70% slučajeva mišićno neinvazivni. Kod mišićno neinvazivnih karcinoma šanse za izlječenje su veće nego kod mišićnoinvazivnih (Vrdoljak i sur., 2018).

Rezultati o stadiju karcinoma pokazuju da je kod većine pacijenata učinjena analiza PD-L1 statusa u trenutku kada je karcinom bio lokalno uznapredovao (58,76%), sa zahvaćenim limfnim čvorovima ili bez zahvaćenih limfnih čvorova i kod udaljenih metastaza (37,11%). Navedeno je očekivano s obzirom na smjernice prema kojima se imunoterapija inhibitorima PD-1/PD-L1 imunosne kontrolne točke primjenjuje kod lokalno uznapredovalog i metastatskog urotelnog karcinoma ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Udio PD-L1 pozitivnih urotelnih karcinoma (pozitivitet upalnih stanica na 5% ili više analizirane tumorske površine) u ovom radu bio je prilično visok (46,39%) u usporedbi s podacima iz drugih istraživanja. U kliničkoj studiji koja je razmatrala pacijente s lokalno uznapredovalim i metastatskim urotelnim karcinomom koji prethodno nije bio liječen, taj udio je iznosio 26,89%

([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Udio PD-L1 pozitivnih urotelnih karcinoma bio je ipak veći kod pacijenata u kliničkoj studiji koja je razmatrala pacijente s lokalno uznapredovalim i metastatskim urotelnim karcinomom koji je prethodno bio liječen minimalno jednim kemoterapijskim protokolom i iznosio je 32,26% ([www.roche.com](http://www.roche.com)). Istraživanje koje je razmatralo PD-L1 ekspresiju kod urotelnih karcinoma gornjeg dijela mokraćnog sustava pokazalo je da je ona češće veća kod viših stadija karcinoma (T3 i T4) u usporedbi sa nižim stadijima karcinoma (Tis, T1, T2) (Ward i sur., 2022). Razmatranjem ekspresije PD-L1 s obzirom na lokalizaciju urotelnog karcinoma kod pacijenata u ovom radu primijećeno je da jedino kod urotelnog karcinoma koji je lokaliziran u nakapnici bubrega udio PD-L1 pozitivnih i PD-L1 negativnih pacijenata nije podjednak, već omjer iznosi 1:2,14. Kod urotelnih karcinoma lokaliziranih u mokraćnom mjehuru i mokraćovodu te multiplih sijela udio PD-L1 pozitivnih i PD-L1 negativnih pacijenata je identičan ili gotovo identičan.

Ukoliko se promotri učestalost primjene imunoterapije vidljivo je da je upotreba u prvoj liniji liječenja rijetka (6,67% pacijenata), dok imunoterapiju u kasnijim linijama (drugo ili trećoj liniji) dobije gotovo polovica od ukupnog broja pacijenata (44,44% pacijenata). Prema smjernicama, u prvoj liniji liječenja lokalno uznapredovalog i metastatskog urotelnog karcinoma potrebno je primijeniti kemoterapiju temeljenu na cisplatinu. Inhibitori PD-1/PD-L1 imunosne kontrolne točke atezolizumab i pembrolizumab mogu se primijeniti u prvoj liniji liječenja samo ako pacijenti ne mogu primiti cisplatinu i imaju zadovoljavajuću razinu ekspresije PD-L1 ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Iz navedenog je vidljivo da je za liječenje imunoterapijom u prvoj liniji neophodna dodatna imunohistokemijska analiza određivanja statusa PD-L1. Zastupljenost imunoterapije u prvoj liniji u ovom radu podudara se sa učestalosti primjene imunoterapije u prvoj liniji liječenja koju navodi istraživanje provedeno u Sjedinjenim Američkim Državama, gdje je udio imunoterapije u prvoj liniji liječenja iznosio 7,9% (Hepp i sur., 2021.). Iako je prema literaturi udio pacijenata koji ne mogu primiti cisplatinu visok, čak do 50%, iz prethodno navedenih podataka može se naslutiti da kod takvih pacijenata izbor za prvu liniju liječenja češće pada na drugu vrstu kemoterapije, nego na imunoterapiju. Takav odabir je u skladu sa istraživanjem koje pokazuje da je kod pacijenata sa metastatskim urotelnim karcinomom koji ne mogu primiti cisplatinu, stopa objektivnog odgovora u prvoj liniji veća kod primjene kemoterapije koja sadržava karboplatinu (45,6%) nego kod primjene PD-1/ PD-L1 inhibitora u prvoj liniji (9,3%). Ipak, usporedbom pacijenata koji su u prvoj liniji liječenja primili kemoterapiju temeljenu na karboplatini, a potom u drugoj liniji liječenja PD-1/PD-L1 inhibitor te pacijenata kod kojih je redosljed liječenja metastatskog urotelnog karcinoma

bio obrnut, u tom istom istraživanju zamijećeno je da nije bio značajne razlike u ukupnom preživljenju (Wei i sur., 2021).

