



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO  
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO  
INTEGRADO EM MEDICINA**

**JOÃO GONÇALO NUNES SANTIAGO**

***CARCINOMA IN SITU DA BEXIGA, DIAGNÓSTICO  
E TRATAMENTO***

**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE UROLOGIA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:  
PROFESSOR DOUTOR ALFREDO JOSÉ FANZERES MOTA  
DOUTOR PEDRO TIAGO COELHO NUNES**

**MARÇO/2011**

## Índice

<b>Índice</b> .....	1
<b>Resumo</b> .....	3
<b>Abstract</b> .....	3
<b>Introdução</b> .....	5
<b>Material e métodos</b> .....	7
<b>Resultados</b> .....	8
Epidemiologia .....	8
Características histológicas e citológicas .....	9
CIS primário versus CIS secundário .....	15
Teoria de cancerização de campo e multicentricidade tumoral .....	16
Origem genética .....	18
Antigénios proliferativos .....	20
Descoesão celular .....	20
Etiologia .....	22
Cigarro, charuto, cachimbo e exposição ambiental .....	22
Consumo total de líquidos .....	23
Vitaminas e minerais .....	24
Nível sócio-económico .....	25
Café .....	25
Chá .....	26
Adoçantes .....	26
Álcool .....	26
Exposição Ocupacional .....	27
Exposição de origem médica .....	27
Polimorfismos genéticos .....	28
Infecção e inflamação .....	29
Sinais e sintomas .....	30
Diagnóstico diferencial clínico .....	30
Disúria .....	30
Hematúria .....	30
Lesões eritematosas .....	31

---

Diagnóstico.....	32
Cistoscopia de luz branca .....	33
Cistoscopia fluorescente (PDD).....	34
Citologia .....	37
UroVysion™ FISH.....	39
ImmunoCyt/uCyt+™ .....	41
BTA Stat™ e BTA Trak™ .....	43
NMP-22 .....	43
mtADN .....	44
BLCA-4 e BLCA-1 .....	45
HA-HAse .....	45
Survivina.....	46
Análise de microssatélites.....	46
Telomerase.....	46
Citoqueratinas .....	47
DD23 .....	47
Lewis X.....	47
Quanticyt nuclear karyometry.....	48
Fibrina.....	48
Urografia por tomografia computadorizada multidetectores .....	48
Espectroscopia de Raman .....	49
Tratamento do CIS.....	51
Bacillus Calmette-Guérin (BCG).....	52
Epirrubicina.....	55
Mitomicina C .....	56
Doxorrubicina .....	57
Tiotepa e cisplatina.....	57
Cistectomia Radical.....	58
<b>Conclusão .....</b>	<b>60</b>
<b>Bibliografia.....</b>	<b>63</b>

## Resumo

**Introdução:** O carcinoma *in situ* (CIS) urotelial é uma lesão com elevado potencial para progressão, sendo considerado um precursor do carcinoma invasivo da bexiga. Apesar de a sua forma isolada ser rara, é frequentemente encontrado em associação com outros tumores da bexiga. **Material e métodos:** Este trabalho constitui uma Tese de Mestrado em Medicina sob a forma de artigo de revisão que incide sobre o estado da arte no que se refere ao diagnóstico e tratamento do CIS da bexiga. Foi elaborado através da pesquisa e leitura de um grande número de artigos científicos e de revisão, publicados na Medline e B-on nos últimos 10 anos sobre este tema. **Resultados:** Actualmente pensa-se que o CIS da bexiga terá origem em alterações genéticas por uma via que inclui mutações do TP53. Constitui um tumor com elevada probabilidade de progressão e recorrência, habitualmente multifocal e cuja presença implica uma diferente abordagem ao nível do plano de tratamento e seguimento. O CIS da bexiga constitui um desafio diagnóstico pelas limitações das técnicas actualmente disponíveis para a sua pesquisa. A cistoscopia e a citologia, aliadas a novos métodos de pesquisa de alterações celulares e marcadores bioquímicos em amostras de urina constituem os exames auxiliares de diagnóstico actualmente mais usados. As opções de tratamento actualmente com melhores resultados implicam a utilização de terapêutica intravesical ou cistectomia radical. A presença desta lesão é fonte de morbidade e mortalidade considerável caso o seu diagnóstico e tratamento precoce não sejam realizados, o que justifica a sua importância no contexto da patologia oncológica em Urologia.

## Abstract

**Introduction:** The urothelial carcinoma *in situ* (CIS) is a lesion with great potential of progression, and is regarded as a precursor of invasive bladder carcinoma. Although it is rarely an isolated lesion, it is frequently seen in association with other bladder tumors. **Material and methods:** The present work constitutes a Master's Thesis in medicine in the form of a review article about the state of the art regarding the diagnosis and treatment of bladder CIS. It was developed through research and reading of a large number of scientific articles and review papers about this topic, published in Medline and B-on over the last 10 years. **Results:** Nowadays it is thought that CIS of the bladder is originated over a series of genetic changes in a pathway that includes the mutation of TP53. It is a tumor with a high probability of progression and recurrence, usually multifocal and which presence might imply a different treatment plan and follow-up. The bladder CIS constitutes a diagnostic challenge because the diagnostic techniques currently available have important limitations. Cystoscopy, cytology and new diagnostic methods based on the detection of cellular changes or biochemical markers in urine samples are currently the most used auxiliary diagnostic techniques. The treatment options with the best results currently include the use of intravesical agents or radical cystectomy. The presence of CIS is a considerable source of morbidity and mortality if early diagnosis and treatment are not made, and this justifies its importance in the context of oncologic Urology.

Palavras chave:

*Carcinoma in situ*; *bexiga*; cis; diagnóstico; tratamento; etiologia;

Abreviaturas:

CIS- *Carcinoma in situ*

UC- *Carcinoma urotelial*

BCG- *Bacillus Calmette-Guérin*

PCR- *Polymerase Chain Reaction*

TUR- *Ressecção transuretral*

HAL- *Hexaminolevulinato*

5-ALA - *Ácido 5-aminolevulínico*

## Introdução

O carcinoma urotelial da bexiga é o segundo cancro mais frequente do aparelho génito-urinário, a seguir ao cancro da próstata. É a 4ª doença maligna mais frequente em homens[12] e a 9ª mais frequente em mulheres, sendo responsável por cerca de 336,000 novos casos a cada ano em todo o mundo. [12] A sua frequência varia entre países, tendo a incidência na Europa sido estimada em 15,6 casos por 100,000 habitantes com uma mortalidade de 4,8 por 100,000 habitantes em 2008[1]. O custo por doente com cancro da bexiga desde o diagnóstico até à data da morte é estimado como sendo o maior entre todos os cancros. [12] Isto dever-se-á em parte à alta propensão para recorrência e progressão dos tumores da bexiga. [12]

O carcinoma *in situ* (CIS) foi descrito pela primeira vez por Melicow em 1952 como áreas de hiperplasia e anaplasia de mucosa de aspecto grosseiro em bexigas com cancro. [74] O CIS da bexiga é um tumor relativamente pouco frequente (+-10% de todos os tumores da bexiga), mas a sua importância advém de ser uma lesão com elevado potencial invasivo. [20] Melamed *et al.* foram os primeiros a descrever a história natural do CIS urotelial e mostraram que 9 em cada 25 pacientes (36%) desenvolviam carcinoma invasivo até 5 anos depois do diagnóstico inicial. [73] Podem ser encontradas diferentes formas de apresentação do CIS, nomeadamente: CIS primário, que ocorre sem tumor urotelial associado prévio; CIS concomitante, que ocorre simultaneamente com um tumor da bexiga diagnosticado de novo; CIS secundário, que ocorre durante o *follow-up* de tumor urotelial conhecido. [114]

Esta é uma entidade com elevada importância clínica cujas maiores dificuldades ainda são o diagnóstico precoce e tratamento eficaz e a longo prazo. A clínica é maioritariamente inespecífica e cerca de 25% dos doentes são assintomáticos na altura

do diagnóstico do tumor. [51, 58] Neste trabalho serão abordadas as principais características clínicas, histológicas, genéticas e fisiológicas do CIS da bexiga, bem como a sua distribuição epidemiológica e a sua etiologia, cujo conhecimento ajudará o clínico a orientar o seu raciocínio para incluir o cancro da bexiga, no geral, e o CIS em particular nas suas hipóteses diagnósticas.

A citologia urinária e a cistoscopia convencional com mapeamento da bexiga e colheita de biópsias são consideradas o *gold standard* clássico entre os métodos de detecção do carcinoma da bexiga. [6, 16] No entanto, diversos novos métodos de diagnóstico surgiram nas últimas décadas e esta permanece ainda uma área em expansão carecendo de métodos de rastreio e de diagnóstico que sejam altamente sensíveis e eficazes. Os mais importantes serão a cistoscopia com fluorescência, o teste Urovysion FISH, ImmunoCyt/uCyt+ Teste e BTA Stat e BTA Trak, entre outros, que serão abordados neste trabalho.

Vários regimes de tratamento foram propostos e serão descritos nesta tese de acordo com a sua aplicabilidade, eficácia demonstrada e segurança no tratamento. Entre os mais importantes, foi dado destaque à terapêutica intravesical com BCG e a cistectomia radical como as mais importantes armas terapêuticas face a esta entidade. Será feita referência também aos agentes intravesicais mitomicina C, epirrubicina, doxorrubicina, tiotepa e cisplatina, alguns dos quais têm revelado elevado potencial no tratamento do CIS da bexiga.

## **Material e métodos**

Para a elaboração do presente artigo de revisão, foi efectuada a pesquisa e a leitura de diversos artigos científicos e de revisão publicados na base de dados Medline e B-ON nos últimos 10 anos, cujo tema estivesse relacionado com a etiologia, métodos de diagnóstico e estratégias de tratamento para o carcinoma da bexiga e, em particular, para o Carcinoma *in situ* da bexiga. Palavras chave utilizadas: Bladder carcinoma *in situ*; bladder cancer; bladder CIS diagnosis; bladder CIS treatment; bladder cancer etiology; risk factors bladder cancer; bladder cancer pathway; urovysion; immunocyt; intravesical therapy;

Na elaboração e planeamento do trabalho foi essencial a colaboração, apoio e incentivo do Doutor Pedro Nunes ao qual agradeço toda a dedicação e disponibilidade para a orientação e revisão do texto. Agradeço também a prestável colaboração da Doutora Fernanda Xavier e Dr. Vítor Sousa que gentilmente cederam algumas imagens de CIS da bexiga do arquivo do serviço de Anatomia Patológica dos Hospitais da Universidade de Coimbra que incluí neste trabalho. Agradeço também a colaboração e apoio do Professor Doutor Alfredo Mota na revisão e correcção finais e na verificação da qualidade científica das afirmações publicadas no presente documento.

## Resultados

### Epidemiologia

O carcinoma urotelial da bexiga é o segundo cancro mais frequente do aparelho génito-urinário, a seguir ao cancro da próstata. É a 4ª doença maligna mais frequente em homens[12] e a 9ª mais frequente em mulheres[53] sendo responsável por cerca de 336,000 novos casos a cada ano em todo o mundo. [12] A sua frequência varia entre países, tendo a incidência na Europa sido estimada em 15,6 casos por 100,000 habitantes com uma mortalidade de 4,8 por 100,000 habitantes em 2008[1]. A maior incidência verifica-se nos países desenvolvidos da Europa Ocidental, América do Norte e Austrália. As incidências mais baixas verificam-se nos países de Leste Asiático. [98]Aproximadamente 60,000 mulheres são diagnosticadas com a doença anualmente em todo o mundo. [98] Este cancro é em média três a quatro vezes mais frequente em homens que em mulheres. [12, 82] Isto tem sido atribuído a diferentes hábitos tabágicos e a uma exposição ocupacional a carcinogénios mais frequente em homens que em mulheres. [12] Para o CIS o ratio Homens/Mulheres é superior sendo estimado em 4-7 vezes mais frequente em homens. [12]

No geral, os cancros da bexiga são morfológicamente heterogéneos. Os mais comuns são os carcinomas uroteliais (UC), constituindo 90% do total de cancros da bexiga. Destes, 75% a 85% são superficiais, sem invasão muscular e com um bom prognóstico. [6, 12, 116] No entanto, 70% dos UC recorrem e 10 a 30 % dos US recorrentes progridem para cancro invasivo, o que obriga a tratamento e monitorização vitalícia destes doentes. [6] Nos países desenvolvidos, o tipo mais predominante é o de células de transição e a grande maioria dos casos poderá estar relacionada com a exposição a carcinogénios inalados do fumo dos cigarros. Nos países em que a

Schistosomíase é endémica a maioria dos cancros são carcinomas de células escamosas. [12]

O carcinoma *in situ* (CIS) foi descrito pela primeira vez por Melicow em 1952 como áreas de hiperplasia e anaplasia de mucosa de aspecto grosseiro em bexigas com cancro. [74] Apesar da aparência clinicamente inócua, Melicow e Hollowell deram ênfase às características potencialmente invasivas desta lesão. [75] É actualmente reconhecido como um precursor bem estabelecido dos cancros invasivos da bexiga. [12]

A incidência do CIS aumenta com a idade, raramente ocorrendo antes dos 40-50 anos, e sendo mais frequente entre os 65-73 anos. [114] No estudo de Cheng de 138 doentes com CIS primário a idade dos doentes aquando do diagnóstico variou entre 32 e 90 anos com uma média de 66 anos. [12] Mantendo-se a tendência actual para o envelhecimento populacional, é previsível que a incidência de carcinoma da bexiga venha a aumentar nas próximas décadas. Assim, justifica-se o interesse em melhorar as técnicas de prevenção, diagnóstico e tratamento do cancro da bexiga. [123]

### Características histológicas e citológicas

O carcinoma *in situ* pode ser encontrado em todas as áreas que possuem urotélio, incluindo pélvis renal, ureteres, bexiga e uretra prostática. Raramente, foi encontrado nas vesículas seminais, epitélio ejaculatório, meato uretral, glândulas peri-uretrais e ductos colectores do rim. [51] É normalmente multifocal, com uma predilecção pelo trígono, parede lateral e fundo da bexiga [12] De acordo com dados recentes, a hiperplasia urotelial papilar atípica e a displasia urotelial podem ser lesões precursoras do CIS. [12]

Corresponde a uma neoplasia intraepitelial plana (não papilar), não invasiva mas de alto grau. [114, 126] Pode ser encontrada concomitantemente com carcinomas invasivos em 50% dos casos (carcinoma *in situ* secundário).[114, 126] Surge como uma área plana do epitélio composta por células anaplásicas com um padrão de crescimento desordenado, sem extensão ao lúmen da bexiga ou penetração na membrana basal. As células são altamente anaplásicas com figuras mitóticas abundantes e perda da coesão celular. As células mostram aumento do tamanho do núcleo, hipercromático e irregular. O número de camadas celulares pode estar normal ou aumentado mas sem a formação de estruturas papilares. [12, 51, 80, 114] A lesão pode ocupar ou não toda a espessura do epitélio. [80] O CIS é, portanto, uma lesão plana, designada Tis de acordo com a classificação patológica TNM. Para o estadiamento clínico, o sufixo “is” pode ser adicionado a qualquer tumor primário para designar a presença de CIS associado. Em contraste, os carcinomas uroteliais papilares não invasivos são considerados lesões Ta. [114]Devido à falta de coesão celular, por vezes pode ser encontrado apenas tecido conjuntivo desnudado por descamação de toda a camada mucosa contendo o CIS. Nestes casos pode ser denominado de “*clinging CIS*” ou “*denuding cystitis*” [12, 51] Estes casos são mais propensos a falsos negativos na biopsia, devendo o médico ter especial atenção em procurar zonas diagnósticas e que são muitas vezes encontradas nos ninhos de Von Brunn ou em secções mais profundas do bloco da amostra. [12, 51] Nestes casos deve também ser dada especial atenção à citologia urinária visto que as células malignas esfoliadas são mais facilmente encontradas na urina. [12]

O CIS microinvasivo foi definido inicialmente por Farrow *et al* como a invasão para a lâmina própria a uma profundidade de 5mm ou menos a partir da membrana basal. [12] De acordo com um consenso recente, as amostras com mais de 20 células neoplásicas medidas da interface estroma/epitélio devem ser classificadas como

