



© А.А. Анускина¹, Н.В. Митюшкина¹, В.И. Тюрин¹, Е.В. Преображенская^{1,2}, А.Д. Шестакова¹,
С.С. Шульга¹, Н.А. Бордовская¹, А.С. Шишкина¹, Е.Н. Имянитов^{1,2}

Анализ клинически значимых изменений в генах *FGFR2/3* при уротелиальном раке

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

© А.А. Anuskina¹, N.V. Mitiushkina¹, V.I. Tiurin¹, E.V. Preobrazhenskaya^{1,2}, A.D. Shestakova¹,
S.S. Shulga¹, N.A. Bordovskaya¹, A.S. Shishkina¹, E.N. Imyanitov^{1,2}

Analysis of Clinically Significant *FGFR3* Genomic Alterations in Urothelial Cancer

¹N.N. Petrov National Medicine Research Center of Oncology, St. Petersburg, the Russian Federation

²St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, the Russian Federation

Введение. Долговременные результаты лечения метастатического уротелиального рака остаются неудовлетворительными: 5-летняя выживаемость при этом заболевании составляет менее 15 %. Разработка и внедрение в клиническую практику новых, в том числе таргетных препаратов, а также индивидуализация системной терапии уротелиального рака на основе молекулярно-генетического анализа опухолевой ткани являются актуальными задачами. Эрдафитиниб — новый препарат для лечения местнораспространённого и метастатического уротелиального рака с определёнными генетическими изменениями в рецепторах *FGFR2* и *FGFR3*, был зарегистрирован в России в 2023 г.

Материалы и методы. В настоящей работе нами было изучено распределение клинически значимых мутаций/транслокаций генов *FGFR2/3* на значительной по объёму выборке российских пациентов с уротелиальным раком при помощи собственной тест-системы, разработанной на основе высокочувствительных методов — цифровой капельной ПЦР и ПЦР в реальном времени.

Результаты. Генетические нарушения были обнаружены у 34 из 182 (18,7 %) пациентов. Были выявлены следующие aberrации: мутации в гене *FGFR3* *R248C* (n = 4), *S249C* (n = 16), *G370C* (n = 4) и *Y373C* (n = 8), а также транслокации *FGFR3-TACC3* (*F17;T11*) (n = 2). Данные изменения чаще выявлялись в опухолях верхних мочевых путей: мутации/транслокации были найдены у 5/8 (62,5 %) пациентов с раком почечной лоханки, у 2/6 (33,3 %) пациентов с раком мочеточника и у 21/120 (17,5 %) пациентов с раком мочевого пузыря (p = 0,008). Также наблюдалась ассоциация с возрастом пациентов и тенденция к более частому обнаружению мутаций при локализованной форме заболевания (стадии 1–2).

Выводы. Разработанные методы тестирования мутаций и транслокаций в дальнейшем могут быть использованы в клинической практике для определения чувствительности опухолей к лечению эрдафитинибом.

Introduction. Long-term outcomes of metastatic urothelial cancer remain unsatisfactory: the 5-year survival rate for this disease is less than 15 %. It is important to develop and introduce into clinical practice new drugs, including targeted agents, and the individualization of systemic therapy for urothelial cancer based on molecular genetic analysis of tumor tissue. Erdafitinib, a new drug developed for the treatment of locally advanced and metastatic urothelial cancer with certain genetic alterations in the *FGFR2* and *FGFR3* receptors, was registered in Russia in 2023.

Materials and Methods. This work investigated the distribution of clinically relevant mutations/translocations affecting the *FGFR2/3* genes in a large number urothelial cancer patients in Russia using a new test system developed on the basis of highly sensitive methods, such as digital droplet PCR and real-time PCR.

Results and Conclusion. 34 out of 182 patients (18.7 %) presented genetic aberrations. These aberrations included mutations *R248C* (n = 4), *S249C* (n = 16), *G370C* (n = 4) and *Y373C* (n = 8) in the *FGFR3* gene, and translocation *FGFR3-TACC3* (*F17;T11*) (n = 2). *FGFR3* gene alterations were more frequent in upper urinary tract tumors: mutations/translocations were found in 5/8 (62.5 %) renal pelvic cancer patients, in 2/6 (33.3 %) ureteral cancer patients and in 21/120 (17.5 %) bladder cancer patients (p = 0,008). There was also an association with patient age and a tendency for more frequent detection of mutations in the localized form of the disease (stages 1-2). The developed methods of mutation and translocation testing can be further used in clinical practice to determine the sensitivity of tumors to erdafitinib treatment.