Kod svih pacijenata obuhvaćenim ovim radom, za imunoterapiju u prvoj liniji se koristio isključivo atezolizumab. Uz atezolizumab, u mnogim se zemljama za lokalno uznapredovali i metastatski urotelni karcinom u pacijenata koji ne mogu primiti preparate platine, u prvoj liniji liječenja daje i pembrolizumab, no s obzirom da se ne koristi u RH, u ovom radu nije razmatran. Ujedno, za eventualnu primjenu pembrolizumaba, nužna je IHC analiza drugim protutijelom te se pozitivan rezultat reakcije klonom SP142 za atezolizumab, ne može koristiti kao podloga za terapiju pembrolizumabom. U drugoj liniji liječenja atezolizumab je najčešće korištena imunoterapija, a osim njega primjenjivan je i nivolumab (omjer pacijenata koji su primili atezolizumab i nivolumab u kasnijim linijama liječenja je 2,45:1). Inhibitori PD-1/PD-L1 imunostimulirajuće kontrolne točke koji imaju odobrenje HALMED-a u drugoj liniji liječenja lokalno uznapredovalog i metastatskog urotelnog karcinoma su atezolizumab, nivolumab i pembrolizumab. U drugoj liniji pacijenti primaju navedenu imunoterapiju neovisno o ekspresiji PD-L1 ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Avelumab je primilo 2 pacijenta u ovom radu. Kod lokalno uznapredovalog i metastatskog urotelnog karcinoma, prema odobrenju EMA-e, može se koristiti kao terapija održavanja kad nije došlo do progresije nakon kemoterapije na bazi platine ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)) dok je FDA, osim ove indikacije, odobrila i uporabu u drugoj liniji liječenja kod pacijenata kod kojih je došlo do progresije tijekom ili nakon terapije koja je sadržavala platinu ([www.fda.gov](http://www.fda.gov)).

Ukoliko se promotri ishod kod 6 pacijenata liječenih atezolizumabom u prvoj liniji, od kojih je 4 pacijenta (66,67%) bilo stabilno na ili nakon terapije, može se zaključiti da je ovaj ishod bolji od očekivanog prema kliničkoj studiji. U ovoj liniji liječenja svi pacijenti u ovom radu imali su PD-L1 pozitivan urotelni karcinom. Kod pacijenata sa ekspresijom PD-L1  $\geq 5\%$  na tumor infiltrirajućim imunostimulirajućim stanicama, u kliničkoj studiji IMvigor210, u kohorti čiji su ispitanici bili prethodno neliječeni zabilježena je stopa objektivnog odgovora od 28,1% ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Kod 27 pacijenata liječenih atezolizumabom u drugoj ili trećoj liniji, zabilježeno je da je 11 pacijenata (40,74%) bilo stabilno na ili nakon terapije. Dio pacijenata imao je PD-L1 pozitivan urotelni karcinom (17 pacijenata), a dio nije (10 pacijenata). U kliničkoj studiji IMvigor210, u kohorti koja je uključivala ispitanike koji su prethodno primili najmanje jedan kemoterapijski protokol temeljen na platini, stopa objektivnog odgovora iznosila je 19,7% u svih ispitanika (neovisno o PD-L1

statusu). U ovom radu je za liječenje atezolizumabom u drugoj ili trećoj liniji liječenja zbroj pacijenata sa ishodima progresije, izgubljenih u fazi progresije i egzistusa jednak 16, odnosno 59,26%. U kliničkoj studiji IMvigor211 ispitani su pacijenti sa lokalno uznapredovalim ili metastatskim urotelnim karcinomom kojima je bolest uznapredovala nakon liječenja protokolom koji je sadržavao platinu; među pacijentima koji su primili atezolizumab 69,4% je završilo smrtnim ishodom ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Ukoliko se odvojeno promatraju ishodi PD-L1 pozitivnih i negativnih pacijenata liječenih atezolizumabom u drugoj liniji, zamjećuje se velika razlika u ishodima liječenja urotelnog karcinoma. Stabilno na ili nakon terapije je 52,94% od ukupnog broja PD-L1 pozitivnih pacijenata, a samo 20% PD-L1 negativnih pacijenata. Negativni ishodi; progresije, pacijenata izgubljenih u stanju progresije i egzistusa zabilježeni su kod ukupno 47,05% pacijenata s PD-L1 pozitivnim karcinomom, dok kod PD-L1 negativnih pacijenata čine 80% ishoda. Neka istraživanja pokazuju da je ekspresija PD-L1 povezana sa stopom objektivnog odgovora na terapiju inhibitorima PD-1/PD-L1 imunostimulirajućih točaka kod uznapredovalog (metastatskog) urotelnog karcinoma, no nije povezana sa ukupnim (jednogodišnjim) preživljavanjem (Ghate i sur., 2019., [www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Udio pacijenata stabilnih na ili nakon terapije među pacijentima sa PD-L1 pozitivnim karcinomom (52,94%) znatno je veći od stope objektivnog odgovora među pacijentima sa isključivo PD-L1 pozitivnim karcinomom u spomenutoj kliničkoj studiji IMvigor 210 (29,0%). 11 pacijenata liječeno je nivolumabom u drugoj liniji, među kojima je 6 pacijenata (54,55%) bilo stabilno na ili nakon terapije. U kliničkoj studiji CA209275 bili su uključeni pacijenti kod kojih je došlo do progresije nakon liječenja kemoterapijom na bazi platine za lokalno uznapredovali ili metastatski urotelni karcinom. Stopa objektivnog odgovora na terapiju nivolumabom iznosila je 20,0% u svih ispitanika (neovisno o PD-L1 statusu) ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Manjkavost izloženih podataka iz ovog rada je vrlo malen broj pacijenata liječenih imunoterapijom, koji se ne može adekvatno uspoređivati s velikim kliničkim studijama na nekoliko stotina ispitanika te vrlo kratko i neujednačeno razdoblje praćenja pacijenata (od svega nekoliko tjedana do 38 mjeseci). Kratko razdoblje praćenja je povezano i sa kratkom primjenom imunohistokemijskog određivanja PD-L1 statusa urotelnih karcinoma, koja je započeta početkom 2019. godine. Iz navedenih razloga, dobiveni podaci nisu bili reprezentativni za izračunavanje stope jednogodišnjeg ukupnog preživljenja.