---

invasivas. [12] A micro-invasão surge como uma extensão tumoral directa em cordas (tentáculos), células isoladas, ou células isoladas e clusters de células. A marcação imunohistoquímica com anticorpos contra as citoqueratinas AE1/AE3 pode ser útil na detecção das células malignas. [12]

É útil distinguir as variantes histológicas do CIS urotelial tais como CIS de grandes células, CIS pagetóide e CIS de pequenas células para evitar erros no diagnóstico. No entanto, não se encontram diferenças de prognóstico entre estas variantes. [114]

O CIS do urotélio é o precursor do cancro da bexiga mais bem definido. [12, 126] O CIS raramente é diagnosticado como lesão primária. No entanto, não é raro encontrá-lo associado a tumores de alto grau sem invasão muscular, particularmente àqueles com invasão superficial (T1). Nestes casos a probabilidade de progressão para invasão é de 50%, não se conseguindo, no entanto, adivinhar o prognóstico individual. [126] Histologicamente, um padrão de positividade para CK20, p53 ao longo de todo o urotélio neoplásico e negatividade para CD44 favorece o diagnóstico de CIS. McKenney *et al* concluíram que este padrão imunohistoquímico pode ser usado para confirmar casos de suspeita de CIS. [114]

As características citológicas e histológicas do CIS da bexiga não podem ser usadas no diagnóstico inicial para distinguir os carcinomas que se tornarão invasivos dos que terão um curso indolente. [51] Esta permanece ainda uma área de estudo e novas metodologias estão a ser estudadas que permitam avaliar o potencial invasivo do CIS. Shariat *et al*, mostraram que uma marcação imunohistoquímica positiva para p21 e p53 se correlaciona com maior risco de recorrência, progressão e mortalidade. A ausência de marcação está associada com o melhor prognóstico. [114]

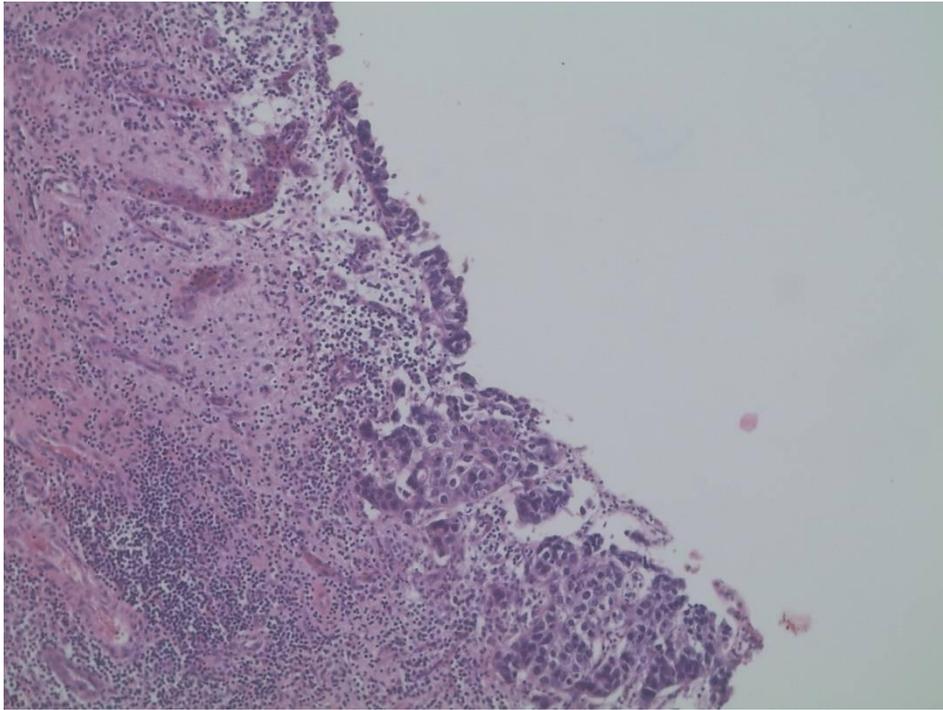


Figura 1- Nesta imagem observa-se área de CIS (à direita) e área com invasão da lâmina própria (microinvasão) por carcinoma urotelial constituído por pequenos maciços e trabéculas de células com pleomorfismo nuclear moderado (à esquerda). Na lâmina própria observa-se edema, congestão vascular e infiltrado inflamatório de intensidade ligeira a moderada e de predomínio linfocítico. HE, 200x. (imagem cedida pelo instituto de Anatomia Patológica dos HUC)

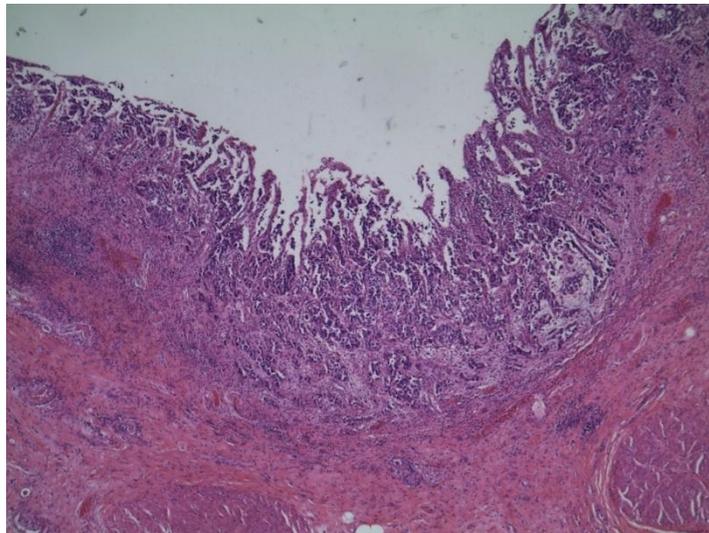


Figura 2- Foco de infiltração da lâmina própria por carcinoma urotelial vesical (microinvasão). Observam-se pequenos maciços de células com pleomorfismo celular e nuclear envolvidos por estroma de tipo desmoplásico. Em profundidade observa-se musculo detrusor com morfologia preservada. HE, 100x. (imagem cedida pelo instituto de Anatomia Patológica dos HUC)

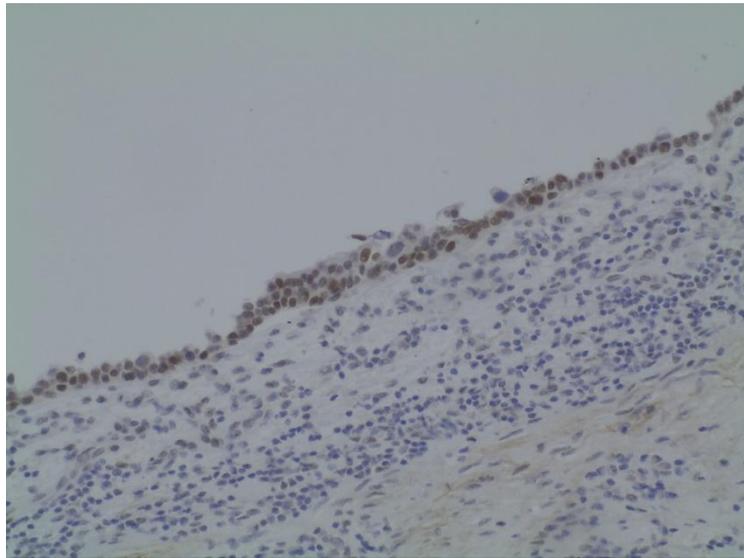


Figura 3- Área de carcinoma *in situ* do urotélio vesical com expressão intensa nuclear de p53. p53, 200x. (imagem cedida pelo instituto de Anatomia Patológica dos HUC)

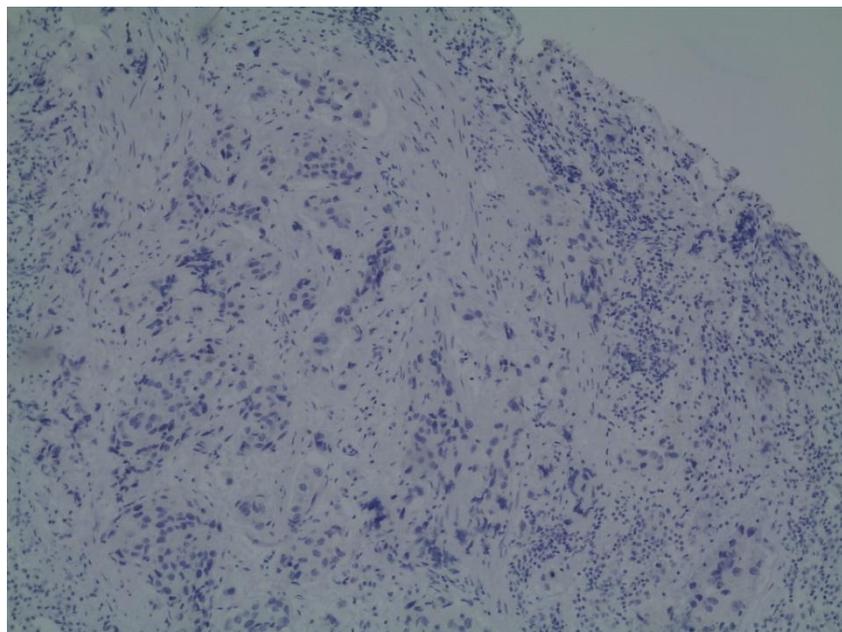


Figura 4- Ausência de expressão de CK20, componente microinvasivo de carcinoma urotelial vesical que infiltra o tecido conjuntivo sub-urotelial. CK20, 200x. (imagem cedida pelo instituto de Anatomia Patológica dos HUC)

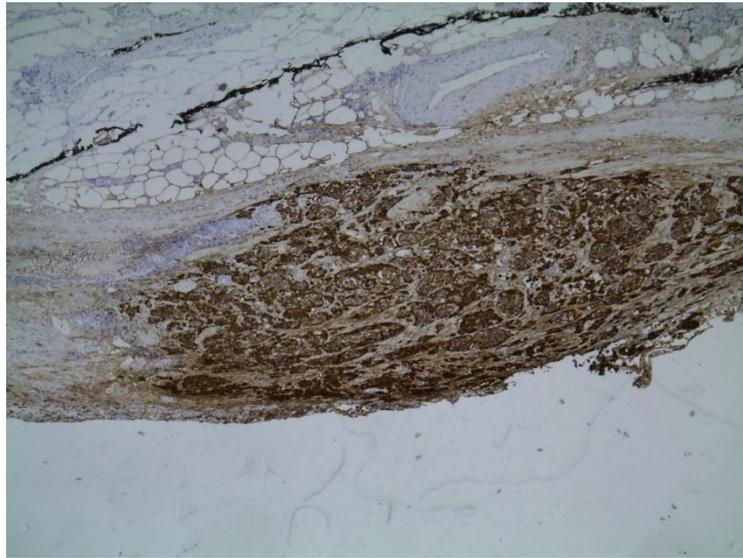


Figura 5- Foco de infiltração por carcinoma urotelial vesical evidenciando expressão intensa e difusa de CK7. CK7, 100x. (imagem cedida pelo instituto de Anatomia Patológica dos HUC)

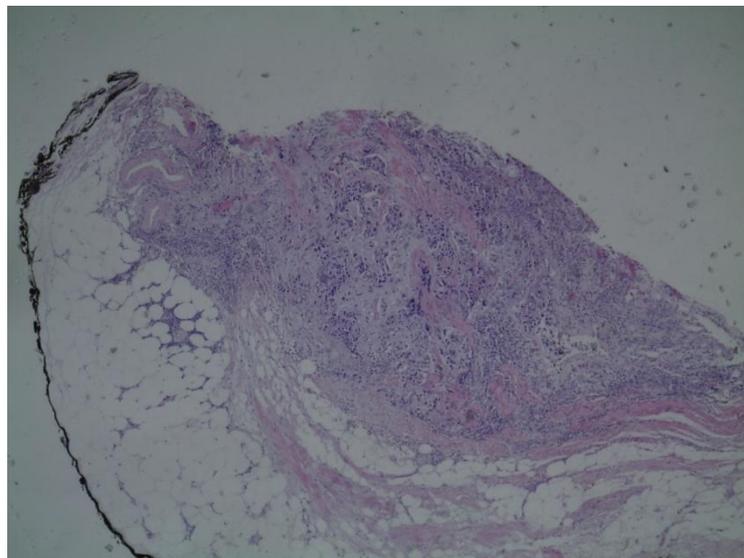


Figura 6- Foco de infiltração do tecido conjuntivo sub-urotelial por trabéculas e pequenos maciços de células com pleomorfismo nuclear moderado. O estroma envolvente é de tipo desmoplásico e com infiltrado inflamatório de intensidade ligeira. HE, 100x.. (imagem cedida pelo instituto de Anatomia Patológica dos HUC)

## CIS primário versus CIS secundário

Takenaka e colegas propuseram a separação das lesões nas seguintes categorias: (1) CIS primário, que ocorre sem tumor urotelial associado prévio, (2) CIS concomitante, que ocorre simultaneamente com um tumor da bexiga diagnosticado de novo, (3) CIS secundário, que ocorre durante o *follow-up* de tumor urotelial conhecido. [114] Esta denominação está a ganhar apoiantes e tem sido usada por alguns autores. No entanto, a terminologia clássica define CIS primário ou secundário à presença ou ausência de tumor da bexiga associado ou anterior.

O CIS primário, isolado ou de novo corresponde a menos de 5% das neoplasias da bexiga. [12, 114] A apresentação clínica imita muitas vezes a cistite. É frequentemente multifocal e envolve a uretra prostática e o uréter em 67% e 57% dos casos, respectivamente. [12] O CIS urotelial está associado a um carcinoma invasivo noutra sítio da bexiga em 45-65% dos casos e é chamado de CIS secundário. [12, 114] A frequência de CIS aumenta com o grau e estadió do tumor urotelial associado. [12]

Permanece pouco claro se o CIS primário acarreta maior ou menor risco que o secundário. Além disso, também não é claro se a distinção entre CIS primário e secundário é relevante clinicamente ou está associada a diferenças na resposta à terapêutica intravesical com BCG.[8] Os resultados de estudos recentes apontam para um comportamento mais agressivo do CIS primário em relação ao secundário. [8, 12] Chade *et al*, num estudo realizado em 221 doentes com CIS primário após TUR e terapêutica com BCG, mostrou que a incidência cumulativa de progressão do CIS primário para cT1 ou superior em 5 anos foi de 42% (95% CI 36-51) e a do CIS secundário foi de 32% (95% CI 27-39); a progressão do CIS primário para cT2 ou superior foi de 17% (95% CI 12-23) e de 8% (95% CI 5-13) para o CIS secundário. Este

estudo peca no entanto por não ter sido realizada terapêutica de manutenção com BCG, que poderia ter alterado o curso da doença. [8] Mostraram também que os doentes com CIS primário responderam melhor à terapêutica com BCG, apesar de não haver associação com a progressão. Existe a necessidade de estudos mais alargados que confirmem a natureza mais agressiva do CIS primário.

### **Teoria de cancerização de campo e multicentricidade tumoral**

O desenvolvimento de tumores multifocais no mesmo doente, quer de forma síncrona ou assíncrona (“*metachronously*”) é uma característica comum do cancro urotelial. [12, 13, 19, 55] Múltiplos tumores coexistentes surgem muitas vezes antes dos sintomas clínicos serem aparentes. [12] Há duas teorias para explicar a multifocalidade tumoral do urotélio: a teoria monoclonal e a teoria de efeito de campo. A primeira, sugere que os múltiplos tumores surgem de uma única célula transformada que prolifera e se espalha através do urotélio ou por implantação intra-luminal ou por migração intraepitelial. A segunda teoria, a teoria de efeito de campo, explica a multifocalidade tumoral segundo um efeito de cancerização de campo -neste cenário os carcinogénios químicos causam alterações genéticas transformadoras independentes em diferentes sítios da camada urotelial conduzindo a múltiplos tumores geneticamente não relacionados. [12]

Actualmente não existe consenso quanto à verdadeira teoria por detrás da multifocalidade do carcinoma urotelial. Muitos estudos sugerem uma origem monoclonal para o carcinoma urotelial mas outros mostram uma origem independente para alguns tumores uroteliais multicêntricos usando métodos semelhantes. [12, 14, 26,

39, 45, 46, 66, 89, 103, 104]Um estudo recente sugere que tanto a cancerização de campo como a dispersão tumoral monoclonal podem existir no mesmo doente. [55] Neste estudo, foram encontradas evidências moleculares na maioria dos casos que suportam a origem oligoclonal para os carcinomas uroteliais multifocais.

