

**IMUNOTERAPIA INTRAVESICAL COM O BACILO
CALMETTE-GUÉRIN**



ARTIGO DE REVISÃO

ANA CATARINA DE OLIVEIRA MARINHO *

*** FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA
AZINHAGA DE SANTA COMBA, CELAS
3000-548 COIMBRA, PORTUGAL**

E-MAIL DO AUTOR: olivmarinho@hotmail.com

Índice

I - Resumo	3
Abstract	4
II - Introdução.....	5
III - Material e Métodos	6
IV – Enquadramento Geral dos Carcinomas Vesicais Não Musculo-Invasivos.....	6
A. Epidemiologia	6
B. Apresentação Clínica e Exames Auxiliares de Diagnóstico.....	8
C. Exame Anatomo-Patológico e Estadiamento	9
D. Tratamento.....	13
V – Resenha Histórica.....	15
VI- Mecanismos de Ação Antitumoral e Potenciais Alvos Terapêuticos.....	17
VII - Indicações e Esquema Terapêutico	21
VIII - Definição e Razões para a Falência	24
IX - Marcadores de Resposta.....	25
A. Perfil de Secreção de Citocinas	25
B. Expressão Génica das Células Tumorais.....	26
C. Padrão de Infiltração Vesical por Células Inflamatórias	28
X - Intolerância.....	29
XI – Terapêuticas Conservadoras Alternativas.....	34
A. Imunoterapia Intravesical	34
B. Quimioterapia Intravesical	37
C. Quimioimunoterapia Intravesical	42
XII - Cistectomia no Carcinoma da Bexiga Não Musculo-Invasivo	43
XIII - Conclusão.....	46
XIV - Agradecimentos	47
XV - Abreviaturas	48
XVI - Referências Bibliográficas	49

I - Resumo

Introdução: O carcinoma da bexiga é a neoplasia mais frequente do trato urinário, sendo que estimativas de 2009 apontaram-no como a oitava causa de morte por cancro. Aproximadamente 75-85% são tumores não musculo-invasivos, sendo classificados em grupos de risco. Está recomendada a ressecção e terapêutica intravesical com BCG como primeira linha nos carcinomas de alto risco, sendo controversa a indicação quando o risco é intermédio. A taxa de falência com esta abordagem é de 30-40%.

Objectivo: Esta revisão pretende rever as indicações, os mecanismos de ação antitumoral, as causas de insucesso, os marcadores de resposta à terapia com BCG, identificar agentes de imuno e de quimioterapia alternativos e apontar as situações imperativas de cistectomia.

Material e Métodos: Realizou-se uma revisão sistemática da literatura científica, sendo seleccionados artigos de revisão, originais e relatos de caso publicados entre 2002 e 2012. A pesquisa teve como motor de busca a PubMed e decorreu entre Março de 2012 e Janeiro de 2013.

Resultados: É consensual o recurso ao BCG em carcinomas de alto risco. Após as instilações do bacilo ocorre acumulação de macrófagos, linfócitos e neutrófilos e citocinas de perfil Th1 responsáveis pela sua atividade antitumoral. São causas de insucesso ao tratamento a intolerância, o uso de uma dose inadequada, a presença de doença metastática oculta aquando do diagnóstico do tumor primário, o contacto por tempo insuficiente com a mucosa vesical e a resistência natural devido a polimorfismos genéticos. O estudo da resposta imunológica despoletada pelo bacilo permitiu apontar como marcadores de resposta determinados perfis de secreção de citocinas, de infiltração por células inflamatórias e de expressão génica nas células tumorais. Nenhum agente de imuno ou de quimioterapia intravesical se encontra indicado como *gold standard* após falência do BCG, tendo sido

investigada a administração de INF- α e BCG, macrófagos autólogos ativados *in vitro*, quitosano/IL-12, Gencitabina, Epirrubicina e Valrubicina. A cistectomia é indicada em tumores de alto risco quando a recidiva surge no primeiro ano após tratamento com o BCG.

Conclusão: O mecanismo de ação do BCG não está completamente elucidado, mas o seu conhecimento exato permitirá idealizar novas estratégias terapêuticas e delinear marcadores de resposta que permitirão personalizar o tratamento.

Palavras-chave Carcinoma não musculo-invasivo da bexiga, Imunoterapia intravesical, BCG, cistectomia.

Abstract

Introduction: Bladder cancer is the most common neoplasm of the urinary tract, and 2009 estimates indicated it as the eighth leading cause of cancer death. Approximately 75-85% are non-muscle-invasive tumors and are classified into risk groups. It is recommended resection and BCG therapy as first line in high risk carcinomas. This treatment is controversial when the risk is intermediate. The failure rate with this approach is 30-40%.

Objective: This review aims to analyse the indications, mechanisms of action, causes of failure, markers of response to BCG therapy, to identify alternative agents of immune and chemotherapy and point indications to cystectomy.

Material and Methods: We performed a systematic review of scientific literature, and selected review articles, case reports and original articles published between 2002 and 2012. The source of research was PubMed and it was done between March 2012 and January 2013.

Results: It is consensual the use of BCG in high-risk carcinomas. After the instillation of the bacillus, accumulation of macrophages, lymphocytes, neutrophils and Th1 cytokines responsible for its antitumor activity, occur. Causes of treatment failure are: intolerance, the use of an incorrect dose, the presence of occult metastatic disease at diagnosis of the primary tumor, an insufficient contact time with bladder mucosa and natural resistance due to genetic

polymorphisms. The study of immune response triggered by the bacillus allowed point as response markers specific profiles of cytokine secretion, inflammatory cell infiltration and gene expression in tumor cells. No intravesical agent of immuno or chemotherapy is indicated as *gold standard* after failure of BCG; the administration of INF- α and BCG, autologous activated macrophages *in vitro*, chitosan/IL-12, Gemcitabine, Epirubicin and Valrubicin have been investigated. Cystectomy is indicated in high risk tumors when the relapse occurs in the first year after treatment with BCG.

Conclusion: The antitumoral mechanism of action of BCG is not fully elucidated, but its exact knowledge will devise new therapeutic strategies and outline response markers that allow to personalize the treatment.

Keywords: Non-muscle invasive bladder cancer, intravesical immunotherapy, BCG, cystectomy.

II – Introdução

O carcinoma da bexiga é a neoplasia mais frequente do trato urinário, sendo que estimativas de 2009 apontaram-no como a oitava causa de morte por cancro no mundo. A baixa mortalidade relativamente à prevalência é devida à sua apresentação clínica alarmante que conduz à procura de cuidados médicos numa fase inicial da carcinogénese. Desta forma, 75-80% dos carcinomas da bexiga diagnosticados são não musculo-invasivos. A necessidade e as características do seu seguimento justificam o enorme impacto económico desta neoplasia para o Sistema Nacional de Saúde.

De acordo com o risco de recidiva e de progressão, os carcinomas vesicais não musculo-invasivos (CVNMI) organizam-se em carcinomas de baixo, intermédio e de alto risco. As *guidelines* da Associação Europeia de Urologia (AEU) de 2012 recomendam a ressecção transuretral do tumor vesical (RTU-TV) e o tratamento adjuvante através de instilações de BCG nos carcinomas de alto risco. A recomendação relativamente a carcinomas

de risco intermédio não é consensual. Contudo, a imunoterapia com o BCG apresenta uma taxa de falência de 30 a 40%, sendo que não se encontra estabelecido o tratamento recomendado nesta situação.

Esta revisão pretende rever as indicações, os mecanismos de ação antitumoral, as causas de insucesso, os marcadores de resposta à terapia com BCG, identificar agentes de imuno e de quimioterapia alternativos e apontar as situações imperativas de cistectomia.

III - Material e Métodos

Foi realizada uma revisão sistemática da literatura científica, incluindo-se artigos de revisão, originais e relatos de caso. A pesquisa bibliográfica teve como motor de busca a PubMed e decorreu entre Março de 2012 e Janeiro de 2013. Foram inseridos os termos “bladder cancer” e “BCG immunotherapy in bladder cancer”, selecionando-se artigos publicados desde 2002 até 2012.

IV – Enquadramento Geral dos Carcinomas Vesicais Não Musculo-

Invasivos

A. Epidemiologia

O carcinoma da bexiga é a neoplasia mais frequente do trato urinário, é a quarta mais comum no homem (1), sendo a razão entre homens e mulheres afetados de 4:1. A incidência mundial é de 10,1 por 100 000 homens e de 2,5 por 100 000 mulheres (2). Na Europa a incidência é mais elevada a nível da Europa Ocidental e da Europa do Sul, segue-se a Europa do Norte e atingem-se os menores valores na Europa Oriental. Ocupou a oitava posição relativamente a mortalidade por cancro em 2009, sendo a taxa de mortalidade de 4 por 100 000 homens e de 1,1 por 100 000 mulheres. Na Europa as taxas de mortalidade sofreram redução na última década, 16% nos homens e 12% nas mulheres (3). Em Portugal é o sexto cancro mais frequente (Gráfico 1), tendo-se registado 1935 novos casos e 721 mortes em 2008 pelo que foi a nona causa de morte por cancro (Gráfico 2). Os Gráficos 3 e 4 ilustram a

incidência e a mortalidade das 10 neoplasias mais frequentes no homem em Portugal em 2008, respetivamente.

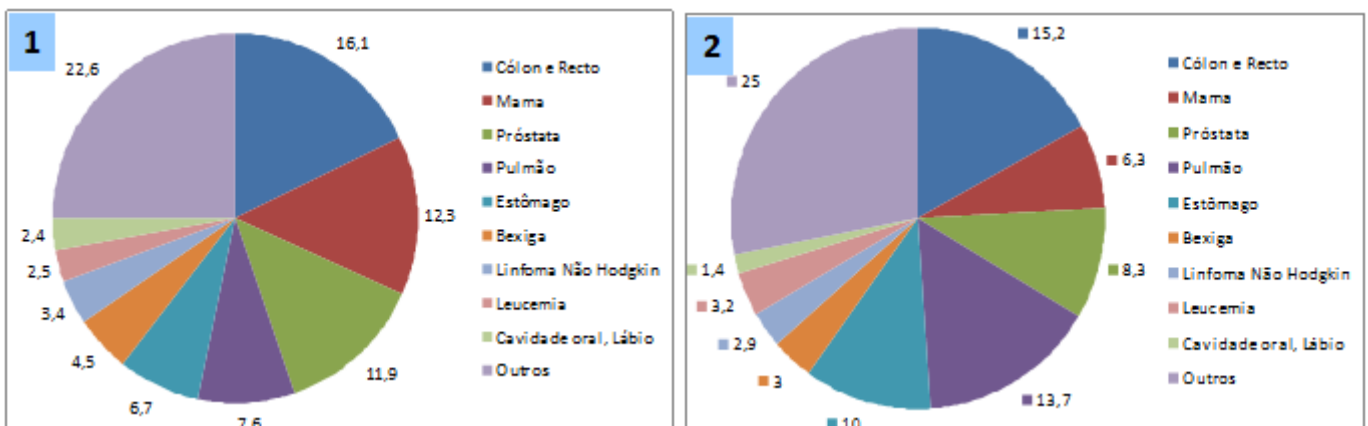


Gráfico 1 e 2 – Incidência e Mortalidade das 10 Neoplasias mais frequentes em Portugal em 2008

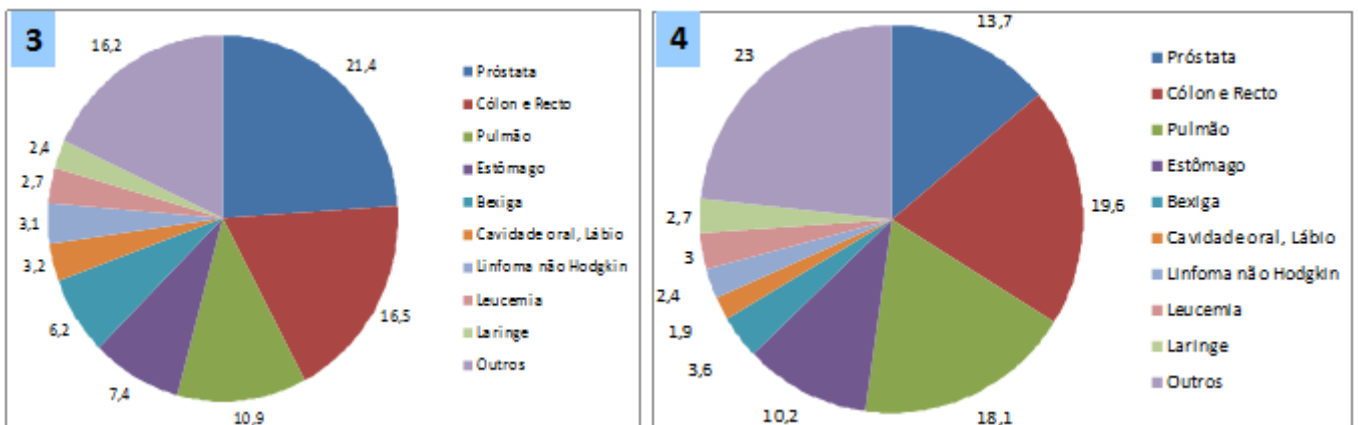


Gráfico 3 e 4 – Incidência e Mortalidade das 10 Neoplasias mais frequentes no Homem em Portugal em 2008

A razão entre a população caucasiana e a negra afetada é de 2:1, sendo a idade média na altura do diagnóstico de 70 anos, independentemente do sexo (4). Os raros casos em adultos jovens são de carcinomas de células de transição bem diferenciados, cujo prognóstico é indubitavelmente melhor.

Fatores de risco estabelecidos incluem o género masculino, tabagismo, exposição a arilaminas, radiação ionizante, ciclofosfamida e analgésicos contendo fenacetina. As aminas aromáticas foram o primeiro agente carcinogénico identificado. São grupos profissionais de risco trabalhadores de indústrias de processamento de ferro e alumínio, de fabrico de gás e alcatrão, pintores e trabalhadores em imprensas (3). O tabaco parece ser o principal fator de

risco, possuindo os fumadores, principalmente com cargas tabágicas de 40 UMA, um risco quadruplicado para desenvolvimento de carcinoma e apresentando maiores taxas de mortalidade. Nos doentes que cessam o consumo de tabaco, o risco reduz-se atingindo níveis semelhantes a indivíduos nunca fumadores, efeito alcançado apenas a longo prazo. Para além do referido, estudos apontam que a cessação tabágica diminui a taxa de recidiva. O potencial carcinogénico é secundário a químicos da sua composição, 4-aminobifenil e 0-toluidina. Aproximadamente 8% dos doentes apresenta história familiar, pertencendo ao espectro do Síndrome de Lynch tipo II. A cistite crónica e a infeção por *Schistosoma haematobium* predis põem para carcinoma de células escamosas.

