

Filipa Dias Alves da Mota

*Carcinoma Urotelial da Bexiga e Via de Sinalização mTOR*

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2012



Filipa Dias Alves da Mota

*Carcinoma Urotelial da Bexiga e Via de Sinalização mTOR*

Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

---

(Filipa Dias Alves da Mota)

Porto, 2012

## Resumo

O carcinoma da bexiga é o quinto tumor maligno mais comum, representando cerca de 3,2% de todos os cânceros no mundo. A sua patogênese envolve alterações genéticas somáticas induzidas por agentes carcinogêneos ambientais, tais como o tabaco, as aminas aromáticas ou o arsênio. Apesar da caracterização elaborada dos fatores de risco, o carcinoma da bexiga ainda é um problema epidemiológico importante, cuja incidência continua a aumentar a cada ano.

A carcinogênese pode ocorrer através da ativação de protooncogenes ou através da perda de genes supressores de tumor, ambos os quais têm sido documentados no carcinoma urotelial (CUB). O CUB, a forma mais comum de carcinoma da bexiga pode ser não-invasor ou invasor, Apesar do carcinoma da bexiga recidivar frequentemente, apresentam um baixo risco de progressão para a doença invasiva e um prognóstico geral favorável. Em contraste, os CUB invasivos caracterizam-se por serem uma doença agressiva, muitas vezes com uma taxa de sobrevida de 5 anos reduzida, apesar do tratamento com cistectomia radical e quimioterapia adjuvante. Ainda que se tenha evoluído nas estratégias cirúrgicas e quimioterapêuticas, a sobrevida na doença invasiva e metastática não apresentou melhorias significativas nas últimas décadas, desde a introdução do BCG na década de 1970 e do MVAC na década de 1980. Neste contexto urge a necessidade de novos alvos terapêuticos.

A proteína alvo da rapamicina nos mamíferos (mTOR) desempenha um papel importante na regulação da tradução de proteínas, crescimento celular e metabolismo. Alterações nesta via de sinalização são comuns no cancro (amplificação/mutação da PI3K, perda de função do PTEN, sobreexpressão do AKT e amplificação/sobreexpressão do S6K1 e eIF4E), e, portanto, o mTOR constitui um alvo terapêutico cada vez mais relevante no âmbito desta doença.

A rapamicina e os seus análogos provaram ser benéficos como agentes anticancerígenos, numa ampla gama e ensaios pré-clínicos, isoladamente ou combinados com outros inibidores de outras vias de sinalização, como terapêutica para vários tipos de cancro. No entanto, são necessários mais estudos para validar o mTOR como agente terapêutico para o carcinoma da bexiga.

## **Abstract**

Bladder carcinoma is the fifth most common malignancy, accounting for about 3.2% of all cancers worldwide. Its pathogenesis involves somatic genetic changes induced by environmental carcinogens such as tobacco, aromatic amines or arsenic. Despite the characterization established risk factors, carcinoma of the bladder is still an important epidemiologic problem whose incidence continues to increase every year. Carcinogenesis may occur through activation of protooncogenes or through loss of tumor suppressor genes, both of which have been documented in urothelial carcinoma (CUB). CUB, the most common form of bladder carcinoma, is divided into noninvasive and invasive with non-invasive lesions divided into low and high grade. Despite frequent recurrences, these injuries often have a low risk of progression to invasive disease and a generally favorable prognosis. In contrast, the invasive subtype of CUB is characterized as being an aggressive disease, often with a reduced 5-year survival, despite treatment with adjuvant chemotherapy and radical cystectomy. Although its surgical and chemotherapeutic strategies have evolved, survival in invasive and metastatic disease showed no significant improvements in the last decades, since the introduction of BCG in the 1970s and in the 1980s MVAC. In this context there is an urgent need for new therapeutic targets.

Protein mammalian target of rapamycin (mTOR) plays an important role in the regulation of protein translation, cell growth and metabolism. Changes in this signaling pathway are common in cancer (amplification / mutation of PI3K, loss of PTEN function, overexpression of AKT and amplification / overexpression of S6K1 and eIF4E) and thus mTOR is an increasingly important therapeutic target in this disease. Rapamycin and its analogs proved to be beneficial as anticancer agents in a broad range in preclinical trials, alone or combined with other inhibitors of other signaling pathways, such as therapy for various cancers. However, more studies are needed to validate mTOR as a therapeutic agent for bladder carcinoma.

## Índice

I. Introdução.....	1
II. Epidemiologia .....	5
III. Fatores de risco.....	9
3.1 Tabagismo .....	9
3.2 Exposição Ocupacional .....	11
3.3 Infecções e irritações crónicas da Bexiga.....	12
3.4 Radiações e outras terapias.....	12
3.5 Fatores hereditários.....	13
IV. Sintomas e Diagnóstico .....	14
4.1 Sintomas .....	15
4.2 Diagnóstico.....	15
V. Carcinoma urotelial da bexiga.....	18
VI. Classificação Histológica dos Carcinomas da Bexiga .....	19
VII. Tratamento .....	22
7.1 Ressecção Transuretral (RTU) .....	22
7.2 Cistectomia.....	23
7.3 Radioterapia.....	24
7.4 Imunoterapia intravesical .....	25
i. O Bacillus de Calmette-Guerin (BCG).....	25
ii. Interferão .....	26
7.5 Quimioterapia Intravesical .....	26
7.6 Quimioterapia sistémica para o CUB .....	27

7.7 Alternativas aos regimes com cisplatina .....	29
7.8 Terapia de segunda linha .....	30
VIII. O mTOR e o Carcinoma da Bexiga.....	35
8.1. Introdução.....	35
8.2 O mTOR.....	36
8.3. A via de sinalização mTOR.....	38
8.4 Estrutura e ativação do mTOR .....	38
8.5. A via de sinalização PI3K/AKT .....	40
8.6. O Gene Supressor Tumoral, PTEN .....	41
8.7 A sinalização a montante do mTOR.....	41
i. A via de sinalização Ras / Raf / MEK / ERK.....	41
ii. O AMPK e outras moléculas.....	42
8.8 A sinalização a jusante do mTOR .....	43
i. A 4EBP1 .....	43
ii. A P70S6K1.....	44
8.9 A via de sinalização mTOR e o Cancro .....	45
8.10 O mTOR e o Carcinoma da Bexiga.....	47
8.11 Os inibidores do mTOR e a seletividade tumoral.....	50
8.12 O mTOR como alvo terapêutico.....	53
8.13 Os análogos da rapamicina usados em ensaios clínicos como agentes únicos... 54	
IX. Conclusão e futuras direções.....	58
X. Bibliografia.....	60

## Índice de Figuras

Figura 1 Tumores mais frequentes no sexo masculino e feminino em 2010 (adaptado de (Registo Oncológico Regional do Norte, 2010)).	5
Figura 2 Taxas de incidência mundiais de carcinoma da bexiga standarizadas pela idade (por 100 000 individuos): a) sexo masculino, b) sexo feminino. (adaptado de (Ferlay et al., 2002)).	6
Figura 3 Morfologia da bexiga (adaptada de (Schorge et al. 2008)),	19
Figura 4 Histologia da bexiga (adaptada de (Gray, 1988)).	19
Figura 5 Esquema Terapêutico para carcinoma urotelial mestastático (adaptado de (Stenzl et al., 2011))	34
Figura 6 A via mTOR e o seu envolvimento com outras vias de sinalização (adaptado de (Castellino e Durden, 2007)).	37
Figura 7 A sinalização mTOR envolvida na regulação da tradução (adaptada de (Dunlop e Tee, 2009)).	45
Figura 8 Curvas dose/resposta de linhagens celulares de carcinoma da bexiga aos inibidores mTOR (adaptada de (Mansure et al., 2009)).	49
Figura 9 Estrutura química da rapamicina e inibidores do mTOR (adaptado de (Ballou e Lin, 2008)).	52

## **Índice de tabelas**

Tabela 1 Classificação do carcinoma da bexiga através do sistema TNM (Tumor, nódulo, metástase) (tabela adaptada de (Greene et al., 2002)) .....	21
Tabela 2 Estudos clínicos para a terapia de primeira linha no carcinoma da bexiga avançado e metastático (adaptado de (Vishnu et al., Mathew e Tan, 2011)). .....	30
Tabela 3 Estudos clínicos em curso para a terapia de segunda linha de carcinoma da bexiga avançado e metastático . (adaptado de (Vishnu et al., Mathew e Tan, 2011))..	33
Tabela 4 Ensaios clínicos em curso com rapalogs (adaptado de (Meric-Bernstam e Gonzalez-Angulo, 2009)). .....	55
Tabela 5 Combinações entre fármacos quimioterápicos e os inibidores do mTOR (adaptado de (Jing e Lui, 2008)).....	57

## **Índice Gráficos**

Gráfico 1 Taxas de mortalidade mundiais de carcinoma da bexiga (100 000/ano) (adaptado de (Ferlay et al., 2000)).....	7
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---

## Abreviaturas

<b>AKT</b>	Proteína cinase B
<b>AMPK</b>	Proteína cinase ativada por 5'adenosina monofosfato
<b>BCG</b>	Bacillus Calmette-Guerin
<b>BTA</b>	Antigénio tumoral da bexiga
<b>CIS</b>	Carcinoma <i>in situ</i>
<b>CUB</b>	Carcinoma Urotelial da Bexiga
<b>CDK</b>	Cinase dependente de ciclina
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>EGF</b>	Fator de crescimento epitelial humano
<b>EGFR</b>	Recetor do fator de crescimento epidérmico
<b>EIF4E</b>	Inibidor do fator de iniciação da tradução eucariótico 4E
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FGFR</b>	Recetor do fator de crescimento fibroblástico
<b>FKBP12</b>	Complexo rapamicina- proteína intracelular associada à FK506,
<b>GC</b>	Gencitabina e cisplatina
<b>GTP</b>	Guanina trifosfato
<b>GTPase</b>	Guanina trifosfatase
<b>HPV</b>	Vírus do Papiloma Humano
<b>IPOFG</b>	Instituto Português de Oncologia de Francisco Gentil
<b>IGF</b>	Fator de crescimento semelhante à insulina

<b>JNK</b>	Cinase c-Jun N-terminal
<b>MAPK</b>	Cascata das proteínas cinase ativadas por mitógeno
<b>mSin1</b>	Proteína cinase mitogénio-ativada associada à proteína 1
<b>mTOR</b>	Proteína cinase serina/treonina alvo da rapamicina em mamíferos
<b>MVAC</b>	Metotrexato, vinblastina, doxorrubicina, cisplatina
<b>MVAC-DD</b>	Metotrexato, vinblastina, doxorrubicina, cisplatina – dose densa
<b>OS</b>	Sobrevida global
<b>P53</b>	Proteína supressora tumoral
<b>PDGFR</b>	Recetor do fator de crescimento derivado de plaquetas
<b>PET</b>	Tomografia de emissão de positrões
<b>PH</b>	Domínio homólogo à pleckstrin
<b>PI3Ks</b>	Fosfatidilinositol-3 cinase
<b>PKC</b>	Cinase C
<b>PP2A</b>	Proteína fosfatase 2
<b>PTEN</b>	Proteína fosfatase e homóloga da tensina
<b>RAP</b>	Rapamicina
<b>Raptor</b>	Proteína reguladora associada ao mTOR
<b>Ras</b>	Proteína de ligação a GTP
<b>RB</b>	Proteína retinoblastoma
<b>Rheb</b>	Proteína homóloga de Ras enriquecida no cérebro
<b>RM</b>	Ressonância magnética
<b>RNA<sub>m</sub></b>	Ácido ribonucleico mensageiro

<b>RORENO</b>	Registo Oncológico Regional do Norte
<b>RTKs</b>	Recetores tirosina-cinase
<b>RTU</b>	Ressecção Transuretral
<b>S6K1</b>	Cinase serina / treonina
<b>STK11</b>	Proteína cinase serina-treonina 11
<b>TC</b>	Tomografia Computadorizada
<b>TGR</b>	Taxas globais de resposta
<b>TSC</b>	Tuberous sclerosis complex
<b>VEGF</b>	Fator de crescimento endotelial vascular
<b>VEGFR</b>	Recetor do fator de crescimento endotelial vasculat

## I. Introdução

O carcinoma da bexiga é a segunda neoplasia maligna mais frequente a nível mundial do trato genitourinário representando 3,2% de todos os cancros, e afeta três vezes mais o sexo masculino que o feminino (Jemal et al., 2009, Puzio-Kuter et al., 2009). Mais de 90% dos cancros da bexiga, derivam do epitélio urotelial, ou seja, são carcinomas uroteliais da bexiga (CUB). Cerca de 70-80% destes doentes são diagnosticados com tumores papilares de baixo grau, isto é superficiais. Os tumores superficiais, ou seja, não invasores da camada muscular apresentam baixa tendência para progressão (10-20%) mas possuem um elevado risco de recorrência (50-70%) (Kaufman, 2009, Puzio-Kuter et al., 2009, Knowles, 2001, Skinner et al., 1998). Os restantes doentes com CUB apresentam diagnósticos de tumores de alto grau, invasores ou com doença metastática. Sendo este grupo o principal responsável pela mortalidade por carcinoma da bexiga (Puzio-Kuter et al., 2009, Abraham et al., 2007). Por ano, são diagnosticados cerca de 110 500 homens e 70 000 mulheres com esta patologia, aproximadamente 38 200 doentes na União Europeia, sendo que 17 000 pacientes norte-americanos morrem por CUB (Burger et al., 2012). Como se pode constatar, o cancro da bexiga continua a ser um grave problema de saúde pública.

A patogénese envolve alterações genéticas somáticas induzidas por carcinogéneos ambientais (Abraham et al., 2007), tais como o fumo do tabaco, aminas aromáticas, analgésicos contendo fenacetina e a ingestão de arsénio (Chen et al., 2009, Negri e La Vecchia, 2001). Também existem alguns estudos que demonstram que os fatores genéticos hereditários contribuem para a oncogénese desta neoplasia. (Chen et al., 2009).

Apesar dos tumores da bexiga na generalidade serem quimiossensíveis, a utilização de fármacos em regimes de neoadjuvância ou adjuvância são pouco eficazes. O CUB invasor como já foi dito é responsável pela maior parte das mortes por esta doença, pois é uma patologia agressiva que apresenta uma taxa reduzida de sobrevivência aos 5 anos apesar do tratamento com cistectomia radical e quimioterapia adjuvante (Puzio-Kuter et al., 2009, Abraham et al., 2007). Apesar da contínua otimização terapêutica, aproximadamente 50% destes doentes acabam por recorrer e morrer devido à doença

(Rosenberg, 2009). Relativamente aos CUB superficiais, o problema coloca-se no tratamento dos doentes com alto risco de recorrência e progressão para um estágio de doença invasora da camada muscular. Os fatores de risco que definem estes doentes são: multifocalidade, tamanho do tumor, estágio, frequência de recorrência após ressecção transuretral (RTU), presença de carcinoma in situ (CIS) concomitante e grau tumoral (Babjuk, 2008). Apesar do tratamento intravesical com o imunomodulador Bacillus Calmette-Guerin (BCG) em esquemas de manutenção ser o tratamento de referência, estes falham em cerca de 1/3 dos doentes e já existe quem defenda a vantagem do recurso à cistectomia radical (CR) em alguns doentes, antes da progressão para doença invasora (Jakse et al., 2001; Losa et al., 2000; Babjuk, 2008; Kaufman, 2009; Kulkarni et al., 2007).

Como se pode verificar os CUB apresentam uma grande heterogeneidade, quer ao nível histopatológico, quer em termos de resposta à terapia e sobrevivência. Esta heterogeneidade e a ineficácia dos esquemas terapêuticos aplicados a alguns grupos de doentes têm motivado uma intensa investigação de novos alvos e estratégias terapêuticas mais adequadas a esses doentes (Kaufman, 2009).

As vias de sinalização celular têm um papel fundamental na carcinogénese e alterações de genes ou proteínas subjacentes a estas vias podem influenciar o controlo do ciclo celular, a reparação do ADN, e metabolismo do carcinogénico (Chen et al., 2009).

Nos últimos anos, as descobertas no âmbito da transdução de sinais levaram à identificação de moléculas-chave envolvidas nas vias de sinalização que regulam a apoptose, proliferação e sobrevivência celular e que se encontram frequentemente associadas a processos tumorais tais como a angiogénese e a metastização (Peng et al., 2002).

Desse ponto de vista, uma molécula de sinalização extremamente atrativa e que tem suscitado recentemente a atenção como alvo terapêutico é a proteína alvo da rapamicina nos mamíferos (mTOR). O mTOR é uma proteína cinase serina/treonina específica, localizada a jusante da via fosfatidilinositol 3-cinase PI3K/AKT (via PI3K/AKT/mTOR), que desempenha um papel crítico na oncogénese (Peng et al., 2002). Têm sido demonstradas alterações nesta via, no carcinoma da bexiga e que parecem influenciar o comportamento tumoral (Garcia e Danielpour, 2008).

A desregulação da via PI3K/AKT/mTOR gera um ambiente favorável a processos tumorais e tem sido documentada numa variedade de modelos tumorais (Arslan et al., 2006, Dancey, 2006, Georgakis e Younes, 2006). O mTOR integra sinais extracelulares e intracelulares de fatores de crescimento e nutrientes, através da via PI3K/AKT (Negri e La Vecchia, 2001, Knowles, 2001, Skinner et al., 1998). A AKT que é uma proteína serina/treonina cinase modula a atividade do mTOR através da fosforilação direta do complexo TSC1/TSC2 (*tuberous sclerosis complex*), o qual tem sido estabelecido como o principal regulador inibitório localizado a montante do mTOR (Tee, 2002). Também regula a tradução através do controlo de moléculas-chave da síntese proteica, destacando-se a proteína cinase ribossomal S6 (S6K) e o fator de iniciação eucariótica 4E ligado à proteína 1 (4EBP1), sendo estes os substratos mais estudados para o mTOR. Dados pré-clínicos promissores levaram à rápida interpretação do uso de inibidores do mTOR na terapia contra o cancro em ambiente clínico (Easton e Houghton, 2006).

A primeira geração de inibidores do mTOR a serem usados na oncologia inclui três derivados da rapamicina: o Torisel (CCI-779), a AP23573 e o everolimus (RAD001), que se encontram em estudo para vários tumores sólidos (Chan et al., 2005, Galanis et al., 2005).

Apesar da via de sinalização do mTOR ainda não ter sido estudada em detalhe no carcinoma da bexiga, pode conter alvos com potencial terapêutico para este tumor.

O presente projeto de graduação tem como objetivo, através da realização de uma extensa revisão bibliográfica, demonstrar que o carcinoma da bexiga representa um grave problema de saúde pública no mundo, o possível envolvimento da via mTOR no carcinoma da bexiga, assim como a identificação de moléculas com potencial alvo terapêutico. Também se procurou compreender o efeito de inibidores da via mTOR no tratamento de cancro e o seu papel na modulação da resistência aos fármacos quimioterápicos.

Os objetivos específicos que este trabalho científico pretendeu clarificar ao longo do mesmo, foram:

- Evidenciar o carcinoma da bexiga como um problema de saúde pública.
- Demonstrar a necessidade de se estudar novos alvos terapêuticos.

- Avaliar a importância e envolvimento da cascata de sinalização mTOR no cancro e especificamente no carcinoma da bexiga.
- Compreender se existem alvos na cascata mTOR com interesse terapêutico para o tratamento do carcinoma da bexiga

A motivação para a escolha deste tema, prende-se com o meu gosto pessoal sobre o Cancro. A oportunidade de aprender mais sobre este tema, crescer e evoluir traz-me certamente satisfação e realização a vários níveis. No meu futuro profissional espero poder deixar o meu contributo nesta área, levar um pouco de esperança aos doentes que sofrem com esta enfermidade e possibilitar-lhes uma melhor qualidade de vida.

## II. Epidemiologia

O carcinoma da bexiga é o tumor maligno mais comum envolvendo o sistema urinário. Em 2008, foi responsável por cerca de 368 000 novos casos e 150 000 mortes em todo o Mundo (Jemal et al., 2011). A seguir ao cancro da próstata, o cancro da bexiga é a segunda neoplasia maligna mais prevalente, em homens de meia-idade e idosos (Feldman et al., 1986, Vercelli et al., 1999).

O carcinoma da bexiga é geralmente diagnosticado em indivíduos mais velhos, com uma média de idades aquando o diagnóstico, situada nos 69 anos para os Homens e nos 71 anos para as Mulheres (Lynch e Cohen, 1995, Scosyrev et al., 2009 ).

A incidência aumenta com a idade, na ordem dos 142 a 296 por 100.000 homens com idade entre os 65 e os 69 anos e a partir dos 85 respetivamente, e de 33 a 74 por 100.000 mulheres no mesmo grupo etário (Hinotsu et al., 2009).

Embora extremamente raro, o carcinoma da bexiga pode surgir em crianças e jovens adultos, onde geralmente se apresenta como de baixo grau, não-invasivo (Linn, 1998).

Geograficamente, há uma grande variação na incidência do cancro da bexiga urotelial. A Europa Ocidental, Norte de África e a América do Norte têm a maior incidência (Pelucchi et al., 2006), como se pode observar na figura 1.

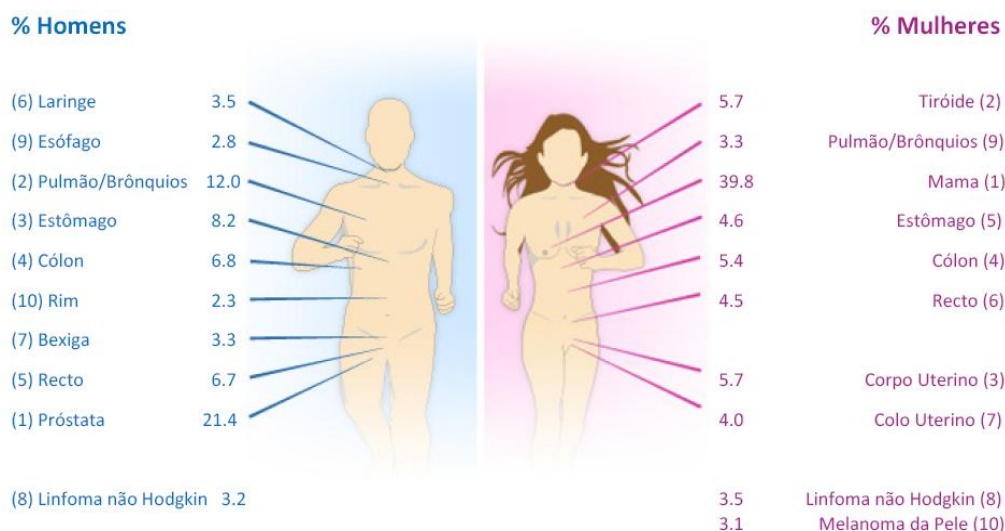


Figura 1 Tumores mais frequentes no sexo masculino e feminino em 2010 (adaptado de (Registo Oncológico Regional do Norte, 2010).