Ключевые слова: уротелиальный рак; рак мочевого пузыря; FGFR3; мутация; транслокация; эрдафитиниб

Для цитирования: Анускина А.А., Митюшкина Н.В., Тюрин В.И., Преображенская Е.В., Шестакова А.Д., Шульга С.С., Бордовская Н.А., Шишкина А.С., Имянитов Е.Н. Анализ клинически значимых изменений в генах *FGFR2/3* при уротелиальном раке. *Вопросы онкологии*. 2024; 70(1): 69–75.-DOI: 10.37469/0507-3758-2024-70-1-69-75

Keywords: urothelial cancer; bladder cancer; FGFR3; mutation; translocation; erdafitinib

For Citation: Anuskina A.A., Mitiushkina N.V., Tiurin V.I., Preobrazhenskaya E.V., Shestakova A.D., Shulga S.S., Bordovskaya N.A., Shishkina A.S., Imyaninov E.N. Analysis of clinically significant FGFR3 genomic alterations in urothelial cancer. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2024; 70(1): 69–75. (In Rus.).-DOI: 10.37469/0507-3758-2024-70-1-69-75

✉ Контакты: Митюшкина Н.В., nmmail@inbox.ru

Введение

Уротелиальный рак — это группа злокачественных новообразований, развивающихся из уротелия — эпителия, выстилающего мочевыводящие пути: чашечно-лоханочную систему почки, мочеточники, мочевой пузырь, уретру. Наиболее часто уротелиальные карциномы локализуются в мочевом пузыре. До 90 % всех случаев рака мочевого пузыря (РМП) представлены уротелиальными новообразованиями [1]. Среди всех онкологических заболеваний у российских пациентов РМП занимает 12 место. РМП значительно чаще встречается у мужчин, чем у женщин: в 2021 г. стандартизованные показатели заболеваемости и смертности среди мужчин в России составили 11,33 и 4,04, а среди женщин — 2,02 и 0,58 на 100 тыс. человек соответственно [2].

Стандартом консервативного лечения распространённого и метастатического уротелиального рака является терапия на основе препаратов платины [3–5]. Однако в связи с высокой токсичностью платиносодержащая терапия может быть назначена далеко не всем пациентам. В настоящее время в качестве терапии первой и второй линий применяются также ингибиторы контрольных точек иммунного ответа (ИКТО) — пембролизумаб и атезолизумаб [3–5]. Несмотря на определённые успехи, долговременные результаты лечения метастатического уротелиального рака остаются неудовлетворительными: 5-летняя выживаемость при этом заболевании составляет менее 15 % [3, 4]. В связи с этим актуальными задачами являются разработка и внедрение в клиническую практику новых, в т. ч. таргетных препаратов, а также индивидуализация системной терапии уротелиального рака на основе молекулярно-генетического анализа опухолевой ткани.

В 2019 г. управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) был одобрен первый препарат из группы специфических ингибиторов киназ FGFR1-4 — эрдафитиниб. Данный препарат назначается при местнораспространённом и метастатическом уротелиальном раке с определёнными генетическими изменениями в рецепторах FGFR2 и FGFR3 [6, 7]. Для отбора паци-

ентов на лечение эрдафитинибом одновременно с лекарственным препаратом был зарегистрирован набор реагентов theascreen FGFR RGQ RT-PCR Kit (QIAGEN Manchester Ltd., Германия). Набор позволяет выявлять четыре наиболее часто встречающиеся в уротелиальных опухолях мутации в гене *FGFR3*: *R248C*, *S249C*, *G370C* и *Y373C*, а также транслокации *FGFR3-TACC3v1 (F17;T11)*, *FGFR3-TACC3v3 (F17;T10)*, *FGFR3-BALAP2L1 (F17;B2)*, *FGFR2-BICC1 (F17;B3)* и *FGFR2-CASP7 (F17;C2)*. Мутации в гене *FGFR3* присутствуют приблизительно в 50 % случаев неинвазивного уротелиального рака, однако их встречаемость снижается с возрастанием стадии заболевания [8, 9]. Кроме того, такие мутации чаще обнаруживаются в опухолях верхних мочевых путей [10, 11]. Эрдафитиниб в ходе клинических испытаний показал эффективность у 40 % пациентов с местнораспространенной или метастатической уротелиальной карциномой с *FGFR*-мутациями [6, 7]. В 2023 г. эрдафитиниб был зарегистрирован и в России. В настоящей работе нами была поставлена задача изучить распределение клинически значимых мутаций/транслокаций у 196 российских пациентов при помощи собственной тест-системы, разработанной на основе высокочувствительных методов — цифровой капельной ПЦР и ПЦР в реальном времени.