Ovim radom razmatrani su i ostali oblici terapije primijenjene u prvoj liniji liječenja lokalno uznapredovalog i metastatskog urotelnog karcinoma. Kod najvećeg broja pacijenata, sukladno

smjernicama, liječenje je započeto nekim kemoterapijskim protokolom temeljenim na cisplatinu. Riječ je o liječenju gemcitabinom i cisplatinom, protokolom DDMVAC i monoterapijom cisplatinom. Udio takvih pacijenata u ukupnom broju pacijenata za koje je poznata prva linija liječenja u ovom radu sveukupno iznosi 56,67% i sličan je podacima iz nekih drugih istraživanja. Naime, prema istraživanjima provedenim u SAD-u kod oko polovice pacijenata sa lokalno uznapredovalim i metastatskim urotelnim karcinomom liječenje se započinje kemoterapijom temeljenom na cisplatinu. Taj udio je u 10 različitih studija iz SAD-a jako varirao (od 18,4% do 60,2%) pri čemu je ipak broj studija sa najnižim udjelima u manjini (Hepp i sur., 2021). U opsežnom istraživanju provedenom u Njemačkoj udio pacijenata liječenih kemoterapijom temeljenom na cisplatinu u prvoj liniji bio je viši nego u ovom radu i iznosio je 71,03%. Udio pacijenata liječenih kemoterapijom temeljenom na karboplatini u prvoj liniji u ovom radu iznosi 13,33%. Taj podatak je sličan udjelu dobivenom u spomenutom istraživanju provedenom u Njemačkoj, koji je iznosio 12,87%. Najčešće korištena kemoterapija u prvoj liniji liječenja u ovom radu bila je kombinacija gemcitabina i cisplatine, a isto pokazuje i istraživanje u Njemačkoj (Niegisch i sur., 2018). Razlog značajno manjem udjelu pacijenata koji su u prvoj liniji liječenja primili kemoterapiju temeljenu na cisplatinu u ovom radu, u odnosu na pacijente iz Njemačke, može biti u većem udjelu pacijenata sa lošim općim stanjem procijenjenim putem WHO ili ECOG statusa (2 ili veći) ili nekim od drugih ograničenja za liječenje cisplatinom: klirens kreatinina manji od 55 mL/min, zatajenje srca NYHA III stupnja, periferna neuropatija stupnja 2 ili veća ([www.hzzo.hr](http://www.hzzo.hr)). Osim navedenog na odabir liječenja utječe i dob pacijenta, komorbiditeti i funkcioniranje organa, uključujući i kognitivne sposobnosti ([www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)). Ovaj rad nije u obzir uzimao podatke o pacijentima na temelju kojih bi se moglo procijeniti da li nisu mogli primiti terapiju temeljenu na cisplatinu.

Potrebno je napomenuti da se podaci o odabiru liječenja i ishodu liječenja pacijenata odnose na ono što je bilo prikupljeno u vremenskom periodu praćenja svakog pojedinog pacijenta. Vremenski periodi u kojima su pacijenti praćeni su različitih duljina. Za 39 (40,21%) pacijenata razdoblje praćenja je bilo kraće od godinu dana, a za 47 (48,45%) pacijenata razdoblje praćenja iznosilo je od 1 godine do 3 godine i 2 mjeseca. Za 11 (11,34%) pacijenata nije bilo adekvatnih podataka o ishodu.



U vremenu praćenja dostupnim za analizu, 30 (34,88%) pacijenata razmatranih u ovom radu je stabilno na terapiji ili nakon nje, pri čemu su neki pacijenti primili jednu, a neki više linija liječenja. Navedeni podatak je u podudarnosti sa stopom objektivnog odgovora koju navode druga istraživanja, ona je iznosila 34% u prvoj liniji liječenja i 13% u drugoj liniji liječenja kod lokalno uznapredovalog i metastatskog urotelnog karcinoma u pacijenata u Njemačkoj. U ovom radu 7 (8,14%) pacijenata nema progresije bez dodatne terapije. Razmatrani pacijenti kod kojih je dokazana progresija ili su izgubljeni u fazi progresije zajedno čine udio od 41,86%. Progresija zabilježena u prethodno navedenom istraživanju također se podudara sa onom u ovom radu jer iznosi 30% za pacijente u prvoj liniji liječenja i 41% u drugoj liniji liječenja. U ovom radu kod ukupno 56,98% pacijenata zabilježena je progresija, izgubljeno je u fazi progresije ili je zabilježen smrtni ishod. U već spomenutom istraživanju progresija ili smrtni ishod nastupio je kod 66% pacijenata u prvoj liniji liječenja te kod 79% pacijenata u drugoj liniji liječenja (Niegisch i sur., 2018).