B. Apresentação Clínica e Exames Auxiliares de Diagnóstico

A hematúria macro ou microscópica é o sinal de apresentação na maior parte dos casos de carcinoma da bexiga, permitindo o seu diagnóstico precoce. São referidos LUTS irritativos na presença de tumores papilares de alto risco, CIS ou carcinomas musculo-invasivos (5). Os sinais e sintomas permitem um diagnóstico precoce na maioria dos doentes pelo que o diagnóstico realizado apenas *post mortem* é virtualmente inexistente. Para além disto, estima-se um curto período de latência entre o desenvolvimento de cancro e o início dos sintomas, possibilitando tratamento curativo.

A avaliação urológica completa inclui cistoscopia que permite visualização direta do urotélio uretral e vesical. Recorre-se, cada vez com maior frequência, à citologia urinária e a biomarcadores urinários (4). Deve requisitar-se uma ecografia renal para avaliação do trato urinário superior dada a possibilidade de focos extravesciais.

A cistoscopia permanece o exame *gold standard* no diagnóstico de neoplasias do trato urinário inferior. Pode ser realizada fácil e rapidamente sob anestesia tópica, sendo a visualização de uma formação exofítica imperativa de ressecção endoscópica para observação histológica. Contudo, a displasia e o CIS são lesões planas e de difícil deteção, sendo difícil o

seu diagnóstico diferencial com alterações reativas decorrentes de cistites. A obtenção de imagem após administração de hexaminolevulinato melhora a identificação de carcinomas planos e tumores papilares de reduzidas dimensões. Quando instilado acumula-se nas células tumorais e é convertido em porfirinas fotoativas que emitem fluorescência vermelha quando submetidas a luz azul (4). Contudo, é necessário a instilação aproximadamente 30 minutos antes da cistoscopia e esta técnica apresenta pouca especificidade.

A citologia urinária é importante quer na detecção quer na vigilância após tratamento de CVNMI. As características compatíveis com malignidade incluem o pleomorfismo celular e nuclear e o aumento da razão núcleo:citoplasma. A especificidade é mais elevada em doentes com tumores de alto grau ou CIS, sendo superior a 98,3% (4). Por outro lado, a sensibilidade no diagnóstico de tumores de baixo grau é reduzida. Se a cistoscopia e a avaliação do trato urinário superior forem negativas, a presença isolada de células atípicas não requer investigação adicional. Embora a presença de células displásicas obrigue a seguimento do doente, não é diagnóstica de carcinoma vesical.

C. Exame Anatomo-Patológico e Estadiamento

A parede da bexiga é formada, do lúmen para a periferia, pelo urotélio e lâmina própria da mucosa, pela *muscularis propria* e pela adventícia ou serosa, e, dependendo da localização, estas camadas podem ser circundadas por gordura perivesical. O urotélio, epitélio de transição, é formado por células de grandes dimensões com abundante citoplasma eosinofílico que, esporadicamente, se apresentam binucleadas. Repousa sobre uma fina membrana basal que o delimita da lâmina própria que alberga uma trama de vasos sanguíneos e linfáticos, cuja invasão por células tumorais facilita a metastização. Os fascículos de células musculares lisas da lâmina própria formam a *muscularis mucosae*. Um carcinoma, por definição, origina-se num epitélio de revestimento, sendo que na bexiga aproximadamente 90% são de células de transição. O estudo histológico revela carcinoma de células escamosas

em 5% dos casos e adenocarcinoma em apenas 1 a 2%. Os carcinomas de pequenas células são agressivos e frequentemente associam-se a pior prognóstico.

A *muscularis propria*, designada músculo detrusor, possui uma camada longitudinal externa, uma circular intermédia e uma longitudinal interna. Cerca de 75% dos carcinomas da bexiga limita-se ao urotélio e à lâmina própria da mucosa. Os restantes 25% ultrapassam o detrusor e designam-se carcinomas invasivos. Esta subdivisão é imprescindível para o estabelecimento da terapêutica, o que justifica a análise histológica do material colhido pela RTU-TV, devendo o material incluir margem de *muscularis propria*.

Os CVNMI compreendem os Ta, T1 e Tis de acordo com a classificação TNM, sendo que aproximadamente 70% são Ta na apresentação inicial, 20% são T1 e 10% são CIS (6). No Estádio Ta os tumores, de configuração papilar, encontram-se apenas confinados ao urotélio e são geralmente de baixo grau. Embora a recidiva seja comum, especialmente em casos de multifocalidade, a progressão é rara, sendo o seu principal fator predisponente o grau de diferenciação tumoral. No Estádio T1, as células tumorais alcançam a lâmina própria e o tumor é geralmente papilar. O CIS encontra-se confinado ao urotélio, podendo ser local ou difuso, apresenta uma configuração plana que se identifica como uma área eritematosa, por vezes ligeiramente elevada, sendo difícil a sua deteção por cistoscopia. Distinguem-se três subtipos de CIS a) primário, sem tumores exofíticos prévios b) secundário, detetado no seguimento de doentes com história de tumor exofítico c) simultâneo a tumores exofíticos. Entre 40 a 83% dos CIS torna-se invasiva se não se proceder ao seu tratamento, especialmente se se associarem a tumores Ta ou T1.

Existem várias classificações histológicas, por exemplo, a TNM aprovada pela União Internacional contra o Cancro e atualizada em 2009 que se encontra listada na Tabela 1. Existem duas da OMS, de 1973 e 2004, listadas na Tabela 2, sendo de referir que a maioria dos ensaios clínicos recorre à classificação de 1973. A classificação de 2004 definiu lesões

planas e papilares. A hiperplasia provoca espessamento marcado da mucosa embora sem atipias e não evidenciando potencial pré-maligno. Pertencem às lesões papilares o papiloma urotelial, as neoplasias uroteliais papilares de baixo potencial de malignidade e os carcinomas uroteliais de baixo e de alto grau.

<p>Tumor primário Tx – Tumor primário não pode ser avaliado T0 – Sem evidência de tumor primário Ta – Carcinoma papilar não invasivo Tis – Carcinoma <i>in situ</i> T1 – Tumor invade lâmina própria da mucosa T2 – Tumor invade a <i>muscularis propria</i> pT2a – Tumor invade músculo superficial (camada interna) pT2b – Tumor invade músculo profundo (camada externa) T3 – Tumor invade tecido perivesical pT3a – Microscopicamente pT3b – Macroscopicamente T4 – Tumor invade qualquer dos seguintes órgãos: próstata, útero, vagina, parede pélvica, parede abdominal pT4a – Tumor invade estroma prostático, útero ou vagina pT4b – Tumor invade parede pélvica ou parede abdominal</p>
<p>Nódulos linfáticos Regionais Os nódulos ilíacos comuns são definidos como região de drenagem secundária, como nódulos regionais, não sendo considerada a sua invasão uma metástase à distância. Nx – Nódulos linfáticos regionais não podem ser avaliados N0 – Sem evidência de nódulos linfáticos regionais invadidos N1 – Um nódulo invadido no trajeto de drenagem primária N2 – Múltiplos nódulos invadidos no trajeto de drenagem primária N3 – Nódulos ilíacos comuns invadidos</p>
<p>Metástases à distância Mx – Metástases à distância não podem ser avaliadas M0 – Sem metástases à distância M1 – Presença de metástases à distância</p>

Tabela 1 – Classificação TNM de Carcinomas da Bexiga

O papiloma urotelial é formado por um eixo fibro-vascular de onde se originam projeções papilares revestidas por urotélio de espessura normal e que não apresenta atipia. Raramente recidiva após ressecção completa. A NUPBPM é semelhante, porém o urotélio é de espessura superior ao normal e apresenta maior taxa de proliferação celular. Raramente se observam mitoses, a polaridade das células epiteliais está preservada, a atipia celular e nuclear é mínima ou ausente, embora os núcleos estejam ligeiramente aumentados. Estas lesões são detentoras de um risco insignificante de progressão, mas elevado de recidiva.

O carcinoma papilar de baixo grau apresenta uma arquitetura papilar ordenada, mas com perda de polaridade do epitélio e presença de pleomorfismo nuclear. Podem ser visíveis nucléolos, mas as figuras mitóticas são infrequentes. Por outro lado, o carcinoma papilar de alto grau, com arquitetura desordenada, apresenta atipia celular pelo menos moderada, podendo ser marcada. É característico a observação de descoesão celular, de pleomorfismo nuclear, de nucléolos proeminentes e frequentemente de células em mitose. As células neoplásicas dos carcinomas papilares invadem a parede vesical como agregados, cordões, trabéculas ou como células isoladas, dispersas num estroma desmoplásico.

Os carcinomas uroteliais apresentam diferentes comportamentos biológicos. Alguns originam-se a partir de hiperplasia constituindo CVNMI de baixo grau. Variantes mais agressivas apresentam como lesão precursora o CIS. Estas duas variantes fenotípicas exibem prognóstico drasticamente diferente, sendo que as variantes agressivas originam metástases incuráveis apesar da realização de cistectomia radical (7).

Classificação da OMS de 1973	Classificação da OMS de 2004
<p>Papilomas Uroteliais</p> <p>Grau 1 – Bem diferenciados (G1)</p> <p>Grau 2 – Moderadamente diferenciados (G2)</p> <p>Grau 3 – Mal diferenciados (G3)</p>	<p>A) Lesões Planas</p> <p>Hiperplasia</p> <p>Atipia reativa</p> <p>Atipia de significado indeterminado</p> <p>Displasia</p> <p>B) Lesões Papilares</p> <p>Papiloma urotelial</p> <p>Neoplasia urotelial papilar de baixo potencial de malignidade</p> <p>Carcinoma urotelial papilar de baixo grau</p> <p>Carcinoma urotelial papilar de alto grau</p>

Tabela 2 – Comparação entre a Classificação da OMS de 1973 e de 2004 para os Carcinomas da Bexiga

A estratificação do risco de recidiva e de progressão classifica os CVNMI em 2 grandes subgrupos. São carcinomas de baixo risco tumores Ta únicos, de pequenas dimensões, bem diferenciados e sem CIS concomitante. O grupo de risco elevado compreende

tumores Ta ou T1 mal diferenciados e o CIS. A taxa de recidiva aos 5 anos é de 31% para os de baixo risco e de 78% para os de alto risco. Por outro lado, a taxa de progressão aos 5 anos é de 0,8% nos primeiros e de 45% nos últimos, podendo atingir 83% no CIS. Os tumores de risco elevado são mortais em 10 a 40% dos casos, o que apela à necessidade de um tratamento mais agressivo. Alguns autores advogam que os tumores T1G3 não devem ser classificados como superficiais, uma vez que o estadiamento após cistectomia revela que 35-50% são na verdade carcinomas musculo-invasivos (6). Com base na histologia e outros fatores de prognóstico, as *guidelines* da EORTC classificam os doentes com CVNMI, quanto ao risco de recidiva e de progressão, em 3 categorias. Os doentes são considerados de baixo risco quando apresentam carcinomas unifocais, bem diferenciados e com menos de 3 cm de maior diâmetro. No outro extremo, consideram-se doentes de alto risco aqueles cujos tumores são T1 e mal diferenciados ou na presença de CIS concomitante. Os restantes casos são denominados por tumores de risco intermédio.

D. Tratamento

A RTU-TV além de diagnóstica é o tratamento inicial nos CVNMI. Contudo, 45% dos doentes sofrem recidiva em 12 meses quando usada como tratamento isolado.

Acredita-se que a implantação de células tumorais imediatamente após a RTU-TV é responsável pela maioria das recidivas precoces, o que explica a sua localização preferencial no trígono e parte inferior das paredes vesicais, enquanto que as recidivas tardias surgem na cúpula. A quimioterapia intravesical imediata pretende destruir as células tumorais e evitar a sua implantação, devendo ser aplicada a todos os doentes. O BCG não é seguro entre 2 a 4 semanas após a ressecção, dado o elevado risco de sépsis bacteriana e morte. Decorrido aquele intervalo de tempo ocorre reepitelização, o que minimiza o potencial do bacilo vivo atingir a circulação sistémica. Pelo contrário, a instilação de quimioterapia 6 a 24 horas após a RTU-TV tem mostrado reduzir significativamente a taxa de recidiva. Contudo, não existe um

agente de quimioterapia intravesical *gold standard*, sendo que a MMC, a Epirrubicina e a Doxorubicina têm demonstrado um efeito benéfico. Nos tumores de baixo risco um curso de quimioterapia intravesical é a única terapêutica adjuvante indicada, devendo o fármaco estar em contacto com o urotélio no seu pH ótimo e a sua concentração ser mantida pela redução da ingestão de líquidos. Um esquema terapêutico consiste na instilação de MMC, 40 mg semanalmente durante 6 semanas, e no caso de cistoscopia negativa, instilações mensais durante 1 ano. Na suspeita de perfuração vesical após a RTU-TV ou na presença de hematúria significativa, não se procede à instilação de quimioterapia imediata.

Quanto aos tumores de risco intermédio e alto, a instilação imediata de um agente de quimioterapia é insuficiente. A escolha entre quimio e imunoterapia adicional depende do que se pretende minimizar, a recidiva ou a progressão. Enquanto que a quimioterapia previne o aparecimento de recidivas, a imunoterapia previne de igual modo a ocorrência de progressão.