Материалы и методы

В исследование были включены образцы уротелиального рака от 196 пациентов, направленных на молекулярно-генетическое тестирование в НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова в 2022–2023 гг. Образцы опухолевой ткани, фиксированные в формалине и залитые парафином, были подвергнуты мануальной микродиссекции опухолевых клеток. Нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) были выделены из срезов с помощью фенол-хлороформной экстракции [12].

Для исследования однонуклеотидных замен использовалась цифровая капельная ПЦР. Для проведения одной реакции брали 2 мкл образца нуклеиновых кислот, 10 мкл ddPCR Supermix for Probes, праймеры и пробы в финальной концентрации 0,5 мкМ и воду в количестве, необходимом для достижения объёма

реакции 20 мкл. Генерация «капель» производилась с использованием устройства QX200 Droplet Generator. ПЦР проходила при следующих условиях: 95 °С, 10 мин. (активация фермента), 50 циклов: 94 °С 30 сек., 58 °С 60 сек., затем 98 °С, 10 мин. Считывание флюоресценции и анализ полученных данных производились при помощи оборудования QX200 Droplet Digital PCR System. Последовательности всех использованных в работе праймеров и TaqMan-зондов приведены в табл. 1.

Для получения кДНК на основе РНК проводилась реакция обратной транскрипции с использованием RevertAid Reverse Transcriptase.

Качество кДНК проверяли при помощи ПЦР-амплификации фрагмента гена «домашнего хозяйства», *SDHA*. Исследование транслокаций производилось методом ПЦР в реальном времени. В состав реакции входили 1 × GeneAmp PCR Buffer I, 250 мкМ каждого дНТФ, по 200 нМ каждого праймера и зонда, 2,5 мМ MgCl₂, а также 1 мкл образца нуклеиновых кислот и 1 U полимеразы TaqM. Реакция проводилась в объеме 20 мкл. Программа амплификации включала фазу активации фермента (95 °С, 10 мин.) и 50 циклов ПЦР (95 °С 15 сек., 58 °С 1 мин.). ПЦР-амплификация проводилась на приборе для ПЦР в реальном времени CFX96.

Таблица 1. Последовательности праймеров и проб

Мутация	Праймер / проба	Последовательность олигонуклеотида
<i>FGFR3 p.R248C</i>	Праймер 1	CCCTGAGCGTCATCTGC
	Праймер 2	GCGTCACTGTACACCTTGCA
	Проба WT	FAM-CGCTCCCCGCACCGGCCCAT-BHQ1
	Проба MUT	JOE-TGCTCCCCGCACCGGCCCAT-BHQ1
<i>FGFR3 p.S249C</i>	Праймер 1	CCCTGAGCGTCATCTGC
	Праймер 2	GCGTCACTGTACACCTTGCA
	Проба WT	FAM-CGCTCCCCGCACCGGCCCAT-BHQ1
	Проба MUT	JOE-CGCTGCCCCGCACCGGCCCAT-BHQ1
<i>FGFR3 p.G370C</i>	Праймер 1	ATGTCTTTGCAGCCGAGGA
	Праймер 2	ATGAACAGGAAGAAGCCAC
	Проба WT	FAM-TGCATACACACTGCCCGCC-BHQ1
	Проба MUT	JOE-TGCATACACACTGCACGCC-BHQ1
<i>FGFR3 p.Y373C</i>	Праймер 1	ATGTCTTTGCAGCCGAGGA
	Праймер 2	ATGAACAGGAAGAAGCCAC
	Проба WT	FAM-TGCATACACACTGCCCGCC-BHQ1
	Проба MUT	JOE-TGCACACACACTGCCCGCC-BHQ1
<i>FGFR3-BAIAP2L1 (F17;B2)</i>	Праймер 1	CAGAGGCCACCTTCAAG
	Праймер 2	CAGCCCAGGATTGAACTGT
	Проба	FAM-TGTCCTTACCGTGACGTCCACCGA-BHQ1
<i>FGFR3-TACC3 (F17;T10)</i>	Праймер 1	CAGAGGCCACCTTCAAG
	Праймер 2	AACACCTGGGTGTGGCCTGGCA
	Проба	FAM-TGTCCTTACCGTGACGTCCACCGA-BHQ1
<i>FGFR3-TACC3 (F17;T11)</i>	Праймер 1	CAGAGGCCACCTTCAAG
	Праймер 2	GTTCTCCTCCTGTGTCGCCTT
	Проба	FAM-TGTCCTTACCGTGACGTCCACCGA-BHQ1
<i>FGFR2-BICC1 (F17;B3)</i>	Праймер 1	CCTCCCAGAGACCAAC
	Праймер 2	CAAGCAATCTGCGTATTTGT
	Проба	FAM-AATTCGATCCAAGTCTTCTACCAACTGCTTGA-BHQ1
<i>FGFR2-CASP7 (F17;C2)</i>	Праймер 1	CCTCCCAGAGACCAAC
	Праймер 2	GTGTTCTTTCCAAGTGCCA
	Проба	FAM-AATTCGATCCAAGTCTTCTACCAACTGCTTGA-BHQ1
<i>SDHA</i> (контроль наличия кДНК)	Праймер 1	CCACTCGCTATTGCACACC
	Праймер 2	ATCCAAGGCAAAATACTCCAC
	Проба	JOE-CTGGTATCATATCGCAGAGACC-BHQ1