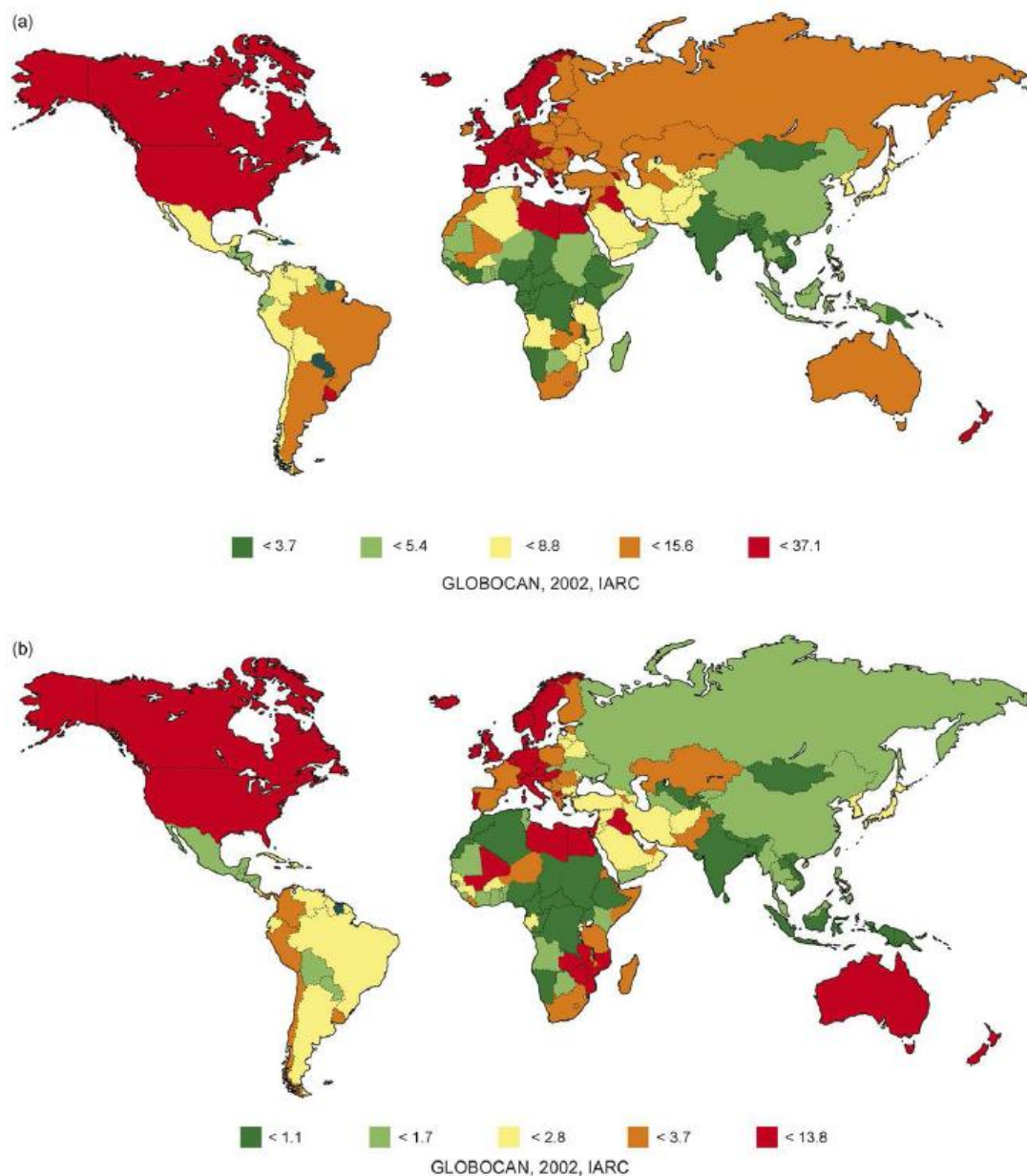


Figura 2 Taxas de incidência mundiais de carcinoma da bexiga standarizadas pela idade (por 100 000 indivíduos): a) sexo masculino, b) sexo feminino. (adaptado de (Ferlay et al., 2002)).

De 1985 a 2005, verificou-se um aumento no número de casos de cancro de bexiga, de mais de 50% nos Estados Unidos, enquanto que no período entre 1975-1996, a taxa de sobrevivência para aqueles com diagnóstico de carcinoma da bexiga aumentou de 75 para 81% (Jemal et al., 2005, Jemal et al., 2010).

Mesmo dentro dos Estados Unidos existem diferenças regionais substanciais na incidência deste cancro, verificando-se uma incidência no Nordeste e no Havai; pelo contrário no Utah, a incidência é menos de metade (Jemal et al., 2010). Estas diferenças são ligeiramente atenuadas após o controle do tabagismo (Michaud et al., 2001).

Os homens egípcios têm a taxa mais alta de mortalidade (16.3 per 100.000), que é duas vezes superior à taxa mais elevada na Europa (8.3 em Espanha e 8.0 na Polónia) e mais de 4 vezes superior à taxa mais elevada nos Estados Unidos (Ferlay et al., 2010). Os países da Melanésia e Centro de África têm as taxas mais baixas relatadas (Parkin, 2006).

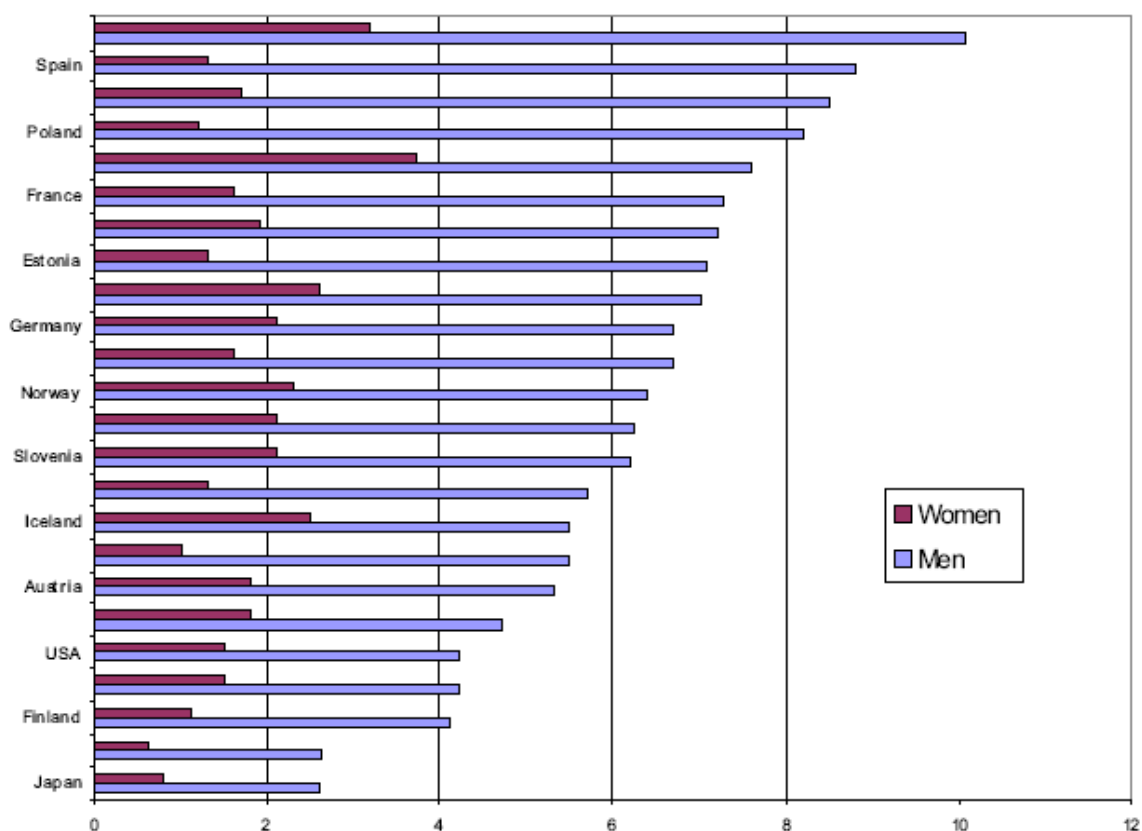


Gráfico 1 Taxas de mortalidade mundiais de carcinoma da bexiga (100 000/ano) (adaptado de (Ferlay et al., 2000)).

Existem variações étnicas e raciais na incidência de cancro. Nos Estados Unidos, os homens de raça caucasiana apresentam maior risco, cerca de duas vezes superior à incidência observada em homens afro-americanos e hispânicos (Howe et al., 2006).

Estas diferenças raciais e étnicas podem explicar-se pelas variações nos fenótipos acetiladores entre grupos raciais/étnicos diferentes e nas diferenças ocupacionais entre minorias, o que influencia a exposição a carcinogénios industriais (Schulz e Loomis, 2000).

Em regiões desenvolvidas, como a América do Norte e a Europa Ocidental, o tipo de carcinoma que predomina é o urotelial, onde responde por cerca de 90% dos carcinomas da bexiga (Jemal et al., 2005, Jemal et al., 2010).

Em outras regiões do Mundo, como o Médio Oriente, o tipo não urotelial é o mais frequente, devido em grande parte à prevalência do parasita *Shistosoma haematobium* (Parkin, 2002). A maioria dos carcinomas de bexiga associados a shistosomiose, histologicamente são carcinoma de células escamosas, enquanto aqueles associados ao tabagismo são carcinomas de células de transição (Silverman et al., 1992).

Além das diferenças na incidência, sexo e raça também o estágio a que é diagnosticado o cancro e o prognóstico influencia a incidência. Apesar da incidência global de carcinoma da bexiga ser menor nas mulheres e afro-americanos, estes grupos apresentam tumores em estágio mais avançado em comparação com os homens de raça caucasiana (Scosyrev et al., 2009).

A idade em que se desenvolve o cancro é mais frequente em jovens fumadores, do que em aqueles que nunca fumaram (Hinotsu et al., 2009).

Desde 1988 que o registo de cancro é obrigatório em Portugal. Neste sentido, foram criados três Registos de Cancro Regionais: o RORENO, centralizado no Instituto Português de Oncologia de Francisco Gentil (IPOFG) no Porto, o RORCENTRO, centralizado no IPOFG de Coimbra e o RORSUL, centralizado no IPOFG de Lisboa. Existe ainda um quarto registo de cancro, que, sendo o mais antigo, situado em Vila Nova de Gaia, tem sido fonte de informação para o IARC (International Agency for Research on Cancer) na sua publicação “Cancer incidence in five continents” (Registo Oncológico, 2007, Registo Oncológico Regional do Norte, 2005).

Em 2002 registaram-se, em Portugal, 651 óbitos por cancro da bexiga, sendo, nesse ano, a 8ª causa de morte por doença oncológica. No sexo masculino, representou 3,7% do total de mortes por cancro e no sexo feminino 1,8% (Instituto Nacional de Estatística,

2003). No Norte do país são diagnosticados 631 novos casos de tumores da bexiga por ano (taxa de incidência bruta de 19,2), dos quais cerca de 22% são tratados no Instituto Português de Oncologia do Porto (IPOPFG-EPE) (Registo Oncológico Regional do Norte, 2005). Em 2007, foram admitidos e tratados neste Centro 170 novos casos de tumores da bexiga: 96 (56,5%) eram tumores uroteliais superficiais, 69 (40,6%) tumores uroteliais invasores e 5 (2,9%) eram tumores não uroteliais, de acordo com o estudo histológico. Do grupo de tumores uroteliais invasores 35 (50,7%) casos apresentavam metastização local ou à distância (Registo Oncológico, 2007). Estes dados demonstram que o carcinoma da bexiga é uma doença oncológica importante no quadro nosológico do país, fundamentalmente, no sexo masculino.

### **III. Fatores de risco**

A etiologia do carcinoma da bexiga não está completamente esclarecida. No entanto, os fatores de risco mais associados a este tipo de carcinoma são o tabagismo e a exposição ocupacional, embora, muitos casos surjam sem aparente exposição a carcinogéneos (Golijanin et al., 2006).

A idade é um fator de risco no desenvolvimento do carcinoma da bexiga, cuja ocorrência é maior em idosos. A média de idades no sexo masculino situa-se nos 72 anos enquanto para o sexo feminino encontra-se nos 74 anos (Horner et al., 2009).

#### *3.1 Tabagismo*

O tabagismo é um dos principais fatores de risco associados ao carcinoma da bexiga, sendo responsável por 30 a 50 % de todos os casos (Kirkali et al., 2005 ). O risco está relacionado com o número de cigarros consumidos, o tempo durante o qual o fumo é retido nos pulmões e a quantidade de fumo inalado (Augustine et al., 1998). Os fumadores apresentam um risco 2 a 4 vezes superior ao dos não-fumadores de desenvolverem a doença (Kirkali et al., 2005). Alguns estudos sugeriram que, neste

grupo de risco, os tumores vesicais tendem a ser maiores, multifocais e histopatologicamente mais agressivos (Thompson et al., 1987). Verificaram-se, de facto, diferenças no espectro mutacional entre os tumores de indivíduos não-fumadores e fumadores (Wallerand et al., 2005). O fumo de um cigarro é um aerossol que contém cerca de 1010 partículas / ml e 4800 compostos (Hoffmann e Hecht, 1990). Dos compostos potencialmente carcinogéneos presentes no fumo do tabaco podemos enumerar os óxidos de azoto, isopreno, buta-dieno, benzeno, estireno, formaldeído, acetaldeído, acroleína, furano, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), N-nitrosaminas, aminas aromáticas, e metais (Hoffmann et al., 2001 ). Um potencial mecanismo pelo qual as aminas induzem a carcinogénese consiste na formação de aductos de ADN que resultam em eventos mutagénicos (Risch et al., 1995, Yu et al., 1994, Castelao et al, 2001). Tal está associado aos polimorfismos dos genes que codificam as enzimas envolvidas no metabolismo das aminas, revelando este fenómeno uma interação genética e ambiental. As aminas são destoxificadas, por N-acetilação, através da enzima N-acetiltransferase (NAT2), o que diminui a formação de aductos (Wallerand et al., 2005, Risch et al., 1995). Por outro lado, a citocromo p4501A2 (CYP1A2) é outra enzima que retira grupos metilo às aminas aromáticas, aumentando a formação de aductos (Jung e Messing, 2000). Como estas enzimas são polimórficas, a metabolização das aminas ocorre de forma lenta ou rápida, consoante o fenótipo individual. Como tal, a variabilidade de expressão dos produtos génicos de indivíduos de uma mesma população traduz-se em diferentes taxas de metabolização enzimática, que parecem determinar um risco distinto de desenvolver carcinoma da bexiga (Jung e Messing, 2000, Kadlubar e Badawi, 1995).

Outro mecanismo possível também está relacionado com as enzimas do citocromo P450 que catalisam a adição de um átomo de oxigénio ao agente cancerígeno, aumentando a solubilidade dos carcinogéneos na água com a finalidade de os tornar facilmente excretáveis (Guengerich, 2001). Este processo metabólico detoxificante é auxiliado por enzimas de fase 2, que convertem o agente cancerígeno oxigenado numa forma altamente solúvel em água (Armstrong, 1997, Burchell et al, 1997, Duffel, 1997). Enquanto este processo é eficiente, o organismo estará protegido. No entanto, alguns dos intermediários formados pela interação das enzimas do citocromo P450 com os carcinogéneos são muito reativos, e geralmente possuem um centro eletrofílico. Tais

intermediários, ou metabolitos podem reagir com o DNA, resultando também na formação de aductos de DNA. Este processo, que converte uma substância cancerígena inerte numa forma que se liga ao DNA designa-se de ativação metabólica (Miller, 1994). O equilíbrio entre a ativação metabólica e a detoxificação varia entre indivíduos e é provável que afete o risco de cancro, porque a formação de aductos de DNA é essencial para o processo cancerígeno (Tang et al, 2001, Hecht, 1999).

### *3.2 Exposição Ocupacional*

A relação entre a atividade ocupacional e o aumento do risco de carcinoma da bexiga está também comprovada.

Certos químicos industriais tais como os corantes de anilina, têm sido relacionados com o carcinoma da bexiga (Vineis e Pirastu, 1997, Delclos e Lerner, 2008, Nilsson e Ullen, 2008). A exposição elevada a aminas aromáticas, como a 2-naftilamina, a 4-aminobifenil, o 4-4-diaminobifenil (benzidina), o 4-nitrobifenilo, o 2-amino-1-naftol, demonstrou ser carcinogénica para este tumor (Morrison e Cole, 1976)). Estas aminas são ativadas e detoxificadas pelo mesmo mecanismo de metabolização das aminas presentes no fumo do tabaco, o que sugere que a suscetibilidade de desenvolver carcinoma da bexiga dependa dos perfis de expressão das enzimas envolvidas no metabolismo das aminas aromáticas (Jung e Messing, 2000, Carreon et al., 2006, Carreon et al., 2006). Outros químicos com elevado potencial carcinogénico incluem os gases de combustão e os hidrocarbonetos alifáticos, possivelmente aldeídos como a acroleína, utilizada em tintas químicas e nas indústrias de borracha e têxtil (Cordon-Cardo, 2008).

Estima-se que a exposição constante e prolongada a estes químicos seja responsável por cerca de 20% dos casos de carcinoma da bexiga (Vineis e Simonato, 1991, Bosetti et al., 2005).

Também os nitritos e os nitratos decompostos pela flora bacteriana intestinal (Matsumoto et al., 2005, Parkes, 1975) e alguns constituintes de medicamentos naturais como o ácido aristolóquico estão incluídos neste grupo (Nortier et al., 2009). As

profissões associadas a um elevado risco de desenvolvimento do carcinoma da bexiga são os trabalhadores das tinturarias, fundições e fábricas de peles, indústria automóvel e metalúrgica, condutores de camiões, fabricantes de papel e borracha, técnicos de próteses dentárias, cabeleireiros, e engenheiros navais. Na maior parte dos casos, a doença só ocorre 30 a 50 anos após a exposição (Golijanin et al., 2006).

### *3.3 Infecções e irritações crónicas da Bexiga*

O parasita *Shistosoma haematobium* endémico em países como o Egito é um agente causador de carcinoma da bexiga. O tipo histológico mais comumente associado a este parasita é o carcinoma de células escamosas. Os mecanismos da carcinogénese envolvem provavelmente a formação de nitrito e compostos N-nitrosos na bexiga, devido ao metabolismo parasitário de constituintes urinários (Trickler et al., 1989, Jung e Messing, 2000). Pensa-se que a inflamação desenrola um papel importante na carcinogénese da neoplasia da bexiga associada a este parasita (Golijanin et al., 2006).

As infeções do trato urinário, as irritações crónicas pelo uso de cateteres e a presença de cálculos renais na bexiga, estão também associadas a um elevado risco de carcinoma da bexiga, nomeadamente carcinoma de células escamosas (Mostafa et al., 1999, Shokeir, 2004). Em pacientes paraplégicos com cateteres a longo prazo, 2 a 10% desenvolvem este carcinoma, sendo que 80% é de células escamosas.

A exposição ao vírus Papiloma Humano (HPV) no Carcinoma da Bexiga também tem sido estudado. Griffiths e Mellon (2000) concluíram que o vírus era mais suscetível de desempenhar um papel na tumorigénese de células de transição em hospedeiros imunocomprometidos.

### *3.4 Radiações e outras terapias*

As pacientes do sexo feminino com carcinoma do colo uterino ou ovário, tratadas com radioterapia, apresentam um risco 2 a 4 vezes maior de desenvolver

carcinoma de bexiga em comparação com as mulheres apenas submetidas a cirurgia (Kaldor et al., 1995). A incidência aumenta ainda mais se simultaneamente for feita quimioterapia.

Estes tumores são frequentemente de alto grau e encontram-se metastizados no momento do diagnóstico (Kaldor et al., 1995).

Existem cada vez mais evidências que demonstram que homens que foram submetidos a radiação externa para o tratamento do carcinoma da próstata, são um grupo de elevado risco para carcinoma da bexiga (Sandhu et al., 2006).

O tumor tende a surgir 5 a 10 anos após a radiação, e no momento de diagnóstico, é geralmente de alto grau (Shah et al., 2006, Quilty e Kerr, 1987). Os pacientes tratados com ciclofosfamida, têm até 9 vezes aumentado o risco de desenvolver a doença, pressupõe-se que devido à exposição ao seu metabolito urinário, a acroleína, possivelmente a indutora tumoral, embora a relação específica ainda não tenha sido formalmente demonstrada em estudos epidemiológicos (Cohen et al., 1992, Morrisson, 1984). A maioria dos tumores desenvolvidos é de alto grau e ocorrem 6-13 anos após o tratamento, apresentando uma incidência igual em ambos os sexos (Vlaovic e Jewett, 1999).

Os indivíduos submetidos a transplantes renais e indivíduos com quantidades crônicas baixas de líquidos são também um grupo de elevado risco (Buzzeo et al., 1997, Michaud et al., 1999).

### *3.5 Fatores hereditários*

Não existem fortes evidências epidemiológicas de causas hereditárias na maioria dos carcinomas da bexiga (Klemeney e Schoenberg, 1996).

As evidências mais convincentes vêm do trabalho de Klemeney e Schoenberg (1996) que estudaram os registros de mais de 12.000 parentes de 190 pacientes diagnosticados com carcinoma de células transicionais na Islândia entre 1983 e 1992, descobrindo que,

apesar do risco de desenvolvimento do carcinoma de células transicionais ser ligeiramente elevado entre familiares, esta relação foi maior entre os segundos e terceiros parentes do que os de primeiro grau. Estes dados argumentam a favor de uma possível predisposição genética do CUB (Kiemeney e Schoenberg, 1996).

Outras exposições têm sido associadas a um elevado risco de desenvolvimento deste carcinoma. Uma taxa significativamente alta da doença foi detetada no nordeste de Taiwan, onde a população está exposta a níveis elevados de arsénio (Chiou et al., 2001).

Também na população que ingeriu um suplemento de ervas chinesas para a redução de peso corporal, em que se detetou um erro na preparação (a erva *Stephania tetandra* foi acidentalmente substituída por *Aristolochia fanchi* que é carcinogénica) apresenta um elevado risco de carcinoma da bexiga (Nortier et al., 2000).

O aumento da ingestão de líquidos pode estar associado a um menor risco da doença no sexo masculino; tem sido proposta uma modificação na dieta dos pacientes com esta patologia, por aumentar a produção de urina diminuindo o tempo de contacto com o urotélio e diluir a sua concentração relativa (Leppert et al., 2006, Michaud et al., 1999). Um estudo que acompanhou 48000 homens, por um período de 10 anos demonstrou que a ingestão de líquidos está inversamente associada ao risco de carcinoma de bexiga. Os homens com o consumo mais elevado de fluidos (mais de 2531mL/dia) demonstraram ter aproximadamente metade do risco de desenvolver carcinoma de bexiga comparativamente aqueles que menos consumiram (1290mL/dia) (Michaud et al., 1999). No entanto são necessários mais estudos para esclarecer esta relação, antes de serem preconizadas recomendações definitivas da ingestão global ou específica de líquidos como uma potencial estratégia preventiva (Geoffroy-Perez e Cordier, 2001 ).

#### **IV. Sintomas e Diagnóstico**

#### 4.1 Sintomas

O sintoma mais comum de carcinoma da bexiga é a hematúria ocorrendo em 85% dos pacientes com esta patologia (Wakui e Shiigai T, 2000). Sintomas urinários irritativos, como a frequência urinária ou a disúria também podem ser indícios de apresentação da doença. Devido às infecções do trato urinário serem mais comuns em mulheres, a má interpretação de hematúria e de outros sintomas urinários irritativos pode resultar num diagnóstico tardio (Madeb e Messing, 2004, Johnson et al., 2008). No entanto qualquer um dos sintomas referidos podem estar presentes em muitas condições benignas, tais como infecções do trato urinário, cistite intersticial, nefrolitíase, e na hiperplasia benigna da próstata (Soloway et al., 2002, Sylvester et al., 2002, Jordan et al., 1987, Avritscher et al., 2006, Grossfeld et al, 2001). Esta situação pode resultar possivelmente num estágio mais avançado no momento do diagnóstico desta patologia (Madeb e Messing, 2004, Johnson et al., 2008). Os pacientes podem também apresentar dor no flanco ou outros sintomas relacionados com a localização do tumor na junção ureterovesical (Herr e Schneider, 2001).

#### 4.2 Diagnóstico

A cistoscopia convencional ou de luz branca permanece como o método mais sensível de detecção de carcinoma da bexiga e é considerado o exame padrão para a detecção da doença (Kirkali et al., 2005). Este método consiste na visão interior da bexiga através da uretra e é realizado sob sedação ou anestesia local tópica, sendo geralmente bem tolerado (Herr e Schneider, 2001). Uma desvantagem da cistoscopia convencional é a dificuldade em detetar lesões planas, tais como carcinoma *in situ* (CIS), o que pode levar à ressecção incompleta do tumor e a maiores taxas de recidiva (Denzinger et al., 2007). Outras desvantagens incluem ser um procedimento invasivo, dispendioso e com risco de infecção do trato urinário. Além disso, a precisão desta técnica é menor nos pacientes com episódios agudos de hematúria, pois a formação de coágulos sanguíneos no interior da bexiga pode dificultar a correta avaliação das paredes da bexiga (Berlac e Holm, 1992).

Atualmente, os testes não-invasivos utilizados na prática clínica ou em fase de avaliação como testes de triagem para carcinoma da bexiga incluem: a citologia urinária, o antígeno tumoral da bexiga (BTA), o teste da proteína de matriz nuclear (NMP), o ensaio do produto da degradação da fibrina, o ácido hialurônico e a hialuronidase urinária. (Svatek, et al., 2008).