Cho et al. (8) compararam a instilação de Gencitabina seguida de um curso de BCG ao uso exclusivo do bacilo, acompanhando 87 doentes com CVNMI de risco intermédio ou alto. O grupo I recebeu 6 instilações intravesicais semanais de BCG 2 a 7 semanas após a RTU-TV (12,5 mg diluídos em 50 ml de soro salino). O grupo II foi submetido a instilação de Gencitabina decorridas horas da RTU-TV (1000 mg em 50 ml de soro salino), tendo recebido o dobro da dose ao fim de uma semana. Entre 2-7 semanas após a RTU-TV receberam, na dose do grupo anterior, instilações semanais de BCG. Foi avaliada a taxa e o intervalo livre de recidiva, bem como a taxa e o intervalo livre de progressão. A taxa de recidiva foi similar entre os grupos, embora ao fim de 6 e 9 meses da RTU-TV, o grupo sujeito a quimioimunoterapia apresentasse valor inferior. Além disso, o período de tempo até recidiva foi significativamente superior com a terapêutica conjugada. Os autores mostraram que a quimioimunoterapia reduz, a longo prazo, a probabilidade de recidiva. Não se observaram diferenças quanto à taxa e intervalo livre de progressão. A gravidade dos efeitos secundários

locais e sistémicos foi avaliada, não se observando toxicidade adicional com a terapêutica dupla.

Após o tratamento inicial a AEU recomenda uma segunda RTU em todos os CVNMI de alto risco, sendo que com este procedimento é conseguido um aumento do intervalo livre de recidiva e de progressão. A AAU preconiza uma segunda RTU nos tumores Ta de alto grau e nos tumores T1 quando a *muscularis propria* não foi avaliada no material da primeira ressecção. Verifica-se que 27-62% dos tumores T1 de alto risco são supraestadiados após exame anátomo-patológico da peça cirúrgica. O subestadiamento frequente na análise do material da primeira RTU motiva uma segunda RTU antes do início do tratamento com BCG. Todavia, não é um procedimento consensual.

A maioria dos doentes com carcinoma vesical T1 de alto risco são tratados através de imunoterapia intravesical com BCG, coincidindo o advento desta modalidade de tratamento com o aumento do intervalo entre o diagnóstico do tumor e a cistectomia radical. A possibilidade da terapêutica médica impossibilitar a cura cirúrgica é uma importante consideração (9).

V – Resenha Histórica

O recurso ao BCG no tratamento de CVNMI é o maior sucesso da imunoterapia em contexto neoplásico.

Em 1908 Albert Calmette, bacteriologista, e Camille Guérin, veterinário, trabalhavam no Instituto Pasteur em Lille pretendendo identificar uma vacina contra a tuberculose. Os investigadores isolaram uma estirpe virulenta de *M. bovis* a partir de uma pústula de vaca infetada, verificando que em cultura apresentava tendência à adesão e para preveni-la cultivaram-na em meio constituído por bÍlis de vaca, batatas e glicerina, resultando na perda gradual da sua virulência. Em 1915 administraram a estirpe atenuada a vacas protegendo-as contra a tuberculose. Usando o porco como modelo animal mostraram que o bacilo se tornou

numa estirpe não virulenta em 1921, denominando-a Bacilo Calmette-Guérin. Entre 1921-24, 217 crianças parisienses foram imunizadas com sucesso através da inoculação de BCG. Após estes resultados, publicados em 1924, o Instituto Pasteur iniciou a produção massiva da vacina, bem como a sua distribuição mundial.

Em 1880 verificou-se que um número significativo de doentes com regressão tumoral apresentava infecção bacteriana concomitante. Em 1893 William B. Coley em Nova Iorque postulou que a indução de infecções poderia tratar doentes com cancro em estágio avançado. Subsequentemente, uma ampla gama de microorganismos foi testada, incluindo o BCG. A capacidade de criar modelos animais de diversos tumores incentivou a investigação da resposta imunitária contra células neoplásicas e, inevitavelmente, reacendeu o interesse na imunoterapia antitumoral. Em 1929 Pearl, em estudo necrópsico no Hospital de Johns Hopkins em Baltimore, constatou menor frequência de cancro em doentes com tuberculose. Pearl (10) concluiu que os sobreviventes apresentavam maior incidência de tuberculose, ativa ou curada, comparativamente aos que morreram por cancro. Consequentemente, apontou um antagonismo entre a tuberculose e o cancro, embora tenha sido incapaz de o explicar. Infelizmente em 1930, devido a um erro de laboratório, 70 bebés alemães morreram ao serem vacinados com uma estirpe virulenta de *M. bovis*. Este acidente frenou o entusiasmo no BCG como terapêutica antitumoral.

Em 1950 o uso de BCG no tratamento de cancro começou a ser aplicado por Lloyd Old no Instituto Sloan-Kettering em Nova Iorque. Old (11) demonstrou que ratos infetados apresentavam resistência à implantação de células tumorais e que o BCG ativava macrófagos com capacidade para as destruir. Em 1970 Burton Zbar do National Cancer Institute, revelou o efeito antitumoral do BCG (12). Foi observada destruição do tumor no local em que era inoculado o BCG, sendo este efeito atribuído a uma reação de hipersensibilidade tardia. Zbar estabeleceu como critérios para o sucesso da imunoterapia, a necessidade do contacto entre o

BCG e as células tumorais, um hospedeiro capaz de organizar uma resposta imunológica, uma carga tumoral limitada e um número adequado de colônias do bacilo. Em 1975 deKernion et al. (13) relataram a cura de um melanoma da bexiga tratado por instilações intravesicais de BCG. Este resultado promoveu a investigação do BCG enquanto terapêutica em carcinomas do pulmão, da próstata, do cólon e do rim, mas foi rapidamente suplantado por outras terapêuticas, exceto no carcinoma da bexiga.

Baseando-se nos estudos anteriores, Álvaro Morales, um urologista canadiano, em 1976 publicou pela primeira vez o uso de BCG intravesical contra CVNMI (14), tendo desenhado o protocolo original em 1972. Meramente por conveniência e disponibilidade foi selecionada a estirpe produzida no Institute Armand Frappier. O esquema terapêutico consistia em doses de 120 mg diluídas em 50 ml de solução salina e administradas por cateterização uretral. Foi convencionada a administração semanal por 6 semanas dado que o urologista notou que os efeitos secundários duravam geralmente menos de 1 semana. Atendendo aos pressupostos de Zbar, Morales defendeu a administração de 120 mg do bacilo e sua retenção por 1-2 horas. Nos 7 doentes tratados com o esquema terapêutico descrito ocorreu erradicação dos tumores ou pelo menos redução da taxa de recidiva.

Os resultados de Morales conduziram a dois ensaios clínicos para testar a eficiência do BCG nos CVNMI, um do SWOG liderado por Donald Lamm e outro no Memorial Sloan-Kettering Cancer Center em Nova Iorque. Constataram uma redução significativa da recidiva e, em 1990 a FDA aprovou o seu uso nos CVNMI. As estirpes mais usadas atualmente, denominadas consoante o local de origem, são: Danish, Glaxo/ Evans (Reino Unido), Tice (Chicago), Frappier (Montreal), Pasteur (Paris), Connaught (Toronto) e a estirpe de Tóquio.

VI- Mecanismos de Ação Antitumoral e Potenciais Alvos Terapêuticos

Nos últimos anos, estudos em modelo animal e em humanos têm explorado os mecanismos de ação antitumoral do bacilo, tendo-se obtido proveito na criação de estratégias

terapêuticas. As instilações intravesicais de BCG induzem um influxo massivo de células inflamatórias para a mucosa vesical e a produção de citocinas, tendo em vista a destruição de células tumorais. Desta forma, a presença de um sistema imunitário íntegro é um pré-requisito para o sucesso da terapia e esta encontra-se contraindicada em indivíduos com imunodepressão/imunodeficiência.

Após instilação o bacilo adere através de proteínas de ligação à fibronectina presentes na sua superfície às fibronectinas do bordo luminal do urotélio. Num segundo tempo, o BCG sofre internalização pelas células epiteliais e pelas células inflamatórias entretanto recrutadas. As células epiteliais após internalização do BCG secretam quimiocinas promotoras da diapedese de neutrófilos, que atravessam a lâmina própria e atingem o epitélio, segundo gradiente quimiotático. Altos níveis de Il-8 produzidos precocemente estão associados a melhores respostas, sendo o resultado final um recrutamento progressivo de monócitos e granulócitos para a bexiga, nomeadamente neutrófilos, no decurso das instilações semanais sucessivas. Este facto suporta o recurso ao doseamento desta citocina na monitorização da resposta a este tratamento (15). Ocorre ativação de várias células, sendo o infiltrado de fase aguda predominantemente formado por neutrófilos e por macrófagos e, numa fase avançada da resposta imunitária, por linfócitos CD4⁺. Decorridas 4-6 horas da instilação, é comum um quadro de piúria maciça acompanhada por LUTS irritativos, sendo que a análise do sedimento urinário revela que mais de 75% dos leucócitos são neutrófilos, 5-10% são macrófagos e apenas 1-3% são linfócitos T ou células *natural killer* (16). Nos últimos anos muitos trabalhos identificaram como células efetoras macrófagos e linfócitos, ao passo que o papel do infiltrado neutrofílico numa fase precoce da resposta imunitária tem sido largamente ignorado (17).

Várias linhas de evidência apontam os macrófagos como as células efetoras principais na resposta imunitária antitumoral, aumentando o seu número após as instilações de BCG

(18), bem como a secreção urinária de várias citocinas e quimiocinas por eles secretadas: TNF- α , Il-6, Il-10, Il-12 e Il-18. Os macrófagos, por um lado, libertam fatores citotóxicos como o TNF- α e o IFN- γ intervenientes em vias de necrose/apoptose de células tumorais. Por outro lado, *in vitro* provocam a lise de células tumorais quando ativados pelo contacto com o BCG. Este conhecimento motivou a investigação do recurso à ativação *in vitro*, pela exposição ao IFN- γ , de monócitos periféricos com diferenciação em macrófagos com potencial citotóxico (19). A citotoxicidade dos macrófagos ativados deve-se à produção de TNF- α , IFN- γ e Il-12, pelo que a administração destas citocinas pode constituir uma terapêutica de segunda linha (20). Para além disso, o TNF- α e o IFN- γ atuam de forma autócrina promovendo a ativação macrofágica. A exposição ao BCG resulta na sobreexpressão, na membrana macrofágica, de moléculas indutoras da apoptose, tal como o ligante Fas e o TRAIL. A aquisição destas moléculas pode direcionar a ligação dos macrófagos aos respetivos ligantes nas células tumorais e, conseqüentemente, conduzir à sua destruição. O IFN- γ induz a expressão de TRAIL na superfície de células T e aumenta a libertação de TRAIL pelos neutrófilos, promovendo a apoptose de células tumorais.

As citocinas produzidas pelos macrófagos condicionam a polarização dos linfócitos CD4⁺ para o perfil Th1, essencial para uma eficiente imunoterapia. Por sua vez, os linfócitos Th1 produzem IFN- γ , Il-12, Il-18 e TNF- α que estimulam a citotoxicidade macrofágica. Pelo contrário, as citocinas de perfil Th2, nomeadamente a Il-10, desempenham um papel inibitório na citotoxicidade macrofágica. Por conseguinte, defende-se a administração exógena de citocinas recombinantes de perfil Th1, como a Il-12, ou a inibição de citocinas Th2 endógenas, Il-10 por exemplo, pretendendo amplificar a citotoxicidade macrofágica. Afirma-se que a combinação de BCG e citocinas Th1 potencia a atividade antitumoral relativamente à monoterapia com BCG.

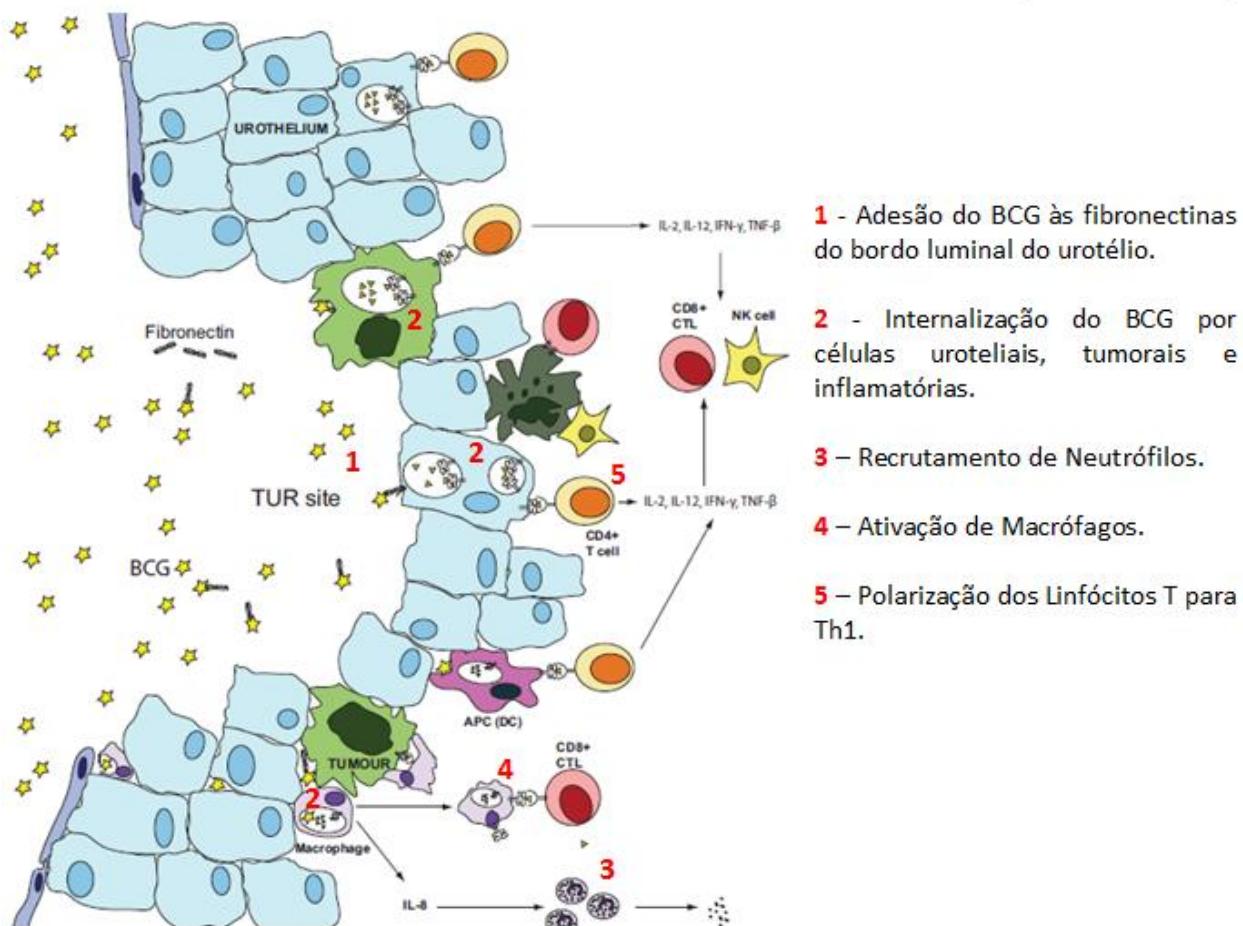


Figura 1 – Ilustração da resposta imunitária desencadeada pelo BCG. Adaptado de: Zuiverlcan TCM, Nieuweboer AJM, Kirkels WJ, Bangma CH, Zwarthoff EC. Markers Predicting Response to Bacillus Calmette-Guérin Immunotherapy in high-risk Bladder Cancer patients: a Systematic Review. European Association of Urology. 2012;61:128-45.