## 6. ZAKLJUČCI

1. U ispitivanoj skupini, udio muškaraca u odnosu na žene je mnogo veći, no ipak nešto manji u odnosu na ostala epidemiološka istraživanja. Većina pacijenata je bila starije životne dobi u vrijeme dijagnoze, ali je udio pacijenata mlađih od 65 godina veći od predviđanog prema epidemiološkim istraživanjima. Nađene razlike su najvjerojatnije posljedica selekcije pacijenata za dodatno testiranje te se razlikuju od podataka očekivanih za ukupan broj pacijenata s dijagnozom urotelnog karcinoma.
2. Kod većine pacijenata lokalizacija urotelnog karcinoma bila je u mokraćnom mjehuru, međutim udio karcinoma lokaliziranih u mokraćnom mjehuru značajno je manji od navedenog ostalim istraživanjima, a udio karcinoma lokaliziranih u nakapnici bubrega i mokraćovodima značajno je veći od navedenog ostalim istraživanjima.
3. Najveći udio pacijenata imao je lokalno uznapredovalu bolest sa zahvaćenim limfnim čvorovima te bolest sa udaljenim metastazama. Nešto je manji bio udio pacijenata sa lokalno uznapredovalom bolešću bez zahvaćenih limfnih čvorova.
4. Udio PD-L1 pozitivnih i PD-L1 negativnih pacijenata u ovom radu bio je podjednak, što znači da je veći broj PD-L1 pozitivnih karcinoma u odnosu na veća klinička istraživanja. Kod urotelnih karcinoma lokaliziranih u mokraćnom mjehuru i mokraćovodu te multiplih sijela, udio PD-L1 pozitivnih i PD-L1 negativnih pacijenata je identičan ili gotovo identičan, dok je kod lokalizacije u bubregu udio PD-L1 pozitivnih pacijenata znatno manji.
5. Udio primjene imunoterapije za liječenje lokalno uznapredovalog ili metastatskog urotelnog karcinoma bio je znatno veći u drugoj liniji nego u prvoj liniji liječenja, što je očekivano s obzirom na službene smjernice. Udio pacijenata koji je primio imunoterapiju u prvoj liniji liječenja odgovara onome iz ostalih istraživanja i za ovakav oblik liječenja je bila nužna dodatna imunohistokemijska analiza kojom je dokazan pozitivan PD-L1 status.
6. U istraživanoj skupini atezolizumab je jedini oblik imunoterapije primijenjen u prvoj liniji liječenja lokalno uznapredovalog ili metastatskog urotelnog karcinoma za pacijente s dokazanim pozitivnim PD-L1 statusom. U kasnijim linijama liječenja također je najčešće korišten atezolizumab, a redom po učestalosti slijede nivolumab i avelumab.
7. Pozitivni ishodi liječenja imunoterapijom; atezolizumabom u prvoj liniji liječenja te atezolizumabom i nivolumabom u drugoj ili trećoj liniji liječenja, zabilježeni su u većem udjelu

od onih u kliničkim studijama. Odstupanja mogu biti posljedica malog broja pacijenata koji su primili pojedinu vrstu liječenja te kratkog vremenskog razdoblja praćenja pacijenata.

8. Kod najvećeg broja pacijenata liječenje je započeto nekim kemoterapijskim protokolom temeljenim na cispladini, što je predvidivo s obzirom na službene smjernice i udio je u skladu s većinom studija. Najčešće primjenjivana terapija u prvoj liniji liječenja je kombinacija gemcitabina i cisplatine. Udio pacijenata liječenih kemoterapijom temeljenom na karboplatini u prvoj liniji u suglasju je sa ostalim provedenim studijama.
9. Podaci o ishodima kod svih pacijenata (neovisno o odabiru liječenja) odgovaraju podacima iz drugih studija sa lokalno uznapredovalim ili metastatskim urotelnim karcinomom.

## **7. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA**

AJCC- Američki zajednički odbor za rak

APOBEC- apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide

AUA- Američko urološko udruženje

BCG- Bacillus Calmette Guerin

BCL2L1- BCL2-like 1

CCND1- cyclin D1

CD80- Cluster of differentiation 80

CDKN2A- cyclin-dependent kinase inhibitor 2A

CIS- karcinom in situ

CMV- cisplatina, metotreksat, vinblastin

CPS- Combined positive Score

CYP1A1- citokrom 1A1

DDMVAC- dose- dense metotreksat, vinblastin, doksorubicin (adriamicin), cisplatina

DNK- deoksiribonukleinska kiselina

EAU- Europsko urološko udruženje

ECOG- Eastern Cooperative Oncology Group

EMA- European Medicines Agency

ERCC2- excision repair cross-complementation group 2

ETS- Erythroblast Transformation Specific

FDA- Food and Drug Administration

FGFR3- fibroblast growth factor receptor 3

GC- gemcitabin i cisplatina

GSTM1- glutation S- transferaza M1

HALMED- Agencija za lijekove i medicinske proizvode

HRAS- Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog

IgG1- imunoglobulin G1

IHC analiza- imunohistokemijska analiza

IL- interleukin

ISUP- Međunarodna udruga uroloških patologa

KBC- Klinički bolnički centar  
KDM6A- lysine (K)-specific demethylase 6A  
KMT2A- lysine (K)-specific methyltransferase 2A  
KMT2C- lysine (K)-specific methyltransferase 2C  
KRAS- Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog  
MDM2- murine double minute 2  
MMR- mismatch repair  
MYC- myelocytomatosis  
NCOR1- nuclear receptor corepressor 1  
NECTIN4 (PVRL4)- nectin cell adhesion molecule 4 (poliovirus receptor-related 4)  
NK stanice- stanice prirodni ubojice/ Natural Killer cells  
NKT- neoadjuvantna kemoterapija  
NYHA- New York Heart Association  
PD-1- receptor programirane stanične smrti- 1  
PD-L1- ligand receptora programirane stanične smrti- 1  
PPARG- peroxisome proliferator activated receptor gamma  
pTa- neinvazivni papilarni urotelni karcinom  
PTEN- phosphatase and tensin homolog  
PUNLMP- papilarna urotelna neoplazma slaboga malignog potencijala  
RB1- retinoblastoma- 1  
RH- Republika Hrvatska  
RMM- rak mokraćnog mjehura  
SAD- Sjedinjene Američke Države  
SJS- Stevens- Johnsonov sindrom  
TEN- toksična epidermalna nekroliza  
TERT- telomerase reverse transcriptase  
TNF- $\alpha$ - tumor necrosis factor-  $\alpha$ / faktor nekroze tumora-  $\alpha$   
TNM klasifikacija- klasifikacija tumora ovisno o primarnom tumoru (T), metastazama u regionalnim limfnim čvorovima (N) i udaljenim metastazama (M)  
TP53- tumor protein p53  
TUR- transuretralna resekcija tumora

UK- Ujedinjeno Kraljevstvo

WHO- World Health Organization

YWHAZ- tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein zeta

ZNF703- zinc finger protein 703

## 8. LITERATURA

Alderson M, Grivas P, Milowsky MI, Wobker SE. Histologic Variants of Urothelial Carcinoma: Morphology, Molecular Features and Clinical Implications. *Bladder Cancer*, 2020, 6, 107–122.