Relativamente aos exames imagiológicos, a ultra-sonografia convencional é a técnica mais utilizada para a detecção do carcinoma da bexiga devido à sua disponibilidade, baixo custo, e ao facto de ser não invasiva (Berlac e Holm, 1992). O diagnóstico por esta técnica baseia-se especialmente na detecção do espessamento focal da parede da bexiga ou da presença de massas focais salientes no lúmen deste órgão (Dibb et al., 2001). No entanto, a sua precisão na detecção de lesões é variável dependendo de vários fatores tais como o equipamento utilizado, a morfologia, tamanho e distensão da bexiga e a localização das lesões (Berlac e Holm, 1992, Vallancien et al., 1986, Kocakoc et al., 2008). As novas ferramentas da ultrassonografia, tais como o desenvolvimento de 3D e a ultrassonografia virtual são técnicas promissoras que podem aumentar a confiança na obtenção de um diagnóstico durante a avaliação da bexiga por ultra-sonografia convencional (Kocakoc et al., 2008, Lopes et al., 2008, Mitterberger et al., 2007).

Outras técnicas de imagem, como a tomografia computadorizada (TC) e a ressonância magnética (RM) podem também ser usadas para detetar a doença (Song et al., 2001, Beer et al., 2004, Tsampoulas et al., 2008, Sadow et al., 2008, Abou-El-Ghar et al., 2009, Wang et al., 2009). O tecido canceroso, encontra-se normalmente associado à proliferação de neovasos cuja presença pode ser detetada através destas técnicas após a administração de agentes de contraste intravasculares, com elevada precisão (Park et al., 2007, Jinzaki et al., 2007, Tuncbilek et al., 2009). No entanto, a TC e a RM estão normalmente reservados para avaliação da extensão extravesical e do estadiamento tumoral (Barentsz et al., 1996, Kim et al., 2004).

A neovascularização tumoral também pode ser estudada com recurso à ultra-sonografia com agentes de contraste, com as vantagens de ser mais rápido, de se obterem resultados em tempo real, a ausência de radiação e a possibilidade de administrar o agente de contraste em pacientes com insuficiência renal (Cosgrove, 2006, Nicolau e Bru, 2004, Lencioni et al., 2007, D'Onofrio et al., 2010).

A ressonância magnética (RM) tem sido uma técnica confiável e utilizada em pacientes com insuficiência renal e também na determinação do estadiamento do carcinoma da bexiga invasivo (Grobner, 2006, Chrysochou et al., 2010, Saksena et al., 2006 ).

A ressonância magnética com contraste de gadolínio possui uma precisão de 85% na diferenciação da doença não invasiva versus invasiva e de 82% de precisão na diferenciação da doença confinada ao órgão versus não confinada ao órgão (Tekes et al., 2005).

A cistoscopia virtual é outra técnica imagiológica que pode ser útil no estadiamento no carcinoma da bexiga. Envolve modelos de geração 3D e a representação da bexiga urinária baseia-se na ressonância magnética volumétrica ou através de imagens obtidas através da tomografia computadorizada. Esta técnica permite a visualização precisa das relações espaciais entre as regiões onde reside a doença e o tecido normal adjacente (Saksena et al., 2006). As vantagens da cistoscopia virtual incluem invasão mínima, permitem a avaliação do orifício uretral do ponto de vista craniano, a visualização da mucosa dentro do divertículo, e a sua utilização em pacientes com estenose uretral. (Arslan et al., 2006, Kagadis, et al., 2006). As desvantagens incluem o custo, a incapacidade de obter tecido canceroso, a baixa sensibilidade para lesões planas, tais como Carcinoma *in situ*, e a exposição aumentada à radiação (Saksena et al., 2006, Panebianco et al., 2009 ).

Tanto a cistoscopia convencional como a ressonância magnética falham na detecção da doença metastática precoce, particularmente nos gânglios linfáticos com tamanho normal (Saksena et al., 2006). Além disso, os nódulos reativos podem mimetizar a doença metastática nodal, e, portanto, é necessária maior precisão imagiológica dos nódulos linfáticos (Saksena et al., 2006).

A tomografia de emissão de positrões (PET) juntamente com a molécula análoga à glicose, a 18-FDG, é uma técnica não-invasiva já utilizada em várias neoplasias ( Saksena et al., 2006). Em Urologia, a tomografia de emissão de positrões tem-se desenvolvido lentamente devido à excreção urinária de marcadores utilizados nesta técnica e à absorção variável dos mesmos em alguns tumores urológicos (Bouchelouche e Oehr, 2008).

## **V. Carcinoma urotelial da bexiga**

A bexiga é um órgão oco, que se encontra localizada na cavidade pélvica, logo atrás da sínfise púbica, e que funciona como reservatório de urina (Seeley et al., 2001, Algaba e Trias, 2000).

A área triangular da parede vesical, delimitada posteriormente pela inserção dos ureteres e anteriormente pela uretra, designa-se por trígono. Esta região difere histologicamente da restante parede vesical e não se expande quando a bexiga enche (Seeley et al., 2001). A base morfofuncional é o músculo vesical (muscular própria), impermeabilizado pelas células epiteliais; externamente este órgão é revestido por tecido adiposo (pericisto). A mucosa da bexiga é revestida por epitélio de transição poliestratificado que se denomina urotélio. As células do estrato superficial são conhecidas por células em guarda-chuva (Algaba e Trias, 2000, Young e Heath, 2000, Junqueira e Carneiro, 2004 ).

Crê-se que o primeiro passo da transformação maligna da bexiga é intraepitelial (Algaba e Trias, 2000). O cancro da bexiga é a neoplasia maligna mais comum do aparelho urinário. O carcinoma urotelial da bexiga representa mais de 90% dos casos, seguido do carcinoma espinocelular e adenocarcinoma com 3% e 2 % respetivamente (Jemal et al., 2010).

O processo de cancerização do urotélio envolve alterações genéticas que promovem a ativação de oncogenes e/ou a inativação de genes supressores. As células cancerosas revelam falta de diferenciação e podem tornar-se independentes do controlo celular normal (Lianes, 2000)

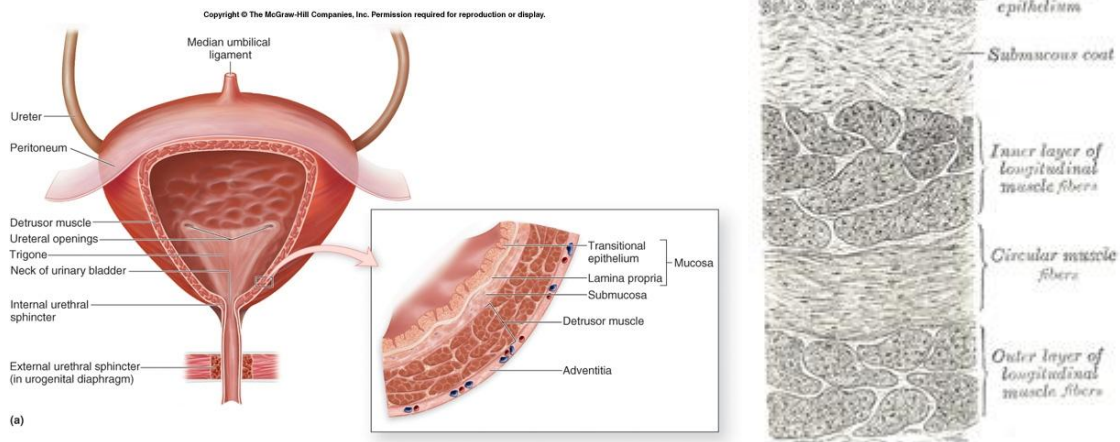


Figura 3 Morfologia da bexiga (adaptada de (Schorge et al. 2008)),

Figura 4 Histologia da bexiga (adaptada de (Gray, 1988)).

## VI. Classificação Histológica dos Carcinomas da Bexiga

O carcinoma da bexiga engloba diferentes entidades histopatológicas correspondendo o carcinoma urotelial a cerca de 90% dos casos. Cerca de 5% são carcinomas espinocelulares, 1 a 2% adenocarcinomas e menos de 1% são carcinomas indiferenciados (Johansson e Coihen, 1997, Redman et al., 2005).

Aproximadamente 80% dos CUB primários são de baixo grau ou superficiais pois a lesão está confinada à mucosa ou lâmina própria. Apesar da sua natureza relativamente indolente cerca de 70% irão recidivar e 10 a 20 % tornar-se-ão invasores isto é, a lesão invade a camada muscular (Lopez-Beltran, 2007). Os tipos morfológicos destas neoplasias correspondem a lesões planas ou papilares. As neoplasias papilares são constituídas por projeções do epitélio urotelial em torno de um eixo estromal fibrovascular. Quando a arquitetura do tumor não é papilar a lesão é plana e denomina-se carcinoma *in situ* (Algaba e Trias, 2000). Este carcinoma é considerado o principal precursor do carcinoma invasor, com um comportamento biológico muito agressivo desde o início da sua história natural, ao contrário do carcinoma *in situ* de outros órgãos (Monteiro e Monteiro, 2002). Estes dois tipos de morfologia podem surgir em conjunto denominando-se tumores de morfologia concomitantes (mistos).

Quando a lesão infiltra a camada muscular, é considerado invasor e as lesões geralmente são de alto grau sendo este grupo como já foi dito, o responsável pela maior parte das mortes por cancro da bexiga (Epstein et al., 1998, Lee e Droller, 2000).

De modo a avaliar o grau de diferenciação e o estadiamento do tumor foram propostos, ao longo do tempo, alguns sistemas de classificação.

A última classificação surgiu em 2004 após uma revisão consensual das classificações existentes entre a Organização Mundial de Saúde e a sociedade internacional de patologistas urológicos (Jacobs, 2010).

O quadro seguinte lista a classificação dos tumores da bexiga (tabela 1):

Tumor primário (T)	
Tx	Tumor primário não acessível
T0	Não há evidência de tumor primário
Ta	Tumor papilar não-invasivo
Tis	Carcinoma "in situ": tumor plano
T1	Tumor invade tecido conjuntivo sub-epitelial
T2	Tumor invade camada muscular
pT2a	Tumor invade músculo superficial (metade interna)
pT2b	Tumor invade músculo profundo (metade externa)
T3	Tumor invade tecido perivesical (pericisto)
pT3a	Microscopicamente
pT3b	Macroscopicamente
T4	Tumor invade qualquer dos seguintes órgãos: próstata, útero, vagina, parede pélvica, parede abdominal
T4a	Tumor invade próstata, útero, vagina
T4b	Tumor invade parede pélvica, parede abdominal

Nódulos linfáticos regionais (N)	
Nx	Nódulos linfáticos regionais não acessíveis
N0	Não há envolvimento de nódulos linfáticos regionais
N1	Metástases num único nódulo linfático, ≤ 2 cm na maior dimensão
N2	Metástases num único nódulo linfático, > 2 cm mas ≤ 5 cm na maior dimensão; ou nódulos linfáticos múltiplos, nenhum > 5 cm na maior dimensão
N3	Metástases num nódulo linfático, > 5 cm na maior dimensão

Metástases à distância (M)	
Mx	Metástases à distância não acessíveis
M0	Não há metástases à distância
M1	Metástases à distância

Classificação conjunta (TNM)			
0a	Ta	N0	M0
0is	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2a	N0	M0
	T2b	N0	M0
III	T3a	N0	M0
	T3b	N0	M0
	T4a	N0	M1
IV	T4b	N0	M0
	Qualquer T	N1-N3	M0
	Qualquer T	Qualquer N	M1

O diagrama ilustra a progressão do tumor da bexiga através das camadas da parede da bexiga e a presença de metástases. As camadas mostradas são: Urotélio, Lâmina própria, Camada muscular, Pericisto e Estruturas adjacentes. Metástases são mostradas em nódulos linfáticos e em outros órgãos distantes.

Tabela 1 Classificação do carcinoma da bexiga através do sistema TNM (Tumor, nódulo, metástase) (tabela adaptada de (Greene et al., 2002))

## VII. Tratamento

Diferentes abordagens terapêuticas estão disponíveis para os pacientes com carcinoma da bexiga. Os principais tipos de tratamento baseiam-se na cirurgia, quimioterapia, radioterapia e imunoterapia. A escolha do tratamento depende do estágio do tumor, podendo ser administrados isoladamente ou em combinação (The American Cancer Society, 2011).

### *7.1 Ressecção Transuretral (RTU)*

A RTU do tumor da bexiga, é o procedimento mais comum para o tratamento de carcinomas uroteliais superficiais papilares (estádios Ta e T1) de baixo grau de malignidade, que são facilmente tratados por esta técnica cirúrgica (Redman et al., 2005, Spiess et al., 2006). A RTU é uma cirurgia endoscópica que se baseia na remoção parcial ou total do tumor, através de um instrumento designado de cistoscópio rígido, o ressectoscópio que é introduzido na bexiga através da uretra (The American Cancer Society, 2011, Babjuk et al., 2011).

É um método cirúrgico bem tolerado, cuja morbidade é mínima e que preserva a funcionalidade do órgão (Redman et al., 2005, Spiess et al., 2006).

Nas horas subsequentes à RTU deve ser aplicada uma instilação quimioterápica intravesical única, sendo que as estratégias terapêuticas subsequentes são definidas de acordo com o estágio e grau do tumor (Babjuk et al., 2011).

No entanto, aproximadamente 70% dos pacientes com carcinomas superficiais, desenvolvem recorrência; de entre estes, 10-20% evoluem para doença invasiva (Cookson, 1997).

No caso de risco intermédio de recidiva os pacientes devem ser sujeitos a quimioterapia contínua intravesical de manutenção (com mitocina C ou epirrubicina), enquanto para os pacientes que apresentem um elevado risco de recidiva (lesões Ta, e T1 de grau elevado, CIS e recidivas frequentes) está preconizada a imunoterapia intravesical com

bacillus Calmette-Guérin (BCG) (Pinto e Martins da Silva, 2007, Jacobs et al., 2010 e Babjuk et al., 2011).

Deve ser considerada a cistectomia, no caso de tumores de alto grau, Tis ou T1, em que a terapia com o bacilo de Calmette-Guerin (BCG) falha, devido ao elevado risco de progressão (Stimson et al., 2010).

## 7.2 Cistectomia

Se o tumor é músculo-invasivo, geralmente adota-se uma abordagem mais agressiva, nomeadamente a cistectomia radical com desvio urinário. Técnicas reconstrutivas como conduto íleal, bolsa cateterizável e a neo-bexiga eliminam a necessidade de dispositivos de drenagem externos em alguns pacientes masculinos e proporcionam uma melhor qualidade de vida aos pacientes que realizam uma cistectomia radical. A reconstrução urinária depende das características do tumor da bexiga e da opção do paciente (Raghavan et al., 1990). A idade já não é um fator limitante de cirurgia, apesar de ter sido demonstrado que a morbilidade pós-operatória aumenta com a idade (Stimson, 2010).

A cistectomia radical consiste na remoção total da bexiga, nos órgãos adjacentes, e nos nódulos linfáticos regionais. Nos homens, efetua-se adicionalmente a remoção da próstata e das vesículas seminais; nas mulheres processa-se a remoção do útero, cérvix, ovários e vagina anterior (Stein et al., 2003, Herr et al., 2004, Raghavan et al., 1990).

Mesmo com o tratamento cirúrgico adequado, cerca de 50% dos pacientes com doença músculo-invasiva, apresentam recidiva e acabam por falecer. A maioria dos pacientes que desenvolvem recorrência após a cistectomia apresentam metástases à distância e 30% dos pacientes apresentam metástases locais (Frank et al., 2003). O risco de recorrência e morte relacionada com o carcinoma da bexiga aumenta significativamente com o aumento do grau do tumor, o *status* nodal, a qualidade e a extensão de cirurgia realizada e o estágio patológico avançado final (Shariat, 2006).

No entanto, se o tumor invadiu a camada muscular da bexiga mas apenas num único local e em pequena extensão, é possível haver apenas remoção parcial de este órgão isto é cistectomia parcial.

Também se removem os gânglios linfáticos para serem examinados e avaliar a disseminação da neoplasia. A principal vantagem desta cirurgia é que permite a manutenção da própria bexiga e não requer cirurgia reconstrutiva (The American Cancer Society, 2011).

### *7.3 Radioterapia*

A radioterapia utiliza radiações de alta energia para eliminar as células cancerosas. A radioterapia externa, ou seja em que a fonte de radiação localiza-se fora do corpo e incide sobre o cancro, é o tipo de radiação mais usada para o tratamento do carcinoma da bexiga (The American Cancer Society, 2011).

Este procedimento pode ser utilizado:

- como parte do tratamento para estádios iniciais de carcinoma da bexiga, após cirurgia;
- como parte do tratamento inicial para carcinoma da bexiga em estádios avançados;
- para prevenir ou tratar os sintomas causados pelo carcinoma da bexiga em estádios avançados (The American Cancer Society, 2011).

Este tipo de tratamento só pode ser considerado como opção terapêutica, quando o paciente não está apto para realizar a cistectomia ou como parte da abordagem multimodal de preservação da bexiga (Shelley et al., 2002).

A radioterapia é frequentemente associada à quimioterapia para a tornar mais eficaz.

Nas situações em que o tumor se encontra no estágio T4 é frequente utilizar a quimioterapia e/ou a radioterapia sistémica (Babjuk et al., 2011).

Após a RTU, esta combinação é por vezes capaz de destruir completamente tumores de pequenas dimensões, que de outra forma necessitariam de ser tratados com cistectomia (The American Cancer Society, 2011).

Existem fatores prognósticos importantes que influenciam os resultados da radioterapia: o tamanho do tumor; a hidronefrose; a integridade da RTU inicial (Tonoli et al., 2006). Os efeitos colaterais da radioterapia dependem da dose administrada e da área a ser tratada. Tendem a agravar se a radioterapia é concomitante à quimioterapia.

Os efeitos mais frequentes incluem vermelhidão, náuseas, vômitos, dor e frequência urinária, diarreia e fadiga (The American Cancer Society, 2011).

A radioterapia também pode ser utilizada como tratamento paliativo para reduzir os sintomas tais como dor ou hemorragia (Duchesne et al., 2000).

#### *7.4 Imunoterapia intravesical*

##### **i. O Bacillus de Calmette-Guerin (BCG)**

O BCG, uma subestirpe atenuada de *Mycobacterium bovis*, constitui a terapêutica intravesical mais comum utilizada no tratamento de carcinomas uroteliais não invasores. A terapêutica por BCG induz uma resposta imunitária local caracterizada pelo influxo e infiltração massiva de células inflamatórias (nomeadamente neutrófilos e macrófagos) para a mucosa e lúmen da bexiga, o que resulta no desenvolvimento de uma resposta celular abundante e na produção de várias citocinas (Lockyer e Gillatt, 2001, Kresowik e Griffith, 2009).

Apesar do mecanismo de ação da imunoterapia intravesical com BCG ainda não estar completamente esclarecido sabe-se que as alterações fenotípicas das células tumorais provocadas pela internalização do BCG incluem a paragem do ciclo celular e a indução da apoptose e necrose, originando diretamente danos citostáticos e citotóxicos nas células tumorais de bexiga (Bever et al., 2004, Chen et al., 2009 e See et al., 2009).

Devido ao facto do BCG reduzir o risco de recidiva de carcinoma da bexiga superficial e a progressão para carcinoma invasivo, é atualmente considerada a terapia padrão.

A quimioterapia intravesical é o tratamento de segunda linha para pacientes em que a terapia com BCG falha (Giannakopoulos et al., 1998).

## **ii. Interferão**

O Interferão alfa é um tipo de modificador de resposta biológica, ou seja uma substância que pode aumentar a resposta natural do corpo à doença. Verificou-se que retarda a taxa de crescimento e a divisão das células cancerosas, provocando a sua morte.

Um ensaio clínico comparou três diferentes doses de interferão alfa e sem tratamento, após ressecção transuretral (RTU), em pacientes com carcinoma superficial da bexiga. Os pacientes que não receberam outro tratamento a não ser RTU, experienciaram uma taxa de recorrência de 65%. Os pacientes tratados com interferão alfa demonstraram taxas de recorrência de 22-36%, o que se traduz numa menor propensão para desenvolverem carcinomas recorrentes. A menor taxa de recorrência foi observada com a maior dose de interferão alfa. Não foram observados efeitos secundários significativos a qualquer nível das doses testadas.

Estes resultados sugerem que o interferão alfa é uma terapia anticâncer ativa que pode ser útil para a prevenção de carcinomas superficiais da bexiga.

São necessários estudos que comparem o interferão alfa diretamente com o BCG, com o objetivo de avaliar se é mais ou menos eficaz na prevenção de carcinoma superficial ou na progressão para carcinoma invasivo da bexiga (Giannakopoulos et al., 1998).

### *7.5 Quimioterapia Intravesical*

Neste tipo de tratamento, os fármacos quimioterápicos são colocados diretamente na bexiga através de um cateter, com o objetivo de eliminar ativamente as células cancerosas. Muitos destes fármacos podem ser administrados sistemicamente (via oral ou venosa) para o tratamento do carcinoma da bexiga em estádios mais avançados. Os fármacos mais utilizados para a quimioterapia intravesical são a mitomicina e a

tiotepa. Outros fármacos administrados intravesicalmente incluem a valrubicina, a doxorubicina, e a gemcitabina (The American Cancer Society, 2011).

A utilização de mitomicina na bexiga, juntamente com o aquecimento do interior da bexiga (terapia eletromotriz), revelou-se mais eficaz relativamente à terapêutica sem o aquecimento.

Uma das principais vantagens da via intravesical, relativamente à via intravenosa é que os fármacos geralmente não atingem outras partes do corpo, permitindo-lhes evitar muitos dos efeitos colaterais indesejados que podem ocorrer com a quimioterapia sistémica. A tiotepa apresenta-se como exceção, pois raramente é absorvida a partir da bexiga e pode causar efeitos secundários no resto do corpo.

Os principais efeitos colaterais da quimioterapia intravesical são irritação e sensação de calor na bexiga (The American Cancer Society, 2011).

#### *7.6 Quimioterapia sistémica para o CUB*

A cisplatina foi introduzida em ensaios clínicos no início de 1970, e demonstrou ter atividade antitumoral significativa contra o carcinoma testicular, linfoma, carcinoma de células escamosas da cabeça e do pescoço, carcinoma do ovário e carcinoma da bexiga (Higby et al., 1973, Lippman et al., 1973, Higby et al., 1974). Devido à sua ação terapêutica sobre estes e outros tumores sólidos, tornou-se o agente antitumoral mais utilizado.

O CUB é altamente sensível à quimioterapia baseada na cisplatina, no entanto, a sobrevivência média do paciente é de apenas 15 meses. Vários agentes quimioterápicos além da cisplatina como o metotrexato, adriamicina, ifosfamida, docetaxel, gemcitabina demonstram atividade como agentes únicos em terapia de primeira linha ou na terapia subsequente de carcinoma da bexiga metastático, mas apresentam taxas globais de resposta (TGR) baixas e respostas de curta duração (Meyers et al., 1985, Oliver et al., 1984, Soloway et al., 1983, Lorusso et al., 1998, McCaffrey et al., 1997, Pronzato et al., 1997). Estes fatores levaram ao desenvolvimento de regimes baseados na combinação com a cisplatina.

Os regimes quimioterapêuticos baseados na combinação com a cisplatina como M-VAC (metotrexato, vinblastina, doxorubicina (adriamicina ®), cisplatina), M-VAC dose densa (DD) ou GC (gencitabina e cisplatina) são considerados os regimes padrão de primeira linha, para pacientes com carcinoma urotelial invasivo (Sternberg et al., 2006, Von Der Maase et al., 2005, Saxman et al., 1997, Bellmunt et al., 2009).

Estas combinações são igualmente eficazes, no entanto GC é menos tóxica. As taxa de resposta global com estes regimes varia de 50 a 70%, com respostas completas em 15 a 20% dos casos [(Sternberg et al., 1989, Von Der Maase et al., 2005)

Em pacientes com doença pT3-4 e / ou N +M0, a sobrevida após 5 anos, posteriormente à cistectomia radical na melhor das hipóteses é de 25 a 35% (Herr et al., 2007)

A terapêutica ótima para o carcinoma invasor da bexiga visa evitar a recorrência local, diminuir a probabilidade de metástases e melhorar a sobrevida do paciente. Evidências atuais mostram que estes objetivos são melhores alcançados pela quimioterapia baseada em combinações com a cisplatina e com a cirurgia. O MVAC tornou-se o primeiro regime de quimioterapia de sucesso usado no carcinoma da bexiga metastático, após a sua introdução em 1985 (Sternberg et al., 1985). Foram obtidos em cerca de 72% dos pacientes uma proporção global de resposta, incluindo respostas completas em 36%. Como o MVAC também produziu respostas significativas do tumor primário, o regime foi administrado a pacientes antes da cistectomia como quimioterapia neo-adjuvante e depois, como quimioterapia adjuvante para carcinoma invasor da bexiga (Schultz, 1994). No entanto, a recorrência do tumor ocorre em cerca de 50% dos pacientes (Grossman et al., 2003).