Além do influxo celular intenso, Simons et al. (17) demonstraram níveis elevados de TRAIL, uma proteína com atividade antitumoral, na urina de doentes com boa resposta às instilações. Esta proteína demonstrou *in vitro* induzir a destruição de células tumorais vesicais. Adicionalmente, os níveis de TRAIL encontram-se marcadamente reduzidos na urina daqueles que não respondem à imunoterapia (17). Os neutrófilos são grandes secretores de TRAIL que se encontra armazenada intracelularmente, donde se deprende que desempenham um importante papel antitumoral. Simons et al. (17) sugerem que estas células do sistema imunitário são essenciais para uma resposta adequada ao BCG, mas apenas o concluíram em modelo animal. Constataram que a sua depleção eliminava o efeito da instilação, resultando numa menor sobrevivência comparativamente aos controlos. *In vitro*, os

neutrófilos, quando estimulados, libertam IL-8, GRO- α , MIP-1 α e MIF, citocinas responsáveis por recrutar macrófagos, que subsequentemente recrutam linfócitos T. Os autores afirmam que estes granulócitos além de possuírem um efeito antitumoral indireto, possuem um efeito direto através da libertação de TRAIL.

VII - Indicações e Esquema Terapêutico

O tratamento adjuvante com o BCG pelo menos durante um ano, após a instilação imediata de quimioterapia, é de eleição em tumores de alto risco. As recomendações relativamente a CVNMI de risco intermédio são controversas, podendo ser instituída quimioterapia ou imunoterapia com o BCG. Salienta-se que as instilações intravesicais de BCG nunca devem ser administradas antes de 3 semanas da RTU-TV.

Tanto a eficácia como a toxicidade do BCG é dependente da dose. A fim de melhorar a adesão é imprescindível identificar a menor dose eficiente. Em 1991 foi avaliada a eficiência e a toxicidade de 75 mg. Na época a dose *standard* era 150 mg e concluiu-se que a redução para metade da dose era igualmente eficiente. Em 1992, a comparação da eficiência de 120 e 60 mg revelou que doses baixas não são eficientes na presença de CIS. Atualmente, a dose padrão é de 81 mg. O grupo espanhol CUETO analisou a eficiência de diferentes doses em 500 doentes. Todos receberam tratamento de indução e de manutenção, recebendo 81 ou 27 mg de BCG. A taxa de recidiva e de progressão e a sobrevivência global aos 5 anos não diferiram entre os grupos. Contudo, a toxicidade foi inferior quando prescrita a menor dose. Padronizando relativamente ao risco, os autores concluíram que 81 mg devem ser prescritos em carcinomas de alto risco, sendo que nos carcinomas de risco intermédio pode administrar-se apenas 1/3 da dose (21).

Ojea et al. (22) avaliaram, em ensaio clínico prospetivo, a eficiência da administração de 27 e de 13,5 mg de BCG. Foram tripartidos 430 doentes com CVNMI de risco intermédio, administrando-se a um grupo doses de 27 mg, a outro de 13,5 mg e ao grupo controlo apenas

uma instilação única de 30 mg de MMC. Iniciou-se o tratamento de indução 2-3 semanas após a RTU-TV, semanal durante 6 semanas, e o de manutenção após 2 semanas, 6 instilações bisemanais. Os autores avaliaram a taxa de recidiva e de progressão, a sobrevivência e a toxicidade. Comparativamente aos controlos, a instilação de 27 mg associa-se a maior intervalo até recidiva, não existindo diferença significativa entre 13,5 ou 27 mg. O intervalo livre de recidiva foi maior nos tratados com 27 mg de BCG. Contudo, não foi observada diferença significativa na taxa de progressão tumoral nem no tempo de sobrevivência específico da doença. A toxicidade, local e sistémica, foi mais frequente nos grupos tratados pela imunoterapia, não se observando diferenças relativamente à dose. O ensaio clínico recomenda um terço da dose *standard* de BCG no tratamento de CVNMI de risco intermédio. A dose mínima eficiente é de 27 mg, sendo que a administração de 13,5 mg se associa a uma reduzida eficiência (22).

Para otimizar a eficiência deve ser instituído tratamento de indução e de manutenção (3). Esta recomendação advém de evidências de que a prevenção da progressão, ou pelo menos o seu atraso, apenas se verifica em doentes sujeitos a tratamento de manutenção. Harry W. Herr constatou que a instituição de tratamento de manutenção é controversa (23). Duas meta-análises suportam a sua prescrição (24-25). O prolongamento da exposição ao BCG pelo tratamento de manutenção poderia associar-se ao aumento da toxicidade. Contudo, no estudo em 487 doentes tratados com um esquema de manutenção durante 3 anos, constatou-se que a maioria dos efeitos secundários ocorre durante o tratamento de indução e nos primeiros 6 meses do de manutenção, não sendo problemático o prolongamento do tratamento de manutenção (26). A resposta antitumoral desencadeada é gradual, as instilações induzem ativação imunitária transitória que é reativada pelos cursos adicionais. Desta forma, o tratamento de manutenção condiciona imunidade duradoura.

O esquema terapêutico com BCG é instituído empiricamente. Decobert et al (27) avaliaram, prospectivamente, a eficiência do curso de BCG consoante o número de ciclos de manutenção. Analisaram 111 doentes com CVNMI de alto risco tratados semanalmente por 6 semanas com 120 mg de BCG diluídos em 50 ml de solução salina. Ficaram previstos tratamentos de manutenção após 3, 6, 12, 18, 24, 30 e 36 meses da indução, mas somente 1 doente cumpriu integralmente o esquema terapêutico. A sobrevivência livre de recidiva ao fim de um ano do tratamento de indução foi de 89% quando administrados pelo menos 3 ciclos de manutenção, 67% quando tolerados 2 ciclos e 41% nos que receberam apenas um ciclo. Decobert et al. (27) concluíram que é necessário um mínimo de 3 ciclos de manutenção para reduzir significativamente a taxa de recidiva, defenderam, adicionalmente, que o benefício de ciclos adicionais é perdido pelo aumento dos efeitos secundários. Preconizaram o estabelecimento de 3 ciclos de manutenção, podendo instituir-se mais consoante a tolerância. A baixa adesão completa ao esquema terapêutico, relacionou-se com a morbilidade provocada. A frequência de LUTS irritativos foi diretamente proporcional ao número de ciclos de manutenção, ocorrendo em aproximadamente 50% dos tratados com pelo menos 3 ciclos comparativamente com 20% dos tratados apenas com o tratamento de indução. Os efeitos secundários graves não só foram pouco prevalentes, como também a sua frequência foi independente do número de ciclos de manutenção.

O esquema terapêutico mais frequentemente utilizado é o preconizado pelo SWOG, consistindo num tratamento de indução com instilações intravesicais semanais durante 6 semanas consecutivas. Seguidamente, administram-se ciclos de manutenção constituídos por 3 instilações semanais realizadas 3, 6 e 12 meses depois do tratamento de indução e, posteriormente, de 6 em 6 meses até completar 3 anos. A solução deve ser instilada numa bexiga em vacuidade e retida por 2 horas, alternando o doente a sua posição a cada 15 minutos.

VIII - Definição e Razões para a Falência

Estima-se que 30% dos tratados não respondem ao BCG ou sofrem recidiva nos primeiros 5 anos e aproximadamente 90% recidivam ao fim de 15 anos. A definição de falência terapêutica é inconsistentemente descrita na literatura. Segundo a AEU, consiste na presença de CVNMI após 3 ou 6 meses do tratamento, além disso, enquadra-se nesta designação agravamentos durante o tratamento ou a ocorrência de progressão. Ficou implícito que tal denominação diz respeito a diversas situações. Primeiro, a refratariedade ao BCG ocorre quando não é alcançado estado livre de tumor decorridos 6 meses do tratamento de indução. É defendido um tempo de tratamento e seguimento de pelo menos 6 meses para se identificar a falência, considerando-se que antecipar a alteração da terapêutica não tem em conta os efeitos tardios deste tratamento adjuvante e aumenta erroneamente a taxa de resposta a outras modalidades conservadoras. Situação distinta é a resistência que compreende casos em que ocorre recidiva ou persistência tumoral nos primeiros 3 meses após o tratamento de indução. Por último, a intolerância engloba os casos de recidiva devido à interrupção prematura do tratamento motivada por efeitos adversos (28). A intolerância varia geograficamente, verificando-se na Europa em apenas 20% dos doentes ao passo que no Norte da América apenas 27% completam o tratamento de manutenção. O estado imunológico dos doentes, a sua reatividade imunitária contra antígenos do BCG, pode explicar as diferentes taxas de insucesso.

Existem várias razões apontadas para a falência terapêutica. Em primeiro lugar, uma dose insuficiente ou excessiva. Sumariamente, a imunoterapia com BCG baseia-se em desencadear uma resposta imunitária tipo Th1 quer a nível local, quer a nível da circulação periférica, sendo que a polarização Th1 adequada provoca amplificação de células efetoras e produção de citocinas intervenientes na resposta antitumoral. Contudo, em alguns indivíduos ocorre polarização Th2, tendo estes um pior prognóstico. Estudos revelaram que doses

insuficientes ou excessivas de BCG prejudicam a sua eficácia ao interferirem na polarização dos linfócitos T CD4⁺, justificando-se a administração de uma dose insuficiente pela preocupação relativamente à tolerância. Desta forma, foi avaliada a dose mínima eficiente que origine a menor toxicidade possível (22). A exposição prévia à micobactéria condiciona a intensidade e a rapidez da resposta, podendo ser importante o estudo da reatividade a antígenos micobacterianos na determinação da dose apropriada.

A falência pode ser devida a doença metastática, nomeadamente por micrometástases, ou carcinoma invasivo não identificado pelo estudo inaugural do material da RTU. Vários estudos alertam para a elevada frequência do subestadiamento com repercussão dramática no prognóstico. Huguet et al. (29) analisaram peças de cistectomia radical de doentes com CVNMI de alto risco. Identificaram tumores pT2-pT4 em 27% dos casos, sendo explicados pelo subdiagnóstico na análise do material colhido pela RTU-TV. São causas de subestadiamento a invasão da uretra prostática, a multifocalidade, a coexistência de CIS e a ausência de margem de detrusor no material da RTU-TV.

O não contacto do bacilo com a superfície alvo ou o contacto por tempo insuficiente explicam situações de falência. Existe uma certa resistência natural à terapêutica conferida por polimorfismos génicos, cuja expressão proteica tem impacto na regulação da resposta imunitária ao BCG, por exemplo, no gene NRAMP1 (28).

IX - Marcadores de Resposta

A decisão de abandonar a imunoterapia com BCG e optar por outra terapêutica em CVNMI é difícil. A capacidade de predizer a resposta ao tratamento antes da instilação do bacilo seria uma ferramenta de valor incalculável na personalização do tratamento.

A. Perfil de Secreção de Citocinas

A Il-8 é produzida por células inflamatórias e por células tumorais e possui uma ampla actividade pró-inflamatória, sendo responsável pela quimiotaxia de neutrófilos e linfócitos. A

Il-8 tem um efeito mitogénico e quimiotático de células endoteliais, desempenhando um importante papel no potencial metastático do tumor. Sagnak et al. (15) avaliaram a correlação entre a secreção de Il-8 e o surgimento de recidivas após tratamento de indução com BCG. Realizaram a análise retrospectiva de 41 CVNMI pTa-pT1, tratados durante 6 semanas, sendo que na primeira e na sexta foi colhida urina antes e 2 e 4 horas após a instilação e, em seguida, doseado o nível de Il-8 por ELISA e espectrofotometria. Observaram que níveis urinários de Il-8 às 2 horas $<112 \text{ } \mu\text{g/ml}$ ou $>112 \text{ } \mu\text{g/ml}$ se correlacionaram com taxas de sobrevivência livre de recidiva de 76,7% e de 27,3%, respetivamente. Partindo dos valores basais, cada unidade de aumento acresceu 3,54 vezes a probabilidade de recidiva. O doseamento de Il-8 às 2 horas pode prever o sucesso da imunoterapia com o BCG embora os autores tenham advertido para a necessidade de estudos numa população mais numerosa e homogénea e com maior tempo de seguimento.

Saint et al. (30) dosearam na urina a Il-2 e a Il-10 em 39 doentes tratados com o BCG intravesical. No seu estudo, elevados níveis urinários de Il-2 associaram-se a melhor prognóstico. Contudo, após o primeiro ciclo de manutenção o perfil de resposta Th1 deu lugar gradualmente a um perfil Th2, aferido pelo nível elevado de Il-10.

Embora o doseamento urinário de Il-2 e de Il-8 tenha sido indicado como método para prever a resposta ao tratamento com o BCG, apenas pode ser realizado *a posteriori*, não sendo evitada a morbilidade comum deste procedimento. Para evitar a morbilidade será importante identificar marcadores de resposta previamente à exposição.