Almås B, Halvorsen OJ, Johannesen TB, Beisland C. Higher than expected and significantly increasing incidence of upper tract urothelial carcinoma. A population based study. *World J Urol*, 2021, 39, 3385–3391.

Bavencio- Sažetak opisa svojstava lijeka, označivanje i uputa o lijeku, 2020., <https://halmed.hr/Lijekovi>, pristupljeno 25.03.2023.

BCG-medac prašak i otapalo za intravezikalnu suspenziju- Sažetak opisa svojstava lijeka, 2023., <https://halmed.hr/Lijekovi>, pristupljeno 25.03.2023.

Bladder Cancer by Age Range: Prevalence and Outlook, 2023., <https://www.healthline.com/>, pristupljeno 05.04.2023.

Bladder cancer- Epidemiology, 2023., <https://emedicine.medscape.com/>, pristupljeno 02.04.2023.

Cancer Facts and Figures 2023, 2023., <https://www.cancer.org/>, pristupljeno 03.04.2023.

Clapp WL, Croker BP. Kidney. U: Histology for Pathologists. Mills SE, urednik, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2012, str. 891- 970.

Compérat E, Wasinger G, Oszwald A, Shariat SF. Brief Update of the new WHO Classification for Urothelial Carcinoma. *Curr Opin Urol.*, 2022, 32(5), 511-516.

Duraturro F, Liccardo R , De Rosa M, Izzo P. Genetics, diagnosis and treatment of Lynch syndrome: Old lessons and current challenges (Review). *Oncol Lett*, 2019, 17, 3048-3054.

Dyba T, Randi G, Bray F, Martos C, Giusti F, Nicholson N, Gavin A, Flego M, Neamtiu L, Dimitrova N, Negrão Carvalho R, Ferlay J, Bettio M. The European cancer burden in 2020: Incidence and mortality estimates for 40 countries and 25 major cancers. *Eur J Cancer*, 2021, 157, 308-347.

Eckstein M, Cimadamore A, Hartmann A, Lopez-Beltran A, Cheng L, Scarpelli M, Montironi R, Gevaert T. PD-L1 assessment in urothelial carcinoma: a practical approach. *Ann Transl Med*, 2019, 7(22), 690.

FDA approves new, targeted treatment for bladder cancer, 2016, <https://www.fda.gov/>, pristupljeno 19.04.2023.

Ghate K, Amir E, Kuksis M, Hernandez-Barajas D, Rodriguez-Romo L, Booth CM, Vera-Badillo FE. PD-L1 expression and clinical outcomes in patients with advanced urothelial carcinoma treated with checkpoint inhibitors: A meta- analysis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2022, 76, 51-56.

Hepp Z, Shah SN, Smoyer K, Vadagam P. Epidemiology and treatment patterns for locally advanced or metastatic urothelial carcinoma: a systematic literature review and gap analysis. *J Manag Care Spec Pharm*, 2021, 27(2), 240-255.

Highlights of prescribing information- Bavencio, 2020., <https://www.accessdata.fda.gov/>, pristupljeno 19.04.2023.

HRAS gen, 2023., <https://www.genecards.org/>, pristupljeno 23.02.2023.

Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL, Ulbright TM, Reuter VE. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur Urol*, 2016, 70, 106-119.



Imfinzi- Sažetak opisa svojstava lijeka, označivanje i uputa o lijeku, 2018., <https://halmed.hr/Lijekovi>, pristupljeno 25.03.2023.

Jazvić M, Ružić B, Krušlin B, Šitum M, Pešutić Pisac V, Omrčen T, Boraska Jelavić T, Kaštelan Ž, Gamulin M, Alduk AM, Čorić M, Murgić J, Mažuran B, Šitum K, Drežnjak Madunić M, Miletić D, Vojnović Ž. Smjernice za dijagnosticiranje, liječenje i praćenje bolesnika sa rakom mokraćnog mjehura. *Liječ Vjesn*, 2019, 141, 326-335.

Keytruda- Sažetak opisa svojstava lijeka, označivanje i uputa o lijeku, 2020., <https://halmed.hr/Lijekovi>, pristupljeno 25.03.2023.

Lobo N, Shariat SF, Chuanhai Guo C, Fernandez MI, Kassouf W, Choudhury A, Gao J, Williams SB, Galsky MD, Taylor III JA, Roupret M, Kamat AM. What Is the Significance of Variant Histology in Urothelial Carcinoma? *Eur. Urol. Focus*, 2020, 6, 653-663.

Medicines- Bavencio, 2023., <https://www.ema.europa.eu/>, pristupljeno 19.04.2023.

Miyazaki J, Nishiyama H. Epidemiology of urothelial carcinoma. *Int J Urol*, 2017, 24, 730-734.

Muscle Invasive and Metastatic Bladder Cancer Clinical Practice Guidelines (EAU, 2020), 2020., <https://www.medscape.org/>, pristupljeno 09.03.2023.

Neurogenic Bladder, 2022., <https://emedicine.medscape.com/>, pristupljeno 26.02.2023.