Na doença metastática, apesar das taxas iniciais de resposta situarem-se entre os 40-70%, a quimioterapia geralmente não erradica o tumor e a sobrevida global (OS) após 5 anos de tratamento é 5-20% abaixo do ideal (Bellmunt et al., 2007a).

Em pacientes com carcinoma urotelial avançado ou metastático, a combinação da cisplatina com a gemcitabina tem proporções de resposta comparável com o MVAC assim como sobrevida global a longo prazo semelhante, no entanto, apresenta uma redução acentuada na toxicidade (Von Der Maase et al., 2005).

A adição de agentes a esta combinação não produz uma melhoria significativa nos resultados. A Organização Europeia para a pesquisa e tratamento do cancro (EORTC) revelou recentemente que um ensaio clínico randomizado não demonstrou uma sobrevivência global estatisticamente elevada com a adição de paclitaxel à combinação de gemcitabina com a cisplatina (Bellmunt et al., 2007a).

A atividade e viabilidade de MVAC dose densa, está a ser avaliada no contexto neoadjuvante no *Dana Farber Cancer Institute*. Também um estudo clínico do *Hellenic Oncology Research Group* está a avaliar como tratamento de primeira linha, a administração sequencial de DD-MVAC seguido por GC em pacientes com Carcinoma da Bexiga localmente avançado ou metastático (Beer et al., 2008).

A quimioterapia adjuvante não deve ser aplicada quando se verificam os seguintes fatores: *status* do doente fraco, complicações cirúrgicas frequentes, comorbilidades, sofrimento psicológico, função renal diminuída e idade avançada (Herr et al., 2007).

### 7.7 Alternativas aos regimes com cisplatina

Cerca de 50% dos pacientes não são considerados aptos para o tratamento quimioterapêutico com a cisplatina devido ao *status* pobre do doente ou a comorbilidades como foi referido anteriormente (De Santis et al., 2009).

Também a idade avançada e a disfunção renal, definida como a depuração da creatinina <60mL/minuto, são alguns dos fatores impeditivos da realização de quimioterapia com cisplatina. Os regimes de combinação baseados em carboplatina são alternativas viáveis nesses pacientes, no entanto aparentam ter uma eficácia inferior comparativamente aos regimes baseados em cisplatina (Bellmunt et al., 1997, Dogliotti et al., 2007, Petrolis et al., 1996). Os regimes com gemcitabina e taxanos sem platina também parecem ser alternativas razoáveis em pacientes com disfunção renal (Ardavanis et al., 2005, Dreicer et al., 2003, Meluch et al., 2001).

A Organização Europeia para a Pesquisa e Tratamento do Cancro, está a finalizar um estudo, o qual comparou a combinação de gemcitabina com a carboplatina com a

combinação entre a carboplatina, o metotrexato e a vimblastina, em pacientes que não estão aptos para a terapia com a cisplatina (Beer et al., 2008).

Study identifier	Phase	Study drug	Start date	Primary endpoint
NCT00461851	II	gemcitabine + carboplatin + sorafenib	April 2007	TTP
NCT01126749	I/II	eribulin + gemcitabine + cisplatin	May 2010	Safety
NCT00635726	II	methotrexate + vinblastine + doxorubicin + cisplatin followed by gemcitabine + cisplatin	March 2008	ORR
NCT00645593	II	gemcitabine + cisplatin ± cetuximab	March 2008	ORR
NCT00995488	II	nab-paclitaxel + gemcitabine + carboplatin	October 2009	Efficacy
NCT01118039	II	sunitinib (cisplatin ineligible patients)	May 2010	TTP and safety
NCT01191892	II	gemcitabine + carboplatin ± vandetanib	August 2009	PFS
NCT01089088	II	gemcitabine + cisplatin + sunitinib	March 2010	PFS
NCT01090466	I/II	gemcitabine + cisplatin + temsirolimus	March 2010	PFS and safety
NCT01215136	II	everolimus ± paclitaxel (cisplatin ineligible patients)	October 2010	ORR
NCT00949455	II/III	lapatinib maintenance in HER-2+ bladder cancer after first-line chemotherapy	July 2009	PFS
NCT00625664	III	larotaxel + cisplatin vs gemcitabine + cisplatin (CILAB)	February 2008	OS
NCT00942331	III	gemcitabine + cisplatin ± bevacizumab	July 2009	OS
NCT00022191	III	gemcitabine + cisplatin ± paclitaxel	August 2001	OS
NCT00089128	II	gemcitabine + irinotecan	August 2004	ORR
NCT00478361	II	gemcitabine + paclitaxel + doxorubicin with pegflgrastim	May 2007	ORR, TTP, and survival

**Abbreviations:** TTP, time to progression; ORR, objective response rate; OS, overall survival; PFS, progression-free survival.

Tabela 2 Estudos clínicos para a terapia de primeira linha no carcinoma da bexiga avançado e metastático (adaptado de (Vishnu et al., Mathew e Tan, 2011)).

### 7.8 Terapia de segunda linha

Os dados disponíveis sobre a quimioterapia de segunda linha são altamente variáveis e ainda não estão preconizados os fatores de prognóstico. Os presumíveis fatores de prognóstico incluem a escolha de quimioterapia de primeira linha (perioperativa/metastática), pré-quimiosensibilidade, duração de resposta ao tratamento de primeira linha, a presença de metástases viscerais, *status* do doente. (Bellmunt et al., 2010).

Atualmente não existe quimioterapia padrão de segunda linha definida. No entanto alguns fármacos citotóxicos têm-se revelado promissores nos mais recentes estudos clínicos.

A Vinflunina é um derivado fluorado semissintético da família da vinorelbina, proveniente do alcaloide de vinca, e atua como um agente citotóxico cujo alvo de toxicidade é a tubulina. Num ensaio de fase II, foram analisados 51 pacientes, com recorrência de CUB metastático, aos quais foram administrados a vinflunina. Desta amostra de pacientes, 67% alcançaram um controle sobre a doença e 18% relataram uma taxa de resposta objetiva (Culine et al., 2006).

Foi publicado recentemente um ensaio clínico de fase III randomizado que comparou a vinflunina combinada com os melhores cuidados de suporte (BSC) com a prestação isolada de BSC, em pacientes que já tinham efetuado quimioterapia combinada com platina, como tratamento de primeira linha para a doença metastática.

Os resultados mostraram uma taxa de resposta global de 8,6%, o que se traduz numa atividade modesta, um benefício clínico com um perfil de segurança favorável e principalmente um benefício na sobrevida a favor da vinflunina, que foi estatisticamente significativa na população de pacientes elegíveis.

Atualmente, a vinflunina é o único tratamento de segunda linha aprovado, sendo necessários mais ensaios clínicos para outros fármacos promissores (Bellmunt et al., 2009).

As taxas de resposta para fármacos de segunda linha como paclitaxel, docetaxel, oxaliplatina, ifosfamida, topotecano, lapatinib, gefitinib e bortezomib estão compreendidas entre 0-13% em pequenos ensaios clínicos de fase II (Vaughn et al., 2002, Papamichael et al., 1997, McCaffrey et al., 1997, Moore et al., 2003, Witte et al., 1998, Petrylak et al., 2003, Sridhar et al., 2005, Wulfing et al., 2005, Witte et al., 1997)

A gemcitabina tem demonstrado taxas de resposta excelentes como terapia de segunda linha apesar da maioria dos pacientes receber este fármaco como parte do seu tratamento de primeira linha( von der Maase, 2003, Pollera et al., 1994, Lorusso et al., 1998, Gebbia et al., 1999, Albers et al., 2002).

A combinação entre o Paclitaxel e a gemcitabina demonstrou taxas de resposta de 38-60%, que dependeram da resposta ao pré-tratamento e indicação da quimioterapia anterior. No entanto ainda não foi realizado nenhum ensaio randomizado de fase III

adequado para avaliar o verdadeiro valor dessa combinação como terapia de segunda linha (Sternberg e Vogelzang 2003,, Meluch et al., 2001, Kaufman et al., 2002).

Num ensaio de fase II, foram administradas a cada três semanas, 500 mg/m<sup>2</sup> de pemetrexed. Os resultados evidenciaram ser promissores com uma taxa de resposta de 28%. A toxicidade demonstrou ser controlável com a adição de vitamina B12, a suplementação com ácido folínico e profilaxia com a dexametasona (Sweeney et al., 2006).

O Ixabepilone é um recente análogo semissintético da epotilona B, atuando como promotor de polimerização da tubulina. Este agente antineoplásico foi avaliado num ensaio clínico de fase II, para a terapia de segunda linha do carcinoma de células transicionais metastático. O ensaio foi composto por 45 pacientes, em 40% dos quais administraram primeiramente um taxano.

Os resultados obtidos mostram uma resposta global de 11,9% e uma sobrevida global média de 8 meses. Os efeitos adversos sugerem toxicidade moderada, como fadiga, neutropenia e neuropatia sensorial como os sintomas mais comuns apresentados pelos pacientes (Dreicer et al., 2007).

Diversas abordagens moleculares estão atualmente sob investigação como tratamento de segunda linha em carcinomas da bexiga recorrentes / refratários.

Estão a decorrer ensaios clínicos com outros agentes direcionados para potenciais alvos de várias vias de sinalização, como o lapatinib (inibidor tirosina cinase, HER-2 e EGFR), o erlotinib (inibidor tirosina cinase, HER-1 e HER-2), osunitinib, e o everolimus (inibidor do mTOR) (Tabela 3).

Study identifier	Phase	Study drug	Start date	Primary endpoint
NCT01265940	I/II	pazopanib + vinflunine	Dec 2010	PFS
NCT00365157	I/II	E7389 (halichondrin B analog)	October 2010	Response rate and safety
NCT00683059	II	nab-paclitaxel	May 2008	Response rate
NCT00578526	II	sunitinib (SPRUCE)	December 2007	PFS
NCT01282463	II	Docetaxel ± ramucirumab or IMC-18F1	January 2011	PFS
NCT01234519	I/II	AEZS-108 in LHRH + urothelial cancers	November 2010	MTD
NCT00722553	II	pralatrexate	July 2008	ORR
NCT01031875	II	pazopanib	December 2009	ORR
NCT01108055	II	pazopanib + paclitaxel	April 2010	ORR
NCT00933374	II	everolimus + paclitaxel	July 2009	ORR

**Abbreviations:** PFS, progression-free survival; MTD, maximum tolerated dose; ORR, objective response rate; AEZS-108, luteinizing-hormone-releasing hormone linked to doxorubicin.

Tabela 3 Estudos clínicos em curso para a terapia de segunda linha de carcinoma da bexiga avançado e metastático . (adaptado de (Vishnu et al., Mathew e Tan, 2011)).

A seguinte figura esquematiza as opções terapêuticas para os CUB metastáticos.

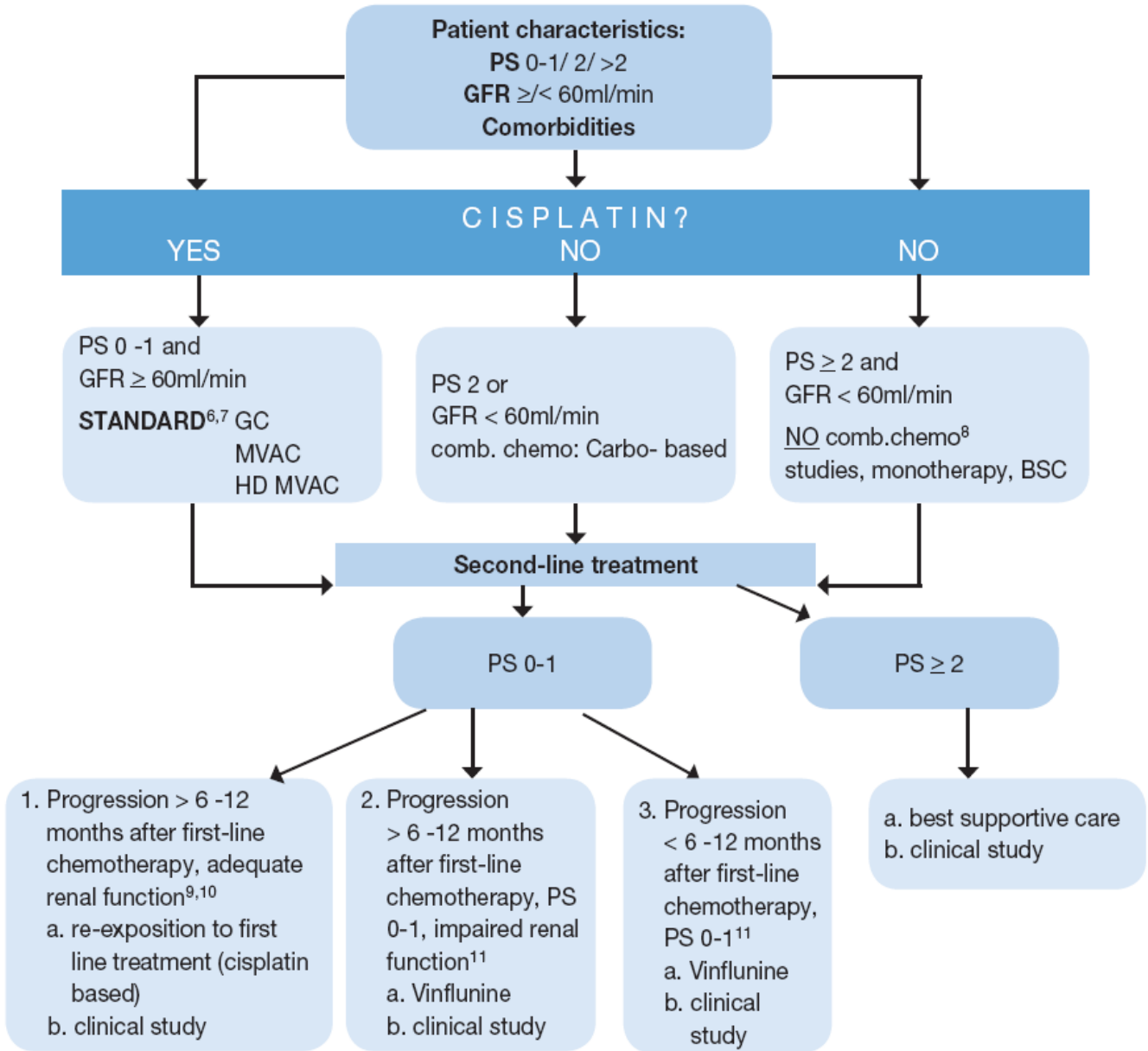


Figura 5 Esquema Terapêutico para carcinoma urotelial mestastático (adaptado de (Stenzl et al., 2011))

## **VIII. O mTOR e o Carcinoma da Bexiga**

### *8.1. Introdução*

Os atuais protocolos terapêuticos como foi demonstrado, não conseguem responder com eficácia a todos os grupos de doentes com carcinoma urotelial da bexiga (CUB). Embora a elevada taxa de recorrência dos CUB superficiais constitua um importante desafio terapêutico, é ao nível dos CUB invasores que maior necessidade há de mais e melhor investigação, visto serem os principais responsáveis pela morbilidade e mortalidade devida a este tipo de cancro.

Apesar de se ter comprovado que o carcinoma urotelial é sensível a várias drogas citotóxicas o seu impacto em termos de controlo da doença metastática e sobrevivência é mitigado, pelo que não está, ainda, definido os protocolos terapêuticos com recurso a drogas citotóxicas e/ou biológicas adequados para este tipo de neoplasia, como ocorre em outros tumores.

Assim durante as últimas décadas têm sido realizados numerosos estudos no sentido de desenvolver novos esquemas terapêuticos para CUB não-invasor e invasor, uma vez que existe uma necessidade urgente de identificar novos alvos terapêuticos para prevenir a recorrência e a progressão (Park, 2011).

Nos últimos anos, descobertas no campo da transdução de sinal conduziram à identificação de moléculas envolvidas em vias que regulam a sobrevivência celular, apoptose, proliferação, angiogénese e metastização.

Uma molécula de sinalização que é extremamente atrativa e tem prendido a atenção dos investigadores, como alvo terapêutico é a proteína alvo da rapamicina em mamíferos ou mTOR. A mTOR pertence à cascata de sinalização PI3K/AKT que desempenha um papel crítico na oncogénese (Mansure, 2009).

## 8.2 O mTOR

A proteína alvo da rapamicina em mamíferos ou mTOR, também conhecida como proteína associada à rapamicina (FRAP), proteína alvo da rapamicina (RAFT1), ou proteína efectora do sirolimus (SEP) foi identificada e clonada após a descoberta dos dois genes da levedura TOR1 e TOR2 (Brown et al., 1994, Chiu et al., 1994, Kunz et al., 1993, Sabatini et al., 1994). A mTOR é uma serina/treonina cinase com 289 kDa e pertence à família das cinases relacionadas com o fosfatidilinositol 3-cinase (PI3K), denominada de PIKK sendo que o seu domínio catalítico no C-terminal é altamente homólogo ao domínio lipídico da PI3K. Os membros desta família estão envolvidos em funções celulares básicas como a proliferação celular, a progressão do ciclo celular, os pontos de verificação de danos no DNA, e a manutenção do comprimento dos telómeros. Disfunções na família PIKK estão relacionadas a doenças como o cancro e imunodeficiências (Bjornsti e Houghton, 2004, Janus et al., 2005).

O mTOR integra sinais de diferentes origens, tais como nutrientes, hormonas, fatores de crescimento, níveis de oxigénio (Petroulakis et al., 2006, Scheper et al., 2007). Também é um componente essencial de dois complexos multiproteicos denominados mTORC1 e mTORC2.

O complexo mTORC1 é constituído pelo mTOR, LST8, Raptor (proteína reguladora associada ao mTOR) e pela AKTS1. A sua função relaciona-se com a síntese de proteínas. O complexo mTORC2, constituído pelo mTOR, LST8, Rictor e SIN, está relacionado com a fosforilação da Akt na Ser473, um dos passos de ativação da Akt e com a mediação da fosforilação da proteína cinase RAC1 em PKC $\alpha$  (Ma e Blenis, 2009). O fator de crescimento semelhante a insulina (IGF) e o fator de crescimento humano epitelial (EGF) ativam a via mTOR, assim como a perda de PTEN (homóloga da fosfatase e tensina), que funciona como um regulador negativo da via PI3K/AKT / mTOR, ativando-a (Hill e Hemmings, 2002, Nicholson e Anderson, 2002, Testa e Bellacosa, 2001).

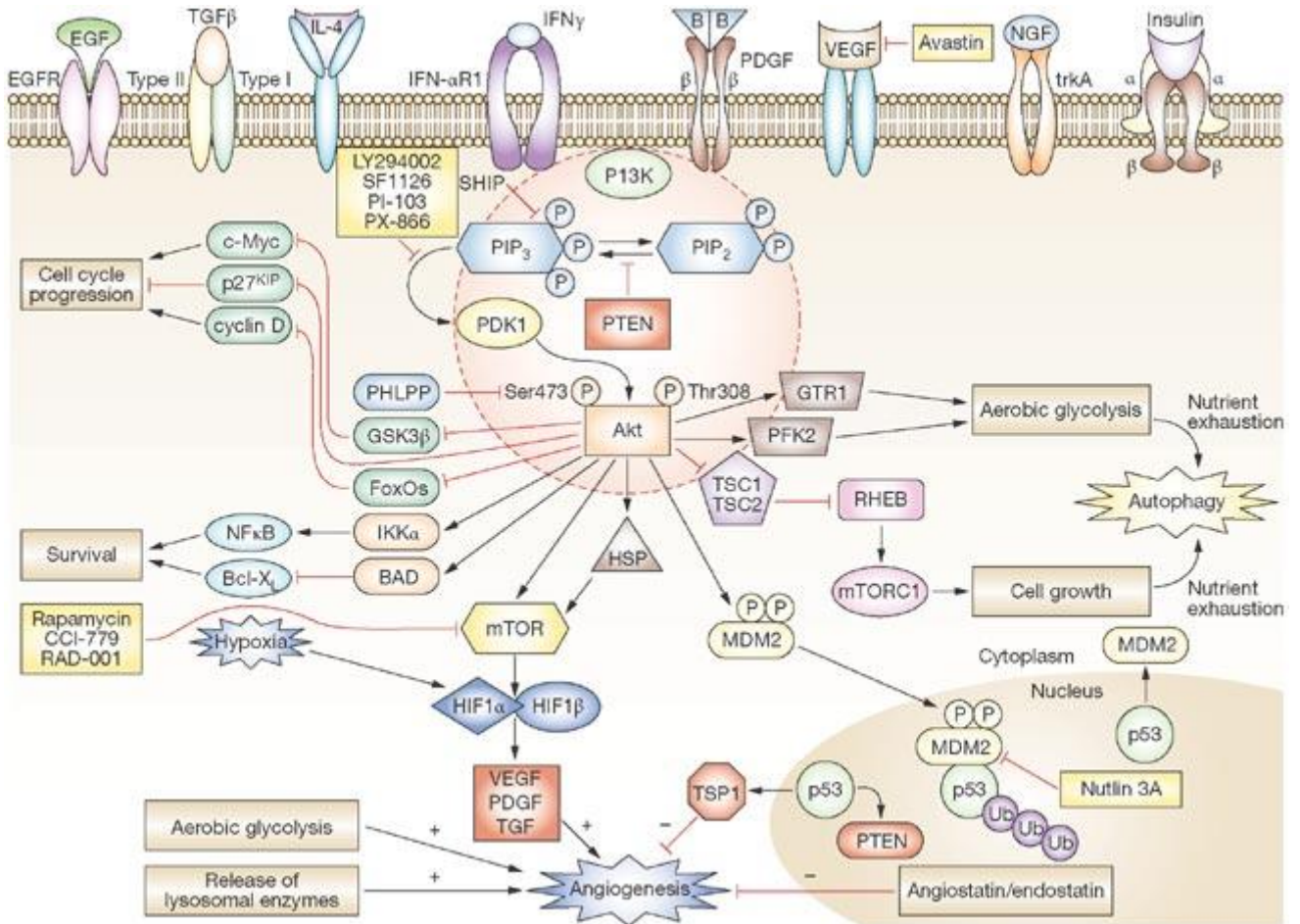


Figura 6 A via mTOR e o seu envolvimento com outras vias de sinalização (adaptado de (Castellino e Durden, 2007).

### 8.3. A via de sinalização mTOR

O mecanismo de transdução de sinal utilizado por uma célula é uma interação entre proteínas específicas numa determinada ordem. Essas proteínas podem ser quinases, fosfatases, GTPases e moléculas adaptadoras sem atividade enzimática intrínseca. A associação específica de proteínas e sua fosforilação ou defosforilação constituem os princípios moleculares nos quais a transdução de sinal se baseia. Durante a oncogênese o balanço entre a fosforilação e defosforilação encontra-se desorganizado, fazendo com que as vias de transdução de sinal sejam modificadas e a célula comporta-se de forma independente do ambiente externo e do restante organismo (Mansure, 2009).

### 8.4 Estrutura e ativação do mTOR

Como já foi referido existem dois tipos distintos de complexos TOR em mamíferos: o mTORC1 e o mTORC2. O mTORC1 é uma proteína cinase heterotrimérica que consiste na subunidade catalítica mTOR e em duas proteínas associadas, Raptor (proteína regulatória associada ao mTOR) e mLST8 (também conhecido como G $\beta$ L); por sua vez, o mTORC2 consiste em quatro subunidades diferentes: mTOR, mLST8/G $\beta$ L, Rictor (*rapamycin insensitive companion of mTOR*), e mSin1 (proteína cinase mitogénio-ativada associada à proteína 1) (Abraham, 2002). A FKBP12-rapamicina inibe o mTORC1, mas não afeta o mTORC2, assim, o mTORC1 é sensível à rapamicina ao contrário do que se verifica com o mTORC2. Cada vez mais estudos demonstram que o mTORC1 é responsável pela deteção de sinais de nutrientes, enquanto o mTORC2 está envolvido na remodelação da actina (Gao et al, 2002, Sabatini et al., 1994).

Diversos estudos indicam que a ativação da via mTORC1 é uma “marca registada” de cancro, mas os mecanismos moleculares pelos quais o mTORC1 regula o seu desenvolvimento permanecem em grande parte inexplicados (Gao et al, 2002, Sabatini et al., 1994).