A favor da teoria de efeito de campo está a descoberta frequente de instabilidade genética em áreas da mucosa da bexiga aparentemente normais adjacentes a tumores uroteliais. [14, 56] Alterações pré-malignas, tais como a displasia ou o CIS são muitas vezes encontradas na mucosa urotelial distante de um cancro da bexiga invasivo. [12] Muitas comparações genéticas e estudos de mapeamento da atipia urotelial nas peças de cistectomia fornecem suporte aos conceitos de oligoclonalidade e cancerização de campo especialmente nas neoplasias uroteliais de estadios precoces.

Como as teorias monoclonais e oligoclonais da multifocalidade tumoral urotelial não são mutuamente exclusivas, várias teorias têm sido propostas para combinar os dois mecanismos. [12] Foi sugerido que a oligoclonalidade é mais comum nas lesões precoces e na progressão para estadios mais altos há um clone que cresce mais rapidamente conduzindo a pseudomonoclonalidade. [40, 41] Assim, as lesões iniciais ou pré-neoplásicas podem surgir independentemente, tendo um clone específico sofrido transformação maligna e que subsequentemente se espalha através do urotélio por disseminação intra-luminal ou intraepitelial. Ainda que a multifocalidade pareça ser um fenómeno oligoclonal na maioria dos casos, existe suporte inegável para a hipótese monoclonal em alguns casos. [55]

## Origem genética

Existem 2 formas de carcinoma não invasivo. O carcinoma papilar (Ta), tem uma tendência para recorrer localmente mas raramente invade a membrana basal ou metastiza. O carcinoma *in situ* (CIS), no entanto, é uma lesão perigosa com alta tendência para invasão e metastização na ausência de tratamento. De acordo com a evidência actual, parecem haver pelo menos duas vias moleculares distintas na génese dos tumores Ta e na génese do CIS e tumores invasivos (T1-T4): A via FGFR3 e a via TP53. A primeira corresponde à via de origem do carcinoma papilar e a segunda à via do CIS. [1, 12, 77, 126] As alterações genéticas do FGFR3 e do TP53 induzem uma série de eventos moleculares subsequentes, envolvendo a regulação do ciclo celular, mecanismos de apoptose, reparação do ADN e interacções entre epitélio e estroma. [12]

Os tumores papilares de baixo grau têm normalmente uma via de activação constitutiva do receptor tirosina-kinase-ras, exibindo mutações activantes no gene do receptor 3 do factor de crescimento de fibroblastos (FGFR3) [77, 126], no oncogene viral homólogo *Harvey rat sarcoma* (HRAS)[77] e a deleção do DBC1 [12]. Estes tumores têm TP53 intacto (*wild-type*) e são geneticamente estáveis. [12] Aproximadamente 70% dos tumores Ta de baixo grau têm mutações FGFR3, em oposição a 10-30% dos tumores invasivos. [77, 126]

Pouco se sabe ainda sobre as alterações moleculares que ocorrem no CIS da bexiga. Actualmente, sabemos que no CIS ocorre perda da polarização e da organização epiteliais, redução da adesão celular, irregularidade do tamanho e forma dos núcleos celulares e da estrutura da cromatina, com aneuploidias, que indicam irregularidade estrutural. Encontram-se frequentemente mutações ou alterações da expressão do TP53 (17p13.1) (60-85%)[77, 126] e do gene Rb (13q14.1-q14.2) [77, 78, 96]. A via do

---

TP53 constitui a ligação molecular entre a displasia, o CIS e o tumor urotelial de alto grau. O p53 é um gene supressor tumoral bem conhecido que foi associado com tumores invasivos de diferentes tipos celulares, incluindo do urotélio. [12, 51, 90] O CIS e os tumores uroteliais de alto grau caracterizam-se por mutações do TP53 e/ou do gene RB, a presença de FGFR3 intacto (*wild-type*) e instabilidade genética. [12] Uma elevada percentagem de células com mutação do p53 parece correlacionar-se com uma maior tendência de invasão muscular. [51] As mutações do FGFR3 nunca foram encontradas no CIS mas nos tumores invasivos podem ser encontradas ambas as mutações em simultâneo. [126]

A deleção do cromossoma 9p/9q é observada frequentemente nos carcinomas uroteliais. Este é provavelmente um evento precoce na carcinogénese urotelial e não aparenta predispor preferencialmente para nenhuma das duas vias de carcinogénese. [12, 46, 77, 114] Hartmann *et al.* encontraram alterações do cromossoma 9 no CIS (86%) bem como na displasia urotelial moderada (75%). [46] Zieger *et al.*, numa análise do CIS da bexiga, encontraram duplicações genéticas do 5p, 6p22.3, 10p15.1 e perda de heterozigotia (LOH) nos cromossomas 5q e 13q13-q14 com elevada frequência e que parecem indicar uma via comum de desenvolvimento destes tumores. [126] No CIS da bexiga, a perda de estabilidade genómica precede a proliferação ilimitada. O tumor urotelial não invasivo de baixo grau pode progredir para tumor urotelial de alto grau depois de adquirir mais alterações genéticas. [12, 126] Estas alterações genéticas adicionais incluem deleções dos braços curtos dos cromossomas 3, 8, 11, 13 e dos braços longos do 13 e 14. [12]. As células mãe cancerígenas e as suas linhagens adquirem vantagens de crescimento e são capazes de formar tumores através de expansão clonal. [12] A recorrência tumoral, progressão e metástase são eventos que

resultam da aquisição de alterações genéticas adicionais por células mãe cancerígenas que permanecem nos tecidos após ressecção tumoral incompleta. [12]

### Antigénios proliferativos

Estudos sugerem a importância dos antigénios nucleares Ki67, PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*) e o marcador de superfície T43 na avaliação do potencial replicativo das células do CIS da bexiga. Do mesmo modo, a marcação para o CEA é progressivamente mais positiva no CIS do que no urotélio normal. A citoqueratina epitelial simples mostra um padrão de marcação específico no epitélio normal e que se perde no CIS.[51]

### Descoesão celular

Uma das características histológicas do CIS da bexiga é a falta de coesão celular que ocorre em quase todas as variantes morfológicas do CIS e em casos mais extremos incorre na descamação completa da mucosa. Este fenómeno torna mais fácil a detecção de células cancerígenas na urina e pode também contribuir para a multifocalidade do CIS da bexiga. [83] Patriarca *et al* [83] mostraram que as células do CIS da bexiga apresentam uma forte expressão imunohistoquímica de e-caderina (em 24 de 32 casos - 75%), responsável pela adesão célula a célula. Foi também encontrada em todas as amostras uma perda de polarização de MUC1. Não foi encontrada relação entre os níveis de expressão da e-caderina e a multifocalidade, mas foi encontrada uma correlação estatisticamente significativa entre uma forte expressão de MUC1 (+++) e a multifocalidade da doença. A forte expressão de MUC1 e a perda da sua polarização

impede a adesão célula-a-célula mediada pela e-caderina e integrina através de um mecanismo de sobreposição (*towering*)[83, 91] Este mecanismo poderá favorecer a disseminação de células cancerígenas e a sua posterior implantação noutras locais da bexiga (*seeding*). [49, 83, 91]

Esta permanece ainda uma área que carece de estudos mais aprofundados, existindo mais moléculas importantes envolvidas neste mecanismo de descoesão, como por exemplo a Ep-CAM e que poderão no futuro constituir alvos terapêuticos.

## Etiologia

De realçar que não se encontram na literatura estudos etiológicos referentes apenas ao CIS. Julga-se que a origem etiológica do CIS seja a mesma que da generalidade dos carcinomas da bexiga. Os dois factores de risco principais actualmente reconhecidos são a exposição ocupacional a aminas aromáticas e o tabagismo. [114]

### Cigarro, charuto, cachimbo e exposição ambiental

De acordo com estudos epidemiológicos e revisões o hábito de fumar cigarros implica um risco para cancro da bexiga em média três vezes superior ao dos não fumadores. [77, 124] Têm também um risco muito superior de desenvolverem tumores invasivos do que tumores não invasivos, e esta relação é mais forte para os fumadores actuais do que para os ex-fumadores. [77] Os indivíduos que nunca fumaram, para além de menor risco de cancro da bexiga, têm normalmente a doença numa idade mais tardia (>65 anos) que os fumadores. Nestes, o cancro surge mais frequentemente entre os 40 e os 65 anos. [17] Foi encontrada uma relação dose/resposta positiva tanto em relação ao número de cigarros fumados por dia como ao número de anos em que se fumou. Zeegers *et al* [124] mostraram que existe uma relação inversamente proporcional entre a idade da primeira exposição e a idade da cessação do hábito com o risco de cancro da bexiga. O mesmo autor não encontra relação entre a idade da primeira exposição e o risco de cancro da bexiga quando corrigido para o número total de anos de tabagismo activo [122] o que parece indicar que o número total de anos de consumo e o número de cigarros fumados por dia parecem ser mais importantes do que as idades de início e fim do consumo isoladamente. [77]

Evidência quanto à relação do cancro da bexiga com o hábito de fumar charuto ou cachimbo é menos relatada e geralmente menos consistente e mais fraca que a associação com o fumo de cigarro, o que pode ser considerado consistente com o tipo de inalação feita, que condiciona mais efeitos locais (cancro da cabeça e pescoço) do que sistémicos. Quanto à relação entre a exposição ambiental e o cancro da bexiga, dois estudos que procuraram investigar esta associação concluíram que existe um pequeno aumento do risco para os fumadores passivos em relação aos que não foram expostos. [123]

O mecanismo exacto pelo qual o fumo de cigarro causa cancro da bexiga ainda carece de explicação. Os principais agentes químicos apontados são o 2-Naphthylamine e o 4-aminobiphenyl. Para além do efeito carcinogénico associado a alguns dos constituintes do tabaco, sabe-se que o tabagismo provoca um aumento da proliferação do urotélio, que se apresenta como uma hiperplasia urotelial. [123]

### **Consumo total de líquidos**

Dada a inconsistência de resultados, não está ainda demonstrado que exista uma associação entre o consumo total de líquidos e a incidência do cancro da bexiga. Pensa-se que uma associação, a existir, estará mais relacionada com o tipo de líquidos ingeridos do que com a sua quantidade. [23, 93, 123]

Pensa-se que a longo termo o consumo de águas com excesso de cloro ou dos seus subprodutos pode aumentar o risco de UC. Apesar de a sua genotoxicidade ser duvidosa, mecanismos não genotóxicos tais como a proliferação de peroxissomas e a hipometilação do ADN podem contribuir para o desenvolvimento de tumores [77]. O

mesmo se passa com o consumo de águas ricas em arsénico como as existentes em algumas regiões do Bangladesh, Taiwan, Argentina e Chile. A exposição ao arsénico foi associada à metilação do promotor RASSF1A e com ganhos e deleções de vários cromossomas, especialmente de parte ou de todo o cromossoma 17p.[71, 77]

## Vitaminas e minerais

Brinkman *et al*, num estudo caso-controlo baseado em questionários alimentares sugerem indícios de uma acção protectora para o cancro da bexiga em consumidores de quantidades elevadas de vitamina E, fósforo, carotenóides e niacina. [5] Segundo estudos recentes, a associação parece ser mais forte para o carotenóide  $\beta$ -criptoxantina, vitamina E e selénio. [123] O efeito protector é verificado mesmo em grandes fumadores e também para indivíduos mais idosos. [5] Esta permanece uma área a carecer de uma exploração mais profunda, principalmente para alguns minerais da dieta tais como o sódio, potássio, cálcio, magnésio e ferro. As principais dificuldades provêm da análise individual destes compostos, que são difíceis de isolar e quantificar na dieta normal humana. Mecanicamente, existe fundamento para a acção protectora de uma dieta rica em vitaminas e minerais para o cancro da bexiga. [5, 123]

O consumo de frutas e vegetais foi relacionado inversamente com o risco de cancro em vários estudos, não existindo no entanto consistência na sua relação com o cancro da bexiga. [5, 84] Parece existir uma ligeira diminuição do risco de cancro da bexiga com o consumo de maiores quantidades de fruta. [123]

Um consumo aumentado de vitamina D, tiamina, niacina, carotenóides e vitamina E parece reduzir substancialmente mais o risco de cancro da bexiga em

indivíduos com mais de 63 anos de idade. Uma menor exposição à luz solar parece explicar as necessidades aumentadas em vitamina D neste grupo. Por outro lado, as pessoas idosas pertencem a um grupo que sofre maior stress oxidativo, que torna possível o benefício anti-oxidante de uma dieta vitamínica reforçada. [5]

## Nível sócio-económico

Goy *et al* mostram que um nível sócio-económico baixo se correlaciona com um risco duas vezes superior de cancro da bexiga. O risco corrigido para comportamentos de risco (tabagismo) e exposição ocupacional permanece de 70% e a sua origem está ainda inexplicada. Serão necessários mais estudos para clarificar esta relação. [36]

## Café

As revisões do tema feitas até à data concluem que existe evidência epidemiológica de uma pequena associação positiva mas que poderá ser condicionada pela exposição ao fumo de tabaco. Será necessária mais investigação neste sentido para clarificar esta associação. [123] Foi encontrada uma pequena associação positiva entre o consumo de grandes quantidades de café (mais de 4 por dia) e o risco de cancro da bexiga em homens, depois de ajustado o risco para os fumadores. [121, 123] Estes resultados parecem estar em relação com um estudo anterior que relaciona um risco aumentado de cancro da bexiga em indivíduos que bebem 10 ou mais cafés por dia. [85]

## Chá

Os resultados obtidos de estudos animais apontam que certos compostos presentes no chá, pelas suas qualidades anti-oxidantes e anti-proliferativas possam inibir a formação e o crescimento de tumores da bexiga. [123] Numa revisão de sete estudos epidemiológicos[121], os resultados apontam para que não exista associação entre o consumo regular de chá e um risco aumentado de cancro da bexiga. O *odds ratio* para o consumo regular de chá comparado com ausência de consumo de chá foi de 1.0 (CI 0.9-1.1). Por outro lado, Zeegers *et al* encontraram uma associação inversa entre o consumo de chá e o risco de cancro da bexiga para ambos os sexos. [123]

## Adoçantes

Apesar de a ingestão de elevadas quantidades de sacarina ter um efeito carcinogénico em ratos, a mesma associação em humanos é considerada inconclusiva. [121]

## Álcool

Parece haver um ligeiro aumento do risco para cancro da bexiga, ajustado ao tabagismo, para homens com consumo de álcool mas que é pequeno e estatisticamente não significativo (RR=1.3, CI 0.9-2.0 comparando qualquer consumo de álcool com ausência de consumo de álcool).[123] O risco relacionado com o consumo de álcool para as mulheres permanece desconhecido. [123] Num estudo de coorte, Zeegers *et al*

não encontraram associação entre o consumo de álcool e o risco de cancro da bexiga em mulheres. [125]

## **Exposição Ocupacional**

A incidência de UC aumentou com o desenvolvimento industrial. Sabe-se que os trabalhadores que fabricam tintas contendo anilina para a coloração de tecidos têm um risco acrescido de desenvolver UC. Estas tintas pertencem a uma classe de químicos conhecidos como arilaminas, que incluem 2-naftilamina e aminobifenil. Estes compostos de anilinas, bem como as amins aromáticas, formam aductos de ADN e reduzem a sua capacidade de reparação tornando as células mais susceptíveis a danos. Várias actividades que compreendem uma exposição a amins aromáticas foram também associadas com um aumento do risco de UC, tais como - fabrico de borracha, pintura, indústrias de curtume e impressão. Um risco aumentado foi também encontrado em trabalhadores com exposição a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, como por exemplo na fundição do alumínio e na pavimentação com asfalto. Estes actuam por mecanismos semelhantes aos das amins aromáticas. [4, 32, 77, 110, 112]

Apesar de a maioria dos compostos carcinogénicos estar proibida ou com o seu uso controlado, os antecedentes de exposição implicam um risco aumentado de malignização. [114]

## **Exposição de origem médica**

O consumo massivo de analgésicos contendo fenacetina foi relacionado com um aumento do risco de UC. A fenacetina causa quebras de cadeia única do ADN, tendo portanto um efeito genotóxico. [77] Pelo contrário, os AINES podem ter um efeito

inverso. [7]A exposição à ciclofosfamida, usada em quimioterapia, também contribui para o aumento do risco pelo mesmo mecanismo que a fenacetina. A irradiação pélvica é outro factor de aumento de risco, a considerar especialmente no doente que surge com hematúria com antecedentes de irradiação pélvica. [77]

## Polimorfismos genéticos

O estudo da associação de alguns polimorfismos genéticos aos factores de risco ambientais (exemplo: tabaco, café, álcool...) poderia ajudar a explicar a inconsistência de resultados e clarificar as origens epidemiológicas do risco para o cancro da bexiga.