Для статистической обработки данных использовалась свободная программная среда R [13]. Для анализа различий в распределении групп пациентов по возрасту применялся критерий Манна – Уитни, а для оценки распределения пациентов между группами по полу, стадиям заболевания, локализации опухоли и статусу курения использовался точный критерий Фишера.

Результаты

Для анализа мутаций *p.R248C*, *p.S249C*, *p.G370C*, *p.Y373C* в гене *FGFR3*, и транслокаций *FGFR3-TACC3 (F17;T10)*, *FGFR3-TACC3 (F17;T11)*, *FGFR3-BAIAP2L1 (F17;B2)*, *FGFR2-CASP7 (F17;C2)*, наличие которых ассоциировано с чувствительностью уротелиальных опухолей к эрдафитинибу и другим FGFR-ингибиторам, были разработаны молекулярно-генетические тесты на основе цифровой капельной ПЦР и ПЦР в реальном времени (рисунок). С помощью этих тестов были исследованы образцы уротелиальной карциномы от 196 пациентов. В 14/196

(7,1 %) случаев результат получить не удалось из-за низкого качества нуклеиновых кислот в образце.

Характеристики пациентов и основные результаты анализов представлены в табл. 2. Генетические нарушения были обнаружены у 34 из 182 (18,7 %) пациентов. Основную часть нарушений (94,1 %) составляли однонуклеотидные замены. Лишь у двух пациентов были выявлены транслокации. В обоих случаях был выявлен вариант *FGFR3-TACC3 (F17;T11)*; другие варианты транслокаций в нашем исследовании обнаружены не были.

Пациенты, в опухолях которых были найдены мутации/транслокации гена *FGFR3*, оказались старше пациентов без таких нарушений (медиана возраста составляла 68,5 и 65 лет соответственно, $p = 0,043$). Мутации/транслокации были обнаружены у 24/128 (18,8 %) мужчин и у 10/54 (18,5 %) женщин ($p = 1,0$). У пациентов с 1–2 стадиями заболевания мутации/транслокации обнаруживались чаще, чем у пациентов с 3–4 стадиями: в 12/49 (24,5 %) и 11/84

Таблица 2. Характеристики пациентов (n = 196)

Параметр	Количество случаев (%)
Возраст	
Медиана (диапазон)	65,5 (34–92)
Пол	
Мужчины	138 (70,4 %)
Женщины	58 (29,6 %)
Диагноз	
Рак мочевого пузыря (C67)	130 (66,3 %)
Рак мочеточника (C66)	6 (3,1 %)
Рак почечных лоханок (C65)	11 (5,6 %)
Уротелиальный рак без уточнения	49 (25 %)
Стадия	
1–2	54 (27,6 %)
3–4	91 (46,4 %)
Нет данных	51 (26,0 %)
Статус курения	
Курящие	17 (8,7 %)
Не курящие	37 (18,9 %)
Нет данных	142 (72,4 %)
Результаты тестирования	
<i>FGFR3 R248C</i>	4 (2 %)
<i>FGFR3 S249C</i>	16 (8,2 %)
<i>FGFR3 G370C</i>	4 (2 %)
<i>FGFR3 Y373C</i>	8 (4,1 %)
<i>FGFR3-TACC3 (F17;T11)</i>	2 (1 %)
Нет мутаций / транслокаций	148 (75,5 %)
Результат получить не удалось	14 (7,1 %)