A inativação da *tuberous sclerosis 1* (TSC1), também conhecida como hamartina e da *tuberous sclerosis 2* (TSC2), também conhecida como tuberina, que atua como um importante regulador negativo do mTORC1, pode causar a síndrome do *tuberous sclerosis complex* (TSC) e linfangioleiomiomatose (LAM) (Gao et al, 2002, Sabatini et al., 1994). A proteína heterodimérica TSC1-TSC2 ativa a GTPase em Rheb (proteína homóloga de Ras enriquecida no cérebro) que desempenha um papel importante na ativação do mTORC1. A inativação de genes supressores tumorais, como o PTEN (fosfatase homóloga da tensina), a cinase serina-treonina 11 (STK11 ou LKB1), a neurofibromatose 1 (NF1) ou a p53 causam a inibição do TSC1-TSC2, o que leva à ativação da via mTOR. Por exemplo, a perda ou a mutação de PTEN ativa AKT, que fosforila e inibe diretamente TSC1-TSC2. A perda de STK11 suprime AMPK (proteína cinase AMP ativada), que normalmente medeia a fosforilação de TSC1-TSC2 (Faivre et al., 2006). O produto do gene *NF1*, a Neurofibromina, contém um pequeno domínio que partilha uma significativa homologia com proteínas pertencentes à família das proteínas ativadoras da guanosina trifosfatase (GAP) envolvidas na regulação negativa de pequenas proteínas GTPase como Ras. A perda de *NF1* resulta na acumulação de Ras na ligação a GTP e provoca ativação da AKT e inibição do TSC1-TSC2 pela via PI3K (Cichowski e Jacks, 2001, Houshmandi e Gutmann, 2007, Shaw e Cantley, 2006). As inúmeras evidências a favor do envolvimento da p53 na regulação da atividade do mTOR incluem: a inibição da sua atividade pela ativação da p53 ser mediada principalmente pela ativação de AMPK com a subsequente ativação do complexo TSC1/TSC2, para além disso, a ativação da p53 aumenta a expressão de mRNA para os genes PTEN e TSC2 (Feng et al., 2005). Assim, a inativação da p53 leva à ativação do mTOR através da inibição de TSC1-TSC2. Algumas síndromes relacionadas com moléculas da via mTOR incluem a síndrome de Cowden, *tuberous sclerosis complex*, linfangioleiomiomatose, neurofibromatose 1, e a síndrome Peutz-Jeghers (Faivre et al., 2006).

### 8.5. A via de sinalização PI3K/AKT

As fosfatidilinositol-3 quinase (PI3Ks) são enzimas que pertencem à família das cinases lipídicas. A PI3K é composta por um complexo heterodimérico, formado por uma subunidade catalítica, p110 e uma subunidade reguladora, p85 (Cantley, 2002, Ward e Finan, 2003). Os recetores tirosina cinase (RTKs) interagem com o domínio homólogo 2 Src (SH2) da subunidade p85, que dimeriza com a p110, deslocando o heterodímero p85/p110 para a membrana plasmática, enquanto Ras interage diretamente com a p110 de uma forma dependente de GTP. Os RTKs também podem ativar indiretamente a PI3K através de outras proteínas, tais como a proteína cinase C (PKC), a SHP1, a Rho, e a Src (Hennessy et al., 2005). Após ser ativada, a PI3K fosforila o hidroxilo D3 de PI(4)P e PI(4,5)P2 para produzir PI(3,4)P2 e PI(3,4,5)P3, respetivamente. A PI (3,4,5)P3 liga-se a um subconjunto de proteínas com domínio PH (domínio homólogo à pleckstrin), FYVE, Phox (PX), C1 e C2. A fosfatase PTEN pode desfosforilar PI(3,4,5)P3 que volta a PI(4,5)P2. A ativação de PI3K e a mutação de PTEN são eventos frequentes no Cancro (Jiang e Liu, 2008). A AKT / PKB é ativada pelo PI(3,4,5)P3 através da ligação ao domínio homólogo à pleckstrin da AKT, o que desencadeia a transferência de AKT para a membrana plasmática onde é fosforilada no resíduo Thr308 pela cinase dependente de fosfoinositida 1 (PDK1) (Datta et al, 1999, Engelman et al, 2006, Sarbassov et al., 2005). Também pode ocorrer fosforilação no domínio C-terminal hidrofóbico (Ser 473) pela PDK2 para a sua plena ativação (Blue-Jensen e Hunter, 2001; Hennessy et al., 2005). Após a ativação, a AKT é translocada para o núcleo, onde fosforila e inibe diretamente TSC1 e TSC2, que por sua vez ativam o mTOR e seus efetores (Faivre et al., 2006). O aumento da expressão e mutação de AKT tem sido observado em vários tipos de neoplasias e é um alvo terapêutico anticarcinogénico sob ativa investigação (Jiang e Liu, 2008, Broxterma e Georgopapadakou, 2007).

### 8.6. *O Gene Supressor Tumoral, PTEN*

O PTEN é um potente inibidor da via PI3K/Akt/mTOR. Alterações a este nível têm sido descritas em glioblastoma, melanoma, cancro do endométrio, cancro da mama, cancro da próstata e cancro da bexiga (Gingras et al., 2001, Tee e Blenis, 2005, Altomare e Testa, 2005, Aveyard et al., 1999).

O PTEN também regula a quimiotaxia e a motilidade celular, mecanismos que promovem a invasão tumoral (Garcia e Danielpour, 2008 , Theodorescu et al., 1998, Gildea et al., 2002, Gildea et al., 2004 ).

Como resultado, não é surpreendente que a perda do PTEN esteja associada com o crescimento tumoral agressivo, e o aparecimento de metástases (Kanda et al., 2009, Saal et al., 2007). No carcinoma urotelial invasivo, o PTEN é mutado ou apresenta perda de heterozigotia em cerca de 30% dos casos; este número decresce para os 6,6% em tumores superficiais (pTA / pT1) (Garcia e Danielpour, 2008 , Knowles et al., 2009, Platt et al., 2009 ,Aveyard et al., 1999). Um estudo revelou sensibilidade reduzida para o inibidor de PI3K, o LY294002 em linhagens celulares de carcinoma da bexiga e próstata, com a expressão de PTEN intacta comparativamente com as células que não tinham PTEN funcional (Kanda et al., 2009). Como resultado, o status de PTEN parece mediar a resistência à terapia dirigida à via PI3K; a perda da expressão de PTEN pode ser realmente útil ao permitir maximizar os efeitos da inibição de PI3K. Para além dos seus efeitos diretos sobre os processos celulares que ocorrem no cancro, o PTEN pode também ter efeitos a jusante através de interação com a via p53, que se encontra frequentemente mutada no carcinoma da bexiga (Puzio-Kuter et al., 2009).

### 8.7 *A sinalização a montante do mTOR*

#### **i. A via de sinalização Ras / Raf / MEK / ERK**

A expressão de um alelo ativado de ras que induz a fosforilação de TSC2, levou a concluir que a via Ras/MAPK tem como alvo a TSC2 (Roux et al., 2004). As proteínas Ras (H-, K e N-Ras) são oncoproteínas importantes. Em células quiescentes normais, Ras está unida à GDP e inativa. Após estimulação por fatores de crescimento, hormonas ou citocinas, a forma Ras-GTP ativada liga-se e ativa a cinase Raf (Repasky et al, 2004, Wolthuis e Bos, 1999). Há três isoformas diferentes de cinases serina / treonina Raf em células de mamíferos: A-Raf, B-Raf e C-Raf. Após ser ativada, a Raf fosforila e ativa a MEK, que por sua vez ativa a ERK / MAPK. A ERK fosforila tanto substratos citosólicos como nucleares que levam à regulação da expressão de genes e a rearranjos metabólicos e do citoesqueleto (Schubbert et al, 2007, Roberts e Der, 2007). Além de estímulos extracelulares, a perda de *NFI* também causa a acumulação de Ras ligado a GTP e, em último caso despoleta a ativação da sinalização mTORC1 (Johannessen et al., 2005). Também a reduzida expressão de um microRNA conservado (*let-7*) cujo alvo são os mRNA's da região 3' não traduzida de H-ras, N-ras e Kras aumenta a atividade de Ras (Johnson et al, 2005, Kolfschoten et al, 2005, Shaw e Cantley, 2006). Ras e Raf sofrem frequentemente mutações e são expressos de forma aberrante nas neoplasias humanas. Por exemplo, ocorrem mutações Ras no pâncreas, na tiroide papilar, no cólon, no cancro de células não pequenas do pulmão, no trato biliar, na bexiga, na mama, no colo do útero, no ovário, no endométrio e no fígado (Schubbert et al, 2007, Roberts e Der, 2007, Bamford et al, 2004).

## **ii. O AMPK e outras moléculas**

Os nutrientes representam uma importante função reguladora na atividade do mTOR (Tsang et al., 2007). A falta de aminoácidos resulta na rápida desfosforilação de S6K1 e 4E-BP1, que são os efetores situados abaixo do mTOR, enquanto a sua readição restaura a fosforilação de S6K1 e 4E-BP1 de uma maneira dependente de mTORC1 (Hay e Sonenberg, 2004). Os nutrientes podem regular a sinalização mTOR através da produção de energia sob a forma de ATP. A atividade da proteína cinase AMP ativada (AMPK) pode ser regulada pelo nível de

energia celular através do equilíbrio da razão ATP:AMP, que quando é baixa, ativa o AMPK, sob a privação de nutrientes. O AMPK ativado por sua vez, pode fosforilar TSC2 em múltiplas serinas e locais de treonina conduzindo à inativação do mTOR (Inoki et al., 2003). Vários fatores de stress ambientais também podem regular a sinalização do mTOR. Por exemplo, a hipóxia e danos no DNA, regulam negativamente a atividade do mTOR (Tsang et al., 2007, Feng et al., 2005).

### *8.8 A sinalização a jusante do mTOR*

A via mTORC1 regula o crescimento celular através de efectores a jusante, como os reguladores de tradução 4EBP1, (fator de iniciação da tradução eucariótica 4E ligado à proteína 1) e a p70S6K1 (cinase S6 ribossomal 1) (Sonenberg e Gingras, 1998).

#### **i. A 4EBP1**

A 4EBP1 reprime a iniciação da tradução proteica através da sua associação com o RNAm com subunidade eIF4F do fator de iniciação da tradução eucariótica (Sonenberg e Gingras, 1998). O mTOR fosforila diretamente e inibe a atividade da 4EBP1 e pode também inibir indiretamente a proteína fosfatase serina / treonina, que por sua vez desfosforila 4EBP1 durante a fase de transição G1-S (Favre et al., 2006). A 4EBP1 é um inibidor do fator de iniciação da tradução eucariótica 4E (eIF4E), que é ativado por vários estímulos mitogénicos. O aumento da expressão de eIF4E é suficiente para induzir a transformação celular (Rousseau et al., 1996). A forma ativada de mTOR fosforila a 4EBP1 em vários pontos serina / treonina para promover a dissociação do eIF4E de 4EBP1. A eIF4E livre pode formar um complexo composto por múltiplas subunidades eIF4F através da ligação a eIF4G, a eIF4A, e eIF4B, facilitando a tradução de proteínas dependentes de cap e induzindo um aumento na tradução de mRNAs com elementos regulamentares nas regiões terminais 5' não traduzidas (5'-UTR) de genes alvo a jusante, tais como c-myc, ornitina descarboxilase e ciclina D1, que são necessários para a fase de transição

G1-S (Faivre et al., 2006). Pelo contrário, em células quiescentes ou sob condições privadas de fatores de crescimento, a 4EBP1 não fosforilada liga-se firmemente à eIF4E, inibindo a iniciação da tradução proteica. A inibição da ativação do mTOR pela privação de nutrientes ou pela rapamicina provoca a desfosforilação da 4EBP1, o que impede a tradução de proteínas. A inibição do mTOR leva à regulação negativa da biogénese de ribossomas e ao aumento da regulação de processos catabólicos, tais como a autofagia, que é essencial para a adaptação e sobrevivência durante condições de privação. (Jastrzebski et al, 2007, Mayer e Grummt, 2006).

## **ii. A P70S6K1**

A cinase serina / treonina p70S6K1 (S6K1) é outro alvo importante situado abaixo do mTOR. A P70S6K1 também pode ser ativada por vias de sinalização insensíveis a TOR como a PDK1, a MAPK e a proteína cinase ativada pelo stress, SAPK. O mTOR ativado fosforila a p70S6K1 e recruta a subunidade ribossomal 40S para traduzir polissomas, o que aumenta a tradução de mRNAs com a 5'-terminal oligopolipirimidina (5'-TOP). A fosforilação de p70S6K1 em Thr389 pelo mTOR é necessária para a sua ativação uma vez que a substituição deste resíduo por alanina bloqueia a sua atividade (Dennis et al., 1996). Pelo menos três locais de fosforilação foram identificados para p70S6K1 e qualquer um deles pode ser bloqueado por inibidores do mTOR. Os alvos de p70S6K1 incluem proteínas ribossomais, fatores de alongamento e o fator de crescimento semelhante à insulina 2 (Faivre et al., 2006). Além disso, a 70S6K1 também fosforila as unidades eIF4G e eIF4B do complexo eIF4F. Esta proteína também pode reprimir a via PI3K/AKT pela inibição do substrato do recetor de insulina 1 (IRS1) e pela expressão de IRS2 (Haruta et al, 2000, Sabatini et al, 1994). A P70S6K1 pode fosforilar a molécula pró-apoptótica BAD no resíduo Ser136 e perturbar a ligação BAD aos inibidores de morte mitocondriais Bcl-XL e Bcl2 (Faivre et al., 2006).

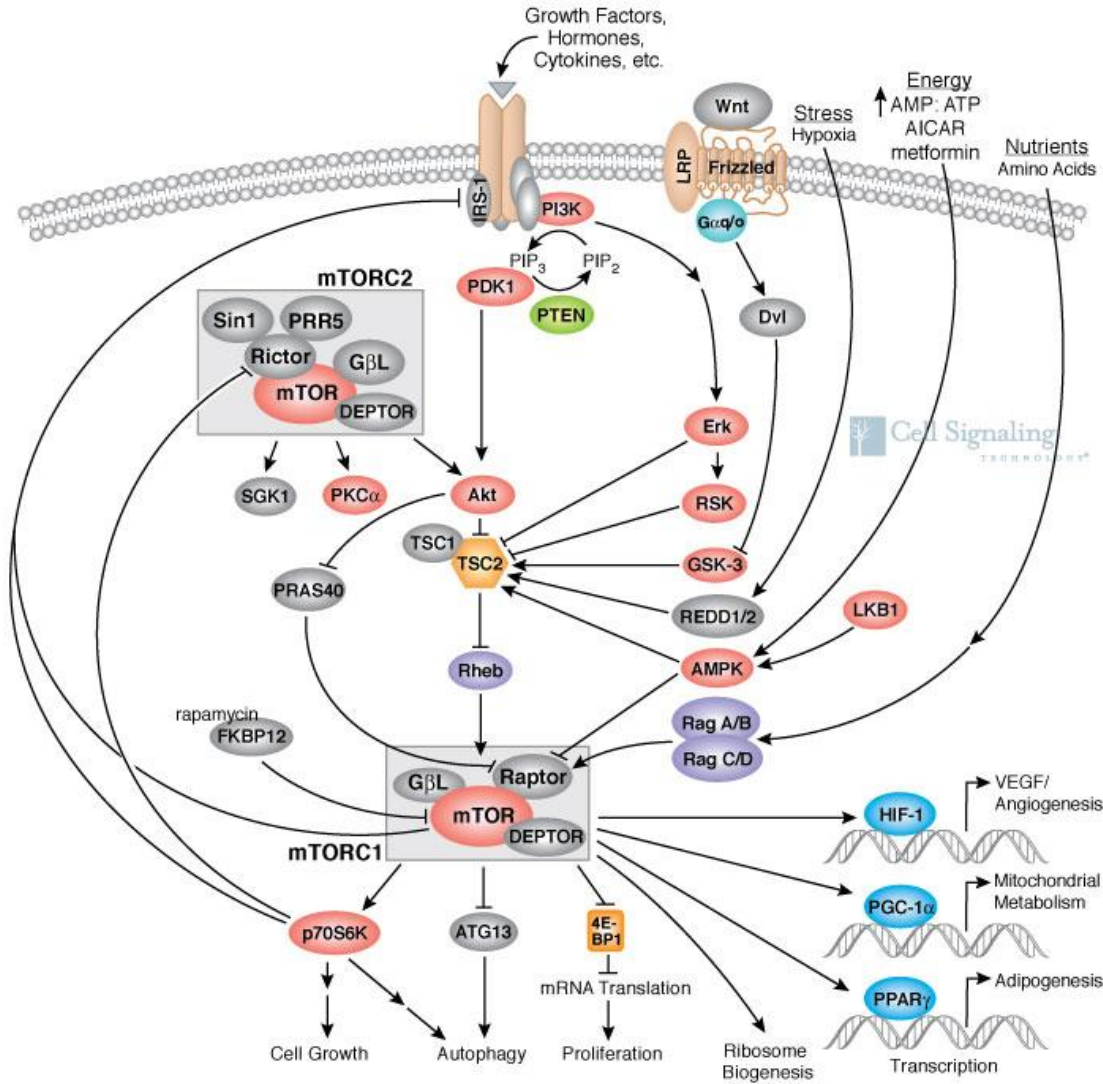


Figura 7 A sinalização mTOR envolvida na regulação da tradução (adaptada de (Dunlop e Tee, 2009)).

### 8.9 A via de sinalização mTOR e o Cancro

O mTOR intervém na tradução de RNAm relacionados com pontos de verificação do ciclo celular, regula a expressão de fatores de sobrevivência, tais como c-myc, HIF-1 $\alpha$  e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e está envolvido na regulação da ciclinas A, das cinases dependentes de ciclinas (CDK1/2), dos inibidores das CDK, P21Cip1 e p27KIP1, da proteína retinoblastoma (Rb), das RNA polimerases, das proteínas fosfatases PP2A, PP4 e PP6 e

da proteína CLIP-170. Desempenha também um papel fundamental na regulação da proliferação celular do cancro, apoptose, migração celular, e angiogénese tumoral (Huang et al., 2003). Estudos demonstraram que a p70S6K1 é uma molécula importante na regulação e proliferação celular, angiogénese tumoral e através da mediação da expressão HIF-1 e VEGF por vias como PI3K/AKT e ERK (Fang et al, 2005, Liu et al, 2006a, Meng et al, 2006, Skinner et al, 2004a, Zhong et al, 2004, Zhou et al, 2007, Gao et al, 2004a). Alguns agentes cancerígenos incluindo arsenito podem ativar a p70S6K1 através da produção de ROS e da via PI3K/AKT (Skinner et al., 2004b, Gao et al, 2004b). Assim, as vias de sinalização que ativam mTOR estão alteradas em muitos cancros humanos, como por exemplo, ovário, cervical, mama, gástrico, colorectal, pulmão, gástrico, tiroide, hepatocelular e endometrial, glioblastomas e leucemia aguda. Foram encontradas mutações somáticas da subunidade reguladora p85 $\alpha$  (PIK3R1) em glioblastomas humanos primários do cólon e em cancro do ovário (Jiang e Liu, 2008). O PTEN é frequentemente mutado ou perdido em muitos tipos de cancro e a diminuição dos níveis de expressão deste está correlacionada a um prognóstico reservado em cancros, como de ovário, de próstata e cancro cervical (Jiang e Liu, 2008). Todas essas mudanças resultam na ativação constitutiva de AKT e conseqüentemente na sinalização do mTOR.

Mutações ue inativam STK11 estão associadas com a síndrome de Peutz-Jeghers, que é caracterizada por pólipos gastrointestinais hamartomatosos e pigmentações mucocutâneas, assim como um aumento do risco de cancro gastrointestinal, da mama e do trato genital feminino (Jenne et al., 1998, Hemminki et al, 1998, Bruwer et al, 1954). O LKB1 também afeta a angiogénese tumoral, o grau de invasão e aparecimento de metástases (Zhuang et al., 2006). As mutações TSC2 conduzem à síndrome *tuberous sclerosis*, que é uma desordem autossómica dominante caracterizada por hamartosis generalizada. Estas mutações podem ser um fator de risco para o desenvolvimento de tumores nas ilhotas pancreáticas ou do carcinoma de células renais (Sampson e Harris, 1994, Merritt et al., 2006, Yeung et al., 1994). A perda de TSC2 também está associada ao desenvolvimento do tumor e metástases (Pacheco-Rodriguez et al., 2007).

O aumento da expressão e ativação de P70S6K1 tem sido relatada em várias linhagens de células tumorais, encontrando-se amplificada em alguns casos de carcinoma da mama e também associada à angiogénese tumoral e grau de invasão (Couch et al, 1999, Holz e Blenis, 2005, Pende et al, 2004, Skinner et al, 2004a). Estudos recentes relataram que a p70S6K1 pode fosforilar diretamente o mTOR em treonina 2446/serina 2448, que demonstrou anteriormente ser parte de um domínio repressor regulador (Holz e Blenis, 2005). O 4EBP1 é outro substrato para mTOR que inibe a função de eIF4E. Em cancro gastrointestinal, tem sido relatado que tanto a expressão de eIF4E como a 4EBP1 está frequentemente amplificada, mas os níveis de 4EBP1 apresentam-se mais elevados em pacientes com pouca ou nenhuma história de doença metastática (Martin et al., 2000). Estudos recentes descobriram que, pelo contrário, a p-4EBP1 é expressa principalmente em tumores pouco diferenciados, correlacionados com tumores de alto grau apresentando um prognóstico reservado em tumores de mama e de ovário (Rojo et al, 2007, Castellvi et al., 2006). Tem sido demonstrado que a eIF4E atua como um oncogene mediando a transformação das células (DeFatta e De Benedetti, 2003). A expressão do gene que codifica a eIF4E encontra-se ampliada no cancro da mama e carcinoma do pescoço e da cabeça (Sorrels et al., 1998, Sorrels et al., 1999). A expressão elevada de eIF4E em modelos experimentais altera dramaticamente a morfologia celular, aumenta a proliferação e induz a transformação celular, a tumorigénese e a ocorrência de metástases e está associado a alguns tumores sólidos como o cancro da mama, cólon e esófago (McClusky et al, 2005, Salehi e Mashayekhi, 2006, Rosenwald et al, 1999). Os níveis de eIF4E estão também correlacionados com a progressão de cancro da cabeça e pescoço, bexiga, gástrico e mama (McClusky et al, 2005, Nathan et al, 1999, Chen et al, 2004, Crew et al., 2000).

#### *8.10 O mTOR e o Carcinoma da Bexiga*

Os atuais esforços no sentido de se desenvolverem novos fármacos no combate ao cancro baseiam-se na inibição da atividade de alvos fundamentais necessários para a manutenção do estado modificado, tais como aqueles implicados na via PI3K/

AKT/mTOR. De entre inúmeros substratos desta via, considera-se o mTOR um dos alvos de maior relevância para o tratamento do cancro (Harrington et al., 2005, Le Tourneau et al., 2008, Kong e Yamori, 2009), após a demonstração original das propriedades supressoras tumorais da rapamicina e dos seus análogos terem sido testados quanto aos seus efeitos sobre determinadas linhagens celulares tumorais e em modelos animais (Cho et al., 2007).

A investigação conduzida por Hansel e colaboradores (2010) avaliou os efeitos do mTOR sobre as funções celulares, no carcinoma urotelial da bexiga. Neste estudo, identificaram a expressão do fosfo-S6, principal efetor da atividade do mTOR, aumentada em 55% dos casos de CUB invasores, sendo associada a atividade da via mTOR com a redução da sobrevida do paciente e com o aumento do estadió patológico. A inibição do mTOR pela rapamicina, reduziu a proliferação e a migração celular *in vitro* e reduziu o volume do tumor em ratinhos xénógrafos de uma linha celular de CUB em 55% (Hansel et al., 2010).

Estes resultados foram apoiados por um segundo estudo que mostrou que a via mTOR encontrava-se ativa no carcinoma urotelial da bexiga músculo-invasivo, e que a sua inibição impedia a progressão do CIS a carcinoma da bexiga invasivo (Puzio-Kuter et al., 2009, Seager et al., 2009).

Outra função importante do mTOR na biologia do tumor é a indução da angiogénese. O mTOR regula a expressão do fator indutível por hipóxia e, posteriormente o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (Jiang e Liu, 2008). O VEGF é um fator de crescimento vascular, bem caracterizado e é segregado abundantemente na TSC1 e TSC2 em ratos nulos, o que apoia o papel do mTOR na produção de VEGF a montante. Estes resultados suportam o efeito antiangiogénico, documentado com os inibidores do mTOR, tais como a rapamicina, em pacientes com carcinoma de células renais, submetidos a terapia com os inibidores do mTOR (Tee e Blenis, 2005).