Sabe-se que os polimorfismos da N-acetiltransferase 2 (NAT2) ou glutathione S-transferase Mu1 (GSTM1) podem alterar o metabolismo de carcinogénios. [77, 123] Uma baixa taxa de actividade da NAT2 ou a ausência de actividade da GSTM1 (presente em 50% dos caucasianos) podem resultar numa maior concentração de carcinogénios do tabaco na bexiga e portanto aumentar o risco de cancro da bexiga entre fumadores. [123]

Também a enzima codificada pelo gene CYP1A1 (um dos genes do citocromo P450), aril-hidroxilase, pode estar envolvida na activação metabólica dos arilhidrocarbonetos policíclicos. [123]

Figuerola *et al*[30]sugerem que variações genéticas no AKR1C3 podem também estar associadas a maior risco de cancro da bexiga.

## **Infeção e inflamação**

A infecção crónica por *Schistosoma-haematobium*, (endémico no Egipto e algumas zonas do Médio Oriente) produz toxinas, inflamação e N-nitrosaminas que resultam em danos no ADN. Naquelas regiões, observa-se uma maior incidência de carcinoma da bexiga sendo o de células escamosas o mais frequente. [77]

A inflamação crónica da bexiga secundária a infecção do tracto urinário ou à presença de um corpo estranho como na litíase vesical ou na cateterização, também mostraram estar relacionadas com maior risco de desenvolvimento de UC.[77]

## Sinais e sintomas

Os sinais e sintomas clássicos do carcinoma *in situ* incluem disúria, frequência e noctúria. Dor ou preenchimento supra-púbico, desconforto nas costas ou flancos, dor abdominal baixa ou dor pélvica/perineal são sintomas menos frequentes. Cerca de 25% dos doentes com carcinoma *in situ* podem ser assintomáticos[51] Os doentes com carcinoma *in situ* focal são mais frequentemente assintomáticos, enquanto aqueles com doença difusa têm mais frequentemente sintomas irritativos. [51, 58]

As apresentações clínicas incluem hematúria e hematúria microscópica, sintomas irritativos (disúria, dor e frequência), noctúria e piúria estéril. Cerca de 25% dos doentes são assintomáticos. [12]Cerca de 30% dos doentes com CIS primário apresentavam sintomas de esvaziamento obstrutivos ou irritativos. [9]

## Diagnóstico diferencial clínico

### Disúria

Como a disúria pode ser um sintoma do CIS, deve ser feita a pesquisa de neoplasia urotelial na população de doentes altamente suspeitos, tais como fumadores com mais de 60 anos de idade. Na população geral, no entanto, a proporção de doentes com disúria que têm carcinoma *in situ* é extremamente pequena. [114]

### Hematúria

Apesar de estar frequentemente associada a neoplasias da bexiga, existem muitas outras situações responsáveis pelo surgimento de hematúria.

Nos doentes com hematúria macroscópica ou microscópica deve ser feita uma avaliação aprofundada por cistoscopia. A hematúria microscópica nos doentes com cancro da bexiga é variável e intermitente, portanto uma análise negativa para hematúria não exclui a possibilidade de cancro da bexiga. [58]

Os doentes que apresentam micro-hematúria ou hematúria macroscópica têm respectivamente um risco de 5% e de 27% de terem cancro da bexiga. [107] A hematúria está frequentemente associada a neoplasias do tracto urinário. No entanto, também é comum em situações de inflamação como litíase, hiperplasia benigna da próstata e outras condições o que explica a baixa especificidade (67%) no diagnóstico clínico de cancro da bexiga. A sensibilidade dos testes de pesquisa de hemoglobina varia entre 46 a 74%. [107]

Cerca de 34% dos doentes com CIS primário tiveram hematúria como sintoma de apresentação. [9]

### **Lesões eritematosas**

O diagnóstico diferencial entre uma lesão eritematosa vista na cistoscopia inclui uma longa lista de lesões, incluindo cistite cística, processos inflamatórios agudos e crónicos, cistite intersticial, proliferações vasculares reactivas ou neoplásicas e vasculites. [114]

## Diagnóstico

A citologia urinária e a cistoscopia convencional com mapeamento da bexiga e colheita de biópsias são consideradas o *gold standard* clássico da pesquisa do carcinoma da bexiga. [6, 16]

O teste ideal deve ser simples de realizar, barato e deve fornecer os maiores níveis de especificidade e sensibilidade. Para além disto, deve ser económico, não deve ser afectado por tratamentos ou processos inflamatórios e passível de utilização em série. [6, 16]

A presença de CIS primário ou secundário pode influenciar a decisão terapêutica motivo pelo qual deve ser sempre procurado e confirmado por biópsia. [60] Um problema chave é a dificuldade de identificar a presença de CIS, uma entidade tumoral que é difícil de visualizar com a cistoscopia de luz branca *standard* e que acarreta um risco considerável de recorrência e progressão. [116]

Actualmente há vários testes baseados na urina disponíveis e que incluem os testes *Bladder Tumor Antigen* (BTA), *Nuclear Matrix Protein 22* (NMP-22), UroVysion (Abbott Molecular, Inc., Des Plaines, III) e ImmunoCyt/uCyt+ (Diagnocure, Inc., Quebec City, Quebec, Canada). Outros testes, como a análise digital de imagens, a hibridização fluorescente *in situ* (FISH), e a análise de microssatélites baseiam-se na detecção de células uroteliais esfoliadas com alterações genéticas tais como aneuploidias ou perda de heterozigotia, que se correlacionam com o diagnóstico de cancro. [118]

Os testes *point-of-care* podem ser realizados no consultório do urologista e requerem um treino mínimo ou nulo. Os testes especializados são os que têm que ser

feitos em laboratórios de referência e que podem necessitar de análise de imagens microscópicas, ELISA (*enzyme linked immunosorbent assays*) ou *polymerase chain reactions* (PCRs)[77]

Outros testes que estão a ser investigados como potenciais biomarcadores de UC incluem: telomerase, survivina, antigénio Lewis X, hialuronidase do ácido hialurónico, fragmento 19 da citoqueratina (CYFRA21-1), sintetase de ácidos gordos solúveis, metilação do ADN, aurora kinase A e citoqueratinas 8, 19 e 20. [6] O perfil proteómico e a análise de microssatélites (MSA) são plataformas de pesquisa para o UC que constituem esperanças de futuro. [6]

### **Cistoscopia de luz branca**

A cistoscopia de luz branca (WLC) é a técnica mais importante na detecção de carcinomas de células de transição primários e recorrentes e é geralmente bastante fiável para tumores exofíticos. [31] É, no entanto, um método invasivo e dispendioso com baixa sensibilidade na detecção de lesões planas ou muito pequenas, tais como o carcinoma *in situ*. [31, 95] Pode ser feita utilizando um cistoscópio rígido (é a mais utilizada) ou flexível (no contexto de ambulatório). A taxa de detecção de CIS é de cerca de 63% para a técnica rígida e de 61% para a cistoscopia flexível de luz branca. [67, 115, 116] Ambas envolvem desconforto para o doente, bem como potenciais riscos, tais como estenose da uretra e do colo vesical. [118]

As lesões suspeitas de CIS surgem como áreas de mucosa com aparência achatada e avermelhada com contorno irregular e zonas ligeiramente elevadas com uma aparência avermelhada, aveludada e com contornos mais regulares. [12, 31] Na presença de lesões suspeitas, deve ser considerada a hipótese de fazer biópsia,

---

principalmente se o doente tiver citologia urinária positiva ou suspeita ou antecedentes de lesão papilar de alto grau. [31, 58, 100] Swinn *et al*, mostraram que apesar de apenas 12% das biopsias de “lesões vermelhas” apresentarem malignidade, 78,3% das biopsias positivas mostraram CIS e as restantes mostraram carcinoma invasivo. [100] Fernando *et al* verificaram uma média de idades de 60-70 anos para biopsias positivas e mostrou que 1 em cada 25 doentes que fizeram biópsias de lesões vermelhas revelaram CIS.[28]

Já se preconizou a realização de biópsias da mucosa ao acaso para a detecção do CIS mas actualmente já não são a prática *standard*. Aliás, a realização de biopsias ao acaso oferece poucas vantagens em termos de detecção e pode acarretar um risco aumentado de implantação de células tumorais flutuantes nos sítios em que ocorreu lesão da mucosa, levando a recorrência da lesão. [116]

A incapacidade de detectar o CIS pode não permitir o tratamento e cursar com pior prognóstico para o doente. A relativa ineficiência da cistoscopia de luz branca para a detecção destes tumores trouxe a necessidade de melhorar as técnicas de detecção. [31]

### **Cistoscopia fluorescente (PDD)**

Neste contexto surge a fluorescência induzida por porfirinas associada à cistoscopia. Desde a primeira experiência, publicada nos anos 90, a fluorescência induzida por porfirinas associada à cistoscopia (diagnóstico fotodinâmico, PDD) ou à ressecção transuretral (TUR), ganhou progressivamente uma posição de relevo entre os procedimentos diagnósticos e os tratamentos endoscópicos do cancro superficial da bexiga[16]. Esta técnica permite ajudar na detecção *in vivo* de lesões planas, distinguindo áreas tecidulares normais das patológicas com base nas diferenças de concentrações de moléculas fluorescentes em células benignas e neoplásicas. [48]

Apesar de várias substâncias derivadas das porfirinas estarem actualmente sob investigação, apenas duas são actualmente usadas: ácido 5-aminolevulínico (5-ALA), o primeiro a ser introduzido, e o seu éster mais potente o hexaminolevulinato (HAL)[16] Investigações recentes mostram a superioridade do HAL sobre o 5-ALA principalmente devido a melhor fluorescência e menor tempo de instilação[16, 119]

Nas células metabolicamente activas, o HAL depois de absorvido é metabolizado em 5-ALA que por sua vez é convertido no metabolito PpIX. Este metabolito emite luz vermelha quando iluminado com luz azul. As diferenças ao nível da metabolização (incluindo baixos níveis de ferroquelatase) entre células normais e tumorais levam a acumulação do PpIX nas células neoplásicas. A inspecção da mucosa com cistoscópio de luz azul permite detectar o CIS como uma lesão fluorescente vermelha. [12]

Estudos recentes mostram que o PDD pode ter actualmente um papel chave no diagnóstico de lesões planas, quer isoladas ou associadas a tumores papilares. A alta sensibilidade e o excelente perfil de segurança representam certamente as vantagens mais relevantes deste método. [12, 16, 18, 31]

Historicamente, o PDD está associado a taxas mais altas de falsos positivos que a cistoscopia de luz branca, particularmente no *follow-up* de doentes a realizar terapêutica intravesical. [16, 31, 116] No entanto, esta diferença aparenta estar a diminuir, possivelmente por um aumento da experiência na realização da PDD e à evolução técnica do equipamento. Num estudo recente, a diferença encontrada foi de apenas 1%. [31, 116]

A maior taxa de falsos positivos, o custo do equipamento, custo e disponibilidade das substâncias fluorescentes, necessidade de planeamento prévio do

procedimento e necessidade de treino específico são consideradas as mais consistentes limitações deste procedimento. [16]

Esta técnica é no entanto promissora na ajuda ao diagnóstico de CIS da bexiga tendo mostrado uma maior sensibilidade na sua detecção. [16, 54, 116, 120] No CIS a taxa de detecção de lesões é no geral cerca de 20% maior com a associação de PDD à WLC do que com o uso da WLC sozinha. [18, 116] As taxas de não recorrência ao 1º ano foram estimadas em 66% a 90% na associação PDD e WLC e de 39% a 74% com a WLC isolada. A diferença de resultados entre as duas técnicas pode ser observada até um período de 8 anos. Os pacientes com tumores multifocais ou recorrentes parecem beneficiar mais da utilização da PDD. [116]

Fradet *et al* [31] mostraram que a cistoscopia de fluorescência com hexaminolevulinato em conjunção com a cistoscopia de luz branca aumentou a taxa de detecção de lesões de CIS (92% para o PDD vs 68% para a WLC). Existem algumas situações em que as taxas de falsos positivos permanecem elevadas (independentemente do uso de luz azul ou branca) como por exemplo após TURBT recente ou instilação de BCG ou na presença de infecção urinária actual ou recente pela presença de inflamação ou cicatrização. Por esta razão se recomenda que o uso de PDD deve ser adiado cerca de 9-12 semanas depois de TURBT ou instilação de BCG se clinicamente possível. [116] A instilação de mitomicina não causa inflamação e não está associada com uma taxa mais alta de falsos positivos. [24]

Noutro estudo recente, foi feito o *follow-up* de um grupo de 49 doentes a realizar tratamento com BCG por diagnóstico de CIS da bexiga isolado e comparados os resultados do mapeamento da bexiga feito por PDD e por cistoscopia de luz branca (WLC) cerca de 2 meses após a última instilação. Dos doentes 77,7% foram

---

diagnosticados apenas com o auxílio de PDD, 22,2% foram diagnosticados simultaneamente por PDD e WLC e nenhum foi diagnosticado apenas com WLC.[16]

Estudos mostram que a cistoscopia flexível de fluorescência com hexaminolevulinato é possível mas menos efectiva e conveniente para o operador do que a cistoscopia rígida PDD (taxa de detecção de 88% vs 77% na detecção do CIS para a cistoscopia rígida PDD em relação à cistoscopia flexível PDD). Continua no entanto a ser superior à cistoscopia rígida ou flexível com luz branca (taxa de detecção de CIS de 63% e de 61% respectivamente).[116]

Actualmente, a evidência do impacto clínico do PDD foi demonstrada para: a) diagnóstico e orientação de todas as formas de CIS, b) *follow-up* de doentes com T1G3 após TUR, c) doença multifocal durante a TUR ou *follow-up*. [16]

## Citologia

A citologia urinária, que envolve a avaliação microscópica das células de uma colheita de urina foi introduzida pela 1ª vez em 1945 por Papanicolau *et al*, para assistir na detecção do cancro da bexiga. [3].

A citologia é o teste não invasivo mais largamente utilizado. Na prática clínica, a aplicação primária da citologia urinária é detectar tumores uroteliais de alto grau e carcinomas *in situ* (CIS), e para monitorizar os doentes com história prévia de lesões pré-cancerosas ou malignas. [21] Constitui um teste simples, não invasivo e relativamente económico para a detecção do carcinoma urotelial que apresenta a vantagem de analisar a totalidade do urotélio e pode ser mais sensível que múltiplas biopsias para prever a recorrência ou progressão tumorais. [6, 21]

Apesar de ter elevada especificidade (>90%), especialmente na detecção do carcinoma *in situ* e nas lesões planas de alto grau que podem ser difíceis de visualizar na cistoscopia, geralmente tem baixa sensibilidade (28%-100% com uma média de 48%.) e que varia de acordo com o grau do tumor e experiência do operador. [3, 6, 16, 107, 118] A sensibilidade da citologia na detecção do CIS varia de 66 a 83% [38, 44, 68, 79]. A menor sensibilidade ocorre na detecção de lesões de baixo grau e baixo estadió, que são as mais frequentes mas que apresentam mínima a moderada atipia, podendo a sensibilidade ser de apenas 17% em alguns estudos.[6, 12, 16, 107, 118] Existe evidência de que as citologias realizadas em lavagens vesicais têm uma maior capacidade diagnóstica que as realizadas em colheitas de urina. [58] Garbar *et al*, num estudo com 592 amostras de lavagens vesicais, incluindo 50 doentes com CIS concluíram que o diagnóstico de “suspeita de neoplasia de alto grau” ou “consistente com neoplasia de alto grau” tinha uma sensibilidade de 70% para o CIS e 99% de especificidade. [33]

A facilidade na detecção do CIS deve-se, em parte, às suas características histológicas: a falta de coesão celular que conduz a uma maior quantidade de células tumorais na urina destes doentes e ser uma lesão de alto grau com anormalidades celulares identificáveis na microscopia óptica. [21, 83, 114, 126]

O uso da citologia urinária para diagnosticar o cancro da bexiga pode ser limitado e complicado por uma escassez de células tumorais, especialmente em associação a um fundo inflamatório ou um fundo contaminado por células escamosas, por alterações degenerativas, efeitos da instrumentação, litíase, alterações reactivas, alterações devidas a terapêuticas (especialmente em doentes a realizar instilações de *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG)) ou efeitos citopáticos virais. [6] Apresenta ainda outras limitações: não consegue fornecer informação referente à localização e extensão

do tumor, variabilidade intra e inter-observador e alterações relacionadas com a inadequada preservação das colheitas. [16, 107, 113]. Estas dificuldades, aliadas à necessidade de um treino altamente específico dos operadores, fazem emergir a necessidade de novas técnicas de diagnóstico do cancro da bexiga.