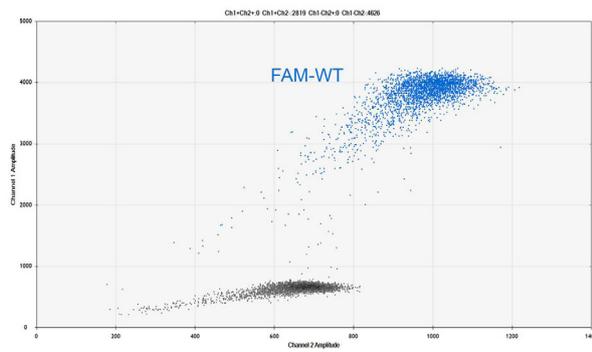
(13,1 %) случаях соответственно; однако эти различия не были статистически достоверными ($p = 0,103$). Аберрации гена *FGFR3* достоверно чаще выявлялись у пациентов с опухолями верхних мочевых путей: мутации/транслокации были найдены у 5/8 (62,5 %) пациентов с раком почечной лоханки, у 2/6 (33,3 %) пациентов с раком мочеточника и у 21/120 (17,5%) пациентов с раком мочевого пузыря ($p = 0,008$). Статус курения был известен в 54 случаях. Мутации/транслокации были обнаружены у 1/16 (6,3 %) куривших и у 7/37 (18,9 %) не куривших пациентов ($p = 0,410$).

Обсуждение

Для анализа уротелиальных опухолей нами был разработан метод тестирования клинически значимых нарушений в генах *FGFR3* и *FGFR2* на основе цифровой капельной ПЦР и ПЦР в реальном времени. По спектру выявляемых нарушений, данный метод является полным аналогом системы theascreen FGFR RGQ RT-PCR Kit. Цифровая капельная ПЦР — метод, харак-

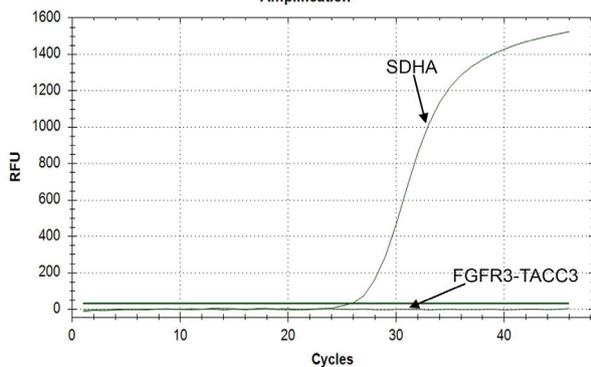
теризующийся высокой чувствительностью, позволяющий выявлять мутации, представленные в малом количестве в изучаемом образце [14]. Благодаря этому мутации могут быть успешно выявлены даже в образцах с малым процентом опухолевых клеток. При тестировании транслокаций, однако, использование цифровой ПЦР не требуется: т. к. при перестройках формируется новая нуклеотидная последовательность, отсутствующая в геномах/транскриптомах неопухолевых клеток, избыток нормальной ткани в образце не является препятствием к выявлению даже единичных молекул «слитных» транскриптов при помощи обычной ПЦР или ПЦР в реальном времени.

С помощью разработанных тестов были исследованы образцы уротелиальных опухолей, полученные от 196 пациентов. Мутации/транслокации были обнаружены у 34 из 182 пациентов (18,7 %), которым удалось выполнить анализ. Частота выявленных генетических нарушений в целом соответствует данным литературы. Так, в работе S.J. Ross и соавт. (2016) нарушения, затрагивающие ген *FGFR3*, были