B. Expressão Génica das Células Tumorais

Kim et al. (7) apontaram perfis de expressão génica como indicadores independentes de resposta ao BCG. Foram analisados 80 CVNMI pT1 tratados com tratamento de indução (12,5 mg da estirpe Tice por 6 semanas) decorridas 2 a 4 semanas da RTU-TV. A análise da expressão génica realizou-se pela técnica de *microarrays* e, posteriormente, o RNA isolado

foi sujeito a RT-PCR. A resposta ao tratamento foi avaliada por cistoscopia e por citologia urinária, sendo completa quando ambas foram negativas. Kim et al. (7) identificaram diferente expressão génica de acordo com a ocorrência de recidiva e de progressão, sugerindo que a resposta ao BCG possa ser premeditada pelo padrão de expressão génica das células tumorais. A Tabela 3 lista os genes cuja expressão se associou a impacto negativo no risco de recidiva e de progressão tumorais.

	Gene	Nível de		Gene	Nível de
	preditivo	expressão		preditivo	expressão
Recidiva	MAEA	Subexpressão	Progressão	VPS37C	Sobreexpressão
	SEC24C	Subexpressão		UFC1	Sobreexpressão
	ZC3HC1	Subexpressão		POLR2A	Subexpressão
	RBAF600	Subexpressão		STOML2	Subexpressão
	AP1G1	Subexpressão		RNF20	Subexpressão
	UBE2f	Subexpressão		XRCC5	Subexpressão
	HLA-A	Subexpressão		SMARCA4	Sobreexpressão
	CEBPZ	Sobreexpressão		SEPX1	Subexpressão
	RNPS1	Subexpressão		SUGT1	Sobreexpressão
	PTPRN	Subexpressão		TAX1BP3	Subexpressão
	BTG2	Subexpressão		LGMN	Subexpressão
	PITRM1	Subexpressão		HEBP2	Sobreexpressão

Tabela 3 – Genes Preditivos de Recidiva e de Progressão tumorais em doentes com CVMNI tratados com BCG

A mutação da p53 é frequente no carcinoma da bexiga e resulta no prolongamento da sua semivida e acumulação no núcleo. Por outro lado, alterações na expressão da proteína pRb nuclear têm sido apontadas como indicadores de prognóstico. Vários estudos indicam que a sobreexpressão de p53 e a subexpressão de pRb são fatores preditivos de recidiva e de progressão. Esuvaranathan et al. (31) determinaram o valor prognóstico da p53 e da pRb nucleares em CVNMI pela análise da sua expressão em 3 grupos: um tratado com doses de 81 mg de BCG, outro com doses de 27 mg e o terceiro com doses de 27 mg de BCG e IFN- α 2b. A expressão nuclear das proteínas foi avaliada pela marcação com anticorpos monoclonais,

tendo-se observado que a sobreexpressão de pRb se correlacionava à não resposta à imunoterapia e a subexpressão a maior taxa de recidiva. Os autores concluíram que a expressão de pRb *a priori* às instilações de BCG pode constituir um marcador de resposta. Contudo, a expressão de p53 não deve influenciar a decisão terapêutica.

A Ezrina pertence à banda 4.4 e regula a sobrevivência, a adesão, a migração e a invasão celulares, processos imprescindíveis na progressão tumoral. Palou et al. (32) avaliaram a sua expressão como marcador de resposta ao tratamento com BCG em 92 tumores T1G3. Quantificaram a imunoreactividade membranar e nuclear à proteína, tendo concluído que uma baixa expressão membranar, principalmente níveis inferiores a 20%, se correlacionava com maiores taxas de progressão e de proliferação. Nestes casos a sobrevivência aos 5 anos foi inferior. Os autores advogaram que a desregulação na expressão da Ezrina poderia contribuir para o comportamento invasivo do tumor e, conseqüentemente, seria um potencial marcador de resposta ao tratamento adjuvante com o BCG.

C. Padrão de Infiltração Vesical por Células Inflamatórias

Postula-se que o nível de diversas células inflamatórias na altura da instilação intravesical de BCG pode antecipar a sua eficiência. Ayari et al. (33) quantificaram a infiltração por células dendríticas em CVNMI de alto risco, previamente à instilação de BCG, pela marcação com anticorpos anti-CD83. Verificaram que o tratamento foi mais efetivo na presença de baixos níveis de células dendríticas, podendo explicar-se o sucesso pela ativação de uma resposta imunitária num contexto em que estava ausente. Este impacto variou consoante o número de ciclos de manutenção, tendo-se observado que nos submetidos a pelo menos um ciclo, elevados níveis celulares multiplicaram o risco de recidiva cerca de 10 vezes. A fraca resposta pode explicar-se pela substituição de uma resposta Th1 favorável por uma Th2 dado que *in vitro* as células dendríticas mostram produção de Il-10, favorecendo uma polarização Th2. Os autores avaliaram também o nível de macrófagos pré-tratamento, através

da marcação com anticorpos anti-CD68, sendo mencionada a quadruplicação do risco de recidiva perante uma intensa infiltração. Um elevado número de macrófagos pode prevenir uma resposta inflamatória local duradoura pela fagocitose e eliminação imediatas do bacilo. Os autores defenderam que o doseamento da infiltração tumoral principalmente por CD83⁺ pode selecionar os doentes que beneficiarão de ciclos de manutenção com BCG.

Takayama et al. (34) estudaram a infiltração tumoral por macrófagos quanto à resposta à administração intravesical de BCG. Foram observadas lâminas pertencentes a 41 CIS, efetuando-se a contagem diferencial de macrófagos intratumorais e na lâmina própria através da marcação com anticorpos anti-CD68. Observou-se recidiva em 4,8% dos doentes com baixo número de macrófagos intratumorais, mas em 47,6% daqueles cuja contagem foi elevada. Relativamente à infiltração da lâmina própria, a taxa de recidiva foi de 31,8% nos doentes com baixa infiltração e de 21,2% naqueles cuja avaliação demonstrou elevado número de macrófagos. Concluíram que os doentes com maior intervalo até à recidiva são aqueles cuja razão entre o número de macrófagos intratumorais e na lâmina própria é muito reduzida, podendo esta razão ser utilizada como indicador prognóstico.

X - Intolerância

Embora atenuada, a estirpe administrada é viável, o que justifica efeitos secundários locais em mais de 90% dos casos. A incidência de complicações graves é somente de 5%, porém tem aumentado atendendo à progressiva generalização desta terapêutica. As complicações podem classificar-se em específicas e inespecíficas. As específicas desenvolvem-se pela exposição ao BCG, podendo ser locais ou sistêmicas, ao passo que as inespecíficas se relacionam com a cateterização uretral. A cistite associada a LUTS irritativos ou a hematúria é o efeito colateral mais comum. Outras complicações loco-regionais possíveis incluem prostatite, orquiepididimite, linfadenite e, mais raramente, abscessos prostáticos ou

balanopostite. A identificação precoce das complicações é essencial para permitir o seu tratamento.

A balanopostite granulomatosa é uma complicação rara que obriga à prescrição de tuberculostáticos e à interrupção das instilações de BCG. As manifestações clínicas são de gravidade variável, desde edema do pénis ou pápulas de tonalidade amarela a úlceras ou abscessos. Lestre et al. (35) diagnosticaram-na num homem de 65 anos, caucasiano, que possuía múltiplos nódulos eritematosos na glândula, duros, indolores, com 5-6 mm de maior diâmetro. O senhor havia sido tratado por RTU-TV e administrações de BCG pelo diagnóstico de CVNMI T1G3. A biópsia das lesões diagnosticou balanite granulomatosa pela observação de granulomas de histiócitos epitelioides e células gigantes multinucleadas. Deve ser referida a história de cateterização uretral traumática 2 semanas antes do aparecimento das lesões. Suspendeu-se a imunoterapia e iniciou-se rifampicina, isoniazida e etambutol, ocorrendo regressão dos nódulos ao fim de 1 mês.

Outra complicação local rara é a prostatite, normalmente assintomática e, quando sintomática associa-se a pior prognóstico. Joaquim et al. (36) descreveram um caso num homem de 58 anos, tratado com RTU-TV e BCG intravesical durante 3 anos que nos últimos 3 meses da terapêutica apresentou aumento progressivo do PSA (6.0µ/l). A biópsia prostática revelou prostatite granulomatosa, sendo tratada com isoniazida, rifampicina e piridoxina. A controvérsia surge no tratamento das prostatites assintomáticas, considerando-se situações autolimitadas que não justificam tratamento. Mais de 40% dos cursos de BCG intravesical despoletam elevação do PSA, devendo o nível ser monitorizado durante 3 meses e ser atrasada a biópsia. No outro extremo, a prostatite sintomática requer tratamento com agentes antituberculosos durante 3 meses e a suspensão da imunoterapia. Esquemas possíveis são a associação de isoniazida (300mg/dia) e rifampicina (600mg/dia) ou a combinação das

anteriores com etambutol (1200 mg/dia). Em caso de insucesso pode ser administrada rifampicina e ofloxacina (200 mg 2id).

As complicações sistêmicas descritas incluem febre, síndrome gripal e artrite. A febre baixa (<38,5°C) acompanhada por mialgias, calafrios e astenia verifica-se em 30,5% dos casos (35). Habitualmente é um quadro autolimitado, com duração <48 horas e necessitando apenas de tratamento sintomático (37). As complicações graves, felizmente raras, podem acometer diversos órgãos, por exemplo, pulmões, fígado, ossos, aorta, olho e músculos. A sépsis resultante da disseminação hematogénica e facilitada pela presença de um urotélio inflamado e/ou erodido é potencialmente fatal, sendo mais frequente em caso de cateterização traumática, perfuração vesical e ressecção tumoral extensa. Os agentes antituberculosos, excluindo a pirazinamida, em associação com corticosteroides são o tratamento de escolha na infeção disseminada.

Alvarez-Múgica et al. (38) descreveram múltiplos abscessos na cabeça pancreática e no músculo psoas ilíaco direito, diagnosticados por TC abdominal, num caucasiano de 83 anos hospitalizado por lombalgias, anorexia, astenia e perda de peso com 2 meses de evolução. Apresentava história de CVNMI havia 5 anos sendo tratado conservadoramente, mas por progressão tumoral foi submetido a cistoprostatectomia radical. A cultura do material purulento drenado cirurgicamente identificou *Mycobacterium bovis* pelo que foi prescrita terapêutica tuberculostática, melhorando clínica e laboratorialmente às 3 semanas.

S. J. Um et al. (39) relataram uma pneumonite de hipersensibilidade numa mulher de 60 anos com pneumonia com início no seu terceiro ciclo de BCG intravesical. A auscultação pulmonar revelava ferveores crepitantes bibasilares e na radiografia torácica visualizavam-se opacidades em toalha no lobo inferior de ambos os campos pulmonares. A TC de alta resolução mostrou o aspeto em vidro despolido dos campos pulmonares. As Igs séricas encontravam-se elevadas, o lavado bronco-alveolar mostrou linfocitose (relação CD4⁺/CD8⁺

de 0,2) e as biópsias transbrônquicas identificaram granulomas. Para identificar o agente etiológico comparou-se através de Imunoblot o soro da doente ao de indivíduos não vacinados com o BCG, indivíduos vacinados e indivíduos com história de tuberculose pulmonar. A doente não foi vacinada nem contraiu tuberculose, conseqüentemente, as IgG específicas identificadas foram produzidas após sensibilização pela imunoterapia intravesical. Após a confirmação de pneumonite de hipersensibilidade, a imunoterapia foi descontinuada e iniciou-se corticoterapia com resolução do quadro decorrido 1 mês.

As infecções vasculares são raras, contabilizando-se 13 casos descritos. Harding et al. (40) descreveram uma rotura de um aneurisma da aorta abdominal secundário a infecção por *Mycobacterium bovis* num homem de 80 anos que recorreu ao médico por febre, mal-estar e perda de peso com 6 meses de evolução. Dois anos antes foi-lhe diagnosticado CVNMI, sendo tratado com RTU-TV e tratamento de indução com BCG. Durante a investigação foi realizada TC toraco-abdominal que revelou aneurisma da aorta abdominal infrarenal (5-6cm) sem evidência de infecção, pelo que o doente teve alta. Decorridos 6 meses recorreu novamente ao serviço de urgência por dor no flanco esquerdo, altura em que foi realizada uma TC abdominal que revelou aumento do tamanho do aneurisma para 7,6 cm e sua rotura, o que motivou a reparação cirúrgica. No pós-operatório imediato foi administrado tratamento antituberculoso com rifampicina (600 mg id) e isoniazida (300 mg id).

A idade avançada é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de complicações após instilações intravesicais de BCG. Yuge et al. (41) avaliaram o impacto da idade no aparecimento de reações adversas e concluíram que a incidência de febre é maior nos jovens e a cistite é mais prevalente nas idades avançadas. A condição geral em idades avançadas é geralmente inferior, suscetibilizando a reações adversas após imunoterapia com BCG. A febre representa uma reação imunitária sistémica, sendo que a menor frequência nos idosos pode ser explicada pela imunodepressão relativa que a idade avançada acarreta. A

cistite, por seu lado, é mais frequente dada a HBP praticamente omnipresente em homens de idade avançada. Yuge et al. (41) defenderam que em idades avançadas a imunoterapia é eficiente e segura, devendo somente ser monitorizada rigorosamente.

De igual modo, Heiner and Terris (42) apontaram uma correlação entre a idade e os efeitos secundários da imunoterapia, diferindo este estudo do anterior pela instituição de terapêutica de manutenção e, conseqüentemente, maior incidência de efeitos adversos dada a exposição continuada ao bacilo. Os autores realizaram uma revisão retrospectiva da evolução clínica de 58 homens tratados com imunoterapia com BCG, sendo as idades compreendidas entre 51 e 92 anos. A taxa de complicações em doentes com <70 anos e com >70 anos foi de 17,6% e de 48,6%, respetivamente. Heiner et al. (42) concluíram que a imunoterapia com BCG deve ser administrada com precaução após os 70 anos e deve ser evitada após os 80. Segundo os autores, os doentes de idades mais avançadas, em princípio, beneficiarão de agentes intravesicais alternativos.

A intolerância pode, de igual modo, ser dividida com base na gravidade das reações adversas. São RAM de grau I os LUTS irritativos, a hematúria persistente e o síndrome febril autolimitado. Os LUTS irritativos surgem pela cistite inflamatória, constituindo geralmente uma situação autolimitada. Para alívio sintomático pode prescrever-se agentes anticolinérgicos. A cistite pode condicionar hematúria adotando-se habitualmente uma conduta expectante pela ingestão hídrica abundante (37). Quando os sinais anteriores perduram além de 48 horas, são considerados RAM de grau II e obrigam à suspensão da imunoterapia, devendo ponderar-se a hospitalização com início de antibioterapia endovenosa, isoniazida e piridoxina. A toxicidade de grau III requer terapia com rifampicina, etambutol, fluoroquinolonas e corticosteroides intravenosos.