Niegisch G, Gerullis H, Lin SW, Pavlova J, Gondos A, Rudolph A, Haas G, Hennies N, Kramer MW. A Real-World Data Study to Evaluate Treatment Patterns, Clinical Characteristics and Survival Outcomes for First- and Second- Line Treatment in Locally Advanced and Metastatic Urothelial Cancer Patients in Germany. *J Cancer*, 2018, 9(8), 1337-1348.

Opdivo- Sažetak opisa svojstava lijeka, označivanje i uputa o lijeku, 2020., <https://halmed.hr/Lijekovi>, pristupljeno 25.03.2023.

Opium Consumption- about this book, 2021., <https://publications.iarc.who.int/>, pristupljeno 23.02.2023.

Osnovna lista lijekova u primjeni od 23.02.2023., 2023., <https://hzzo.hr/>, pristupljeno 28.03.2023.

Overview of the initial approach and management of urothelial bladder cancer (Lerner SP), 2021., <https://www.uptodate.com/>, pristupljeno 8.6.2021.

Reuter VE, Al-Ahmadie H, Tickoo SK. Urinary Bladder, Ureter, and Renal Pelvis. U: Histology for Pathologists. Mills SE, urednik, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2012, str. 971-986.

Šekerija M, Bubanović Lj, Novak P, Lončar J, Čukelj P, Glibo M, Korda K, Mikolaj L, Stupnik D. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2019., Bilten 44, Zagreb, 2021.

Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72, 7-33.

Tecentriq- Sažetak opisa svojstava lijeka, označivanje i uputa o lijeku, 2022., <https://halmed.hr/Lijekovi>, pristupljeno 25.03.2023.

Treatment of metastatic urothelial cancer of the bladder and urinary tract (Bellmunt J), 2022., <https://www.uptodate.com/>, pristupljeno 19.10.2022.

Urothelial Tumors of the Renal Pelvis and Ureters- Epidemiology, 2023., <https://emedicine.medscape.com/>, pristupljeno 09.04.2023.

Urothelial Tumors of the Renal Pelvis and Ureters- Practice Essentials, 2023., <https://emedicine.medscape.com/>, pristupljeno 09.04.2023.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, 2021., <https://diagnostics.roche.com/>, pristupljeno 16.04.2023.

Vrdoljak E, Belac Lovasić I, Kusić Z, Gugić D, Juretić A. Tumori mokraćnog sustava. U: Klinička onkologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2018, str. 153-159.

Ward M, Albertson D, Furtado LV, Deftereos G. PD-L1 Tumor Cell Expression in Upper Tract Urothelial Carcinomas is Associated With Higher Pathologic Stage. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2022, 30(1), 56-61.

Wei XX, Werner L, Teo MY, Rosenberg JE, Koshkin VS, Grivas P, Szabados B, Morrinos L, Powles T, Carril-Ajuria L, Castellano D, Isaacsson Velho P, Hahn NM, McKay RR, Raggi D, Necchi A, Kanesvaran R, Alerasool P, Gaines J, Galsky M, Bellmunt J, Sonpavde G. Sequencing of PD-1/L1 Inhibitors and Carboplatin Based Chemotherapy for Cisplatin Ineligible Metastatic Urothelial Carcinoma. *J Urol*, 2021, 205(2), 414-419.

Williamson SR, McKenney JK, Raspollini MR, Cheng L, Ro JY, Al-Ahmadie HA, Lopez-Beltran A, Narumi Y, Paner GP, Wojcik EM, Downes MR, Panebianco V. Epidemiology. U: WHO Classification of Tumours 5<sup>th</sup> ed., vol.8 Urinary and male genital tumours. Netto GJ, Tsuzuki T, Compérat EM, urednici, Lyon, International Agency for Research on Cancer, 2022, online izdanje knjige, <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/36>, pristupljeno 19.10.2022.

Williamson SR, McKenney JK, Raspollini MR, Cheng L, Ro JY, Al-Ahmadie HA, Lopez-Beltran A, Narumi Y, Paner GP, Wojcik EM, Downes MR, Panebianco V. Etiology. U: WHO Classification of Tumours 5<sup>th</sup> ed., vol.8 Urinary and male genital tumours. Netto GJ, Tsuzuki T, Compérat EM, urednici, Lyon, International Agency for Research on Cancer, 2022, online izdanje knjige, <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/36>, pristupljeno 19.10.2022.

Williamson SR, McKenney JK, Raspollini MR, Cheng L, Ro JY, Al-Ahmadie HA, Lopez-Beltran A, Narumi Y, Paner GP, Wojcik EM, Downes MR, Panebianco V. Pathogenesis. U: WHO Classification of Tumours 5<sup>th</sup> ed., vol.8 Urinary and male genital tumours. Netto GJ, Tsuzuki T,

Compérat EM, urednici, Lyon, International Agency for Research on Cancer, 2022, online izdanje knjige, <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/36>, pristupljeno 19.10.2022.

Williamson SR, McKenney JK, Raspollini MR, Cheng L, Ro JY, Al-Ahmadie HA, Lopez-Beltran A, Narumi Y, Paner GP, Wojcik EM, Downes MR, Panebianco V. Prognosis and prediction. U: WHO Classification of Tumours 5<sup>th</sup> ed., vol.8 Urinary and male genital tumours. Netto GJ, Tsuzuki T, Compérat EM, urednici, Lyon, International Agency for Research on Cancer, 2022, online izdanje knjige, <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/36>, pristupljeno 19.10.2022.

Wołacewicz M, Hrynkiewicz R, Grywalska E, Suchojad T, Leksowski T, Roliński J, Niedźwiedzka-Rystwej P. Immunotherapy in Bladder Cancer: Current Methods and Future Perspectives. *Cancers*, 2020, 12, 1181.