Mansure e colaboradores (2009), reportaram pela primeira vez os efeitos do everolimus (análogo da rapamicina) em linhas celulares do carcinoma da bexiga e em ratinhos xénógrafos com uma linha tumoral de bexiga. Nesse estudo, verificaram que o everolimus inibiu a proliferação das nove linhas celulares estudadas, embora a resposta à dose fosse diferente.

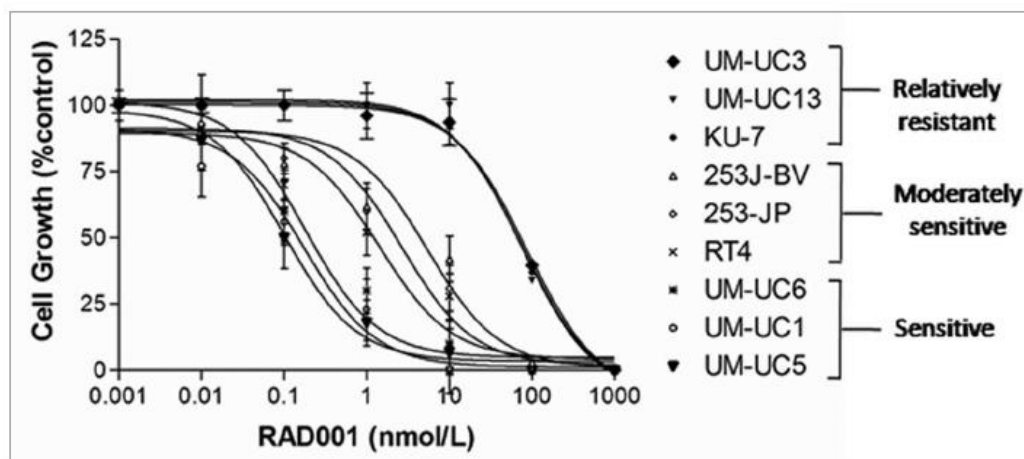


Figura 8 Curvas dose/resposta de linhagens celulares de carcinoma da bexiga aos inibidores mTOR (adaptada de (Mansure et al., 2009)).

Observaram também que este fármaco inibiu significativamente a fosforilação da S6 e a produção de VEGF em todas as linhas celulares. Nos ratinhos xenógrafos tratados com everolimus verificou-se uma inibição do crescimento tumoral quando comparados com os tumores dos ratinhos tratados com placebo. Esta inibição foi associada a uma diminuição significativa da taxa de proliferação celular e angiogénese.

Este estudo demonstrou que os inibidores da via do mTOR como o everolimus conseguem induzir a paragem do ciclo celular possuem uma forte atividade antitumoral. Além disso, estes dados pré-clínicos fornecem uma base racional e de orientação para futuros ensaios clínicos com everolimus em doentes com carcinoma da bexiga (Mansure, 2009).

Um estudo realizado por Makhlin e colaboradores (2010) teve como objetivo verificar se a inibição do mTOR pela rapamicina em combinação com a cisplatina é terapêuticamente eficaz no tratamento do carcinoma da bexiga. Os resultados evidenciaram que o tratamento com rapamicina diminuiu significativamente a viabilidade celular em células UMUC3 ( $P = 0,004$ ) e 253J ( $P < 0,001$ ). Verificaram que ocorreu a paragem do ciclo célula, na fase G0-G1, a diminuição da ativação de p-mTOR e do seu efetor-S6K, em todas as linhas celulares usadas no estudo.

Também verificaram que o tratamento com a rapamicina aumentou a capacidade da cisplatina para inibir a viabilidade celular numa das linhas celulares. Após o tratamento com rapamicina isolada, não houve evidência de indução da apoptose. Nos ratos xenógrafos inoculados com uma das linhas celulares de CUB revelaram que a rapamicina prolongou significativamente a sobrevida e aumentou a eficácia terapêutica da cisplatina. Nos pacientes com carcinoma urotelial, a expressão de p-mTOR encontrava-se aumentada em 32% dos tumores.

Através deste estudo, os investigadores concluíram que o bloqueio do mTOR inibe a proliferação celular do carcinoma urotelial e aumenta a eficácia da cisplatina; a supressão da via mTOR tem o potencial para ser um alvo terapêutico nesta patologia num determinado grupo de doentes

Estes dados suportam a relevância da via de sinalização mTOR no carcinoma urotelial. Além disso, fornecem evidências que sugerem o potencial dos inibidores do mTOR em melhorar o regime quimioterapêutico atual baseado em cisplatina. Como o estudo da p-mTOR foi realizado numa pequena série de tumores da bexiga humanos, é necessário haver mais investigação no futuro para desenvolver marcadores dependentes da via do mTOR, identificar convenientemente os grupos de doentes que beneficiariam desta abordagem terapêutica (Makhlin et al., 2010).

#### *8.11 Os inibidores do mTOR e a seletividade tumoral*

A rapamicina (RAP), é um antibiótico natural descoberto à mais de 20 anos, e é um inibidor específico do mTOR. Apesar de não possuir efeitos antibacterianos, demonstrou efeitos imunossupressores e antiproliferativos extraordinários (Douros e Suffness, 1981, Thomson et al., 2009).

A rapamicina, também designada de Sirolimus, é uma lactona macrocíclica produzida a partir de bactérias do solo, *Streptomyces hygroscopicus*. Foi inicialmente isolada e identificada como um agente antifúngico, especialmente ativo contra *Candida albicans*. Na década de 1990, foi aprovada pelo FDA como um agente imunossupressor, verificando-se mais tarde possuir propriedades antitumorais e imunossupressoras.

A rapamicina e os seus análogos, denominados de rapalogs, como o temsirolimus (ICCI-779), o everolimus (RAD001) e o deforolimus (AP-23573), demonstram inibir a ativação do mTOR ao ligarem-se à proteína FK506 que se encontra unida à proteína 12.

A principal diferença entre estes compostos reside na sua biodisponibilidade: o temsirolimus e o deforolimus são solúveis em água e podem assim ser administrado por via intravenosa, enquanto a rapamicina e o everolimus apresentam baixa solubilidade e deve ser administrados por via oral (Vignot et al., 2005, Le Tourneau et al., 2008).

O temsirolimus é um éster do ácido dihidroximetilpropiónico, pró-fármaco da rapamicina. Esta modificação faz com que o composto seja solúvel em água podendo ser administrada por via intravenosa. Após a injeção, o temsirolimus é rapidamente convertido

em rapamicina, o que provavelmente o torna responsável pelos seus efeitos farmacológicos. O everolimus tem uma cadeia de substituição O-(2-hidroxietyl) na posição C- 40 e o deforolimus tem um óxido de fosfina como substituto na mesma posição do anel de lactona da rapamicina (Jacinto et al., 2004).

Estes compostos são metabolizados no fígado pelo sistema enzimático CYP450 (Le Tourneau et al., 2008). Apesar do mTOR desempenhar um papel central em muitos processos biológicos, os rapalogs são geralmente bem tolerados. Os efeitos tóxicos incluem astenia, mucosite, náuseas, toxicidade cutânea, diarreia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, trombocitopenia, transaminases elevadas, hiperglicemia e pneumonite (Hidalgo et al., 2006, Yee et al., 2006, Atkins et al., 2004). A toxicidade foi mais comum com doses mais elevadas em alguns estudos (Chan et al., 2005).

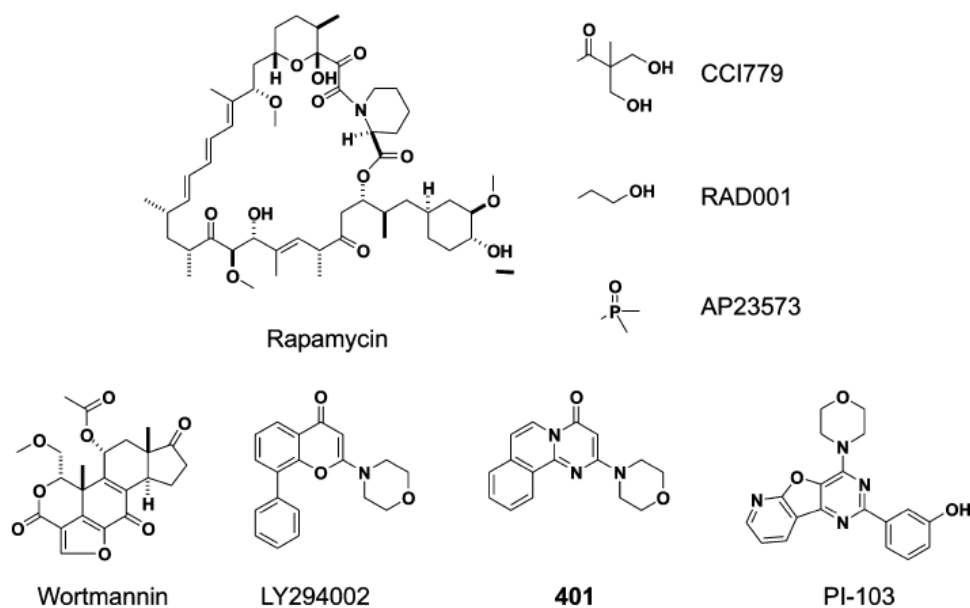


Figura 9 Estrutura química da rapamicina e inibidores do mTOR (adaptado de (Ballou e Lin, 2008)).

Estudos pré-clínicos indicaram que estes compostos têm atividade citostática como agentes únicos em modelos animais e têm efeitos sinérgicos, em combinação com agentes citotóxicos convencionais, com tamoxifeno ou com radiação. Em estudos clínicos, estes compostos têm demonstrado atividade em muitos tipos dos cancros sólidos (Granville et al., 2006). Um estudo muito recente demonstrou atividade antitumoral da rapamicina em pacientes com recorrência de glioblastoma por deficiência de PTEN (Cloughesy et al., 2008). Em estudos clínicos de Fase II, o temsirolimus surtiu efeito em pacientes com carcinoma de células renais e glioblastoma, e que foram previamente tratados com a terapia padrão (Galanis et al, 2005, Chan et al, 2005). A combinação de temsirolimus com o inibidor da aromatase, o letrozol, é atualmente empregue no tratamento do cancro de mama metastático em estudos de fase III. O tratamento com everolimus aumentou o efeito da quimioterapia em pacientes com recaída de cancro do pulmão de não pequenas células e tumor estromal gastrointestinal refratário (Granville et al., 2006).

O deforolimus é um derivado da rapamicina que contém fósforo na sua composição, desenvolvido em formulações administradas por via intravenosa e por via oral.

Semelhante ao temsirolimus e ao everolimus, o deforolimus apresenta atividade antiproliferativa numa variedade de linhagens celulares cancerosas deficientes em *PTEN*, incluindo o glioblastoma, o cancro da próstata, mama, pulmão, pâncreas e células do cólon (Rowinsky, 2004).

O *status* de ativação das sinalizações localizadas a montante e a jusante da via mTOR parece afetar profundamente a resposta ao tratamento com inibidores do mTOR. A insulina e os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF-I/II), inibem especificamente a apoptose celular induzida pela rapamicina; também a combinação dos inibidores do recetor IGF com os inibidores mTOR podem reprimir seletivamente o crescimento de tumores com expressão de IGF ou insulina elevadas (Thimmaiah et al., 2003).

Em células com deficiência de *PTEN*, a ativação de AKT aumenta a atividade de p70S6K1, a atividade e a fosforilação de 4EBP, e a expressão de c-myc.

As células que apresentam esta deficiência, que depende da ativação do mTOR para a proliferação celular, são por isso mais suscetíveis ao tratamento com inibidores do mTOR (Neshat et al, 2001, Huang et al, 2003a, Shi et al, 2002). Do mesmo modo, o desenvolvimento de tumores em pacientes com *tuberous sclerosis syndrome* pode ser sensível ao tratamento com estes inibidores. A expressão ectópica de p53 ou p21 protege as células da apoptose induzida pela rapamicina através da ativação da cinase 1 reguladora de sinais apoptóticos (ASK1), o que implicaria que os inibidores mTOR tivessem um forte efeito terapêutico na ausência da atividade/expressão de p53 ou p21 (Huang et al., 2003b).

### 8.12 O mTOR como alvo terapêutico

A rapamicina complexa com a proteína intracelular associada à FK506, a FKBP12, antes de se ligar ao domínio de ligação rapamicina-FKBP12 do mTOR. Este domínio parece ser paralelo ao domínio cinase-mTOR, inibindo desta maneira a fosforilação de S6K, p70 e 4E-BP1 resultando no bloqueio do ciclo celular em G1 (Panwalkar, et al., 2004, Gingras et al., 2001, Tee e Blenis, 2005). Apesar do mecanismo pelo qual a

rapamicina inibe a atividade do mTOR ser pouco claro, uma hipótese sugere que funcionará através da desestabilização do complexo mTOR-raptor, interferindo deste modo com as proteínas reguladoras do mTOR ou pela ativação de fosfatases contra as moléculas que se encontram a jusante (Gingras et al., 2001, Tee e Blenis, 2005).

A rapamicina inibe principalmente o mTORC1, apesar que a exposição prolongada tem demonstrado que perturba tanto o mTORC2 como a sinalização Akt (Sabatini, 2006).

Os rapalogs utilizam o mesmo mecanismo inibitório demonstrado pela rapamicina e a sua capacidade antitumoral é considerada muito eficaz. A inibição do mTOR sobre o crescimento tumoral tem obtido taxas de maior sucesso com a utilização do temsirolimus em pacientes com carcinoma de células renais metastático, inibidor recentemente aprovado pela FDA para o tratamento desta doença (Garcia e Danielpour, 2008, Hudes et al., 2006, Atkins et al., 2004). Ainda que a expansão dos ensaios clínicos na avaliação da inibição do mTOR em carcinoma urotelial da bexiga, tem sido lenta, a necessidade de novas terapias para o tratamento do cancro da bexiga faz do mTOR, um alvo interessante e potencial para o desenvolvimento de novos estudos no futuro (Garcia e Danielpour, 2008).

### *8.13 Os análogos da rapamicina usados em ensaios clínicos como agentes únicos*

Atualmente, encontram-se em curso ensaios clínicos, com vários tipos de tumores, com a rapamicina e os seus análogos: temsirolimus (Torisel, CCI-779, a Wyeth Pharmaceuticals, Madison, NJ), everolimus (RAD001, Novartis, Basel, Suíça) e o deforlimus (AP23573, Ariad Pharmaceuticals, Cambridge, MA).

Carcinoma Urotelial da Bexiga e Via de Sinalização mTOR

Study Treatment	Phase	Disease	No. of Patients	Objective Response (PR or CR, %)
Hudes, 2007 <sup>43</sup>	III	RCC		
Temsirolimus (25 mg IV qwk)			209*	8.6
Interferon			207*	4.8
Temsirolimus + interferon			210*	8.1
Motzer, 2008 <sup>44</sup>	III	RCC		
Everolimus (10 mg po qd)			272*	1
Placebo			138*	0
Hess, 2008 <sup>48</sup>	III	Mantle-cell lymphoma		
Temsirolimus (175 mg × 3 doses, followed by 75 mg qwk)			54*	22
Temsirolimus (mg × 3 doses, followed by 25 mg qwk)			54*	6
Investigator's choice			54*	2
Galanis, 2005 <sup>105</sup>	II	GBM		
Temsirolimus (250 mg IV qwk)			64†	0‡
Atkins, 2004 <sup>41</sup>	II	RCC		
Temsirolimus (250 mg IV qwk)			37*	8.1
Temsirolimus (75 mg IV qwk)			38*	7.9
Temsirolimus (25 mg IV qwk)			36*	5.6
Witzig, 2005 <sup>46</sup>	II	Mantle-cell lymphoma		
Temsirolimus (250 mg IV qwk)			34†	38
Chan, 2005 <sup>42</sup>	II	Breast cancer		
Temsirolimus (250 mg IV qwk)			54*	7.4
Temsirolimus (75 mg IV qwk)			55*	10.9
Margolin, 2005 <sup>106</sup>	II	Melanoma		
Temsirolimus (250 mg IV qwk)			33†	3
Duran, 2006 <sup>67</sup>	II	Neuroendocrine		
Temsirolimus (25 mg IV qwk)			36*	5.6
Chawla, 2006 <sup>50</sup>	II	Sarcoma		
Deforolimus (12.5 mg IV qd × 5, every 2 wks)			193†	3¶
Colombo, 2007 <sup>51</sup>	II	Endometrial cancer		
Deforolimus (12.5 mg IV qd × 5, every 2 wks)			27†	7
Pandya, 2007 <sup>68</sup>	II	SCLC		
Temsirolimus (250 mg IV qwk)			41†	0
Temsirolimus (25 mg IV qwk)			44†	2.3
Smith, 2008 <sup>47</sup>	II	Lymphoma (non-mantle-cell, non-Hodgkins')		
Temsirolimus (25 mg IV qwk)			74*	35
Rizzieri, 2008 <sup>107</sup>	II	Hematologic malignancies		
Deforolimus (12.5 mg IV qd × 5, every 2 wks)			52†	10
Slomovitz, 2008 <sup>62</sup>	II	Endometrial		
Everolimus (10 mg po qd)			25†	0¶
Ansell, 2008 <sup>45</sup>	II	Mantle-cell lymphoma		
Temsirolimus (25 mg IV qwk)			27†	41

Abbreviations: PR, partial response; CR, complete response; RCC, renal cell carcinoma; IV, intravenously; po, by mouth; qd, every day; qwk, every week; GBM, glioblastoma multiforme; SCLC, small-cell lung cancer.  
\*No. of intent-to-treat patients.  
†No. of assessable patients.  
‡Thirty-six percent of patients had evidence of improvement on neuroimaging.  
§Stable disease in 25% of patients.  
||Stable disease in 26% of patients.  
¶Stable disease in 44% of patients.

Tabela 4 Ensaios clínicos em curso com rapalogs (adaptado de (Meric-Bernstam e Gonzalez-Angulo, 2009)).

Num estudo multicêntrico de fase III, os pacientes sem tratamento prévio, com prognóstico delicado em carcinoma de células renais metastático foram randomizados para receber 25 mg de temsirolimus por via intravenosa semanalmente, o interferão alfa, ou a terapia combinada (Hudes et al., 2007).

Os pacientes que receberam apenas o temsirolimus demonstraram uma sobrevida global e uma sobrevida livre de progressão significativamente mais elevadas comparativamente aos pacientes que receberam apenas interferão (Tabela 3). A sobrevida global no grupo de combinação não diferiu significativamente da do grupo ao qual foi administrado interferão. A sobrevida global média com temsirolimus, interferão, e a combinação foi de 10,9, 7,3 e 8,4 meses, respetivamente. A FDA, aprovou o temsirolimus para o tratamento de carcinoma de células renais metastático com mau prognóstico em 2007. Recentemente, um ensaio clínico de fase III do everolimus, randomizado,

duplo-cego, controlado por placebo, foi realizado em pacientes com carcinoma de células renais cuja doença progrediu em terapia direcionada para VEGFR (Motzer et al., 2008). Numa segunda análise interina, o ensaio mostrou uma diferença significativa na eficácia e foi interrompido. A taxa de risco foi de 0,3 (95% CI, 0,22 para 0,4;  $P < 0,0001$ ) e a progressão livre de sobrevivência média foi de 4 meses para o everolimus versus 1,8 meses para o controlo. A probabilidade de estar livre de progressão em 6 meses foi de 26% para o everolimus e 2% para o placebo. Os rapalogs administrados como agentes únicos, demonstraram claramente atividade sobre linfomas. Estudos de fase II mostraram taxas de resposta objetivas de 38% para 41% em linfoma de células do manto (Ansell et al., 2008, Witzig et al., 2005) e 35% em linfoma não Hodgkin de células do manto (Smith et al., 2008).

Um ensaio clínico de fase III em linfoma das células do manto refratário demonstrou uma taxa de resposta global de 22% com o temsirolimus, administrado 175 mg por semana durante 3 semanas seguido de 75 mg semanalmente, comparado com 2% para o tratamento de escolha do investigador ( $P = 0,0019$ ). (Hess et al., 2008) As taxas de sobrevida livre de progressão foram 4,8 meses com a dose semanal de temsirolimus de

75 mg e 1,9 meses com o tratamento de escolha dos investigadores (P= 0,009) (Hess et al., 2008). Em pacientes com transplante renal, a rapamicina conduziu a regressão do sarcoma de Kaposi (Stallone et al., 2005). Numa análise preliminar de estudos de fase II, os rapalogs também demonstraram constituir uma promessa em pacientes com sarcoma e cancro endometrial (Chawla et al., 2006, Colombo et al., 2007).

Como demonstrado em estudos pré-clínicos, (Mondesire et al., 2004) os rapalogs usados isoladamente são citostáticos numa variedade de tumores e clinicamente podem estabilizar a doença.

No entanto os inibidores de mTOR, a rapamicina ou os seus análogos, como já foi dito exercem um efeito antitumoral como agentes únicos mas podem exibir efeitos sinérgicos, em combinação com outros fármacos quimioterápicos. Nesse sentido já estão a ser estudadas novas combinações estão e resumidas na Tabela 5.

Condition	Rapalogs	Drug sensitized	References
<b>Basic research</b>			
Breast cancer with AKT activation	RAD001	Letrozole and Fulvestrant	Beeram et al. (2007)
Breast cancer with aberrant AKT activity	Rapamycin, CCI-799	Tamoxifen	DeGraffenried et al. (2004)
Bronchial and peripheral murine lung carcinomas	Rapamycin	HKI-272 (a TKI)	Li et al. (2007)
Squamous cell carcinoma of the head and neck	CCI-799	Erlotinib	Jimeno et al. (2007)
PTEN-deficient and PTEN-intact glioblastoma cells	Rapamycin	Erlotinib	Wang et al. (2006a)
Bcr/Abl-positive leukemia cells	Rapamycin, RAD001	Imatinib	Dengler et al. (2005)
Bcr/Abl-transformed myeloid and lymphoid cells	Rapamycin	Imatinib	Mohi et al. (2004)
Small cell lung cancer	Rapamycin	Imatinib	Tsurutani et al. (2005)
Small cell lung cancer	CCI-799	Cisplatin	Wu et al. (2005)
NSCLC	Rapamycin	Cisplatin	Liu et al. (2007)
HER2/neu-overexpressing breast cancer cells	Rapamycin	Paclitaxel and carboplatin	Mondesire et al. (2004)
B-cell neoplasm multiple myeloma (MM)	Rapamycin	Dexamethasone	Stromberg et al. (2004)
PTEN-negative/Akt active prostate cancer	CCI-799	Doxorubicin	Grunwald et al. (2002)
<b>Preclinical study</b>			
PTEN loss ErbB2-overexpressing breast cancer	RAD001	Trastuzumab	Lu et al. (2007)
<b>Phase II study</b>			
Breast cancer	CCI-779 or RAD001	Letrozole	Chollet et al. (2006)

TKI: EGFR tyrosine kinase inhibitor; NSCLC: non-small cell lung cancer.

Tabela 5 Combinações entre fármacos quimioterápicos e os inibidores do mTOR (adaptado de (Jing e Lui, 2008)).

## **IX. Conclusão e futuras direções**

Em conclusão, sublinha-se a relevância do carcinoma da bexiga, o tumor maligno mais comum envolvendo o sistema urinário, no contexto da doença oncológica. Este tumor maligno ocorre, na grande maioria dos casos, sob a variante urotelial. Cerca de 70%-80% dos carcinomas uroteliais são superficiais dos quais 10 a 15% recidivam e progridem para formas invasoras. Por outro lado, 20-30% dos carcinomas uroteliais são invasores. Assim, constata-se que uma parte significativa dos carcinomas uroteliais da bexiga adquire capacidade de metastização. Para os carcinomas uroteliais invasivos ou metastáticos, verifica-se que os esquemas terapêuticos atualmente empregues no tratamento de primeira linha produzem resultados medianos ou ineficazes. São poucos os pacientes que conseguem sobreviver a longo prazo e não há nenhum regime de segunda linha que esteja comprovado como sendo eficaz. A terapia para manter e prolongar uma resposta terapêutica favorável usando um agente tolerável após quimioterapia de primeira linha, é desejável, estudando-se para tal novos agentes. Ambiciona-se atingir a manutenção ou a consolidação da resposta, e obter-se um perfil de efeitos secundários o mais suportável possível.

O mTOR desempenha um papel central na resposta celular a fatores de crescimento e ativação de recetores mediante as vias de sinalização PI3K/AKT e Ras/MEK e na resposta a nutrientes e stress através da via de sinalização AMPK/LKB1. Também está envolvido na síntese de proteínas, na proliferação e sobrevivência celular e nos mecanismos de resistência a múltiplos fármacos das células cancerígenas e moléculas a montante de sinalização do mTOR, incluindo o EGFR, IGF-1R, PI3K, PTEN e AKT que se encontram frequentemente mutados no cancro humano.