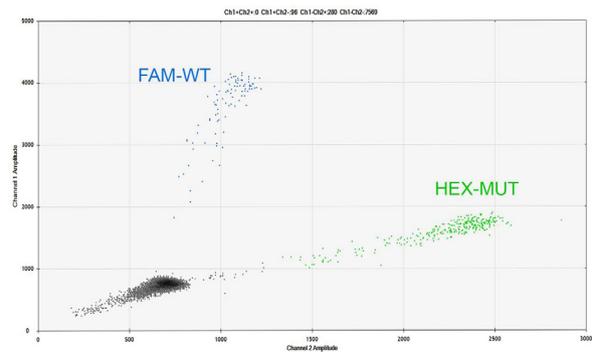


А

Amplification

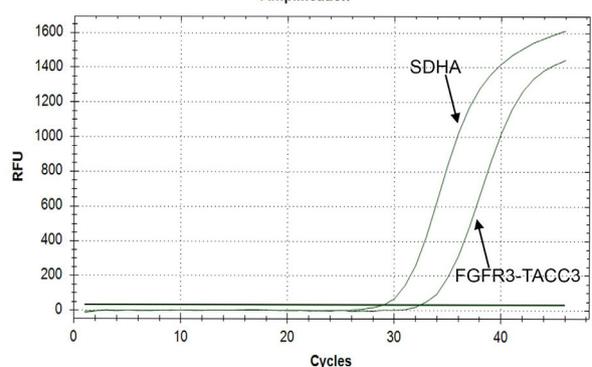


В



Б

Amplification



Г

Примеры анализа мутаций и транслокаций

А, Б — тестирование мутации *FGFR3* p.S249C при помощи цифровой капельной ПЦР. При отрицательном результате теста (А) регистрируется только сигнал от красителя FAM, которым помечен зонд, специфичный к нормальному аллелю (WT). При положительном результате (Б) в части капель регистрируется флуоресценция красителя HEX, которым помечен зонд, специфичный к мутантному аллелю (MUT); В, Г — тестирование на наличие транслокации *FGFR3-TACC3* (F17;T11). При отрицательном результате (В) амплификации в лунке с праймерами, специфичными к данному варианту транслокации не происходит; при этом кривая амплификации в лунке с праймерами к контрольному фрагменту гена *SDHA* пересекает пороговую прямую (threshold) до 35 цикла ПЦР, что свидетельствует о наличии достаточного количества кДНК в исследуемом образце. При положительном результате (Г) регистрируется кривая амплификации в лунке с праймерами, специфичными к тестируемому варианту транслокации

выявлены в 63/295 (21,3 %) уротелиальных карцином, а в исследовании T. Helsten и соавт. (2016) — в 28/126 (22 %) опухолей этого типа [9, 15]. Следует отметить, что в обеих процитированных работах использовались данные, полученные при помощи секвенирования нового поколения (NGS) и спектр выявляемых нарушений был значительно шире, чем в проведенном нами исследовании: он включал не только редкие варианты мутаций и транслокаций, но и амплификации гена. В нашем исследовании мутации достоверно чаще выявлялись в опухолях верхних мочевых путей, наблюдалась тенденция к более частому их обнаружению у пациентов с локализованной формой заболевания (стадия 1–2). Эти ассоциации также ранее отмечались в литературе [16–18]. Нами были выявлены случаи с каждым из четырёх типов тестируемых однонуклеотидных замен в гене *FGFR3* (*R248C*, *S249C*, *G370C* и *Y373C*). В то же время среди исследованных образцов было обнаружено всего два случая с *FGFR*-транслокациями; в обоих был идентифицирован вариант *FGFR3-TACC3* (*F17;T11*) наиболее частый, согласно данным литературы [7].

Заключение

В современной онкологии возрастает значение молекулярно-генетической диагностики [19]. В связи с появлением в клинической практике нового класса препаратов — *FGFR*-ингибиторов, требуется проводить разработку и валидацию методов тестирования нарушений в генах *FGFR1-4* [20]. В настоящем исследовании было изучено распределение клинически значимых изменений генов *FGFR2/3* на значительной по объёму выборке пациентов с уротелиальным раком в России. Разработанные методы тестирования мутаций и транслокаций в дальнейшем могут быть использованы в клинической практике для определения чувствительности опухолей к лечению *FGFR*-ингибитором эрдафитинибом.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Conflict of interest

The authors declare no apparent and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Протокол № 11/282 от 28.09.2022.

Все процедуры с вовлечением больных были проведены в соответствии с Хельсинкской декларацией по правам человека в редакции 2013 г. Все больные подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of NMRC of Oncology named after N.N. Petrov of MoH of Russia. Protocol № 11/282 dated 28.09.2022.