## 9. SAŽETAK/ SUMMARY

Urotelni karcinom (UC) čini 90% tumora bubrežne nakapnice, mokraćovoda i mokraćnog mjehura. Kod uznapredovale bolesti u liječenju se primjenjuje kemoterapija, imunoterapija (inhibitori PD-1/PD-L1 imunolosne kontrolne točke) i potporno liječenje.

U ovom radu su prikazane karakteristike 97 pacijenata s UC kojima je u razdoblju od ožujka 2019. do kolovoza 2022. u KBC-u Zagreb određivan PD-L1 status protutijelom SP142, obavezan za selekciju pacijenata pogodnih za primanje atezolizumaba u prvoj liniji liječenja lokalno uznapredovalog ili metastatskog UC. Dobiveni rezultati su uspoređeni s podacima iz drugih istraživanja.

Većinu pacijenata činili su muškarci (69; 71,13%). Pacijenti su bili dobi od 38 do 85 godina (medijan 70). Mokraćni mjehur je bio najčešće primarno sijelo UC, nađen u 61 (62,89%) pacijenata. Zamijećen je znatno veći udio UC gornjeg dijela mokraćnog sustava nego u literaturnim podacima: nakapnice bubrega u 22 (22,68%) pacijenta te mokraćovoda u 8 (8,25%) pacijenata. Kod 57 (58,76%) pacijenata UC je bio lokalno uznapredovao, a kod 36 (37,11%) su bile prisutne udaljene metastaze. U 7 od 22 (31,82%) pacijenta s primarnim sijelom UC u nakapnici bubrega je nađen PD-L1 pozitivan karcinom, dok je kod lokalizacije u mokraćovodu, mokraćnom mjehuru i kod multiplih sijela oko polovice karcinoma PD-L1 pozitivno. Atezolizumab u prvoj liniji liječenja primilo je 6 (6,67%) pacijenata, a imunoterapiju u kasnijim linijama liječenja 40 (44,44%) pacijenata (atezolizumab i nivolumab u omjeru 2,45:1). Ostali pacijenti nisu liječeni imunoterapijom. U prvoj liniji, u skladu sa smjericama, najčešće je primijenjeno liječenje kemoterapijskim protokolima temeljenim na cispladini (51 pacijenata; 56,67%) i karboplatini (12 pacijenata; 13,33%). Za 11 pacijenata nisu bile dostupne informacije o ishodu. 7 (8,14%) pacijenata je stabilno bez progresije i bez dodatne terapije nakon primarnog kirurškog liječenja; 30 (34,88%) pacijenata je stabilno na terapiji ili nakon nje, dok je kod 49 (56,98%) pacijenata zabilježena progresija bolesti, smrtni ishod ili su izgubljeni iz praćenja u fazi značajne progresije.

Imunohistokemijsko određivanje PD-L1 statusa pokazalo se korisno za manji broj pacijenata kojima je omogućena primjena imunoterapije u prvoj liniji liječenja, dok je vrijednost ove metode ograničena za pacijente koji su primali imunoterapiju u kasnijim linijama liječenja.

Urothelial carcinoma (UC) accounts for 90% of cancers in renal pelvis, ureter and bladder. Treatment options in advanced disease include chemotherapy, immunotherapy (PD-1/ PD-L1 checkpoint inhibitors) and supportive care.

This study included 97 patients with locally advanced and metastatic UC tested with PD-L1 Ventana SP142 assay, between 03/2019 and 08/2022 at University Hospital Centre Zagreb. The test was required for selection of patients with PD-L1 positive tumors, eligible for the first-line treatment with atezolizumab. Obtained results were compared with data from other studies.

The majority of patients were male (69; 71,13%). The age range was 38-85 years (median 70). Urinary bladder was the most common primary site of UC, found in 61 (62,89%) patients, but UC originating from the upper urinary tract were also more frequent than expected: renal pelvis (22; 22,68%) and ureter (8; 8,25%). 57 (58,76%) patients had locally advanced carcinoma, while 36 (37,11%) had metastatic disease. PD-L1 positive UC was detected in 7 of 22 (31,82%) cases originating from renal pelvis, while those arising from ureter, bladder and in multiple sites were PD-L1 positive in roughly half of cases. 6 (6,67%) patients received atezolizumab as a first-line therapy, and 40 (44,44%) patients received immunotherapy in a second or third-line setting (atezolizumab and nivolumab ratio 2,45:1). The rest of the patients weren't treated with immunotherapy. The majority of patients, in compliance with guidelines, received cisplatin-based (51; 56,67%) and carboplatin-based chemotherapy (12; 13,33%) as a first-line treatment. For 11 patients there were no follow-up data. 7 (8,14%) patients after primary surgery show no progression without additional therapy; 30 (34,88%) patients are stable on/after therapy, while 49 (56,97%) patients experienced progression, were lost during severe progression or died of disease.

Immunohistochemical determination of PD-L1 status proved to be useful for a selection of small number of patients eligible for a first-line therapy with atezolizumab, while usefulness was limited for majority of patients who received immunotherapy in a second or third-line setting.

# Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Samostalni kolegij: Patofiziologija s patologijom  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

## ZNAČAJ IMUNOHISTOKEMIJSKOG ODREĐIVANJA PD-L1 STATUSA U ODLUCI O LIJEČENJU UROTELNOG KARCINOMA

Laura Karabaić

### SAŽETAK

Urotelni karcinom (UC) čini 90% tumora bubrežne nakapnice, mokraćovoda i mokraćnog mjehura. Kod uznapredovale bolesti u liječenju se primjenjuje kemoterapija, imunoterapija (inhibitori PD-1/PD-L1 imunodne kontrolne točke) i potporno liječenje.