Vários fatores dentro da cascata de sinalização mTOR parecem estar alterados no carcinoma da bexiga e apresentam potencial valor preditivo da doença ou como marcadores relacionados com a terapêutica. Estes fatores poderão ter um papel como agentes únicos ou multimodais para a terapia do carcinoma da bexiga.

O tratamento com inibidores do mTOR como agentes únicos, pode inibir a proliferação celular do cancro e induzir a apoptose e morte celular. A combinação entre os rapalogs com outros agentes terapêuticos tem frequentemente efeitos sinérgicos na inibição do crescimento do tumor em modelos experimentais e, em alguns ensaios clínicos. Os inibidores do mTOR podem modular certos tipos de resistência em tratamento quimioterápico de cancros refratários. A inibição da sinalização do mTOR, por conseguinte, fornece evidências favoráveis no tratamento do cancro. Atualmente, existem três análogos de rapamicina promissores em ensaios clínicos para o tratamento do cancro humano. O desafio imediato que se pretende é determinar se ou como estes inibidores podem ser aplicados a um determinado tumor de uma maneira altamente específica com poucos efeitos adversos e como selecionar os pacientes mais sensíveis entre as diferentes origens genéticas.

A pesquisa em curso é importante para delinear claramente o papel desta via no carcinoma da bexiga não só para compreender a biologia da doença subjacente, mas também para identificar novos agentes que podem ser usados para fins terapêuticos.

No entanto, novas combinações devem ser administradas apenas no contexto do ensaio clínico, uma vez que não está provado que os esquemas terapêuticos que resultam numa determinada doença maligna possam funcionar eficazmente em pacientes portadores de carcinoma da bexiga.

Como podemos comprovar, apesar de resultados francamente favoráveis em vários ensaios clínicos, existe um grande caminho para a investigação envolvendo a via mTOR e o carcinoma da bexiga de forma a esclarecer e a identificar novos agentes que possam ser utilizados com finalidades terapêuticas.

## **X. Bibliografia**

Abou-El-Ghar, M. E., et al. (2009). Bladder Cancer: diagnosis with diffusion-weighted MR imaging in patients with gross hematuria. *Radiology*. 251(2), pp.15-21.

Abraham, R.T. (2002). Identification of TOR signaling complexes: more TORC for the cell growth engine. *Cell*, 111(1), pp. 9–12.

Abraham, R., et al. (2007). Chromosomal deletions in bladder cancer: shutting down the pathways. *Frontiers in Bioscience*, 12, pp. 826–838.

Albers, P., et al. (2002). German TCC Study Group of the German Association of Urologic Oncology. Gemcitabine monotherapy as second-line treatment in cisplatin-refractory transitional cell carcinoma - prognostic factors for response and improvement of quality of life. *Onkologie*, 25(1), pp. 47-52.

Algaba, F. e Trias, I. (2000). Morfobiologia de las neoplasias superficiales de la vejiga urinaria. In: Vicente, J., Chechile, G. e Salvador, J. (Ed.). *Tumores vesicales superficiales*. 1ª edição. Madrid, Edita Acción Médica, pp 17-45.

Altomare, D.A. e Testa, J.R.(2005). Perturbations of the AKT signaling pathway in human cancer. *Oncogene*, 24, pp. 7455–7464.

Ansell, S. M., et al. (2008). Low-dose, single-agent temsirolimus for relapsed mantle cell lymphoma: A phase II trial in the North Central Cancer Treatment Group. *Cancer*, 113, pp. 508-514.

Ardavanis, A., et al. (2005). Gemcitabine and Docetaxel as First-Line Treatment for Advanced Urothelial Carcinoma: A Phase II Study. *British Journal of Cancer*, 92, pp. 645–650.

Armstrong, R.N. (1997). Glutathione-S-transferases. In: Guengerich, F.P. (Ed.). *Comprehensive Toxicology: Biotransformation*. New York, Elsevier Science, pp. 307–327.

Arslan, H., et al. (2006). Virtual computed tomography cystoscopy in bladder pathologies. *International Brazilian Journal of Urology*, 32, pp. 147–154.

Arslan, M.A., Kutuk, O. e Basaga, H. (2006). Protein kinases as drug targets in cancer. *Current Cancer Drug Targets*, 6, pp. 623-34.

Atkins, M.B., et al. (2004). Randomized phase II study of multiple dose levels of CCI-779, a novel mammalian target of rapamycin kinase inhibitor, in patients with advanced refractory renal cell carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*, 22, pp. 909-918.

Augustine, A., et al. (1998). Bladder Cancer in relation to Cigarette smoking. *Cancer Research*, 48, pp. 4405-1998.

Aveyard, J. S., et al. (1999). Somatic mutation of PTEN in bladder carcinoma. *British Journal of Cancer*, 80, pp. 904–908.

Avritscher, E.B., et al. (2006). Clinical model of lifetime cost of treating bladder cancer and associated complications. *Urology*, 68, pp. 549–553.

Babjuk, M., et al. (2008). EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *European Urology*, 54, pp. 303-314.

Babjuk, M., et al. (2011). EAU Guidelines on Non-Muscle-Invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder, the 2011 Update. *European Urology*. 59, pp. 997-1008;

Bamford, S., et al. (2004). The COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) database and website. *British Journal of Cancer*, 91, pp. 355–358.

Barentsz, J.O., et al. (1996). Primary staging of urinary bladder carcinoma: the role of MRI and a comparison with CT. *European Radiology*, 6(2), pp. 129–133.

Beer, A., et al. (2004). MR cystography for bladder tumor detection. *European Radiology*, 14(12), pp. 2311–2319.

Beer, T.M., et al. (2008). Southwest Oncology Group Phase II Study of Irinotecan in Patients with Advanced Transitional Cell Carcinoma of the Urothelium That Progressed after Platinum-Based Chemotherapy. *Clinical Genitourinary Cancer*, 6, pp. 36–39.

Bellmunt, J., et al. (1997). Carboplatin-Based Versus Cisplatin-Based Chemotherapy in the Treatment of Surgically Incurable Advanced Bladder Carcinoma. *Cancer*, 80, pp. 1966–1972.

Bellmunt, J., et al. (2007a). Randomized Phase III Study Comparing Paclitaxel/Cisplatin/Gemcitabine (Pcg) and Gemcitabine/Cisplatin (Gc) in Patients with Locally Advanced (La) or Metastatic (M) Urothelial Cancer without Prior Systemic

Therapy; Eortc30987/Intergroup Study. *Journal of Clinical Oncology*, 25, pp. LBA5030–LBA5030.

Bellmunt, J., Albiol, S. e Kataja, V. (2009). Invasive bladder cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 20, pp. 79-80.

Bellmunt, J., et al. (2009). Phase III trial of vinflunine plus best supportive care compared with best supportive care alone after a platinum-containing regimen in patients with advanced transitional cell carcinoma of the urothelial tract. *Journal of Clinical Oncology*, 27(27), pp. 4454-61.

Bellmunt, J., et al. (2010). Prognostic factors in patients with advanced transitional cell carcinoma of the urothelial tract experiencing treatment failure with platinum-containing regimens. *Journal of Clinical Oncology*, 28, pp. 1850–1855.

Berlac, P. A. e Holm, H.H. (1992). Bladder tumor control by abdominal ultrasound and urine cytology. *Journal of Urology*, 147(6), pp. 1510–1512.

Bevers, R.F., Kurth, K.H. e Schamhart, D.H. (2004). Role of urothelial cells in BCG immunotherapy for superficial bladder cancer. *British Journal of Cancer*, 4, pp. 607-12.

Bjornsti, M.A. e Houghton, P.J. (2004). The TOR pathway: a target for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 4, pp. 335–348.

Blume-Jensen, P. e Hunter, T.(2001). Oncogenic kinase signalling. *Nature*, 411, pp. 355–365.

Bosetti, C., Pira, E. e Vecchia, C.L. (2005). Bladder cancer risk in painters: a review of the epidemiological evidence, 1989-2004. *Cancer Causes Control*, 16(9), pp. 997-1008.

Bouchelouche, K. e Oehr, P. (2008). Positron emission tomography and positron emission tomography/computerized tomography of urological malignancies: an update review. *Journal of Urology*, 179, pp. 34–45.

Broxterman, H.J. e Georgopapadakou, N.H. (2007). Anticancer therapeutics: a surge of new developments increasingly target tumor and stroma. *Drug Resistance Updates*, 10, pp. 182–193.

Brown, E.J., et al.(1994). A mammalian protein targeted by G1-arresting rapamycin–receptor complex. *Nature*, 369, pp. 756–758.

Bruwer, A., Bargen, J.A. e Kierland, R.R. (1954). Surface pigmentation and generalized intestinal polyposis (Peutz–Jeghers syndrome). *Mayo Clinic*, 29, pp. 168–171.

Burchell, B., et al. (1997). UDP-Glucuronosyl-transferases. *In: Guengerich, F.P. (Ed). Comprehensive Toxicology: Biotransformation* . Oxford, UK, Elsevier Science, 3, pp. 401–435.

Burger, M., et al. (2012). Epidemiology and Risk Factors of Urothelial Bladder Cancer. *European Urology*.

Buzzeo, B. D., Heisey, D. M. e Messing, E. M. (1997). Bladder cancer in renal transplant recipients. *Urology*, 50(4), pp. 525–528.

Cantley, L.C. (2002). The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*, 296, pp. 1655–1657.

Carreon, T., et al.(2006). The genetic and environmental factors involved in benzidine metabolism and bladder carcinogenesis in exposed workers. *Frontiers in Bioscience*, 11, pp. 2889-2902.

Castelao, J., et al. (2001). Gender- and smoking- related bladder cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 93, pp. 538-545.

Castellvi, J., et al. (2006). Phosphorylated 4E binding protein 1: a hallmark of cell signaling that correlates with survival in ovarian cancer. *Cancer*, 107, pp. 1801–1811.

Chan, S., et al. (2005). Phase II study of temsirolimus (CCI-779), a novel inhibitor of mTOR, in heavily pretreated patients with locally advanced or metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 23, pp. 5314-22.

Chawla, S.P., et al. (2006). Updated results of a phase II trial of AP23573, a novel mTOR inhibitor, in patients (pts) with advanced soft tissue or bone sarcomas. *Journal of Clinical Oncology*, 24(18s), pp. 9505.

Chen, C.N., et al. (2004). Expression of eukaryotic initiation factor 4E in gastric adenocarcinoma and its association with clinical outcome. *Journal of Surgical Oncology*. 86, pp. 22–27.

Chen, F., et al. (2009). MB49 murine urothelial carcinoma: molecular and phenotypic comparison to human cell lines as a model of the direct tumor response to bacillus Calmette-Guerin. *Journal of Urology*, 6, pp. 2932-7.

Chen, M., et al. (2009). Genetic variations in PI3K-AKT-mTOR pathway and bladder cancer risk. *Carcinogenesis*, 30, pp. 2047–2052.

Chiou, H.Y., et al.(2001). Incidence of transitional cell carcinoma and arsenic in drinking water: a follow-up study of 8,102 residents in an arseniasis-endemic area in northeastern Taiwan. *American Journal of Epidemiology*. 153, pp. 411–418.

Chiu, M.I., Katz,H. e Berlin, V. (1994). RAPT1, a mammalian homolog of yeast Tor, interacts with the FKBP12/rapamycin complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, pp. 12574–12578.

Cho, D., et al. (2007). Potential histologic and molecular predictors of response to temsirolimus in patients with advanced renal cell carcinoma. *Clinical Genitourinary Cancer*, 5, pp. 379–385.

Chrysochou, C., et al. (2010). Low risk for nephrogenic systemic fibrosis in nondialysis patients who have chronic kidney disease and are investigated with gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 5.

Cichowski, K. e Jacks, T. (2001). NF1 tumor suppressor gene function: narrowing the GAP. *Cell*, 104, pp. 593–604.

Cloughesy, T.F., et al., 2008. Antitumor activity of rapamycin in a Phase I trial for patients with recurrent PTEN-deficient glioblastoma. *PLoS Medicine*, 5, pp.e8.

Cohen S, Johansson S. (1992). Epidemiology and etiology of bladder cancer. *Urologic Clinics of North America*, 19(3), pp. 421-428.

Cookson, M. S. (1997). The treated natural history of high risk superficial bladder cancer: 15-year outcome. *Journal of Urology*, 158(1), pp. 62-67.

Colombo, N., et al. (2007). A phase II trial of the mTOR inhibitor AP23573 as a single agent in advanced endometrial cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 25(18s), pp. 5516.

Cordon-Cardo C. (2008). Molecular alterations associated with bladder cancer initiation and progression. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 42(218), pp. 154–165.

Couch, F.J., et al. (1999). Localization of PS6K to chromosomal region 17q23 and determination of its amplification in breast cancer. *Cancer Research*, 59, pp. 1408–1411.

Crew, J.P., et al. (2000). Eukaryotic initiation factor-4E in superficial and muscle invasive bladder cancer and its correlation with vascular endothelial growth factor expression and tumour progression. *British Journal of Cancer*, 82, pp.161–166.

Culine, S., et al. (2006). A Phase II Study of Vinflunine in Bladder Cancer Patients Progressing after First-Line Platinum-Containing Regimen. *British Journal of Cancer*, 94(10), pp.1395–1401.

Dancey, J.E. (2006). Therapeutic targets: MTOR and related pathways. *Cancer Biology & Therapy*, 5, pp. 1065-73.

Datta, S.R., Brunet, A. e Greenberg, M.E. (1999). Cellular survival: a play in three Akts. *Genes & Development*, 13, pp. 2905–2927.

DeFatta, R.J. e De Benedetti, A. (2003). Translational upregulation of yes accompanies eIF4E-mediated oncogenic transformation. *International Journal of Oncology*, 23, pp. 1709–1713.

Delclos, G.L. e Lerner, S.P. (2008). Occupational risk factors. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 218, pp. 58–63.

Dennis, P.B., et al. (1996). The principal rapamycin-sensitive p70(s6k) phosphorylation sites, T-229 and T-389, are differentially regulated by rapamycin-insensitive kinase kinases. *Molecular Cell Biology*, 16, pp. 6242–6251.

Denzinger, S., et al. (2007). Clinically relevant reduction in risk of recurrence of superficial bladder cancer using 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence diagnosis: 8-year results of prospective randomized study. *Urology*, 69, pp. 675–679.

De Santis, M., et al. (2009). Randomized phase II/III trial assessing gemcitabine/carboplatin and methotrexate/carboplatin/vinblastine in patients with advanced urothelial cancer 'unfit' for cisplatin-based chemotherapy: phase II—results of EORTC study 30986. *Journal of Clinical Oncology*, 27, pp. 5634–5639.

Dibb, M.J., et al. (2001). Ultrasonographic analysis of bladder tumors. *Clinical Imaging*, 25(6), pp. 416–420.

Dogliotti, L., et al. (2007). Gemcitabine Plus Cisplatin Versus Gemcitabine Plus Carboplatin as First-Line Chemotherapy in Advanced Transitional Cell Carcinoma of the Urothelium: Results of a Randomized Phase 2 Trial. *European Urology*, 52, pp. 134–141.

D'Onofrio, M., et al. (2010). Ultrasonography of the pancreas. Milan, Springer.

Douros, J. e Suffness, M. (1981). New antitumor substances of natural origin. *Cancer Treatment Reviews*, 8, pp. 63-87.

Dreicer, R., et al. (2003). Phase II Trial of Gemcitabine and Docetaxel in Patients with Advanced Carcinoma of the Urothelium: A Trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Cancer*, 97, pp. 2743–2747.

Dreicer, R., et al. (2007). Phase 2 Trial of Etoposide B Analog Bms-247550 (Ixabepilone) in Advanced Carcinoma of the Urothelium (E3800): A Trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Cancer*, 110, pp. 759–763.

Duffel, M. (1997). Sulfotransferases *In: Guengerich, F.P. (Ed.). Comprehensive Toxicology: Biotransformation*. New York, Elsevier Science, pp. 365–384.

Dunlop, E.A. e Tee, A.R. (2009). Mammalian target of rapamycin complex 1: signalling inputs, substrates and feedback mechanisms. *Cellular Signalling*, 21(6), pp. 827–35.

Engelman, J.A., et al. (2006). The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nature Reviews Genetics*, 7, pp. 606–619.

Epstein, J.I., et al. (1998). The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. Bladder Consensus Conference Committee. *American Journal of Surgical Pathology*, 22(12), pp. 1435-1448.

Easton, J.B. e Houghton, P.J. (2006). mTOR and cancer therapy. *Oncogene*, 25, pp. 6436-46.

Fang, J., et al. (2005). Apigenin inhibits VEGF and HIF-1 expression via PI3K/AKT/p70S6K1 and HDM2/p53 pathways. *FASEB Journal*, 19, pp. 342–353.

Faivre, S., Kroemer, G. e Raymond, E. (2006). Current development of mTOR inhibitors as anticancer agents. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5, pp. 671–688.

Feldman, A.R., et al. (1986). The prevalence of Cancer: Estimates based on the Connecticut Tumor Registry. *The New England Journal of Medicine*. 315(22), pp.1394-1397.

Feng, Z., et al. (2005). The coordinate regulation of the p53 and mTOR pathways in cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, pp. 8204–8209.

Ferlay, J. et al. (2001). GLOBOCAN 2000 Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. *International Agency for Research on Cancer CancerBase*, 5.

Ferlay, J., et al. (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer*, 127(12), pp. 2893–2917.

Ferlay, J., et al. (2004). *GLOBOCAN 2002: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide*. Lyon, IARC Press.

Frank, I., et al. (2003). Transitional cell carcinoma of the urinary bladder with regional lymph node involvement treated by cystectomy: clinicopathologic features associated with outcome. *Cancer*, 97(10), pp. 2425-2431.

Galanis, E., et al. (2005) Phase II trial of temsirolimus (CCI-779) in recurrent glioblastoma multiforme: a North Central Cancer Treatment Group Study. *Journal Clinical Oncology*, 23, pp. 5294-304.

Gao, X., et al. (2002). Tsc tumour suppressor proteins antagonize aminoacid-TOR signalling. *Nature Cell Biology*, 4, pp. 699–704.

Gao, N., et al. (2004a). G1 cell cycle progression and the expression of G1 cyclins are regulated by PI3K/AKT/mTOR/p70S6K1 signaling in human

ovarian cancer cells. *American Journal of Physiology- Cell Physiology*, 287, pp. C281–C291.

Gao, N., et al. (2004b). Arsenite induces HIF-1alpha and VEGF through PI3K, Akt and reactive oxygen species in DU145 human prostate carcinoma Cells, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 255, pp. 33–45.

Garcia, J.A. e Danielpour, D. (2008). Mammalian target of rapamycin inhibition as a therapeutic strategy in the management of urologic malignancies. *Molecular Cancer Therapeutics*, 7, pp. 1347–1354.

Gebbia, V., et al. (1999). Single agent 2',2'-difluorodeoxycytidine in the treatment of metastatic urothelial carcinoma: a phase II study. *Clinical Therapeutics*, 150(1), pp. 11-5.

Geoffroy-Perez, B. e Cordier, S. (2001). Fluid consumption and the risk of bladder cancer: results of a multicenter case-control study. *International Journal of Cancer*, 93, pp. 880–887.

Georgakis, G.V. e Younes, A. (2006). From Rapa Nui to rapamycin: targeting PI3K/Akt/mTOR for cancer therapy. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 6, pp. 131-40.

Giannakopoulos, S., et al. (1998), Efficacy of escalating doses of intravesical interferon  $\alpha$ -2b in reducing recurrence rate and progression in superficial transitional cell carcinoma. *British Journal of Urology*, 82, pp. 829–834.

Gildea, J.J., et al. (2004). PTEN can inhibit in vitro organotypic and in vivo orthotopic invasion of human bladder cancer cells even in the absence of its lipid phosphatase activity. *Oncogene*, 23, pp. 6788–6797.

Gildea, J.J., et al. (2002). The role of Ral A in epidermal growth factor receptor-regulated cell motility. *Cancer Research*, 62, pp. 982–985.

Gilligan, T.D., et al. (2003). Bladder Cancer. In : Kufe, D.W., et al. (Ed.). *Cancer Medicine*. Sixth edition, B.C. Decker Inc. Hamilton.

Gingras, A., Raught, B. e Sonenberg, N. (2001). Regulation of translation initiating by FRAP/mTOR. *Genes & Development*, 15, pp. 807–826.

Golijanin, D.J., et al.(2006). Chemoprevention of bladder cancer. *World Journal of Urology*, 24, pp. 445–472.

Granville, C.A., et al. (2006). Handicapping the race to develop inhibitors of the phosphoinositide 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin pathway. *Clinical Cancer Research*, 12, pp. 679–689.

Greene, F.L., et al. (2002). *AJCC Cancer Staging Manual*. Sixth edition. New York, Springer Verlag.

Griffiths, T. R. L. e Mellon, J. K. (2000). Human papillomavirus and urological tumours: II. Role in bladder, prostate, renal and testicular cancer. *BJU International*, 85(2), pp. 211–217.

Grobner, T. (2006). Gadolinium—a specific trigger for the development of nephrogenic fibrosing dermopathy and nephrogenic systemic fibrosis?. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21, pp. 1104–1108.

Grossfeld, G.D., et al. (2001). Asymptomatic microscopic hematuria in adults: summary of the AUA best practice policy recommendations. *American Family Physician*, 63, pp. 1145–1154.

Grossman, H. B., et al. (2003). Neoadjuvant Chemotherapy Plus Cystectomy Compared with Cystectomy Alone for Locally Advanced Bladder Cancer. *New England Journal of Medicine*, 349, pp. 859-866.

Guengerich F. P. (2001). Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity . *Chemical Research in Toxicology*, 14, pp. 611–650.

Hansel, D. E., et al. (2010). Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) regulates cellular proliferation and tumor growth in urothelial carcinoma. *American Journal of Pathology*, 176, pp. 3062–3072.

Haruta, T., et al. (2000). A rapamycin-sensitive pathway down-regulates insulin signaling via phosphorylation and proteasomal degradation of insulin receptor substrate-1. *Molecular Endocrinology*, 14, pp. 783–794.

Harrington, L.S., Findlay, G.M. e Lamb, R.F. (2005). Restraining P13K: mTOR signaling goes back to the membrane. *Trends in Biochemical Sciences*, 30, pp. 35–42.

- Hay, N. e Sonenberg, N. (2004). Upstream and downstream of mTOR. *Genes & Development*, 18, pp. 1926–1945.
- Hecht, S.S. (1999). Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 19.
- Hemminki, A., et al. (1998). A serine/threonine kinase gene defective in Peutz–Jeghers syndrome. *Nature*, 391, pp. 184–187.
- Hennessy, B.T., et al. (2005). Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4, pp. 988–1004.
- Herr, H.W. e Schneider, M. (2001). Outpatient flexible cystoscopy in men: a randomized study of patient tolerance. *Journal of Urology*, 165, pp. 1971–1972.
- Herr, H., et al. (2004). Surgical factors influence bladder cancer outcomes: a cooperative group report. *Journal Clinical Oncology*, 22(14), pp. 2781-2789.
- Herr, H., et al. (2007). Defining Optimal Therapy for Muscle Invasive Bladder Cancer. *The Journal of Urology*, 177(2), pp. 437-443.
- Hess, G., et al. (2008). Phase III study of patients with relapsed, refractory mantle-cell lymphoma treated with temsirolimus compared with investigator’s choice therapy. *Journal of Clinical Oncology*, 26(15s), pp. 8513.
- Hidalgo, M., et al. (2006). A phase I and pharmacokinetic study of temsirolimus

(CCI-779) administered intravenously daily for 5 days every 2 weeks to patients with advanced cancer. *Clinical Cancer Research*, 12, pp. 5755-5763.

Higby, D. J., et al. (1973). Cis-diamminedichloroplatinum (NSC-119875): a phase I study. *Cancer Chemotherapy Reports*, 57(4), pp. 459-463.

Higby, D. J., et al. (1974). Diaminodichloroplatinum: a phase I study showing responses in testicular and other tumors. *Cancer*, 33(5), pp. 1215-1219.

Hill, M.M. e Hemmings, B.A. (2002). Inhibition of protein kinase B/Akt. implications for cancer therapy. *Pharmacology & Therapeutics*, 93, pp. 243-51.