A redução da dose de BCG, do tempo de exposição para 30 minutos e o alargamento do intervalo de tempo entre as instilações são estratégias para reduzir as RAM. A redução da

dose tem um impacto económico importante. A avaliação dos custos (22) concluiu que a instilação de um terço da dose padrão de BCG é mais barata do que instilações de MMC. O custo de uma RTU-TV, estimado pelo Sistema Nacional de Saúde Espanhol em 2006, foi de 2194,73 euros, sendo que cada procedimento de instilação intravesical apresenta um custo avaliado em 323,82 euros. O tratamento com MMC é mais dispendioso, visto que se associa a maior número de instilações intravesicais, ou mesmo RTU adicionais, devido à maior taxa de recidiva associada a este tratamento. Atendendo a que a instilação de BCG, mesmo um terço da dose, se associa a maior frequência de RAM, têm sido apontados custos adicionais. Contudo, a maioria das RAM é apenas LUTS irritativos de resolução espontânea.

XI – Terapêuticas Conservadoras Alternativas

Não se encontra estabelecida a conduta terapêutica adequada após falência ao tratamento intravesical com BCG. A escolha deve ponderar a idade, devendo optar-se por uma abordagem conservadora num doente com mais de 70 anos ou naqueles que valorizam a preservação da bexiga.

A. Imunoterapia Intravesical

Estudos *in vitro* sugerem que o IFN- α potencia e prolonga a resposta imunitária Th1 e estimula a expressão de TRAIL, verificando-se maior inibição do crescimento de células tumorais aquando da coadministração de BCG e IFN- α do que com qualquer um deles isoladamente. Atendendo à possibilidade de instilação simultânea, esta associação permite reduzir a dose de BCG, o que minimiza a sua toxicidade. Gallagher et al. (43) avaliaram a eficiência da terapêutica dupla analisando retrospectivamente 1106 doentes, distribuídos por 2 grupos. O grupo I foi exposto a um curso de BCG padrão enquanto que o grupo II, previamente tratado com BCG e que apresentava uma recidiva, foi tratado com a conjugação de BCG e IFN- α . A proporção de doentes sem recidiva tumoral foi de 59% e de 45% no grupo I e no grupo II, respetivamente. Os autores quantificaram a sobrevivência aos 2 anos

nos doentes do grupo II que apresentaram recidiva ao fim de 6 meses, entre 6 e 12 meses, entre 12 e 24 meses, e decorridos mais de 24 meses, sendo de 34%, 41%, 43%, 53% e 66%, respetivamente. A melhoria da sobrevivência correlacionou-se com um maior intervalo de tempo até ao aparecimento de recidiva após terapêutica prévia com BCG. Os autores concluíram que nos doentes que em tratamento prévio apresentaram recidiva após 12 meses, uma baixa dose de BCG e IFN- α se associou a taxas livres de doença aos 24 meses entre 53 e 66%. Contudo, recidivas ao fim de menos de 1 ano apresentaram taxas livres de doença aos 2 anos compreendidas entre 34 e 43%, o que reflete a necessidade da cistectomia. Acredita-se que os tumores que recidivam nos primeiros 12 meses possuem uma capacidade intrínseca de resistência à imunoterapia intravesical com BCG. Pelo contrário, a recidiva após 1 ano pode surgir pelo enfraquecimento da resposta imunitária podendo ser reestimulada pela coadministração de BCG e de IFN- α .

A IL-12 é uma potente citocina pró-inflamatória que estimula a diferenciação dos linfócitos T em Th1 e a sua proliferação, a proliferação de células *natural killer* e potencia a memória imunológica. Zaharoff et al. (20) estudaram a eficácia da coformulação intravesical de quitosano/IL-12 num modelo ortotópico e luminescente de carcinoma da bexiga em murinos. O polissacarídeo possui três propriedades que potenciam a distribuição da IL-12: primeiro, a sua elevada carga policatiónica e as suas propriedades mucoadesivas facilitam a adesão à mucosa vesical de carga negativa; segundo, a sua elevada viscosidade torna a solução resistente à excreção; terceiro, enfraquece as *gap junctions* das faces laterais do epitélio, aumentando a permeabilidade a fármacos e proteínas presentes no pólo apical do epitélio da mucosa vesical. Os autores criaram um modelo animal, em ratos, de tumor vesical ortotópico através da instilação intravesical de células de carcinoma de células de transição. A proliferação das células tumorais foi monitorizada pela análise da luminescência, dado que as células transferidas foram transfectadas com o gene da luciferase e 15 minutos antes da

quantificação era administrada luciferina. Zaharoff et al. (20) compararam a sobrevivência do tratamento com IL-12 e com quitosano/IL-12. Decorridos 60 dias da implantação tumoral, a sobrevivência foi de 100% nos ratos tratados com quitosano/IL-12, ao passo que nos tratados apenas com a interleucina foi de 60%. A terapêutica combinada produz níveis séricos mais elevados de IL-12 e de IFN- γ , podendo dever-se à potenciação do acesso da IL-12 às células imunitárias residentes na submucosa vesical conseguida pelo polissacarídeo. A facilitação da permeabilidade à citocina possibilita a redução da dose de IL-2, evitando-se a toxicidade característica. Zaharoff et al. (20) demonstraram que, em modelo animal, a terapêutica intravesical com quitosano/IL-12 é superior à instilação de BCG. A análise de citocinas urinárias revelou que a coadministração induz uma produção significativa de citocinas de perfil Th1, salientando-se que induz níveis mais elevados do que o BCG. Dados os bons resultados, em modelo animal, devem ponderar-se ensaios clínicos em humanos.

A memória imunológica é particularmente importante nos carcinomas vesicais, uma vez que representam o tumor com maior taxa de recidiva. Zaharoff et al. (20) avaliaram a memória imunológica gerada pela terapêutica intravesical com quitosano/IL-12. Os investigadores selecionaram 18 ratos curados com a terapêutica dupla e instilaram pela segunda vez células tumorais. Observou-se rejeição em todos os ratos e não ocorreu evidência de recidiva tumoral durante o primeiro ano após o tratamento inicial. A imunohistoquímica identificou como prováveis células efetoras da resposta imunitária os linfócitos T e os macrófagos. Após 6 meses da cura, as células efetoras decresceram, mas permaneceram em maior número que em ratos não tratados. A população CD3⁺ predominantemente observada foi a CD8⁺, o que contrasta com estudos anteriores. Dada a alta taxa de recidiva, é proveitosa a capacidade de uma imunoterapia intravesical manter uma população celular efetora residente na parede da bexiga.

Burger et al. (19) compararam a eficiência e a segurança da terapia intravesical com macrófagos autólogos ativados *in vitro* e a instilação de BCG após a RTU-TV. Os doentes possuíam carcinomas de risco intermédio para recidiva, mas de baixo risco para progressão, sendo que 73 indivíduos foram tratados com o BCG e 64 com a instilação de MAK. Verificou-se que 85% dos indivíduos tratados com o BCG apresentaram efeitos adversos, comparativamente com 45% no outro grupo. Quanto à eficiência, contabilizou-se uma taxa de recidiva de 38% nos indivíduos tratados com a instilação de MAK, observando-se em 12% dos tratados com o BCG. Embora segura, a instilação de macrófagos permanece por instituir na prática clínica pela reduzida eficiência. As células MAK são obtidas pela exposição *in vitro* de monócitos periféricos ao IFN- γ . Enquanto que o BCG desencadeia a ativação de células T não específicas contra as células tumorais, a instilação de células MAK constitui um *bypass* à cascata imunitária complexa por ele desencadeada e provoca a lise seletiva de células tumorais. Acredita-se que o melhor perfil de segurança desta terapêutica seja consequência do mecanismo de ação consideravelmente mais específico.

B. Quimioterapia Intravesical

O benefício do BCG relativamente à quimioterapia intravesical em doentes de risco intermédio, cuja taxa de recidiva é aproximadamente de 50% e a taxa de progressão é de 10%, permanece controverso na medida em que qualquer vantagem em termos de eficiência deve ponderar o aumento da toxicidade. A Epirrubicina tem sido utilizada na Europa, possuindo maior peso molecular que a MMC, 579 KDa e 334 KDa, respetivamente. Por conseguinte, a Epirrubicina possibilita a minimização da absorção sistémica. Sylvester et al. (44) realizaram um ensaio clínico tendo em vista comparar a eficiência de instilações de Epirrubicina, de BCG e de BCG associado a isoniazida em CVNMI de risco intermédio e alto, excluindo o CIS. O ensaio clínico de Fase III incluiu 30911 doentes sujeitos a RTU-TV. Subsequentemente, foram aleatoriamente distribuídos por 3 grupos, um recebeu Epirrubicina

(50 mg em 50 ml de soro salino semanalmente durante 6 semanas consecutivas) decorridas 24 horas da RTU, outro grupo foi tratado com BCG (5×10^8 UFC semanalmente por 6 semanas consecutivas) sendo iniciado entre 7 e 15 dias após a RTU e o terceiro grupo foi sujeito ao esquema terapêutico anterior, mas tomou 300 mg de isoniazida oral no dia anterior, no dia e no dia seguinte à instilação de BCG. Os 3 grupos receberam 3 instilações de manutenção em semanas consecutivas após 3, 6, 12, 18, 24, 30 e 36 meses do tratamento de indução. Pelo facto de não existir benefício nem malefício na adição de isoniazida, o interesse principal foi comparar a Epirrubicina ao BCG. Foi comparado o intervalo de tempo até à recidiva, à progressão e ao surgimento de metástases e a sobrevivência global e específica da doença. Concluiu-se que o BCG prolonga o tempo até à recidiva e até ao desenvolvimento de metástases e diminui o risco de morte específico da doença. A padronização de acordo com o risco de recidiva e de progressão demonstrou que o BCG é mais eficiente quando o risco é intermédio. Portanto, o benefício da terapia com BCG não se limita a doentes com CVNMI de alto risco, mas também em doentes com carcinomas de risco intermédio. Os resultados do estudo de Sylvester et al. (44) não recomendam a Epirrubicina em detrimento do BCG mesmo tendo em conta que somente 6% dos doentes tratados com esta terapêutica alternativa interromperam o tratamento por toxicidade.

O peso molecular da Gencitabina, 299,66 KDa, é menor do que o de outras drogas usadas na quimioterapia intravesical, mas é elevado o suficiente para tornar a absorção sistémica insignificante quando é instilada numa bexiga intacta. Esta pró-droga é um análogo de uma base pirimídica que ao alcançar o meio intracelular é fosforilada e intercalada no DNA e no RNA, causando a inibição do ciclo celular e promovendo a apoptose. Tem-se mostrado segura na concentração de 40 mg/ml, podendo ser administrada precocemente após RTU, exceto na ocorrência de perfuração. O tempo de permanência vesical pode ultrapassar as 2 horas sem absorção sistémica considerável (45). Recentemente, vários estudos

investigaram a possível aplicação deste agente no tratamento de CVNMI após falência da imunoterapia intravesical com BCG (46).

Gunelli et al. (47) num estudo de Fase II avaliaram a eficiência da Gencitabina intravesical. Os doentes, refratários à terapêutica com o BCG por carcinomas TaG3 e T1G1-3, foram submetidos a nova RTU-TV e decorridas 2 semanas a instilações intravesicais com Gencitabina, 40 mg/ml durante 1 hora, 2 vezes por semana em 6 semanas consecutivas. Foi avaliado o intervalo de tempo até à recidiva e à progressão e a segurança. Nos carcinomas de risco elevado a taxa de resposta foi de 91%, enquanto que nos de risco intermédio foi de 100%. O tempo médio de seguimento foi de 28 meses, observando-se recidiva em 35% dos doentes. A taxa de sobrevivência ao fim de 1 ano foi de 80%, decaindo para 66% aos 2,5 anos. A toxicidade a nível local e a sistémica foi muito reduzida. Os autores concluíram que o esquema instituído é eficiente em carcinomas TaG3 e em carcinomas T1G1-3 refratários ao BCG e preconizaram a implementação de estudos de Fase III.

Porena et al. (46) confrontaram a segurança e a eficiência da terapêutica intravesical com a Gencitabina e com o BCG em CVNMI de alto risco. Apesar de ser o tratamento mais efetivo nestes tumores, é frequente o abandono da terapêutica com o BCG por intolerância. Sendo assim, é essencial encontrar novos fármacos que sejam pelo menos tão efetivos, mas menos tóxicos. Existem numerosos estudos que demonstraram a eficácia e a segurança da Gencitabina nos carcinomas de baixo e de intermédio risco, mas não existem comparações em carcinomas de alto risco relativamente ao tratamento com o BCG. Porena et al. (46) recorreram a 64 indivíduos, partindo-os por 2 grupos de 32 indivíduos, A e B, sendo ambos submetidos a RTU-TV seguida da instilação de BCG ou de Gencitabina, respetivamente. Calcularam a taxa de recidiva e de progressão e, de igual modo, o intervalo de tempo decorrido até à sua ocorrência. Secundariamente, aferiram a tolerância das terapêuticas de acordo com o número de doentes que abandonaram o estudo por RAM e a segurança através

da notificação de RAM locais e sistêmicas. Verificou-se que a taxa de recidiva no grupo A, tratado com o BCG, foi inferior à do grupo B, sendo o intervalo médio livre de doença significativamente menor nos tratados com Gencitabina. O grupo A apresentou uma taxa de toxicidade local grave de 12,5%. Por outro lado, no grupo B a toxicidade local ocorreu em 9,3% dos doentes e não foram relatados casos de toxicidade sistêmica com necessidade de tratamento. Os investigadores defenderam que a administração local de Gencitabina pode ser eficiente e com toxicidade mínima nos carcinomas de alto risco, pelo que nos doentes que não possam prosseguir o tratamento com o BCG, oferece uma alternativa válida com uma taxa de recidiva situada na gama de 20 a 70%.