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of Declaration of Helsinki Protocol (2013). All patients gave written informed consent to participate in the study.

Финансирование

Работа была поддержана грантом РФФ № 22-15-00487.

Funding

The work was funded by RSF grant № 22-15-00487.

Участие авторов:

Анускина А.А. — разработка методов, проведение экспериментов, сбор клинических данных, написание статьи; Митюшкина Н.В. — планирование исследования, анализ результатов, написание статьи;

Тюрин В.И. — планирование исследования, разработка методов, анализ результатов;

Преображенская Е.В. — планирование исследования, разработка методов;

Шестакова А.Д. — отбор пациентов, микродиссекция опухолевого материала;

Шульга С.С., Бордовская Н.А., Шишкина А.С. — сбор клинических данных, проведение экспериментов;

Имянитов Е.Н. — планирование исследования, редактирование текста статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Authors' contributions

Anuskina A.A. — developing methods, conducting experiments, collecting clinical data, writing the article;

Mitiushkina N.V. — developing the research design, analyzing data, writing the article;

Tiurin V.I. — developing the research design and methods, analyzing data;

Preobrazhenskaya E.V. — developing the research design and methods;

Shestakova A.D. — selecting patients, dissecting tumor tissue;

Shulga S.S., Bordovskaya N.A., Shishkina A.S. — collecting clinical data, conducting experiments;

Imyanitov E.N. — developing the research design, revising and editing the article.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразил(и) согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

All authors have approved the final version of the article before publication, agreed to assume responsibility for all aspects of the work, implying proper review and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Miyazaki J., Nishiyama H. Epidemiology of urothelial carcinoma. *Int J Urol.* 2017; 24(10): 730-734.-DOI: <https://doi.org/10.1111/iju.13376>.
- Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2022; 252 с. URL: https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2022/11/zlokachestvennye-novoobrazovaniya-v-rossii-v-2021-g_zabolevaemost-i-smertnost.pdf.