### **UroVysion™ FISH**

O teste de hibridização fluorescente *in situ* (FISH) UroVysion™ (Abbott Molecular, Inc.), que é feito em preparações de citologia urinária, baseia-se em três marcadores centroméricos para os cromossomas 3 (vermelho), 7 (verde) e 17 (aqua) e um marcador locus-específico 9p21 (dourado), os quais estão correlacionados com a transição do urotélio normal para carcinoma e com a progressão tumoral. [3, 6, 77, 95, 107] Estudos anteriores mostram alterações genéticas frequentes no carcinoma urotelial, tais como aneuploidia dos cromossomas 1, 3, 7, 9, 11 e 17 e deleções ou perda total do cromossoma 9.[95, 118] A polissomia é a anormalidade cromossómica mais frequente e é normalmente identificada nos UC de alto grau. [6]

A aceitação da UroVysion™ FISH como um adjunto à citologia é geralmente favorável e a maioria dos autores reportaram que a FISH tem maior sensibilidade em todos os graus e estádios do UC que a citologia convencional isolada na detecção de UC.[3, 77] Uma vantagem deste teste é poder detectar carcinomas ocultos que não são detectados pela cistoscopia. As anormalidades detectadas nas células esfoliadas na urina precederam o surgimento de UC identificável por cistoscopia durante 0,25 (3 meses) a 1 ano em 41-89% dos doentes sob vigilância. [77]

No entanto, a UroVysion™ FISH de modo semelhante à citologia tem menor sensibilidade em UC de baixo grau que nos de alto grau. [6] A sensibilidade do teste

varia de 39 a 97% (média de 74%) mas é significativamente menor para os tumores de baixo grau e baixo estadio. A especificidade é alta (89-100%) mesmo na presença de várias condições génito-urinárias benignas. [3, 95, 107] A sensibilidade e a especificidade para a vigilância do cancro da bexiga parecem ser menores (70-86% e 66-93% respectivamente) [3]. Existe no entanto ainda alguma contradição quanto ao uso desta técnica como auxiliar da citologia em tumores superficiais sem invasão muscular (a maioria dos quais de baixo grau) [6] No caso de tumores superficiais em doentes com citologias suspeitas, o teste não foi útil, apresentando VPP de 54,8% e um VPN de 51,7%. [29] A diferença de sensibilidade parece ser mais acentuada para a detecção de tumores superficiais, nomeadamente de grau 2 e 3.[95]

Este teste apresenta também algumas limitações: o teste deve ser correlacionado com a citologia visto que a presença de numerosas células superficiais (“*umbrella*”) na urina, de elevado número de granulócitos, a infecção por *polyomavirus* ou a bacteriúria maciça podem confundir os resultados[6, 107]; a avaliação citológica pode ser difícil, em parte, pelo uso de fluorescência [6, 107]; a detecção da deleção do 9p21 é mais difícil se a célula for polissómica [107]; este teste é operador dependente e consumidor de tempo e o uso de fluorescência pode obscurecer características citológicas. [107]

O elevado número de resultados falsos positivos podem conduzir a repetidas cistoscopias e vigilância do tracto urinário superior durante vários meses. [6]

A utilização da FISH em conjunção com a citologia urinária no contexto de BCG pode ser muito útil para detectar cancro residual ou recorrente que pode não ser observado numa colheita de urina pós-BCG devido à inflamação aguda, degeneração ou a presença de numerosas células *umbrella* como resultado da instrumentação. Como a sensibilidade do UroVysion<sup>TM</sup> não parece ser afectada pelo BCG, a presença recorrente

---

de células anormais detectadas por FISH pode ser útil para prever a resposta à instilação de BCG. [6, 12, 107]

O teste parece ser útil na previsão de recorrências tumorais, que foram mais frequentes (45%) em doentes com teste anormal do que nos com teste normal (12,5%)[34]. 85% dos doentes com citologia atípica e FISH positivo evoluíram para UC comprovado por biopsia em 12 meses. [34, 92, 107, 117]

Ainda existe debate sobre o seu valor como marcador prognóstico, como ferramenta de monitorização para os efeitos terapêuticos da terapia de instilação e como teste de *screening* para o carcinoma urotelial. [95]

Uma nova técnica de teste FISH que pode ser promissora por poupar tempo aos operadores é o advento de instrumentos de pesquisa automática de células anormais no teste FISH multi-marcadores. Estes instrumentos realizam detecções e quantificações automatizadas dos sinais de fluorescência e estão ligados a um computador que processa os dados. [6]

### ImmunoCyt/uCyt+™

O teste ImmunoCyt/uCyt™ (DiagnoCure Inc., Québec, QC, Canada) foi desenvolvido por Fradet e Lockhart e foi dirigido no sentido de melhorar a sensibilidade da citologia. É usado como complemento à citologia[107]

Este teste é uma prova fluorescente imunocitológica que combina 3 anticorpos monoclonais: M344 e LDQ10 (marcado com fluoresceína) emitem fluorescência verde quando ligados a antígenos *mucin-like* e o 19A211 (marcado com Texas Red) reconhece uma forma glicosilada de alto peso molecular do antígeno carcinoembrionário. [6, 77, 107] Foi estabelecido que o teste ImmunoCyt™ é mais

---

sensível na detecção de UC de baixo grau em comparação com a citologia ou com o UroVysion™. [6] O M344 é expresso por 71% dos tumores Ta-T1 e o 19A211 é por 90% dos tumores Ta-T1.[107]

A sensibilidade deste teste é superior à da citologia mas a especificidade é ligeiramente inferior. A sensibilidade do teste varia de 53-100% (média de 90%) e a especificidade varia de 64-95% (74%).[6, 77, 107] A maior vantagem sobre os outros testes é a sua sensibilidade na detecção de tumores tanto de baixo como de alto grau. A sensibilidade do ImmunoCyt/uCyt™ pode ser até 79% em tumores de grau 1, 84% em tumores de grau 2 e 92% em tumores de grau 3. [76, 107]

Para a realização do teste é necessário um mínimo de 500 células epiteliais e a presença de uma célula fluorescente constitui um teste positivo. Situações reactivas como inflamação não afectam o ImmunoCyt. O teste requer treino, experiência e controlos de qualidade regulares. Por último, o uso de fluorescência não permite a avaliação citológica ideal [6, 77, 107].

Numa revisão de vários estudos, Têtu *et al* referem que todos os carcinomas *in situ* foram detectados com a combinação de citologia e ImmunoCyt/uCyt™ e que esta combinação era apresentava uma sensibilidade de 100% para as recorrências no *follow-up* de doentes sob tratamento com BCG [107]. Em doentes com história de tumor urotelial e cistoscopia negativa, 47% dos doentes com ImmunoCyt/uCyt™ falso positivo desenvolveram uma recorrência no espaço de 1 ano, em oposição aos 11,9% com teste negativo. [107]

### BTA Stat™ e BTA Trak™

O teste BTA detecta a proteína humana relacionada com o factor H do complemento (hCFHrp) na urina. [6, 77, 107] Esta proteína parece ter um efeito imunoprotector nas células tumorais e é frequentemente libertada na urina pelas neoplasias uroteliais. [12] Há dois testes BTA disponíveis comercialmente: o teste (*imunoassay*) qualitativo BTA Stat™ e o teste ELISA quantitativo BTA Trak™ (ambos de Polymedco, Inc., Cortlandt Manor, NY). [6, 77, 107]

A sensibilidade BTA Stat é extremamente variável (9,3%-89%) mas o BTA Trak tem uma sensibilidade entre 52% e 83%. [77, 107] Estas são dependentes do grau, estadio e tamanho do tumor sendo mais baixas para tumores de baixo grau e estadio. [12, 77, 107] O BTA Trak parece ser mais sensível na detecção de UC relacionados com *Schistosomíase*. [77] Foi encontrada uma sensibilidade de 43% a 94% para o BTA Stat™ para lesões pTis [12, 43, 69, 86, 87] Apesar de ambos os testes apresentarem maior sensibilidade que a citologia, têm baixa especificidade porque, para além do cancro da bexiga, também processos inflamatórios, instrumentação recente, cálculos, hematúria, outros tumores génito-urinários, terapêutica BCG, drogas anti-inflamatórias e/ou nicotina podem aumentar os níveis de hCFHrp causando resultados falsos positivos. [6, 12, 77, 107]

### NMP-22

A NMP-22 (Matritech, Cambridge, MA, USA) é uma proteína de matriz nuclear envolvida na distribuição ordenada da cromatina e na separação celular durante a mitose. [6, 77, 107] Os níveis de NMP-22 são normalmente baixos em células normais mas em doentes com cancro da bexiga podem ser até 25x superiores, sendo libertada na urina. [107] A proteína é detectada usando um teste quantitativo imunoabsorvente de

ligação enzimática (ELISA *sandwich*) NMP-22 *Test Kit*<sup>TM</sup> (BladderCheck<sup>TM</sup>, Maritech, Inc., Newton, Mass) que usa dois anticorpos que reconhecem dois epítomos diferentes. Também pode ser detectada com recurso a um teste *point-of-care* qualitativo - NMP22 Bladder Check<sup>TM</sup>. [77] A sensibilidade e especificidade do Bladder Check<sup>TM</sup> na detecção do cancro da bexiga são de 55,7% e 85,7% respectivamente. [37] O NMP22 *Test Kit*<sup>TM</sup> é fácil de realizar e tem sensibilidade de cerca de 50-70% e a especificidade atinge 60-90%. [107] Como a NMP22 é libertada de células uroteliais mortas ou a morrer e está também presente em abundância em leucócitos, muitas patologias urológicas benignas tais como inflamação, urolitíase, terapêutica e instrumentação resultam em falsos positivos. [6, 77]

## mtADN

As mitocôndrias são organelos semi-autónomos com genoma próprio que realizam um papel essencial no metabolismo oxidativo e na síntese de adenosina trifosfato em todas as células animais e participam no controlo da apoptose. Acredita-se que exista um papel das mitocôndrias na transformação e promoção neoplásicas porque muitas células tumorais exibem IMPAIRMENT no metabolismo energético e altas taxas de glicosilação. Anormalidades na estrutura mitocondrial e a expressão aberrante de enzimas respiratórias nas células tumorais podem resultar de defeitos no mtADN. O mtADN circular de dupla hélice contém 37 genes que codificam 13 polipeptídeos da fosforilação oxidativa, 22tRNAs e 2 rRNAs. [118]

Mutações somáticas no mtADN são detectadas em cancros de diversos tecidos humanos, incluindo esófago, estômago, fígado, cólon e recto, rim, bexiga, próstata, ovários, mama, cabeça e pescoço, pulmão, tiróide e cérebro. Estes defeitos mitocondriais ocorrem largamente como mutações pontuais, deleções de uma base e

inserções na região não codificante do D-loop e nas regiões codificantes para proteínas envolvidas na fosforilação oxidativa. [118]

### **BLCA-4 e BLCA-1**

São proteínas de matriz nuclear que podem ser identificadas por análises proteómicas. O BLCA-4 é encontrado ao longo do urotélio (tanto tumoral como no adjacente normal) exclusivamente em doentes com UC. A detecção do BLCA-4 na urina é feita por ELISA e estudos mostram que a sua sensibilidade é de 80-96,4% e a especificidade de 87-100%. [77, 107] Ambos são marcadores potencialmente úteis na detecção de cancro da bexiga.

### **HA-HAse**

O ácido hialurónico (HA) é um glicosaminoglicano não sulfatado que regula a adesão, migração e proliferação celulares e promove a progressão tumoral e metastização. A hialuronidase HAase fragmenta o HA em pequenos fragmentos que promovem a angiogénese tumoral. [77] A HA-HAase é expressa por tumores e está envolvida na angiogénese, crescimento e invasão tumorais. Os níveis urinários de HA e HAase são medidos por testes ELISA-like. O teste tem alta sensibilidade para detectar lesões de baixo e alto grau e estadio. A HA-HAase mostrou ter muito boa sensibilidade (91-100%), especificidade (78%), e VPN (90%).[77, 107]

### Survivina

A survivina é uma proteína antiapoptótica. O teste é feito com um sistema de detecção por microfiltração BioDot. Os poucos dados existentes apontam no sentido de ser um marcador promissor com alta especificidade e sensibilidade. [107]

### Análise de microssatélites

Os microssatélites são pequenas repetições em cadeia altamente polimórficas no ADN (a maioria com 2-4 pares de bases) e que se encontram ao longo do genoma. Encontram-se dois tipos de alterações dos microssatélites: 1- perda de heterozigotia (LOH) e 2- instabilidade de microssatélites. A LOH é normalmente encontrada no cromossoma 9. O teste é feito por PCR usando *primers* de ADN. Este teste oferece sensibilidades de 72-97% e especificidades de 80-100% mas requer equipamento muito dispendioso e técnicos treinados. [77, 107]

### Telomerase

A telomerase é uma ribonucleoproteína que adiciona telómeros (sequências repetitivas no topo dos cromossomas que mantêm a estabilidade genómica) aos topos dos cromossomas e conduz a imortalidade celular. [77, 107] A telomerase pode ser medida por amplificação de PCR (TRAP test) ou por RT-PCR (hTERT mRNA). A sensibilidade é de cerca de 70-100% e a especificidade de 60-90% mas esta pode ser menor na presença de inflamação. [77, 107] Como a telomerase é expressa em células em proliferação e leucócitos, condições benignas como infecção do tracto urinário e inflamação severa podem causar resultados falsos positivos. [77]

### Citoqueratinas

As citoqueratinas são proteínas de filamentos intermediários que são componentes do citoesqueleto celular epitelial. [77, 107] Estes testes baseiam-se nas diferenças de expressão de citoqueratinas entre as células benignas e malignas. A sensibilidade dos testes de detecção das citoqueratinas 8 e 18 varia de 48,7% a 70% mas pode ser de apenas 25% e 13% para UC de baixo estadió e baixo grau respectivamente. [77] A citoqueratina 20 possui uma sensibilidade de 65% e uma especificidade de 90% mas a sensibilidade é menor para tumores de baixo grau. [107] O seu uso no entanto está largamente limitado pelas elevadas taxas de falsos positivos. Os principais testes incluem o teste UBC, que é um teste ELISA *sandwich* que marca as citoqueratinas 8 e 18, o teste citoqueratina 20 que é detectada por RT-PCR e o teste CYFRA21-1 que é um teste imunorradiométrico e electro-químio-luminescente que marca a citoqueratina 19. [107]

### DD23

DD23 é um anticorpo monoclonal derivado da imunização de ratos com amostras de bexiga humanas e que detecta um antigénio associado a tumores expresso no cancro da bexiga mas não em células uroteliais normais. A sensibilidade é de cerca de 70% e a especificidade de cerca de 60%. [107]

### Lewis X

O Lewis X é um antigénio associado a glicoproteína visualizado em células tumorais esfoliadas por uma análise imunocitoquímica que usa anticorpos monoclonais anti-lewis X. Pelo menos 100 células são necessárias para avaliação e slides que mostrem mais de 5% de células positivas para Lewis X são considerados positivos. [77]