Di Lorenzo et al. (48) compararam pela primeira vez, através de um estudo prospetivo, a eficiência da instilação intravesical de Gencitabina e de BCG em CVNMI de alto risco com história de falência ao BCG. O prognóstico dos doentes cuja imunoterapia falha e nos quais ocorre progressão tumoral é péssimo, sendo a taxa de mortalidade de 64% aos 2,5 anos. Desta forma, a falência representa um desafio importante especialmente nos CVNMI de alto risco, estando indicada na maioria destes casos a realização de cistectomia. A Gencitabina intravenosa é utilizada no carcinoma avançado, questionando-se a sua aplicação como agente intravesical nos doentes refratários ao BCG e que recusam a cirurgia. No estudo selecionaram-se CVNMI refratários ao BCG e com indicação para cistectomia, não tendo sido realizada por recusa ou por comorbilidades que a contraindicavam. Participaram 80 indivíduos, o grupo A recebeu Gencitabina intravesical, 40 mg/dl, 2 vezes por semana em 6 semanas consecutivas e o grupo B recebeu doses de 81 mg de BCG intravesical pelo mesmo período. Ambos receberam terapêuticas de manutenção semanais durante 3 semanas após 3, 6 e 12 meses. Foi determinada a taxa de recidiva ao fim de 1 ano, o intervalo de tempo até ao seu aparecimento e a taxa de progressão. A taxa de recidiva no grupo A foi de 52,5%, ao passo que no grupo B foi de 87,5%. Não obstante, a diferença entre os dois grupos em termos

de tempo até à recidiva não foi estatisticamente significativa. O grupo A apresentou uma taxa de progressão de 33% e o grupo B de 37,5%. Os autores concluíram que nos doentes com falência prévia ao BCG e com indicação não cumprida para cistectomia é mais sensato a prescrição de Gencitabina intravesical em detrimento de um segundo curso de BCG intravesical.

A Valrubicina foi aprovada pela FDA para o tratamento intravesical em doentes com CIS refratários ao BCG. É uma antraciclina semissintética extremamente lipossolúvel pelo que não mostra ligação preferencial à superfície do urotélio carregada negativamente, ao contrário do que se verifica com agentes hidrofílicos como por exemplo, a Doxorubicina. Sendo lipossolúvel, a Valrubicina atravessa rapidamente a membrana celular, sendo que o seu mecanismo de ação consiste na interferência na incorporação de nucleosídeos nos ácidos nucleicos e, conseqüentemente, provoca dano cromossómico e paragem do ciclo celular em G2. Por outro lado, os seus principais metabolitos, N-trifluoroacetildoxorubicina e N-trifluoroacetildoxorubicinol, inibem a topoisomerase II. Estudos de Fase I mostraram que produz pouca toxicidade de contacto e a absorção sistémica é desprezável mesmo quando administrada em altas doses, 800 mg eliminam 90% das células tumorais e condicionam absorção mínima. O seu metabolismo é desprezável durante 2 horas, o que corresponde ao tempo de retenção terapêutico, sendo que a micção do instilado resulta na excreção quase completa do fármaco.

Ignatoff et al. (49) realizaram um ensaio clínico de Fase II no qual testaram a eficiência e a segurança da Valrubicina intravesical em CVNMI refratários à imunoterapia com o BCG. Foram incluídos carcinomas papilares e/ou CIS que não responderam a pelo menos 2 cursos de terapêutica intravesical, obrigatoriamente um com o BCG. O Grupo A com carcinoma papilar Ta/T1 e Grupo B com CIS receberam 6 instilações semanais de 800 mg de Valrubicina após 7 a 28 dias da RTU-TV. O objetivo primário foi avaliar a proporção de

doentes sem recidiva tumoral decorridos 12 meses pelo que, ao fim deste período, os doentes realizaram cistoscopia e, nos do Grupo B foram efetuadas biópsias de mapeamento e citologia urinária. No Grupo A ocorreu resposta completa em 42,9% dos casos. Por outro lado, no Grupo B a taxa de resposta foi de 23,8%. No Grupo A 23,8% dos doentes morreram, apresentando uma taxa de sobrevivência aos 5 anos de 76,2%. No Grupo B 42,9% dos doentes morreram e a taxa de sobrevivência aos 5 anos foi de 59,7%. Foi avaliada a toxicidade, sendo a infeção a mais comum das RAM sistémicas e, relativamente à toxicidade local o mais frequente foi o relato de LUTS irritativos. Os autores acreditam que a Valrubicina é uma droga segura e eficiente no tratamento de CVNMI refratários ao BCG, devendo prosseguir-se com os estudos para caracterização da sua aplicabilidade enquanto alternativa ao BCG.

C. Quimioimunoterapia Intravesical

A associação de Epirrubicina e de IFN- α 2b, agentes efetivos endovesicalmente, associa-se a escassos efeitos secundários. Duchek et al. (50) estudaram prospetivamente a eficiência e a tolerância da quimioimunoterapia comparativamente ao BCG. Foram seguidos 250 doentes com carcinomas vesicais T1 G2-G3 divididos por 2 grupos, um tratado com o BCG e o outro com 50 mg de Epirrubicina e 10 milhões de unidades de IFN- α 2b, recebendo ambos os grupos tratamento de indução por 6 semanas e tratamento de manutenção por 2 anos. Foi avaliado para cada tratamento a sobrevivência livre da doença aos 6 meses, os efeitos secundários e a sobrevivência global e específica da doença ao fim de 5 anos. Aos 6 meses 62% dos doentes tratados com a associação não apresentava recidiva comparativamente com 73% dos tratados com BCG, sendo a sobrevivência maior nos últimos. Não se verificou diferença significativa relativamente à toxicidade ou à taxa de progressão. A imunoterapia foi mais eficiente na redução de recidivas, mas a padronização identificou benefício apenas em doentes com CIS o que está de acordo com a literatura que a

defende perante estas lesões. Os doentes com CIS concomitante têm um modesto aumento do risco de recidiva, mas grande de progressão de acordo com as tabelas da EORTC. Os autores alertaram para o facto destas tabelas se basearem em ensaios clínicos nos quais não foi realizada uma segunda RTU nem tratamento de manutenção com o BCG e nos quais apenas foi incluído um número diminuto de doentes com carcinomas T1G3 e Tis.

XII - Cistectomia no Carcinoma Não Musculo-Invasivo da Bexiga

Apesar da intensa investigação sobre abordagens conservadoras, alguns autores recomendam a cistectomia como a terapêutica apropriada após a falência da imunoterapia com o BCG. A vantagem é óbvia dada a taxa de sobrevivência de 80-90% ao fim de 5 anos, sendo curativa quando o tumor está confinado ao órgão. Contudo, é uma cirurgia *major* pelo que nem todos os doentes possuem condições operatórias, havendo também quem a recuse. Além disso, mesmo realizada pelos melhores cirurgiões apresenta uma taxa de mortalidade de 2 a 3% e a morbilidade, a curto e longo prazo, afecta cerca de 1/3 dos operados. Estes problemas incentivam a investigação de novas terapêuticas conservadoras alternativas ao tratamento primário com BCG.

Huguet et al. (29) estudaram retrospectivamente 95 doentes submetidos a cistectomia radical por CVNMI de alto risco após falência da imunoterapia com o BCG. Os autores pretenderam correlacionar características tumorais com a ocorrência de progressão, defendendo-as como indicadoras da necessidade de cistectomia. Concluíram que a progressão foi mais habitual em tumores associados a maior número de tumores T1 em RTU prévias e a menor número de RTU e de cursos de BCG realizados. A sobrevivência aos 5 anos foi de 90% quando se procedeu a cistectomia antes da invasão da *muscularis própria*, caindo para 50,6% na presença de invasão. No estudo 64% dos tumores sofreram progressão 3 meses após a RTU-TV, podendo a alta taxa ser explicada pelo subestadiamento no material colhido no decurso deste procedimento. Por esta razão as *guidelines* europeias recomendam uma RTU

antes de cada ciclo de BCG e biópsias da uretra prostática em tumores do colo vesical, na presença ou suspeita de CIS e perante anomalias macroscópicas a este nível.

Dezinger et al. (51) compararam o prognóstico a longo prazo de 105 carcinomas T1G3 tratados por cistectomia primária ou diferida por recidiva ou progressão após terapêutica conservadora com o BCG. Concluíram que aos 10 anos a taxa de sobrevida era de 78% quando se realizava cistectomia primária e de 51% quando a cirurgia era diferida. Segundo os autores, os tumores T1G3 com pelo menos 2 fatores de risco, multifocalidade e/ou diâmetro superior a 3 cm e/ou CIS concomitante, devem ser tratados com cistectomia primária. Por outro lado, tumores T1G3 únicos, de reduzidas dimensões e sem CIS concomitante podem ser tributários de tratamento conservador.

O tempo ótimo até à realização de cistectomia nos CVNMI de alto risco é um assunto controverso. Ali-El-Deim et al. (52) compararam a sobrevivência de tumores T1 tratados com cistectomia primária ou diferida. No estudo retrospectivo foram incluídos 204 doentes divididos em 2 grupos, o grupo 1 foi submetido a cistectomia primária e o grupo 2 a cistectomia diferida após um mês da falência de um ou 2 cursos de BCG ou outra terapêutica intravesical. Foi avaliada a sobrevida, além disso, no grupo 2 foi determinado o número de RTU-TV prévias à cirurgia. Embora a taxa de sobrevida aos 3, 5 e 10 anos seja menor no grupo 2, a diferença não foi estatisticamente significativa, aos 5 anos foi de 78% no grupo 1 e de 71% no grupo 2. No grupo 2 a sobrevida foi significativamente menor nos doentes sujeitos a pelo menos 3 RTU-TV. Os autores concluíram que a sobrevivência foi equiparável na intervenção cirúrgica primária ou na diferida, devendo optar-se pelo tratamento conservador na maioria dos carcinomas T1 de alto risco.

V. Raj et al. (53) compararam a sobrevivência entre uma *cohort* retrospectiva e uma prospetiva após cistectomia por recidiva em 589 tumores de alto risco. As *cohorts* foram tratadas por RTU-TV seguida pelo mesmo esquema de imunoterapia intravesical com o BCG.

A *cohort* retrospectiva era formada por 307 doentes tratados entre 1980 e 1989, altura em que se atrasava a cistectomia até ao aparecimento de progressão. Foi documentada uma taxa de recidiva de 28% e, cumprindo a filosofia vigente, os doentes foram tratados conservadoramente até à progressão que ocorreu em 70,6% dos casos ao fim de 5 anos. Quanto à *cohort* prospetiva constituíram indicações para a cirurgia a presença de CVNMI extenso, de recidiva ou de progressão. Foi documentada recidiva em 21,9% dos indivíduos, sendo submetidos a cistectomia radical. A mortalidade aos 5 anos foi de 48% na *cohort* estudada retrospectivamente e de 31% na *cohort* prospetiva. Desta forma, V. Raj et al. (53) sugerem a alteração do paradigma no tratamento de CVNMI de alto risco para uma cistectomia radical após falência do primeiro curso de BCG. Dada a diferente natureza dos grupos, um prospetivo com rigorosa recolha de dados e outro retrospectivo na dependência de registos prévios, é difícil estimar o verdadeiro benefício da cistectomia. No entanto, não é viável a realização de uma *cohort* prospetiva na qual se aguarde a progressão tumoral até à realização da cistectomia.

Lambert et al. (9) relacionaram o recurso sucessivo a terapêuticas intravesicais em carcinomas T1 de alto risco e a sobrevivência após decisão e realização de cistectomia radical. Avaliaram retrospectivamente 104 doentes submetidos a cistectomia, dividindo-os em 2 grupos: cirurgia antes e após 1998. Foi quantificado o número de cursos de terapêuticas intravesicais prévio à cirurgia e a sobrevivência após a intervenção cirúrgica. Antes de 1998, 74% foram sujeitos a cistectomia sem terapêutica intravesical prévia, comparativamente com 43% dos indivíduos operados após esta data. Os cistectomizados antes de 1998 apresentaram uma taxa de sobrevivência livre de doença aos 5 anos de 69,7%, sendo a taxa de 39,6% naqueles operados após 1998. Em teoria a diminuição da sobrevivência deveu-se ao aumento do uso de terapêuticas intravesicais, atrasando o tratamento definitivo e permitindo a evolução da doença.

XIII – Conclusão

O BCG é uma estirpe viva atenuada de *Mycobacterium bovis*, sendo utilizada no tratamento de CVNMI desde 1976. Contudo, atualmente é clara apenas a sua recomendação em carcinomas de alto risco.

A imunoterapia intravesical com o BCG erradica a doença em cerca de 70% dos casos. A falência tem como causa importante o desenvolvimento de reações adversas. Os efeitos secundários locais ocorrem em cerca de 90% dos indivíduos, requerendo na maior parte dos casos apenas tratamento sintomático. Contudo, estão descritas reações adversas muito graves, sendo importante uma rápida suspeição da sua presença com suspensão imediata da imunoterapia e instituição de tratamento adequado.

O conhecimento exato da resposta imunitária desencadeada pelas instilações de BCG permitirá não só idealizar novas estratégias terapêuticas, como também possibilitará delinear marcadores que predigam a sua eficiência. É de particular relevância a identificação dos indivíduos que com elevada probabilidade não responderão às instilações. A sua identificação *a priori* permitirá optar por outra estratégia terapêutica. Foram identificados como possíveis marcadores diferentes perfis de secreção de citocinas, de infiltração tumoral por células inflamatórias e de expressão gênica nas células tumorais. Os marcadores permitirão a personalização do tratamento e a rentabilização de recursos.

Não está estabelecida a terapêutica que deve ser instituída perante falência da imunoterapia intravesical com o BCG. Indivíduos idosos e/ou com comorbidades, sem condições para suportar uma cirurgia *major*, poderão beneficiar de terapêuticas conservadoras. Apesar de decorrerem investigações, nenhum agente de quimio ou de imunoterapia se encontra indicado como *gold standard* após falência ao BCG intravesical. As administrações intravesicais de INF- α e BCG, de quitosano/IL-12, de Epirrubicina, de Gencitabina e de Valrubicina têm demonstrado resultados promissores.

O urologista deve ponderar o risco de atrasar a cistectomia através de sucessivos tratamentos intravesicais, permitindo a progressão do tumor e, por conseguinte, comprometendo o prognóstico. As indicações para a cirurgia são controversas na literatura, sendo que seriam de grande utilidade.