U ovom radu su prikazane karakteristike 97 pacijenata s UC kojima je u razdoblju od ožujka 2019. do kolovoza 2022. u KBC-u Zagreb određivan PD-L1 status protutijelom SP142, obavezan za selekciju pacijenata pogodnih za primanje atezolizumaba u prvoj liniji liječenja lokalno uznapredovalog ili metastatskog UC. Dobiveni rezultati su uspoređeni s podacima iz drugih istraživanja.

Većinu pacijenata činili su muškarci (69; 71,13%). Pacijenti su bili dobi od 38 do 85 godina (medijan 70). Mokraćni mjehur je bio najčešće primarno sjelo UC, nađen u 61 (62,89%) pacijenata. Zamijećen je znatno veći udio UC gornjeg dijela mokraćnog sustava nego u literaturnim podacima: nakapnice bubrega u 22 (22,68%) pacijenta te mokraćovoda u 8 (8,25%) pacijenata. Kod 57 (58,76%) pacijenata UC je bio lokalno uznapredovao, a kod 36 (37,11%) su bile prisutne udaljene metastaze. U 7 od 22 (31,82%) pacijenta s primarnim sjelom UC u nakapnici bubrega je nađen PD-L1 pozitivan karcinom, dok je kod lokalizacije u mokraćovodu, mokraćnom mjehuru i kod multiplih sjela oko polovice karcinoma PD-L1 pozitivno. Atezolizumab u prvoj liniji liječenja primilo je 6 (6,67%) pacijenata, a imunoterapiju u kasnijim linijama liječenja 40 (44,44%) pacijenata (atezolizumab i nivolumab u omjeru 2,45:1). Ostali pacijenti nisu liječeni imunoterapijom. U prvoj liniji, u skladu sa smjericama, najčešće je primijenjeno liječenje kemoterapijskim protokolima temeljenim na cisplatinu (51 pacijenata; 56,67%) i karboplatini (12 pacijenata; 13,33%). Za 11 pacijenata nisu bile dostupne informacije o ishodu. 7 (8,14%) pacijenata je stabilno bez progresije i bez dodatne terapije nakon primarnog kirurškog liječenja; 30 (34,88%) pacijenata je stabilno na terapiji ili nakon nje, dok je kod 49 (56,98%) pacijenata zabilježena progresija bolesti, smrtni ishod ili su izgubljeni iz praćenja u fazi značajne progresije.

Imunohistokemijsko određivanje PD-L1 statusa pokazalo se korisno za manji broj pacijenata kojima je omogućena primjena imunoterapije u prvoj liniji liječenja, dok je vrijednost ove metode ograničena za pacijente koji su primali imunoterapiju u kasnijim linijama liječenja.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 65 stranica, 24 grafičkih prikaza, 1 tablicu i 47 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Karcinom urotela, imunoterapija, inhibitori kontrolne točke, atezolizumab

Mentor: **Dr. sc. Stela Bulimbašić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Stela Bulimbašić**, *naslovni docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Dr. sc. Ivica Horvatić**, *naslovni docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: lipanj 2023.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Independent courses: Pathophysiology and Pathology  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### IMPORTANCE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL PD-L1 TESTING IN TREATMENT OF UROTHELIAL CARCINOMA

Laura Karabaić

#### SUMMARY

Urothelial carcinoma (UC) accounts for 90% of cancers in renal pelvis, ureter and bladder. Treatment options in advanced disease include chemotherapy, immunotherapy (PD-1/ PD-L1 checkpoint inhibitors) and supportive care. This study included 97 patients with locally advanced and metastatic UC tested with PD-L1 Ventana SP142 assay, between 03/2019 and 08/2022 at University Hospital Centre Zagreb. The test was required for selection of patients with PD-L1 positive tumors, eligible for the first-line treatment with atezolizumab. Obtained results were compared with data from other studies.

The majority of patients were male (69; 71,13%). The age range was 38-85 years (median 70). Urinary bladder was the most common primary site of UC, found in 61 (62,89%) patients, but UC originating from the upper urinary tract were also more frequent than expected: renal pelvis (22; 22,68%) and ureter (8; 8,25%). 57 (58,76%) patients had locally advanced carcinoma, while 36 (37,11%) had metastatic disease. PD-L1 positive UC was detected in 7 of 22 (31,82%) cases originating from renal pelvis, while those arising from ureter, bladder and in multiple sites were PD-L1 positive in roughly half of cases. 6 (6,67%) patients received atezolizumab as a first-line therapy, and 40 (44,44%) patients received immunotherapy in a second or third-line setting (atezolizumab and nivolumab ratio 2,45:1). The rest of the patients weren't treated with immunotherapy. The majority of patients, in compliance with guidelines, received cisplatin-based (51; 56,67%) and carboplatin-based chemotherapy (12; 13,33%) as a first-line treatment. For 11 patients there were no follow-up data. 7 (8,14%) patients after primary surgery show no progression without additional therapy; 30 (34,88%) patients are stable on/after therapy, while 49 (56,97%) patients experienced progression, were lost during severe progression or died of disease.

Immunohistochemical determination of PD-L1 status proved to be useful for a selection of small number of patients eligible for a first-line therapy with atezolizumab, while usefulness was limited for majority of patients who received immunotherapy in a second or third-line setting.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 65 pages, 24 figures, 1 table and 47 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Urothelial cancer, immunotherapy, checkpoint inhibitors, atezolizumab

Mentor: **Stela Bulimbašić, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Stela Bulimbašić, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Ivica Horvatić, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 2023.