Este teste tem uma sensibilidade relativamente alta (79,8-94,4%) e especificidade (36,9-86,4%).[77, 107] No entanto encontra-se pouco estudado. [107]

### **Quanticyt nuclear karyometry**

Este é um sistema de citologia cariométrica quantitativo que mede as características nucleares (forma do núcleo e conteúdo de ADN) em imagens de microscopia óptica. A sensibilidade (60%) e a especificidade (80%) são consideradas modestas. [107]

### **Fibrina**

Níveis elevados de VEGF nas células do UC aumentam a permeabilidade vascular o que resulta numa passagem de proteínas do soro para a urina incluindo o plasminogénio, fibrinogénio e factores de coagulação. Os factores de coagulação convertem o plasminogénio a plasmina e o fibrinogénio a fibrina. A plasmina pode degradar a fibrina formando produtos de degradação da fibrina (FDPs). O teste Accu-Dx permite medir os valores de fibrina e de produtos de degradação da fibrina. Este é um teste *point-of-care gold particle immunoassay*. Porque o fibrinogénio está presente no sangue, este teste pode originar falsos positivos em indivíduos com patologias hematológicas benignas que causam hematuria. [77]

### **Urografia por tomografia computadorizada multidetectores**

A urografia por tomografia computadorizada multidetectores (MDCTU) foi recentemente apontada como uma ferramenta imagiológica útil para o diagnóstico de carcinoma urotelial nos doentes com hematuria. [111] As características dos tumores

estão associadas com a capacidade de detecção por MDCTU. Entre estas características, a principal é ser um tumor não CIS. Os CIS, normalmente não são detectados por MDCTU. Por vezes pode ser detectado um ligeiro espessamento da parede associado a alguns CIS, no entanto a maioria permanece indetectável por este método. [111]

### **Espectroscopia de Raman**

A espectroscopia de Raman baseia-se num princípio chamado efeito de Raman. Quando a luz incidente interage com as moléculas tecidulares, a energia vibracional varia, o que resulta numa libertação de novos fótons. A medição do espectro de fótons emitidos permite a construção de uma imagem. Esta imagem da composição tecidular e da celularidade pode diferenciar tecidos normais de inflamatórios ou malignos, tais como o CIS. Actualmente esta técnica é usada apenas em amostras de bexiga e não *in vivo*. [12] No futuro poderá ser útil para detecção endoscópica de lesões de CIS. [12]

A tomografia de coerência óptica (OCT) detecta interferência óptica entre raios de luz reflectidos de um espelho e de tecido, resultando numa imagem semelhante à obtida numa secção histológica de tecido. Esta técnica tem sido usada desde 1996 para análise da retina e da câmara anterior do olho. É, no entanto, uma técnica menos apropriada para uma análise global da bexiga. [12]

Devemos também notar que a combinação de mais do que um teste poderá resultar em melhorias de sensibilidade na detecção de UC. Por exemplo, a combinação do HA-HAse teste com o ImmunoCyt/uCyt e citologia resultaram numa sensibilidade de 96,7%, segundo Hautmann *et al.* No entanto, este aumento de sensibilidade pode

ocorrer à custa de uma diminuição da especificidade levando a muitos resultados falsos positivos. [77]

## Tratamento do CIS

O carcinoma *in situ* deve ser considerado um cancro pré-invasivo pelo que os doentes com CIS são doentes de grupos de alto risco[20, 81]. O tempo para a invasão muscular no CIS é avaliado entre 18 e 77 meses com os diferentes esquemas terapêuticos[20, 27, 73]. Historicamente, até 83% dos doentes com CIS na ausência de cancro da bexiga invasivo progrediram para invasão muscular na ausência de tratamento. [61, 63, 108]

O tratamento do CIS não pode ser feito pelo método de electroressecção já que este é visível apenas microscopicamente sendo difícil fazer a sua delimitação [60]. As drogas actualmente usadas no tratamento do CIS da bexiga incluem as terapêuticas intravesicais tais como: a imunoterapia com BCG, os antibióticos anti-neoplásicos epirrubicina, doxorubicina, os agentes alquilantes tiotepa e mitomicina C e o metal pesado cisplatina. Pelo facto de estes tumores serem superficiais, as suas células neoplásicas e pré-neoplásicas ficam expostas à medicação intravesical em concentrações que poderiam ser mais difíceis de atingir com medicação sistémica. [60] A cistectomia radical constitui uma técnica importante na terapêutica do CIS refractário à terapêutica intravesical.

Pelo facto de estes tumores serem superficiais, as suas células neoplásicas e pré-neoplásicas ficam expostas à medicação intravesical em concentrações que poderiam ser mais difíceis de atingir com medicação sistémica. [60]

As actuais técnicas de terapêutica intravesical, apesar de permitirem bons resultados no tratamento do CIS da bexiga ainda não atingiram o patamar de perfeição, existindo doentes em que não se consegue obter uma resposta completa e outros nos

quais a recorrência tumoral ocorre apesar da resposta completa original ao tumor. As variáveis mais importantes actualmente estudadas na previsão de recorrência do carcinoma da bexiga são multiplicidade, recorrências anteriores, tamanho do tumor, sexo feminino e presença de CIS.[109] Num doente com alto risco de recorrência poderá ser legítimo adoptar estratégias de tratamento diferentes das aqui descritas no sentido de uma actuação mais agressiva perante o CIS da bexiga.

### **Bacillus Calmette-Guérin (BCG)**

O tratamento com *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) consiste numa imunoterapia que tem o potencial de induzir imunidade específica a alguns tumores, permitindo o tratamento e a diminuição da recorrência tumoral no CIS da bexiga. A imunoterapia estimula o sistema imune, tendo o potencial de induzir imunidade específica para os tumores e tornando possível a prevenção de tumores que ainda não se desenvolveram. [60]

O BCG parece ser altamente eficaz na redução da recorrência tumoral, no tratamento do carcinoma de células de transição papilar e no tratamento do CIS. [60]

Baseados na evidência actual, a EAU e a AUA recomendam uniformemente a realização de terapêutica com BCG realizada com um ciclo de indução com pelo menos um ano de terapêutica de manutenção para todos os doentes com CIS inicial confirmado histologicamente. [2, 42] A terapêutica do CIS da bexiga com BCG que inclui um ciclo de indução e um ciclo de manutenção durante pelo menos um ano obteve melhores resultados em termos de redução da progressão e da taxa de recorrências que a terapêutica apenas com um ciclo de indução. [9, 101, 102, 105] No estudo realizado pelo Southwest Oncology Group, [63] o tratamento com BCG feito com um curso de

---

indução de 6 semanas seguido por 3 anos de tratamento de manutenção mostrou ser claramente superior ao tratamento apenas com indução. Neste estudo, demonstrou-se que a utilização de terapêutica de manutenção permitiu mais 29% de respostas completas, sendo a taxa de respostas completas global de 84%. Com a terapêutica de manutenção, a recorrência a 7 anos diminuiu dos esperados 52% apenas com terapêutica de indução para 25% nos doentes em que foi feita terapêutica de manutenção [63]. Num estudo por Chade *et al*, 59 dos 81 doentes (72,8%) com carcinoma *in situ* primário da bexiga que responderam ao tratamento com BCG em que foi feito apenas um ciclo de indução de 6 semanas, apresentaram recorrência ou progressão durante o *follow-up* a 5 anos. [9] A incidência cumulativa de evolução para doença invasiva (cT1 ou superior) foi de 45% e de evolução para doença muscular invasiva (cT2 ou superior) de 17% em 5 anos. [9]

A taxa média de respostas completas ao BCG está estimada em 70% a 83% para o tratamento do CIS com um tempo médio para falência terapêutica de cerca de 39 meses. [9, 20, 60, 62-64, 105] Em média, 65% dos doentes com CIS que obtiveram resposta completa ao BCG permaneceram sem doença por 5 anos ou mais após início do tratamento. [62-64] Não parece haver diferença na resposta entre CIS primário ou concomitante. [105]

Certas características específicas dos doentes influenciam a eficácia do BCG. As melhores respostas são obtidas nos doentes com menos de 80 anos, naqueles que não têm doença residual após TURBT e naqueles com histologia típica de células de transição. [81, 106] As taxas mais altas de sobrevivência sem doença verificam-se nos doentes que nunca fizeram BCG (BCG naive), que têm Ta ou CIS e nos mais novos (<80 anos).[81, 106] Outro factor que condiciona a resposta ao BCG é o doente anteriormente não ter tido resposta ao BCG. [81, 106] A idade superior a 80 anos

---

condiciona uma maior taxa de recorrências e de efeitos secundários quando é feito o tratamento com BCG.[81]

Os efeitos secundários locais podem surgir em até 90% dos doentes que fazem tratamento com BCG.[35] Os efeitos secundários locais são semelhantes à cistite em cerca de 90% dos doentes[65]. Estas queixas aumentam com o número de instilações mas na maioria dos casos são facilmente tratadas com anti-inflamatórios. Os efeitos secundários sistémicos, tais como febre, mal-estar e náusea geralmente desaparecem espontaneamente. Os efeitos secundários severos ocorrem em cerca de 5% dos doentes. [65] Os efeitos mais severos do BCG são a “BCG-ose” e a sépsis que podem resultar em morte. [35] A sépsis por BCG (0,4%), hepatite e pneumonia por BCG (0,7%) e contracção da bexiga (0,2%) são especialmente preocupantes. Poucas mortes foram relatadas associadas ao BCG e a cateterização traumática tem um papel importante no surgimento dos efeitos severos. [65] Num estudo realizado por de Reijke *et al*, no grupo que fez tratamento com BCG, os efeitos secundários mais frequentes foram hematúria (41%), frequência (36%), disúria (24%), cistite (20%), sintomas vesicais (18%), toxicidade sistémica (28%) incluindo síndrome tipo gripal. [20] A febre >39°C pode ocorrer em 14 a 30% dos doentes[35]

Para tentar minorar o número de doentes com efeitos secundários, o BCG não deve ser administrado intravesicalmente em doentes com laceração urotelial (cateterização traumática, biópsia recente), infecção do tracto urinário, tuberculose activa ou reacção adversa prévia a antigénios micobacterianos e doentes imunodeprimidos (HIV, corticosteróides)[60]

Colombel *et al* [15]mostraram que a ofloxacina 200mg lid melhorou a tolerância ao BCG e reduziu a incidência de efeitos adversos moderados e severos

associados à administração de BCG. Os dados de *follow-up* a um ano não mostraram diferenças na recorrência ou progressão tumoral. [15] Estes dados carecem de validação e de follow up a longo termo. A adição de co-factores estimuladores tais como o interferão alfa, interleucina-2 e GMCSF poderão ser auxiliares à terapêutica aumentando a resposta TH1 induzida pelo BCG.[70, 81]

No geral, em relação ao cancro da bexiga, o BCG demonstrou ser superior à quimioterapia intravesical na redução de recorrências [52, 60]. No entanto, noutros estudos em que o BCG foi comparado à mitomicina C não foram encontradas diferenças na prevenção de recorrência. [60]

### **Epirrubicina**

A epirrubicina é um derivado da doxorubicina que possui um perfil de toxicidade mais favorável. [25] A toxicidade sistémica da epirrubicina não foi relatada mas em 1% dos casos pode haver uma resposta alérgica. Os efeitos secundários mais comuns são sintomas urinários moderados. [25]

A taxa de resposta completa para a epirrubicina e BCG foi, respectivamente, de 63% e de 60% para o CIS primário, de 59 e 63% para o CIS secundário e de 51% e 69% para o CIS concomitante. [20] A recorrência foi superior para a epirrubicina, com uma média de 1,4 anos para a recorrência versus 5,1 anos nos doentes tratados por BCG. Num *follow-up* de 5,6 anos entre os doentes que obtiveram resposta completa 45% dos que foram tratados com epirrubicina tiveram recorrência enquanto nos que foram tratados com BCG as recorrências ocorreram em apenas 16%. [20] 30 % e 23% dos doentes tratados com epirrubicina ou BCG, respectivamente, foram submetidos a cistectomia durante o *follow-up*. [20] No grupo submetido a BCG, os efeitos secundários locais e sistémicos foram mais frequentemente a razão para a interrupção

do tratamento. [20] Os efeitos secundários mais frequentes no tratamento com epirrubicina foram a hematúria (28%), frequência (15%) e disúria (10%). [20] Em casos raros também se verificou cistite, *rash* cutâneo e síndrome tipo gripal. [20]

Kurth *et al* obtiveram taxas de resposta completa em 77% dos doentes com CIS primário ou secundário, dos quais 50% permaneceram livres de doença por um período de 35 meses. [59]

A epirrubicina parece ter taxas de resposta completa semelhantes às do BCG no tratamento do CIS. No entanto, Reijke *et al*, mostraram que o tempo até à primeira recorrência nos doentes com resposta completa foi mais longo no grupo tratado com BCG que no grupo tratado com epirrubicina. [20] A epirrubicina apresentou menos efeitos secundários que o BCG e de menor gravidade. [20] Por outro lado, Kurth *et al* aplicaram epirrubicina em 22 doentes com CIS primário e secundário da bexiga. Foi observada uma resposta completa em 73% dos doentes dos quais 50% permaneceram livres de doença durante 35 meses. [59]

### **Mitomicina C**

É um agente alquilante com mecanismo de actuação que ainda não está completamente esclarecido. As reacções sistémicas são incomuns mas as reacções alérgicas podem ocorrer em cerca de 3 a 19% dos doentes. [25] A dermatite de contacto, leucopenia e trombocitopenia são incomuns. Os efeitos secundários mais comuns são efeitos locais, disúria e frequência que podem ocorrer em até 41% dos doentes. [25]

Em relação ao CIS, em média as taxas de resposta para a mitomicina C são de 53% num *follow-up* de 10 a 24 meses [20, 64, 99, 105]. Num estudo realizado por Stricker *et al* 42% dos doentes com CIS tratados com mitomicina C que obtiveram

resposta completa, permaneceram livres de recorrências por um período de 4 anos. [99] Kaasinen *et al*, compararam a monoterapia com BCG à associação entre BCG e mitomicina C no tratamento do CIS, mostrando que a monoterapia com BCG é mais eficaz que o regime alternado na diminuição das recorrências, apesar de o regime alternado ser melhor tolerado pelos doentes. [57]

### **Doxorrubicina**

Em relação ao CIS, em média as taxas de resposta para a doxorrubicina são de 48% num *follow-up* de 10 a 24 meses [20, 64, 99, 105].