XIV - Agradecimentos

A minha sincera gratidão ao Dr. Pedro Nunes e à Dr.^a Lilian Campos pela disponibilidade demonstrada.

XV - Abreviaturas

CVNMI – Carcinoma Vesical Não Musculo-Invasivo
BCG – Bacilo Calmette-Guérin
RTU-TV – Ressecção TransUretral Tumor Vesical
RTU – Ressecção TransUrethral
UMA – Unidades Maço Ano
LUTS – Lower Urinary Tract Symptoms
CIS – Carcinoma *In Situ*
NUPBPM – Neoplasias Uroteliais Papilares de Baixo Potencial de Malignidade
EORTC - European Organization for Research and Treatment of Cancer
MMC – MitoMicina C
AEU – Associação Europeia de Urologia
AAU – Associação Americana de Urologia
SWOG - Southwest Oncology Group
FDA – Food and Drug Administration
TRAIL- TNF Related Apoptosis Inducing Ligand
TNF- α – Tumor Necrosis Factor- α
IFN- γ – InterFerão Gama
Il- Interleucina
CUETO – Club Urológico Español de Tratamiento Oncológico
NRAMP1 – Natural Resistance-Associated Macrophage Protein 1
ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
RAM – Reacção Adversa ao Medicamento
RT-PCR – Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
PSA – Prostate Specific Antigen
HBP – Hiperplasia Benigna da Próstata
MAK - Monocyte-derived Activated Killer cells
UFC – Unidade Formadora de Colónias

XVI - Referências Bibliográficas

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. Cancer statistics. *A cancer journal for clinicians*. 2008;58(2):71-96.
2. Anastasiadis A, Reijke TM. Best practice in the treatment of nonmuscle invasive bladder cancer. *Therapeutic Advances in Urology*. 2012;4(1):13-32.
3. Badjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, Kaasinen E, Bohle A, Palou-Redorta J, et al. Guía clínica del carcinoma urotelial de vejiga no músculo-invasivo de la Asociación Europea de Urología. Actualización de 2011. *Actas Urológicas Españolas*. 2011;36(7):389-402.
4. Sexton WJ, Wiegand LR, Correa JJ, Politis C, Dickinson SI, Kang LC. Bladder cancer: A review of non-muscle invasive disease. *Cancer Control*. 2012;17(4):256-68.
5. Shelley MD, Mason MD, Kynaston H. Intravesical therapy for superficial bladder cancer: A systematic review of randomised trials and meta-analyses. *Cancer Treatment Reviews*. 2010;36:195-205.
6. Lightfoot AJ, Rosevear HM, Donnell MA. Recognition and treatment of BCG failure in bladder cancer. *The Scientific World Journal*. 2011;11:602-13.
7. Kim Y-J, Ha Y-S, Kim S-K, Yoon H, Lym MS, Kim M-J, et al. Gene signatures for prediction of response to bacillus calmette-guérin immunotherapy in primary pT1 bladder cancer. *Clinical Cancer Research*. 2010;16(7):2130-7.
8. Cho D, Bae J, Moon D, Cheon J, IEE j, Kim J, et al. The effects of intravesical chemoimmunotherapy with gemcitabine and bacillus calmette-guérin in superficial bladder cancer: A preliminary study. *The Journal of International Medical Research*. 2009;37:1823-30.
9. Lambert H, Pierorazio P, Olsson C, Benson M, McKierman J, Poon S. 2007. *Journal Compilation*.100:33-26.
10. Pearl R. Cancer and tuberculosis. 1929;9(97).
11. Old LJ, Clarke DA, Benacerraf B. Effect of bacillus calmette-guerin infection on transplanted tumours in the mouse. *Nature*. 1959;184(291-292).
12. Zbar B, Bernstein ID, Rapp HJ. Suppression of tumor growth at the site of infection with living bacillus calmette-guerin. *Journal of the National Cancer Institute*. 1971;46(4):831-9.
13. deKernion JB, Golub SH, Gupta RK, Silverstein M, Morton DL. Successful transurethral intravesical BCG therapy of bladder melanoma. *Cancer*. 1975;36(5):1662-7.
14. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *Journal of Urology*. 1976;116(2):180-3.
15. Sagnak L, Ersoy H, Ozok U, Senturk B, Ercil H, Bahar G, et al. Predictive value of urinary interleukin-8 cutoff point for recurrences after transurethral resection plus induction bacillus calmette-guérin treatment in non-muscle-invasive bladder tumors. *Clinical Genitourinary Cancer*. 2009;7(2).
16. Kresowik TP, Griffith TS. Bacillus calmette - guerin immunotherapy for urothelial carcinoma on the bladder. *Immunotherapy*. 2009;1(2):281-8.
17. Simons MP, O'Donnell MA, Griffith TS. Role of neutrophils in BCG immunotherapy for bladder cancer. *Urological Oncology*. 2008;26(4):341-5.
18. Luo Y, Knudson MJ. Mycobacterium bovis bacillus calmette-guérin-induced macrophage cytotoxicity against bladder cancer cells. *Clinical and Developmental Immunology*. 2010;2010:1-6.
19. Burger M, Thiounn N, Denzinger S, Kondas J, Benoit G, Chapado MS, et al. The application of adjuvant autologous intravesical macrophage cell therapy vs. BCG in non-muscle invasive bladder cancer: A multicenter, randomized trial. *Journal of Translational Medicine*. 2010;8(54).

20. Zaharoff DA, Hoffman B, Hooper HB, Benjamin Jr. CJ, Khurana KK, Hance KH, et al. Intravesical immunotherapy of superficial bladder cancer with chitosan/interleukin-12. *Cancer Research*. 2009;69(15):6192-9.
21. Martínez-Piñeiro JA, Flores N, Isorna S. 2002.
22. Ojea A, Nogueira JL, Solsona E, Flores N, Gómez Fernández JM, Molina Rodríguez J, et al. A multicentre, randomised prospective trial comparing three intravesical adjuvant therapies for intermediate-risk superficial bladder cancer: Low-dose bacillus calmette-guerin(27mg) versus very low-dose bacillus calmette-guerin (13.5mg) versus mitomycin C. *European Association of Urology*. 2007;52:1398-406.
23. Herr H. In maintenance bacillus calmette-guérin really necessary? *European Urology*. 2008;54:971-3.
24. Sylvester R, van der Meijden Lamm DL. Intravesical BCG reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: A meta-analysis of the published results of randomised clinical trials. *Journal of Urology*. 2002;168(1964-1970).
25. Bohle A, Bock PR. Intravesical BCG versus mitomycin C in superficial bladder cancer: Formal meta-analysis of comparative studies on tumor progression. *Urology*. 2004;63(682-687).
26. Meijden APM. Optimal treatment for intermediate- and high risk, nonmuscle-invasive bladder cancer. *The Scientific World Journal*. 2006;6:2611-6.
27. Decobert M, LaRue H, Harel F, Meyer F, Fradet Y, Lacombe L. Maintenance bacillus calmett-guérin in high-risk nonmuscle-invasive bladder cancer. *American Cancer Society*. 2008;113(4):710-6.
28. Zlotta AR, Fleshner NE, Jewett MA. The management of BCG failure in non-muscle-invasive bladder cancer: An update. *Canadian Urological Association*. 2009;3(6):199-205.
29. Huguet J, Gaya JM, Sabaté S, Palou. J, Villavicencio H. Radical cystectomy in patients with non-muscle invasive bladder cancer who fail BCG therapy. *Actas Urológicas Españolas*. 2010;34(1):63-70.
30. Saint F, Kurth N, Maille Pea. Urinary IL-2 assay for monitoring intravesical Bacillus Calmette-Guérin response of superficial bladder cancer during induction course and maintenance therapy. *International Journal Cancer*. 2003;107:434-40.
31. Esuvaranathan K, Chiong E, Thamboo T, Chan Y, Kamaraj R, Mahendran R, et al. Predictive value of p53 and pRb expression in superficial bladder cancer patients treated with BCG and interferon-alpha. *American Cancer Society*. 2007;109(6):1097-105.
32. Palau J, Algaba F, Vera I, Rodriguez O, Villavicencio H, Sanchez-Carbayo M. Protein expression patterns of ezrin are the predictors of progression in T1G3 bladder cancer tumours treated with nonmaintenance bacillus calmette-guérin. *European Urology*. 2009;56:829-36.
33. Ayari C, LaRue H, Hovington H, Decobert M, Harel F, Bergeron A, et al. Bladder tumor infiltrating mature dendritic cells and macrophages as predictors of response to bacillus calmette-guérin immunotherapy. *European Association of Urology*. 2009;55:1386-96.
34. Takayama H, Nishimura K, Tsujimura A, Nakai Y, Nakayama M, Aorasa K, et al. Increased infiltration of tumor associated macrophages is associated with poor prognosis of bladder carcinoma in situ after intravesical bacillus calmette-guerin instillation. *The Journal of Urology*. 2009;181:1894-900.
35. Lestre Alcântara SI, Gameiro CD, João A, Lopes Paiva MJ. Granolomas do pêni - Uma complicação rara da terapia intravesical com bacilo calmette-guérin. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2011;86(4):759-62.
36. Joaquim A, Custódio S, Pimentel FL, Matos Fidalgo J, Peixoto V, Faria AL, et al. Bacillary prostatitis after intravesical immunotherapy: A rare adverse effect. *Case reports in oncology*. 2012;5(1):80-3.

37. Rodríguez F, Palou J, Martínez R, Rodríguez O, Rosales A, Hugel J, et al. Esquema práctico del manejo de los efectos adversos asociados con la instilación de BCG. *Archivos españoles de urología*. 2008;61(5):591-6.
38. Álvarez-Múgica M, Gómez Fernández JM, Vázquez Bulnes V, Monzón Jalón A, Rodríguez Fernández JM, Robles Robles L. Pancreatic and psoas abscesses as a late complication of intravesical administration of bacillus calmette-guerin for bladder cancer: A case report and review of the literature. *Journal of Medical Case Reports*. 2009;3(7323):1-4.
39. Um S-J, Lee S-K, Yang D-K. Hypersensitivity pneumonitis following intravesical bacille calmette-guérin immunotherapy for superficial bladder cancer. *Journal of investigational allergology & clinical*. 2009;19(3):230-2.
40. Harding GEJ, Lawlor DK. Rupture mycotic abdominal aortic aneurysm secondary to mycobacterium bovis after intravesical treatment with bacillus calmette-guérin. *Journal of Vascular Surgery*. 2007;46(1):131-4.
41. Yuge K, Kikuchi E, Matsumoto K, Takeda T, Miyajima A, Oya M. Could patient age influence tumor recurrence rate in non-muscle-invasive bladder cancer patients treated with BCG immunotherapy? *Japanese Psychological Research*. 2011;41(4):565-70.
42. Heiner JG, Terris MK. Effect of advanced age on the development of complications from intravesical bacillus calmette-guérin therapy. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. 2008;26:137-40.
43. Gallagher BL, Joudi FN, Maymí JL, O'Donnell MA. Impact of previous bacille calmette-guérin failure pattern on subsequent response to bacille calmette-guérin plus interferon intravesical therapy. *Urology*. 2008;71(2):297-301.
44. Sylvester R, Brausi MA, Kirkels WJ, Hoeltl W, Silva F, Powell PH, et al. Long-term efficacy results of EORTC genito-urinary group randomized phase 3 study 30911 comparing intravesical instillations of epirubicin, bacillus calmette-guérin, and bacillus calmette-guérin plus isoniazid in patients with intermediate- and high-risk stage Ta T1 Urothelial carcinoma of the bladder. *European Association of Urology*. 2010;57(5):766-73.
45. Grossman HB, O'Donnell MA, S. CM, Greenberg RE, Keane TE. Bacillus calmette-guérin failures and beyond: Contemporary management of non-muscle-invasive bladder cancer. *Reviews in Urology*. 2008;10(4):281-9.
46. Porena M, Zingaro M, Lazzeri M, Mearini L, Giannantoni A, Bini V, et al. Bacillus calmette-guérin versus gemcitabine for intravesical therapy in high-risk superficial bladder cancer: A randomised prospective study. *Urologia Internationalis*. 2010;84:23-7.
47. Gunelli R, Bercovich E, Nanni O, Ballardini M, Frassinetti GL, Giovannini N, et al. Activity of endovesical gemcitabine in BCG-refractory bladder cancer patients: A translational study. *British Journal of Cancer*. 2007;97(11):1499-504.
48. Lorenzo G, Perdonà S, Damiano R, Faiella A, Cantiello F, Pignata S, et al. Gemcitabine versus bacille calmette-guérin after initial bacille calmette-guérin failure in non-muscle-invasive bladder cancer. *Cancer*. 2010;116(8):1893-900.
49. Ignatoff JM, Chen Y-H, Greenberg RE, Pow-Sing JM, Messing EM, Wilding G. Phase II study of intravesical therapy with AD32 in patients with papillary urothelial carcinoma in situ (CIS) refractory to prior therapy with bacillus calmette-guerin (E3897): A trial of the eastern cooperative oncology group. *Urological Oncology*. 2009;27(5):496-501.
50. Duchek M, Johansson R, Jahson S, Mestad O, Hellstrom P, Hellsten S, et al. Bacillus calmette-guérin is superior to a combination of epirubicin and interferon- α 2b in the intravesical treatment of patients with stage T1 urinary bladder cancer. A prospective, randomized, nordic study. *European Urology*. 2010;57:25-31.
51. Denzinger S, Fritsche H-M, Otto W, Blana B, Wieland W-F, Burger M. Early versus Deferred Cystectomy for initial high-risk pT1G3 Urothelial Carcinoma of the Bladder: Do

risk Factors Define Feasibility of Bladder-Sparing Approach? European Association of Urology. 2008;53:146-52.

52. Ali-El-Dein B, Al-Marhoon MS, Abdel-Latif M, Mesbah A, Shaaban AA, Nabeeh A, et al. Survival after primary and deferred cystectomy for stage T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology Annals*. 2011;3(3):127-32.

53. Raj GV, Herr H, Serio AM, Donat SM, Bochner BH, J. VA, et al. Treatment paradigm shift may improve survival of patients with high risk superficial bladder cancer. *The Journal of Urology*. 2007;177(4):1283-6.