- ISBN: 978-5-85502-280-3. [Ed. by Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. Malignant neoplasms in Russia in 2021 (morbidity and mortality). Moscow: P.A. Herzen MNIIOI - a branch of FGBU "NMRC Radiology" of the Ministry of Health of Russia. 2022; 252. URL: https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2022/11/zlokachestvennye-novoo-brazovaniya-v-rossii-v-2021-g_zabolevaemost-i-smernost.pdf. ISBN: 978-5-85502-280-3. (In Rus)].
3. Гафанов Р.А., Дзидзария А.Г., Кравцов И.Б., Фастовец С.В. Системная терапия метастатического уротелиального рака: современные стандарты и рекомендации по лечению. ПМЖ. Медицинское обозрение. 2018; 2(6): 28-35. URL: <https://www.rusmedreview.com/upload/iblock/f9/28-35.pdf>. [Gafanov R.A., Dzidzaria A.G., Kravtsov I.B., Fastovets S.V. Systemic therapy of metastatic urothelial cancer: current standards and treatment guidelines. Russian Medical Inquiry = RMZh. Meditsinskoe Obozrenie. 2018; 6: 28-35. URL: <https://www.rusmedreview.com/upload/iblock/f9/28-35.pdf>. (In Rus)].
 4. Румянцев А.А. Лечение метастатического рака мочевого пузыря: исторические и современные аспекты. Медицинский совет. 2022; 16(22): 52-57.-DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-22-52-57>. [Rumyantsev A.A. Treatment of metastatic bladder cancer: current and historical aspects. Meditsinskiy sovet = Medical Council. 2022; 22: 52-57.-DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-22-52-57>. (In Rus)].
 5. Клинические рекомендации. Рак мочевого пузыря. URL: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2022/03/rak-mochevogo-puzyrya.pdf>. [Clinical guidelines. Bladder cancer. URL: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2022/03/rak-mochevogo-puzyrya.pdf>. (In Rus)].
 6. Roubal K., Myint Z.W., Kolesar J.M. Erdafitinib: A novel therapy for FGFR-mutated urothelial cancer. Am J Health Syst Pharm. 2020; 77(5): 346-351.-DOI: <https://doi.org/10.1093/ajhp/zxz329>.
 7. Loriot Y., Necchi A., Park S.H., et al. Erdafitinib in Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma. N Engl J Med. 2019; 381(4): 338-348.-DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1817323>.
 8. Hernández S., López-Knowles E., Lloreta J., et al. Prospective study of FGFR3 mutations as a prognostic factor in nonmuscle invasive urothelial bladder carcinomas. J Clin Oncol. 2006; 24(22): 3664-3671.-DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.1771>.
 9. Ross J.S., Wang K., Khaira D., et al. Comprehensive genomic profiling of 295 cases of clinically advanced urothelial carcinoma of the urinary bladder reveals a high frequency of clinically relevant genomic alterations. Cancer. 2016; 122(5): 702-711.-DOI: <https://doi.org/10.1002/cncr.29826>.
 10. Necchi A., Madison R., Pal S.K., et al. Comprehensive Genomic Profiling of Upper-tract and Bladder Urothelial Carcinoma. Eur Urol Focus. 2021; 7(6): 1339-1346.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.euf.2020.08.001>.
 11. Sfakianos J.P., Cha E.K., Iyer G., et al. Genomic Characterization of Upper Tract Urothelial Carcinoma. Eur Urol. 2015; 68(6): 970-977.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.07.039>.
 12. Chomczynski P., Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloro-form extraction: twenty-something years on. Nat Protoc. 2006; 1(2): 581-585.-DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2006.83>.
 13. R Core Team (2018). R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org>.
 14. Olmedillas-López S., García-Arranz M., García-Olmo D. Current and Emerging Applications of Droplet Digital PCR in Oncology. Mol Diagn Ther. 2017; 21(5): 493-510.-DOI: <https://doi.org/10.1007/s40291-017-0278-8>.
 15. Helsten T., Elkin S., Arthur E., et al. The FGFR Landscape in Cancer: Analysis of 4,853 Tumors by Next-Generation Sequencing. Clin Cancer Res. 2016; 22(1): 259-267.-DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-3212>.
 16. Necchi A., Madison R., Pal S.K., et al. Comprehensive Genomic Profiling of Upper-tract and Bladder Urothelial Carcinoma. Eur Urol Focus. 2021; 7(6): 1339-1346.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.euf.2020.08.001>.
 17. Rizzo A., Mollica V., Santoni M., Massari F. Clinicopathological features of FGFR3 - mutated upper tract urothelial carcinoma: a genomic database analysis. Clin Genitourin Cancer. 2022; 20(5): 482-487.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2022.06.013>.
 18. Billerey C., Chopin D., Aubriot-Lorton M.H., et al. Frequent FGFR3 mutations in papillary non-invasive bladder (pTa) tumors. Am J Pathol. 2001; 158(6): 1955-1959.-DOI: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64665-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64665-2).
 19. Aleksakhina S.N., Imyaninov E.N. Cancer therapy guided by mutation tests: current status and perspectives. Int J Mol Sci. 2021; 22(20): 10931.-DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms222010931>.
 20. Митюшкина Н.В., Имянитов Е.Н. Молекулярная диагностика нарушений в генах семейства FGFR. Вопросы онкологии. 2023; 69(3): 364-372.-DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2023-69-3-364-372>. [Mitiushkina N.V., Imyaninov E.N. Molecular diagnostics of aberrations in the FGFR family genes. Voprosy Onkologii = Problems in Oncology. 2023;69(3):364-372.-DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2023-69-3-364-372>. (In Rus)].

Поступила в редакцию 15.09.2023
 Прошла рецензирование 18.10.2023
 Принята в печать 19.10.2023

Received 15.09.2023

Reviewed 18.10.2023

Accepted for publication 19.10.2023

Сведения об авторах / Author's information / ORCID

Анускина Александра Алексеевна / Anuskina Aleksandra A. / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6657-4443>.
 Митюшкина Наталья Владимировна / Mitiushkina Natalya V. / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0179-3191>.
 Тюрин Владислав Ильич / Tiurin Vladislav I. / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0157-5952>.
 Преображенская Елена Васильевна / Preobrazhenskaya Elena V. / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7800-013X>.
 Шестакова Анна Дмитриевна / Shestakova Anna D. / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0649-9693>.
 Шульга Софья Сергеевна / Shulga Sofya S. / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0009-2349-4094>.
 Бордовская Наталия Александровна / Bordovskaya Natalia A. / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-5583-4221>.
 Шишкина Анна Сергеевна / Shishkina Anna S. / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-4667-1993>.
 Имянитов Евгений Наумович / Imyaninov Evgeniy N. / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>.