Um estudo prospectivo e randomizado feito pelo Southwest Oncology Group envolveu 131 doentes com CIS em que foi feita a comparação entre o BCG e a doxorrubicina obtendo-se uma taxa de 70% de resposta completa com o BCG e de 34% com a doxorrubicina e um tempo médio para a falência do tratamento de 39 e 5.1 meses, respectivamente. A 5 anos, a probabilidade de sobrevivência sem doença era de 18% após tratamento com doxorrubicina e de 45% com terapêutica BCG.[64]

### **Tiotepa e cisplatina**

O tiotepa foi o 1º agente quimioterapêutico intravesical a ser usado com relativo sucesso para o tratamento do cancro superficial da bexiga. É um agente alquilante com efeitos citotóxicos que inibe a síntese de ácidos nucleicos. [25] A cisplatina é um metal pesado com efeitos citotóxicos. Em relação ao CIS, em média as taxas de resposta para o tiotepa são de 38% num *follow-up* de 10 a 24 meses [20, 64, 99, 105]. Os resultados a longo termo no tratamento do cancro superficial da bexiga com tiotepa não são encorajadores e possui alguns efeitos secundários frequentes como mielossupressão, leucopenia, trombocitopenia e sintomas irritativos. [25] A mielossupressão ocorre em

---

cerca de 20% dos doentes que utilizam tiotepa[94] e a cisplatina está associada a risco de reacção anafilática numa percentagem relativamente alta de doentes. [22, 25, 60]

### **Cistectomia Radical**

Apesar de a terapêutica intravesical com BCG diminuir a taxa de progressão para carcinoma invasivo e a necessidade de cistectomia radical precoce nos doentes com CIS, em muitos deles o CIS é refractário ao BCG colocando-os em risco de progressão da doença. [108]

A cistectomia radical continua a ser o *gold standard* para os doentes com carcinoma urotelial com invasão muscular e é uma opção importante para os doentes com doença não invasiva de alto grau incluindo aqueles que têm doença recorrente após terapêutica intravesical ou doença refractária a terapêutica conservadora. [10] A cistectomia radical está claramente indicada em doentes com CIS refractário à terapêutica intravesical, devendo ser feita precocemente já que isto permite melhores taxas de sobrevivência cancro específicas e menor frequência de aparecimento de recorrências. Pensa-se que a realização de cistectomia radical precoce nestes doentes pode permitir taxas de sobrevivência sem recorrência a 5 anos de 90% [47, 72, 97, 108] Nos doentes com CIS da bexiga refractário a terapêutica intravesical, a decisão de adiar a cistectomia para a altura em que for verificada progressão para invasão muscular poderá comprometer a possibilidade de cura ou controlo da doença. [108] Os resultados das biopsias de bexigas de doentes com carcinomas da bexiga aparentemente sem invasão muscular por altura do diagnóstico e que foram sujeitos a cistectomia precoce, mostram que em 35 a 50% destes doentes existem focos de doença invasiva, incluindo micro-metástases em

10 a 15%. [47, 88, 108] Entre os doentes com CIS em que é feita cistectomia radical, foi documentado que cerca de 20% contêm elementos de microinvasão [10]. Masood *et al*, observaram que a presença de CIS associado a tumores T1 G3 levou a um *upstaging* das lesões em cerca de 55% das amostras de biópsia em comparação aos 6% nas amostras sem CIS associado. [72] Huang *et al* estudaram 27 doentes com CIS primário tratados apenas com cistectomia radical e mostraram que em 33% dos doentes a biópsia da amostra de bexiga resultou num *upstaging* da doença. [50]

Numa população de 243 doentes com CIS primário refractário à terapêutica intravesical que foram sujeitos a cistectomia radical, Tilki *et al* mostraram que num período de 10 anos, a sobrevivência sem recorrências foi de 71%. [108] O sexo feminino, aumento do estadiamento patológico, metástases nos nódulos linfáticos e invasão linfovascular correlacionavam-se independentemente com um aumento do risco tanto de recorrência como de mortalidade cancro específica. [108]

Apesar de a cistectomia radical permanecer a opção mais segura, muitos doentes sentem-se relutantes em aceitar esta estratégia terapêutica após a falência do BCG e alguns apresentam contra-indicações cirúrgicas. [81] Para o CIS não tratado, a progressão anual está estimada em cerca de 7% [11] mas como cerca de 50% respondem de forma duradoura ao BCG, a taxa de progressão anual esperada nos casos em que o BCG falha não deverá ser, na pior das hipóteses, superior ao dobro deste valor (cerca de 15%) [81]

## Conclusão

O cancro da bexiga permanece uma entidade clínica desafiante, quer pela sua elevada incidência e dificuldade de diagnóstico por um lado, quer pela imprevisibilidade da eficácia do tratamento. O clínico geral deverá estar alerta perante um doente com idade superior a 65 anos, antecedentes de tabagismo e/ou exposição ocupacional a anilinas e aminas aromáticas que surge, principalmente, com queixas de hematuria, disúria ou queixas irritativas vesicais. Apesar de esta ser uma descrição textual, que raramente será encontrada na prática clínica, o conhecimento dos factores de risco inerentes ao surgimento de cancro da bexiga será um ponto fundamental para a orientação de todo o processo de raciocínio diagnóstico. A detecção precoce de um cancro da bexiga, e em particular do CIS da bexiga permitirá uma estratégia de tratamento mais conservadora e mais eficaz, com efeito directo nas probabilidades de sobrevivência desse paciente.

A cistoscopia de fluorescência constitui um excelente auxiliar de diagnóstico, permitindo visualizar os locais de invasão do CIS, bem como realizar biopsias das lesões suspeitas. Os métodos indirectos, tais como a citologia, a UroVysionFiSH<sup>TM</sup>, o ImmunoCyt<sup>TM</sup> e o BTA Stat<sup>TM</sup> e TraK<sup>TM</sup> constituem também excelentes métodos auxiliares de diagnóstico na pesquisa por CIS da bexiga, particularmente naqueles que têm uma localização extra-vesical, nos quais a visualização por cistoscopia não seria possível. A citologia urinária constitui um método com elevada sensibilidade e especificidade na detecção do CIS da bexiga, que a par do seu baixo custo e facilidade técnica constitui um *gold standard* entre os exames complementares de diagnóstico. No entanto, a utilização do UroVysion<sup>TM</sup> FiSH, o ImmunoCyt<sup>TM</sup> e o BTA Stat<sup>TM</sup> e TraK<sup>TM</sup> isoladamente ou em associação poderão contribuir para um aumento da sensibilidade do

exame, podendo contudo aumentar o número de falsos positivos pela que a sua aplicação deverá ser considerada caso a caso. Os novos métodos de pesquisa, que se encontram ainda em fase de investigação carecem na sua maioria de estudos randomizados de larga escala que façam a avaliação da sua sensibilidade e especificidade na detecção do CIS da bexiga mas, no futuro poderão vir a constituir excelentes opções diagnósticas. A principal carência actual em relação ao cancro da bexiga, no geral, e ao CIS em particular, é a de um exame auxiliar de diagnóstico que possa constituir simultaneamente um método de rastreio, o que não é possível com os métodos actualmente disponíveis.

A presença de CIS deverá ser sempre despistada, já que pelas suas características esta constitui uma lesão potencialmente invasiva. Na sua presença, a abordagem terapêutica deverá ser mais agressiva. A terapêutica intravesical com BCG ou a cistectomia constituem os dois recursos terapêuticos mais importantes. Apesar das boas taxas de resposta completa ao BCG, a recorrência ocorre num número elevado de doentes, sendo menos frequente quando se realiza terapêutica de manutenção durante pelo menos 3 anos. A elevada frequência de efeitos secundários constitui um forte motivo para o abandono terapêutico, o que poderá condicionar o prognóstico destes doentes. As novas terapêuticas intravesicais, tais como a mitomicina C, epirrubina e doxorubicina apresentam bons resultados, tendo como grande vantagem a menor frequência e gravidade dos efeitos secundários permitindo uma maior adesão ao tratamento. Os novos agentes carecem ainda de estudos randomizados e alargados que permitam reconhecer a sua verdadeira eficácia no tratamento do CIS da bexiga.

A cistectomia radical é a derradeira arma terapêutica, sendo que está indicada em doentes com carcinoma urotelial invasivo e é uma opção importante para os doentes com doença não invasiva de alto grau incluindo aqueles que têm doença recorrente após

terapêutica intravesical ou doença refractária a terapêutica conservadora. Apesar de constituir um método altamente agressivo, a opção precoce pela cistectomia pode permitir uma sobrevida muito superior visto que em 35 a 50% dos doentes com carcinoma *in situ* pode haver micro-invasão aquando do diagnóstico. A sua utilização terá que ser avaliada caso a caso e discutida com o doente, sendo sua a última palavra em relação à estratégia de tratamento que será adoptada.

## Bibliografia

1. (2009). European Cancer Observatory. Cancer: bladder. *European Cancer Observatory Website* <http://eu-canceriacrfr/country-930--european-union-27html,en> 2008.
2. **Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, et al.** (2008). EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 54: 303-314.
3. **Bergman J, Reznichak RC, and Rajfer J.** (2008). Surveillance of patients with bladder carcinoma using fluorescent in-situ hybridization on bladder washings. *BJU Int* 101: 26-29.
4. **Bosetti C, Pira E, and La Vecchia C.** (2005). Bladder cancer risk in painters: a review of the epidemiological evidence, 1989-2004. *Cancer Causes Control* 16: 997-1008.
5. **Brinkman MT, Karagas MR, Zens MS, et al.** (2010). Minerals and vitamins and the risk of bladder cancer: results from the New Hampshire Study. *Cancer Causes Control* 21: 609-619.
6. **Caraway NP, and Katz RL.** (2010). A review on the current state of urine cytology emphasizing the role of fluorescence *in situ* hybridization as an adjunct to diagnosis. *Cancer Cytopathol* 118: 175-183.
7. **Castelao JE, Yuan JM, Gago-Dominguez M, et al.** (2000). Non-steroidal anti-inflammatory drugs and bladder cancer prevention. *Br J Cancer* 82: 1364-1369.
8. **Chade DC, Shariat SF, Adamy A, et al.** (2010). Clinical outcome of primary versus secondary bladder carcinoma *in situ*. *J Urol* 184: 464-469.
9. **Chade DC, Shariat SF, Godoy G, et al.** (2010). Clinical outcomes of primary bladder carcinoma *in situ* in a contemporary series. *J Urol* 184: 74-80.
10. **Chang SS, and Cookson MS.** (2005). Radical cystectomy for bladder cancer: the case for early intervention. *Urol Clin North Am* 32: 147-155.
11. **Cheng L, Cheville JC, Neumann RM, et al.** (1999). Survival of patients with carcinoma *in situ* of the urinary bladder. *Cancer* 85: 2469-2474.
12. **Cheng L, Davidson DD, Maclennan GT, et al.** (2010). The origins of urothelial carcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 10: 865-880.
13. **Cheng L, Gu J, Ulbright TM, et al.** (2002). Precise microdissection of human bladder carcinomas reveals divergent tumor subclones in the same tumor. *Cancer* 94: 104-110.
14. **Cianciulli AM, Leonardo C, Guadagni F, et al.** (2003). Genetic instability in superficial bladder cancer and adjacent mucosa: an interphase cytogenetic study. *Hum Pathol* 34: 214-221.
15. **Colombel M, Saint F, Chopin D, et al.** (2006). The effect of ofloxacin on bacillus calmette-guerin induced toxicity in patients with superficial bladder cancer: results of a randomized, prospective, double-blind, placebo controlled, multicenter study. *J Urol* 176: 935-939.
16. **Colombo R, Naspro R, Bellinzoni P, et al.** (2007). Photodynamic diagnosis for follow-up of carcinoma *in situ* of the bladder. *Ther Clin Risk Manag* 3: 1003-1007.
17. **Crawford JM.** (2008). The origins of bladder cancer. *Lab Invest* 88: 686-693.
18. **Daniltchenko DI, Riedl CR, Sachs MD, et al.** (2005). Long-term benefit of 5-aminolevulinic acid fluorescence assisted transurethral resection of superficial bladder cancer: 5-year results of a prospective randomized study. *J Urol* 174: 2129-2133, discussion 2133.

19. **Davidson DD, and Cheng L.** (2006). "Field cancerization" in the urothelium of the bladder. *Anal Quant Cytol Histol* 28: 337-338.
20. **de Reijke TM, Kurth KH, Sylvester RJ, et al.** (2005). Bacillus Calmette-Guerin versus epirubicin for primary, secondary or concurrent carcinoma *in situ* of the bladder: results of a European Organization for the Research and Treatment of Cancer--Genito-Urinary Group Phase III Trial (30906). *J Urol* 173: 405-409.
21. **Demir MA, Ryd W, Aldenborg F, et al.** (2003). Cytopathological expression of different types of urothelial carcinoma *in situ* in urinary bladder washings. *BJU Int* 92: 906-910.
22. **Denis L.** (1983). Anaphylactic reactions to repeated intravesical instillation with cisplatin. *Lancet* 1: 1378-1379.
23. **Donato F, Boffetta P, Fazioli R, et al.** (1997). Bladder cancer, tobacco smoking, coffee and alcohol drinking in Brescia, northern Italy. *Eur J Epidemiol* 13: 795-800.
24. **Draga RO, Grimbergen MC, Kok ET, et al.** (2010). Photodynamic diagnosis (5-aminolevulinic acid) of transitional cell carcinoma after bacillus Calmette-Guerin immunotherapy and mitomycin C intravesical therapy. *Eur Urol* 57: 655-660.
25. **Duque JL, and Loughlin KR.** (2000). An overview of the treatment of superficial bladder cancer. Intravesical chemotherapy. *Urol Clin North Am* 27: 125-135, x.
26. **Fadl-Elmula I, Gorunova L, Mandahl N, et al.** (1999). Cytogenetic monoclonality in multifocal uroepithelial carcinomas: evidence of intraluminal tumour seeding. *Br J Cancer* 81: 6-12.
27. **Farrow GM, Utz DC, Rife CC, et al.** (1977). Clinical observations on sixty-nine cases of *in situ* carcinoma of the urinary bladder. *Cancer Res* 37: 2794-2798.
28. **Fernando H, Thota SS, Burt G, et al.** (2007). Importance of red patches diagnosed in cystoscopy for haematuria and lower urinary tract symptoms. *Postgrad Med J* 83: 62-63.
29. **Ferra S, Denley R, Herr H, et al.** (2009). Reflex UroVysion testing in suspicious urine cytology cases. *Cancer Cytopathol* 117: 7-14.
30. **Figuroa JD, Malats N, Garcia-Closas M, et al.** (2008). Bladder cancer risk and genetic variation in AKR1C3 and other metabolizing genes. *Carcinogenesis* 29: 1955-1962.
31. **Fradet Y, Grossman HB, Gomella L, et al.** (2007). A comparison of hexaminolevulinate fluorescence cystoscopy and white light cystoscopy for the detection of carcinoma *in situ* in patients with bladder cancer: a phase III, multicenter study. *J Urol* 178: 68-73; discussion 73.
32. **Friesen MC, Demers PA, Spinelli JJ, et al.** (2007). Comparison of two indices of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in a retrospective aluminium smelter cohort. *Occup Environ Med* 64: 273-278.
33. **Garbar C, Mascaux C, and Wespes E.** (2007). Is urinary tract cytology still useful for diagnosis of bladder carcinomas? A large series of 592 bladder washings using a five-category classification of different cytological diagnoses. *Cytopathology* 18: 79-83.
34. **Gofrit ON, Zorn KC, Silvestre J, et al.** (2008). The predictive value of multi-targeted fluorescent in-situ hybridization in patients with history of bladder cancer. *Urol Oncol* 26: 246-249.
35. **Gontero P, and Frea B.** (2006). Actual experience and future development of gemcitabine in superficial bladder cancer. *Ann Oncol* 17 Suppl 5: v123-128.

36. **Goy J, Rosenberg MW, and King WD.** (2008). Health risk behaviors: examining social inequalities in bladder and colorectal cancers. *Ann Epidemiol* 18: 156-162.
37. **Grossman HB, Messing E, Soloway M, et al.** (2005). Detection of bladder cancer using a point-of-care proteomic assay. *JAMA* 293: 810-816.
38. **Gudjonsson S, Isfoss BL, Hansson K, et al.** (2008). The value of the UroVysion assay for surveillance of non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 54: 402-408.
39. **Habuchi T, Takahashi R, Yamada H, et al.** (1993). Metachronous multifocal development of urothelial cancers by intraluminal seeding. *Lancet* 342: 1087-1088.
40. **Hafner C, Knuechel R, Stoehr R, et al.** (2002). Clonality of multifocal urothelial carcinomas: 10 years of molecular genetic studies. *Int J Cancer* 101: 1-6.
41. **Hafner C, Knuechel R, Zanardo L, et al.** (2001). Evidence for oligoclonality and tumor spread by intraluminal seeding in multifocal urothelial carcinomas of the upper and lower urinary tract. *Oncogene* 20: 4910-4915.
42. **Hall MC, Chang SS, Dalbagni G, et al.** (2007). Guideline for the management of nonmuscle invasive bladder cancer (stages Ta, T1, and Tis): 2007 update. *J Urol* 178: 2314-2330.
43. **Halling KC, King W, Sokolova IA, et al.** (2002). A comparison of BTA stat, hemoglobin dipstick, telomerase and Vysis UroVysion assays for the detection of urothelial carcinoma in urine. *J Urol* 167: 2001-2006.
44. **Halling KC, King W, Sokolova IA, et al.** (2000). A comparison of cytology and fluorescence *in situ* hybridization for the detection of urothelial carcinoma. *J Urol* 164: 1768-1775.
45. **Hartmann A, Rosner U, Schlake G, et al.** (2000). Clonality and genetic divergence in multifocal low-grade superficial urothelial carcinoma as determined by chromosome 9 and p53 deletion analysis. *Lab Invest* 80: 709-718.
46. **Hartmann A, Schlake G, Zaak D, et al.** (2002). Occurrence of chromosome 9 and p53 alterations in multifocal dysplasia and carcinoma *in situ* of human urinary bladder. *Cancer Res* 62: 809-818.
47. **Herr HW, and Sogani PC.** (2001). Does early cystectomy improve the survival of patients with high risk superficial bladder tumors? *J Urol* 166: 1296-1299.
48. **Heyerdahl H, Wang I, Liu DL, et al.** (1997). Pharmacokinetic studies on 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX accumulation in tumours and normal tissues. *Cancer Lett* 112: 225-231.
49. **Hilkens J, Ligtenberg MJ, Vos HL, et al.** (1992). Cell membrane-associated mucins and their adhesion-modulating property. *Trends Biochem Sci* 17: 359-363.
50. **Huang GJ, Kim PH, Skinner DG, et al.** (2009). Outcomes of patients with clinical CIS-only disease treated with radical cystectomy. *World J Urol* 27: 21-25.
51. **Hudson MA, and Herr HW.** (1995). Carcinoma *in situ* of the bladder. *J Urol* 153: 564-572.
52. **Huncharek M, and Kupelnick B.** (2003). Impact of intravesical chemotherapy versus BCG immunotherapy on recurrence of superficial transitional cell carcinoma of the bladder: metaanalytic reevaluation. *Am J Clin Oncol* 26: 402-407.
53. **Jemal A, Siegel R, Xu J, et al.** (2010). Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 60: 277-300.
54. **Jichlinski P, Guillou L, Karlsen SJ, et al.** (2003). Hexyl aminolevulinic acid fluorescence cystoscopy: new diagnostic tool for photodiagnosis of superficial bladder cancer--a multicenter study. *J Urol* 170: 226-229.

55. **Jones TD, Wang M, Eble JN, et al.** (2005). Molecular evidence supporting field effect in urothelial carcinogenesis. *Clin Cancer Res* 11: 6512-6519.
56. **Junker K, Boerner D, Schulze W, et al.** (2003). Analysis of genetic alterations in normal bladder urothelium. *Urology* 62: 1134-1138.
57. **Kaasinen E, Wijkstrom H, Malmstrom PU, et al.** (2003). Alternating mitomycin C and BCG instillations versus BCG alone in treatment of carcinoma *in situ* of the urinary bladder: a nordic study. *Eur Urol* 43: 637-645.
58. **Kirkali Z, Chan T, Manoharan M, et al.** (2005). Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology* 66: 4-34.
59. **Kurth K, Vijgh WJ, ten Kate F, et al.** (1991). Phase 1/2 study of intravesical epirubicin in patients with carcinoma *in situ* of the bladder. *J Urol* 146: 1508-1512; discussion 1512-1503.
60. **Kurth KH, Bouffieux C, Sylvester R, et al.** (2000). Treatment of superficial bladder tumors: achievements and needs. The EORTC Genitourinary Group. *Eur Urol* 37 Suppl 3: 1-9.
61. **Lamm DL.** (1992). Carcinoma *in situ*. *Urol Clin North Am* 19: 499-508.
62. **Lamm DL.** (1995). BCG immunotherapy for transitional-cell carcinoma *in situ* of the bladder. *Oncology (Williston Park)* 9: 947-952, 955, discussion 955-965.
63. **Lamm DL.** (2000). Preventing progression and improving survival with BCG maintenance. *Eur Urol* 37 Suppl 1: 9-15.
64. **Lamm DL, Blumenstein BA, Crawford ED, et al.** (1991). A randomized trial of intravesical doxorubicin and immunotherapy with bacille Calmette-Guerin for transitional-cell carcinoma of the bladder. *N Engl J Med* 325: 1205-1209.
65. **Lamm DL, Steg A, Boccon-Gibod L, et al.** (1989). Complications of Bacillus Calmette-Guerin immunotherapy: review of 2602 patients and comparison of chemotherapy complications. *Prog Clin Biol Res* 310: 335-355.
66. **Li M, and Cannizzaro LA.** (1999). Identical clonal origin of synchronous and metachronous low-grade, noninvasive papillary transitional cell carcinomas of the urinary tract. *Hum Pathol* 30: 1197-1200.
67. **Loidl W, Schmidbauer J, Susani M, et al.** (2005). Flexible cystoscopy assisted by hexaminolevulinate induced fluorescence: a new approach for bladder cancer detection and surveillance? *Eur Urol* 47: 323-326.
68. **Lokeshwar VB, Habuchi T, Grossman HB, et al.** (2005). Bladder tumor markers beyond cytology: International Consensus Panel on bladder tumor markers. *Urology* 66: 35-63.
69. **Lokeshwar VB, Schroeder GL, Selzer MG, et al.** (2002). Bladder tumor markers for monitoring recurrence and screening comparison of hyaluronic acid-hyaluronidase and BTA-Stat tests. *Cancer* 95: 61-72.
70. **Luo Y, Chen X, and O'Donnell MA.** (2003). Role of Th1 and Th2 cytokines in BCG-induced IFN-gamma production: cytokine promotion and simulation of BCG effect. *Cytokine* 21: 17-26.
71. **Marsit CJ, Karagas MR, Danaee H, et al.** (2006). Carcinogen exposure and gene promoter hypermethylation in bladder cancer. *Carcinogenesis* 27: 112-116.
72. **Masood S, and Mufti GR.** (2008). Outcomes of patients with clinical T1 grade 3 urothelial cell bladder carcinoma treated with radical cystectomy. *Urology* 72: 952; author reply 952.
73. **Melamed MR, Voutsas NG, and Grabstald H.** (1964). Natural History and Clinical Behavior of *in situ* Carcinoma of the Human Urinary Bladder. *Cancer* 17: 1533-1545.

74. **Melicow MM.** (1952). Histological study of vesical urothelium intervening between gross neoplasms in total cystectomy. *J Urol* 68: 261-279.
75. **Melicow MM, and Hollowell JW.** (1952). Intra-urothelial cancer: carcinoma *in situ*, Bowen's disease of the urinary system: discussion of thirty cases. *J Urol* 68: 763-772.
76. **Messing EM, Teot L, Korman H, et al.** (2005). Performance of urine test in patients monitored for recurrence of bladder cancer: a multicenter study in the United States. *J Urol* 174: 1238-1241.
77. **Mitra AP, and Cote RJ.** (2009). Molecular pathogenesis and diagnostics of bladder cancer. *Annu Rev Pathol* 4: 251-285.
78. **Mitra AP, Datar RH, and Cote RJ.** (2006). Molecular pathways in invasive bladder cancer: new insights into mechanisms, progression, and target identification. *J Clin Oncol* 24: 5552-5564.
79. **Moonen PM, Merckx GF, Peelen P, et al.** (2007). UroVysion compared with cytology and quantitative cytology in the surveillance of non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 51: 1275-1280; discussion 1280.
80. **Murphy WM, Busch C, and Algaba F.** (2000). Intraepithelial lesions of urinary bladder: morphologic considerations. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 67-81.
81. **O'Donnell MA.** (2009). Optimizing BCG therapy. *Urol Oncol* 27: 325-328.
82. **Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al.** (2005). Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 55: 74-108.
83. **Patriarca C, Colombo P, Pio Taronna A, et al.** (2009). Cell discohesion and multifocality of carcinoma *in situ* of the bladder: new insight from the adhesion molecule profile (e-cadherin, Ep-CAM, and MUC1). *Int J Surg Pathol* 17: 99-106.
84. **Pelucchi C, Bosetti C, Negri E, et al.** (2006). Mechanisms of disease: The epidemiology of bladder cancer. *Nat Clin Pract Urol* 3: 327-340.
85. **Sala M, Cordier S, Chang-Claude J, et al.** (2000). Coffee consumption and bladder cancer in nonsmokers: a pooled analysis of case-control studies in European countries. *Cancer Causes Control* 11: 925-931.
86. **Sarosdy MF, Schellhammer P, Bokinsky G, et al.** (2002). Clinical evaluation of a multi-target fluorescent *in situ* hybridization assay for detection of bladder cancer. *J Urol* 168: 1950-1954.
87. **Schroeder GL, Lorenzo-Gomez MF, Hautmann SH, et al.** (2004). A side by side comparison of cytology and biomarkers for bladder cancer detection. *J Urol* 172: 1123-1126.
88. **Shariat SF, Palapattu GS, Karakiewicz PI, et al.** (2007). Discrepancy between clinical and pathologic stage: impact on prognosis after radical cystectomy. *Eur Urol* 51: 137-149; discussion 149-151.
89. **Sidransky D, Frost P, Von Eschenbach A, et al.** (1992). Clonal origin bladder cancer. *N Engl J Med* 326: 737-740.
90. **Sidransky D, Von Eschenbach A, Tsai YC, et al.** (1991). Identification of p53 gene mutations in bladder cancers and urine samples. *Science* 252: 706-709.
91. **Simms MS, Hughes OD, Limb M, et al.** (1999). MUC1 mucin as a tumour marker in bladder cancer. *BJU Int* 84: 350-352.
92. **Skacel M, Fahmy M, Brainard JA, et al.** (2003). Multitarget fluorescence *in situ* hybridization assay detects transitional cell carcinoma in the majority of patients with bladder cancer and atypical or negative urine cytology. *J Urol* 169: 2101-2105.
93. **Slattery ML, West DW, and Robison LM.** (1988). Fluid intake and bladder cancer in Utah. *Int J Cancer* 42: 17-22.

94. **Soloway MS, and Ford KS.** (1983). Thiotepa-induced myelosuppression: review of 670 bladder instillations. *J Urol* 130: 889-891.
95. **Song MJ, Lee HM, and Kim SH.** (2010). Clinical usefulness of fluorescence *in situ* hybridization for diagnosis and surveillance of bladder cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 198: 144-150.
96. **Spruck CH, 3rd, Ohneseit PF, Gonzalez-Zulueta M, et al.** (1994). Two molecular pathways to transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer Res* 54: 784-788.
97. **Stein JP.** (2003). Indications for early cystectomy. *Urology* 62: 591-595.
98. **Steward B, and P K.** (2003). World Cancer Report. *WHO-IARC, Lyon.*
99. **Stricker PD, Grant AB, Hosken BM, et al.** (1990). Topical mitomycin C therapy for carcinoma *in situ* of the bladder: a followup. *J Urol* 143: 34-35; discussion 35-36.
100. **Swinn MJ, Walker MM, Harbin LJ, et al.** (2004). Biopsy of the red patch at cystoscopy: is it worthwhile? *Eur Urol* 45: 471-474; discussion 474.
101. **Sylvester RJ, van der MA, and Lamm DL.** (2002). Intravesical bacillus Calmette-Guerin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *J Urol* 168: 1964-1970.
102. **Sylvester RJ, van der Meijden AP, Witjes JA, et al.** (2005). Bacillus calmette-guerin versus chemotherapy for the intravesical treatment of patients with carcinoma *in situ* of the bladder: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *J Urol* 174: 86-91; discussion 91-82.
103. **Takahashi T, Habuchi T, Kakehi Y, et al.** (1998). Clonal and chronological genetic analysis of multifocal cancers of the bladder and upper urinary tract. *Cancer Res* 58: 5835-5841.
104. **Takahashi T, Kakehi Y, Mitsumori K, et al.** (2001). Distinct microsatellite alterations in upper urinary tract tumors and subsequent bladder tumors. *J Urol* 165: 672-677.
105. **Takashi M, Shimoji T, Murase T, et al.** (1997). Intravesical bacillus Calmette-Guerin (Tokyo 172 strain) therapy for carcinoma *in situ* of the bladder. *Int Urol Nephrol* 29: 557-563.
106. **Takashi M, Wakai K, Hattori T, et al.** (2002). Multivariate evaluation of factors affecting recurrence, progression, and survival in patients with superficial bladder cancer treated with intravesical bacillus Calmette-Guerin (Tokyo 172 strain) therapy: significance of concomitant carcinoma *in situ*. *Int Urol Nephrol* 33: 41-47.
107. **Tetu B.** (2009). Diagnosis of urothelial carcinoma from urine. *Mod Pathol* 22 Suppl 2: S53-59.
108. **Tilki D, Reich O, Svatek RS, et al.** (2010). Characteristics and outcomes of patients with clinical carcinoma *in situ* only treated with radical cystectomy: an international study of 243 patients. *J Urol* 183: 1757-1763.
109. **van Rhijn BW, Burger M, Lotan Y, et al.** (2009). Recurrence and progression of disease in non-muscle-invasive bladder cancer: from epidemiology to treatment strategy. *Eur Urol* 56: 430-442.
110. **Vineis P, and Magnani C.** (1985). Occupation and bladder cancer in males: a case-control study. *Int J Cancer* 35: 599-606.
111. **Wang LJ, Wong YC, Ng KF, et al.** (2010). Tumor characteristics of urothelial carcinoma on multidetector computerized tomography urography. *J Urol* 183: 2154-2160.

112. **Ward EM, Sabbioni G, DeBord DG, et al.** (1996). Monitoring of aromatic amine exposures in workers at a chemical plant with a known bladder cancer excess. *J Natl Cancer Inst* 88: 1046-1052.
113. **Williams SK, Hoenig DM, Ghavamian R, et al.** (2010). Intravesical therapy for bladder cancer. *Expert Opin Pharmacother* 11: 947-958.
114. **Williamson SR, Montironi R, Lopez-Beltran A, et al.** (2010). Diagnosis, evaluation and treatment of carcinoma *in situ* of the urinary bladder: The state of the art. *Crit Rev Oncol Hematol*.
115. **Witjes JA, Moonen PM, and van der Heijden AG.** (2005). Comparison of hexaminolevulinate based flexible and rigid fluorescence cystoscopy with rigid white light cystoscopy in bladder cancer: results of a prospective Phase II study. *Eur Urol* 47: 319-322.
116. **Witjes JA, Redorta JP, Jacqmin D, et al.** (2010). Hexaminolevulinate-Guided Fluorescence Cystoscopy in the Diagnosis and Follow-Up of Patients with Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer: Review of the Evidence and Recommendations. *Eur Urol*.
117. **Yoder BJ, Skacel M, Hedgepeth R, et al.** (2007). Reflex UroVysion testing of bladder cancer surveillance patients with equivocal or negative urine cytology: a prospective study with focus on the natural history of anticipatory positive findings. *Am J Clin Pathol* 127: 295-301.
118. **Yoo JH, Suh B, Park TS, et al.** (2010). Analysis of fluorescence *in situ* hybridization, mtDNA quantification, and mtDNA sequence for the detection of early bladder cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 198: 107-117.
119. **Zaak D, Karl A, Knuchel R, et al.** (2005). Diagnosis of urothelial carcinoma of the bladder using fluorescence endoscopy. *BJU Int* 96: 217-222.
120. **Zaak D, Kriegmair M, Stepp H, et al.** (2001). Endoscopic detection of transitional cell carcinoma with 5-aminolevulinic acid: results of 1012 fluorescence endoscopies. *Urology* 57: 690-694.
121. **Zeegers MP, Dorant E, Goldbohm RA, et al.** (2001). Are coffee, tea, and total fluid consumption associated with bladder cancer risk? Results from the Netherlands Cohort Study. *Cancer Causes Control* 12: 231-238.
122. **Zeegers MP, Goldbohm RA, and van den Brandt PA.** (2002). A prospective study on active and environmental tobacco smoking and bladder cancer risk (The Netherlands). *Cancer Causes Control* 13: 83-90.
123. **Zeegers MP, Kellen E, Buntinx F, et al.** (2004). The association between smoking, beverage consumption, diet and bladder cancer: a systematic literature review. *World J Urol* 21: 392-401.
124. **Zeegers MP, Tan FE, Dorant E, et al.** (2000). The impact of characteristics of cigarette smoking on urinary tract cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Cancer* 89: 630-639.
125. **Zeegers MP, Volovics A, Dorant E, et al.** (2001). Alcohol consumption and bladder cancer risk: results from The Netherlands Cohort Study. *Am J Epidemiol* 153: 38-41.
126. **Zieger K, Marcussen N, Borre M, et al.** (2009). Consistent genomic alterations in carcinoma *in situ* of the urinary bladder confirm the presence of two major pathways in bladder cancer development. *Int J Cancer* 125: 2095-2103.