Hinotsu, S., et al. (2009). Bladder cancer develops 6 years earlier in current smokers: analysis of bladder cancer registry data collected by the cancer registration committee of the Japanese Urological Association. *International journal of urology official journal of the Japanese Urological Association*, 16(1), pp. 64-69.

Hoffmann, D. e Hecht, S.S. (1990). Advances in tobacco carcinogenesis. In: Cooper, C.S. e Grover, P.L. (Ed.). *Handbook of experimental pharmacology*. Germany. Springer-Verlag, pp. 63-102.

Hoffmann, D., Hoffmann, I. e El-Bayoumy, K.(2001). The less harmful cigarette: a controversial issue. A tribute to Ernst L. Wynder. *Chemical Research in Toxicology*, 14(7), pp. 767-90.

Holz, M.K. e Blenis, J. (2005). Identification of S6 kinase 1 as a novel mammalian target of rapamycin (mTOR)-phosphorylating kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 280, pp. 26089–26093.

Houshmandi, S.S. e Gutmann, D.H. (2007). All in the family: using inherited cancer syndromes to understand de-regulated cell signaling in brain tumors. *Journal of Cellular Biochemistry*, 102, pp. 811–819.

Howe, H. L., et al.(2006). Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2003, featuring cancer among U.S. Hispanic/Latino populations. *Cancer*, 107(8), pp. 1711-42.

Huang, S., Bjornsti, M.A. e Houghton, P.J.(2003a). Rapamycins: mechanism of action and cellular resistance. *Cancer Biology & Therapy*, 2, pp. 222–232.

Huang, S., et al. (2003b). Sustained activation of the JNK cascade and rapamycin-induced apoptosis are suppressed by p53/p21(Cip1). *Molecular Cell*, 11, pp. 1491–1501.

Hudes G., et al. (2006).A phase 3, randomized, 3-arm study of temsirolimus (TEMSR) or interferon-alpha (IFN) or the combination of TEMSR + IFN in the treatment of first-line, poor-risk patients with advanced renal cell carcinoma (adv RCC). *Journal Clinical Oncology*, 24(18), pp. 2s.

Hudes, G., et al. (2007). Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal cell carcinoma. *New England Journal of Medicine*, 356, pp. 2271-2281.

Inoki, K., Zhu, T. e Guan, K.L. (2003). TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell*, 115, pp. 577–590.

Instituto Nacional de Estatística (2003). Estatísticas de Saúde 2003. Lisboa. INE

Instituto Português de Oncologia do Porto [Em linha]. Disponível em <[http://www.ipoportor.min-saude.pt/NR/rdonlyres/85BB8B9A-81F2-43AF-8100-84D354C5116E/15267/IPO\\_2007.pdf](http://www.ipoportor.min-saude.pt/NR/rdonlyres/85BB8B9A-81F2-43AF-8100-84D354C5116E/15267/IPO_2007.pdf)>. [Consultado em 01/09/2012].

Instituto Português de Oncologia do Porto [Em linha]. Disponível em <<http://www.ipoportor.min-saude.pt/NR/rdonlyres/85BB8B9A-81F2-43AF-8100-84D354C5116E/24336/RegistoOncol%C3%B3gico2010.pdf>>. [Consultado em 01/09/2012].

Jacinto, E., et al. (2004) Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nature Cell Biology*, 6, pp. 1122–1128.

Jacobs, B., et al. (2010). Bladder Cancer in 2010: How far have we come?. *CA Cancer Journal Clinical*, 60, pp. 244-272.

Jakse, G., et al. (2001). Intravesical BCG in patients with carcinoma of the urinary bladder: long term results of EORTC GU Group phase II protocol 30861. *European Urology*, 40, pp. 144-150.

Janus, A., Robak, T. e Smolewski, P.(2005). The mammalian target of the

rapamycin (mTOR) kinase pathway: its role in tumourigenesis and targeted antitumour therapy. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 10, pp. 479–498.

Jastrzebski, K., et al. (2007). Coordinate regulation of ribosome biogenesis and function by the ribosomal protein S6 kinase, a key mediator of mTOR function. *Growth Factors*, 25, pp. 209–226.

Jemal, A., et al. (2005). Cancer statistics, 2005. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 55(1), pp. 10-30

Jemal, A., et al. (2009). Cancer statistics. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 59, pp. 225–249.

Jemal, A., et al. (2010). Cancer statistics, 2010. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 60(5), pp. 277-300.

Jemal, A., et al. (2011). Global cancer statistics. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 61(2), pp. 69–90.

Jenne, D.E., et al. (1998). Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase. *Nature Genetics*, 18, pp. 38–43.

Jiang, B.H. e Liu, L.Z. (2008). PI3K/PTEN signaling in tumorigenesis and angiogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1784, pp. 150–158.

Jinzaki, M., et al. (2007). Detection of bladder tumors with dynamic contrast-enhanced MDCT. *American Journal of Roentgenology*, 188(4), pp. 913–918.

Johannessen, C.M., et al. (2005). The NF1 tumor suppressor critically regulates TSC2 and mTOR. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, pp. 8573–8578.

Johnson, S.M., et al. (2005). RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*, 120, pp. 635–647.

Johnson, E. K., et al. (2008). Patterns of hematuria referral to urologists: does a gender disparity exist?. *Urology*, 72, pp. 498–502.

Johansson, S.L. e Coihlen, S.M. (1997). Epidemiology and Ethiology of Bladder Cancer. *Seminars in Surgical Oncology*. 13, pp. 291-298.

Jordan, A. M., Weingarten, J. e Murphy, W.M. (1987). Transitional cell neoplasms of the urinary bladder. Can biologic potential be predicted from histologic grading?. *Cancer*, 60, pp. 2766–2774.

Jung I. e Messing, E. (2000). Molecular mechanisms and pathways in bladder cancer development and progression. *Cancer Control*, 7(4), pp. 325–334.

Junqueira, L.C. e Carneiro, J. (2004). *Histologia Básica*. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan

- Kadlubar, F.F. e Badawi, A.F. (1995). Genetic Susceptibility and Carcinogen – DNA Adduct Formation in Human Urinary Bladder Carcinogenesis. *Toxicology Letters*, 82, pp. 627-632.
- Kagadis, G.C., et al. (2006). Virtual endoscopy of the urinary tract. *Asian Journal of Andrology*, 8, pp. 31–38.
- Kaldor, J. M., et al. (1995). Bladder tumours following chemotherapy and radiotherapy for ovarian cancer: a case-control study. *International Journal of Cancer*, 63 (1), pp. 1–6.
- Kanda, S., Kanetake, H. e Miyata, Y. (2009). Loss of PTEN function may account for reduced proliferation pathway sensitivity to LY294002 in human prostate and bladder cancer cells. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 135, pp. 303–311.
- Kaufman, D. S., et al. (2002). Gemcitabine (G) and paclitaxel (P) every two weeks (GP2w): a completed multicenter phase II trial in locally advanced or metastatic urothelial cancer (UC). *Proceedings of American Society Clinical Oncology*, 21(767).
- Kaufman, D.S., Shipley, W.U. e Feldman, A.S. (2009). Bladder cancer. *Lancet*, 374 (9685), pp. 239-49.
- Kiemeny, L. e Schoenberg, M. (1996). Familial transitional cell carcinoma. *Journal of Urology*, 156(3), pp. 867–872.

Kim, J.K., et al. (2004). Bladder cancer: analysis of multidetector row helical CT enhancement pattern and accuracy in tumor detection and perivesical staging. *Radiology*, 231(3), pp. 725–731.

Kirkali, Z., et al. (2005). Bladder Cancer: Epidemiology, Staging and Grading, and Diagnosis. *Urology*, 66(6A), pp. 4-34.

Knowles, M.A. (2001). What we could do now: molecular pathology of bladder cancer. *Molecular Pathology*, 54, pp. 214–221.

Knowles, M.A., et al. (2009). Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pathway activation in bladder cancer. *Cancer Metastasis Reviews*, 28, pp. 305–316.

Kocakoc, E., et al. (2008). Detection of bladder tumors with 3-dimensional sonography and virtual sonographic cystoscopy. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 27(1), pp. 45–53.

Kolfschoten, I.G., et al. (2005). A genetic screen identifies PITX1 as a suppressor of RAS activity and tumorigenicity. *Cell*, 121, pp. 849–858.

Kong, D. e Yamori, T. (2009). Advances in development of phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*, 16, pp. 2839–2854.

Kresowik, T.P. e Griffith, T.S. (2009). Bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for urothelial carcinoma of the bladder. *Immunotherapy*, 2, pp. 281-8.

Kulkarni, G.S., et al. (2007). Optimal management of high-risk T1G3 bladder cancer: a decision analysis. *PLOS Medicine*, 4, pp. 1538-1549.

Kunz, J., et al. (1993). Target of rapamycin in yeast, TOR2, is an essential phosphatidylinositol kinase homolog required for G1 progression. *Cell*, 73, pp. 585–596.

Le Tourneau, C., et al. (2008). mTORC1 inhibitors: is temsirolimus in renal cancer telling us how they really work? *British Journal of Cancer*, 99, pp. 1197–1203.

Lee, R. e Droller, M.J. (2000). The natural history of bladder cancer. Implications for therapy. *Urologic Clinics of North America*. 27, pp. 1-13.

Lencioni, R., et al. (2007) Clinical management of focal liver lesions: the key role of real-time contrast-enhanced US. *European Radiology*, 17(6), pp. F73–F79.

Leppert, J.T., et al. (2006). Prevention of bladder cancer: a review. *European Urology* 49, pp. 226–234.

Lianes, P. (2000). Biología molecular del cancer de vejiga, in tumores vesicales superficiales. *In: Vicent, J., Chechile, G. e Salvador, J. (Ed.). Tumores vesicales superficiales. Madrid. Edita Acción Médica, SA.*

Lippman, A.J. et al. (1973). Clinical trials of cis-diamminedichloroplatinum (NSC-119875). *Cancer Chemotherapy Reports*, 57(2), pp. 191-200.

Linn, J. F., et al. (1998). The molecular characteristics of bladder cancer in young patients. *The Journal of Urology*, 159(5). pp. 1493-1498.

Liu, L.Z., et al. (2006a). Reactive oxygen species regulate epidermal growth factor-induced vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression through activation of AKT and P70S6K1 in human ovarian cancer cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 41, pp. 1521–1533.

Lockyer, C.R. e Gillatt, D.A. (2001). BCG immunotherapy for superficial bladder cancer. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 94, pp. 119-23.

Lopes, R.I., et al. (2008). Comparison of virtual cystoscopy and transabdominal ultrasonography with conventional cystoscopy for bladder tumor detection. *Journal of Endourology*, 22(8), pp. 1725–1729.

Lopez-Beltran, A., et al. (2007). Pathology of tumors of the urinary bladder. In: Mikuz, G. (Ed.). *Clinical Pathology of Urologic Tumors*. First Edition, Informa Healthcare.

Lorusso, V., et al. (1998). A phase II study of gemcitabine in patients with transitional cell carcinoma of the urinary tract previously treated with platinum. Italian Cooperative Group on Bladder Cancer. *European Journal of Cancer*, 34(8), pp. 1208–1212.

Losa, A., Hurle, R. e Lembo, A. (2000). Low dose bacillus Calmette-Guérin for carcinoma in situ of the bladder: Long-term results. *Journal of Urology*, 163, pp. 79-80.

Lynch, C. F. e Cohen, M. B. (1995). Urinary system. *Cancer*, 75(1), pp. 316-329.

Ma, X.M. e Blenis, J. (2009). Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10, pp. 307-18.

Makhlin, I., et al. (2010). The mTOR pathway affects proliferation and chemosensitivity of urothelial carcinoma cells and is upregulated in a subset of human bladder cancers. *BJU International*, 108(2), pp. E84-90.

Mansure, J. J., et al. (2009). Inhibition of mammalian target of rapamycin as a therapeutic strategy in the management of bladder cancer. *Cancer Biology & Therapy*, 8, pp. 2339-47.

Madeb, R. e Messing, E.M. (2004). Gender, racial and age differences in bladder cancer incidence and mortality. *Urologic Oncology*, 22, pp. 86–92.

Martin, M.E., et al. (2000). 4E binding protein 1 expression is inversely correlated to the progression of gastrointestinal cancers. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 32, pp. 633–642.

Matsumoto, K., et al. (2005). Occupational bladder cancer: from cohort study to biologic molecular marker. *Medical Science Monitor*, 11(10), pp. RA311–RA315.

Mayer, C. e Grummt, I. (2006). Ribosome biogenesis and cell growth: mTOR coordinates transcription by all three classes of nuclear RNA polymerases. *Oncogene* 25, pp. 6384–6391.

McCaffrey, J.A., et al. (1997). Phase II trial of docetaxel in patients with advanced or metastatic transitional-cell carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*, 15(5), pp. 1853-7.

McClusky, D.R., et al., (2005). A prospective trial on initiation factor 4E (eIF4E) overexpression and cancer recurrence in node-positive breast cancer. *Annals of Surgery*, 242, pp. 584–590.

Meluch, A.A., et al. (2001) Paclitaxel and gemcitabine chemotherapy for advanced transitional-cell carcinoma of the urothelial tract: a phase II trial of the Minnie pearl cancer research network. *Journal of Clinical Oncology*, 19(12), pp. 3018-24.

Meng, Q., et al. (2006). Role of PI3K and AKT specific isoforms in ovarian cancer cell migration, invasion and proliferation through the p70S6K1 pathway. *Cell Signaling*, 18, pp. 2262–2271.

Merritt, J.L., et al. (2006). Extensive acrochordons and pancreatic islet-cell tumors in tuberous sclerosis associated with TSC2 mutations. *American Journal of Medicine Genetics Part A*, 140, pp. 1669–1672.

Meric-Bernstam, F. e Gonzalez-Angulo, A. M. (2009). Targeting the mTOR Signaling Network for Cancer Therapy. *Journal of Clinical Oncology*, 27(13), pp.2278-2285.

Meyers, F. J., et al. (1985). The fate of the bladder in patients with metastatic bladder cancer treated with cisplatin, methotrexate and vinblastine: a northern california oncology group study. *Journal of Urology*, 134(6), pp. 1118–1121.

Michaud, D.S., et al.(1999). Fluid intake and the risk of bladder cancer in men. *New England Journal of Medicine*, 340, pp. 1390–1397.

Michaud, D.S., et al. (2001). Risk of bladder cancer by geographic region in a U.S. cohort of male health professionals. *Epidemiology*, 12(6), pp. 719-26.

Miller, J. A. (1994). Sulfonation in Chemical Carcinogenesis History and Present Status. *Chemico-Biological Interactions*, 92, pp.329-341.

Mitterberger, M., et al. (2007). Threedimensional ultrasonography of the urinary bladder: preliminary experience of assessment in patients with haematuria. *BJU International*, 99(1), pp. 111–116.

Mondesire, W. H., et al. (2004). Targeting mammalian target of rapamycin synergistically enhances chemotherapy-induced cytotoxicity in breast cancer cells. *Clinical Cancer Research*, 10, pp. 7031- 7042.

Monteiro, H. e Monteiro, P.G. (2002). Carcinoma in situ da bexiga. In: Calais da Silva, F. (Ed.). *Carcinoma da bexiga – perspectiva atual*. 1ª edição, pp. 93-95.

Moore, M., et al. (2003). Phase II study of oxaliplatin in patients with inoperable, locally advanced or metastatic transitional cell carcinoma of the urothelial tract (TCC) who have received prior chemotherapy. *Proceedings American Society of Clinical Oncology*, 22(1638).

Morrison, A. e Cole, P. (1976).Epidemiology of bladder cancer. *Urologic Clinics of North America*, 3(1), pp. 13–29.

Morrison, A. S. (1984). Advances in the etiology of urothelial cancer. *Urologic Clinics of North America*, 11(4), pp. 557–566.

Mostafa, M.H., Sheweita, S.A. e O'Connor, P.J.(1999). Relationship between schistosomiasis and bladder cancer. *Clinical Microbiology Reviews*. 12, pp. 97–111.

Motzer, R. J., et al. (2008). Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: A double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet*, 372, pp. 449-456.

Nathan, C.O., et al. (1999). Analysis of surgical margins with the molecular marker eIF4E: a prognostic fator in patients with head and neck cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 17, pp. 2909–2914.

Negri, E. e La Vecchia, C. (2001). Epidemiology and prevention of bladder cancer. *European Journal of Cancer Prevention*, 10, pp. 7–14.

Neshat, M.S., et al. (2001). Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR. *Proceedings of the National Academy of Science*, 98, pp. 10314–10319.

Nicholson, K.M. e Anderson, N.G. (2002). The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. *Cell Signaling*, 14, pp. 381-95.

Nicolau, C. e Bru, C. (2004). Focal liver lesions: evaluation with contrast- enhanced ultrasonography. *Abdominal Imaging*, 29(3), pp. 348–359.

Nilsson, S. e Ullen, A. (2008). Chemotherapy-induced bladder cancer. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 218, pp. 89-92.

Nortier, J.L., et al. (2000). Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*). *New England Journal of Medicine*, 342, pp. 1686–1692.

Oliver, R.T., et al. (1984). Methotrexate in the treatment of metastatic and recurrent primary transitional cell carcinoma. *Journal of Urology*, 131(3), pp. 483–485.

Pacheco-Rodriguez, G., et al. (2007). TSC2 loss in lymphangiomyomatosis cells correlated with expression of CD44v6, a molecular determinant of metastasis. *Cancer Research*, 67, pp. 10573–10581.

Panebianco, V., et al. (2009). Bladder carcinoma: MDCT cystography and virtual cystoscopy [abstract]. *Abdominal Imaging*, 35(3), pp. 57-64.

Panwalkar, A., Verstovsek, S. e Giles F.J. (2004). Mammalian target of rapamycin inhibition as therapy for hematologic malignancies. *Cancer*, 100, pp. 657–666.

Papamichael, D., et al. (1997). Phase II study of paclitaxel in pretreated patients with locally advanced/metastatic cancer of the bladder and ureter. *British Journal of Cancer*, 75(4), pp. 606-7.

Park, S.B., et al. (2007). Hematuria: portal venous phase multi detector row CT of the bladder—a prospective study. *Radiology*, 245(3), pp. 798–805.

Park, S.J., Lee, T.J. e Chang, I.H. (2011). Role of the mTOR Pathway in the Progression and Recurrence of Bladder Cancer: An Immunohistochemical Tissue Microarray Study. *Korean Journal of Urology*, 57(7), pp. 466 – 73.

Parkes, H. G. (1975). Occupational bladder cancer. *Practitioner*, 214 (1279), pp. 80–86.

Parkin, D.M., et al. (2002). Cancer Incidence in Five Continents. *International Agency for Research on Cancer*, 8 (155).

Parkin, D.M. (2006). The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *International Journal of Cancer*, 118(12), pp. 3030–3044.

Pelucchi, C., et al. (2006). Mechanisms of disease: The epidemiology of bladder cancer. *Nature Clinical Practice Urology Journal*, 3(6), pp. 327–340.

Pende, M., et al. (2004). S6K1(-/-) /S6K2(-/-) mice exhibit perinatal lethality and rapamycin-sensitive 5'-terminal oligopyrimidine mRNA translation and reveal a mitogen-activated protein kinase-dependent S6 kinase pathway. *Molecular Cell Biology*, 24, pp. 3112–3124.

Peng, T., Golub, T.R. e Sabatini, D.M. (2002). The immunosuppressant rapamycin mimics a starvation-like signal distinct from amino acid and glucose deprivation. *Molecular Cell Biology*, 22, pp. 5575–84.

Petrioli, R., et al. (1996) Comparison between a Cisplatin-Containing Regimen and a Carboplatin-Containing Regimen for Recurrent or Metastatic Bladder Cancer Patients. A Randomized Phase II Study. *Cancer*, 77, pp. 344–351.

Petroulakis, E., et al. (2006). mTOR signaling: implications for cancer and anticancer therapy. *British Journal of Cancer*, 94, pp. 195–9.

Petrylak, D., et al. (2003). Evaluation of ZD1839 for advanced transitional cell carcinoma (TCC) of the urothelium: a Southwest Oncology Group Trial. *Proceedings American Society of Clinical Oncology*, 22(1619).

Petrylak, D., et al. (2003). Evaluation of ZD1839 for advanced transitional cell carcinoma (TCC) of the urothelium: a Southwest Oncology Group Trial. *Proceedings American Society of Clinical Oncology*, 22(1619).

Pinto, R. A. e Martins da Silva, C. (2007). Tumores da bexiga. In: Dias, J.S. (Ed.). *Urologia em 10 minutos*. Portugal, Bayer HeathCare, pp 85-93.

Platt, F.M., et al. (2009). Spectrum of phosphatidylinositol 3-kinase pathway gene alterations in bladder cancer. *Clinical Cancer Research*, 15, pp. 6008–6017.

Pollera, C.F., et al. (1994). Weekly gemcitabine in advanced bladder cancer: a preliminary report from a phase I study. *Annals of Oncology*, 5(2), pp. 182-4.

Pronzato, P., et al. (1997). Second line chemotherapy with ifosfamide as outpatient treatment for advanced bladder cancer. *American Journal of Clinical Oncology*, 20(5), pp. 519–521.

Puzio-Kuter, A.M., et al. (2009). Inactivation of p53 and PTEN promotes invasive bladder cancer. *Genes & Development*, 23, pp. 675–680.

Quilty, P.M. e Kerr, G.R. (1987). Bladder cancer following low or high dose pelvic irradiation. *Clinical of Radiology*, 38, pp. 583-585.

Raghavan, D., et al. (1990). Biology and management of bladder cancer. *New England Journal of Medicine*. 322(16), pp. 1129–1138.

Redman, B.G., Kawachi, M. e Hurwitz, M. (2005). Urothelial and Kidney Cancer. *In: Pazdur, R., et al. (Ed.). Cancer Management – A Multidisciplinary Approach*. Ninth edition. New York. CMP Healthcare Media.

Registo Oncológico Regional do Norte. [Em linha]. Disponível em <[http://www.ipoportor.pt/NR/rdonlyres/C2A78C3F-1009-4F29-B970-2D1A69F40DCE/15264/Roreno\\_05.pdf](http://www.ipoportor.pt/NR/rdonlyres/C2A78C3F-1009-4F29-B970-2D1A69F40DCE/15264/Roreno_05.pdf)>. [Consultado em 01/09/2012].

Repasky, G.A., Chenette, E.J. e Der, C.J. (2004). Renewing the conspiracy theory debate: does Raf function alone to mediate Ras oncogenesis?. *Trends in Cell Biology*, 14, pp. 639–647.

Risch, A., et al. (1995). Slow N-acetylation genotype is a susceptibility factor in Occupational and Smoking related Bladder Cancer. *Human Molecular Genetics*, 4, pp. 231-236.

Roberts, P.J. e Der, C.J. (2007). Targeting the Raf-MEK-ERK mitogenactivated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene*, 26, pp. 3291–3310.

Rojo, F., et al.(2007). 4E-binding protein 1, a cell signaling hallmark in breast cancer that correlates with pathologic grade and prognosis. *Clinical Cancer Research*, 13, pp. 81–89.

Rosenberg, J.E. e Hahn, W.C. (2009). Bladder cancer: modeling and translation. *Genes & Development*, 23, pp. 655-659.

Rosenwald, I.B., et al. (1999). Upregulation of protein synthesis initiation factor eIF-4E is an early event during colon carcinogenesis. *Oncogene*, 18, pp. 2507–2517.

Rowinsky, E.K. (2004). Targeting the molecular target of rapamycin (mTOR). *Current Opinion in Oncology*, 16, pp. 564–575.

Roux, P.P., et al. (2004). Tumorpromoting phorbol esters and activated Ras inactivate the tuberous sclerosis tumor suppressor complex via p90 ribosomal S6 kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, pp. 13489–13494.

Saal, L.H., et al. (2007). Poor prognosis in carcinoma is associated with a gene expression signature of aberrant PTEN tumor suppressor pathway activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, pp. 7564–7569.

Sabatini, D.M., et al. (1994). RAFT1: a mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-dependent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell*, 78, pp. 35–43.

Sabatini, D. M., (2006). mTOR and cancer: insights into a complex relationship. *Nature Reviews*, 6, pp. 729–734.

Sadow, C.A., et al. (2008). Bladder cancer detection with CT urography in an academic medical center. *Radiology*, 249, pp. 195–202.

Saksena, M.A., Dahl, D.M. e Harisinghani, M.G. (2006). New imaging modalities in bladder cancer. *World Journal of Urology*, 24, pp. 473–480.

Salehi, Z. e Mashayekhi, F. (2006). Expression of the eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E) and 4E-BP1 in esophageal cancer. *Clinical Biochemistry*, 39, pp. 404–409.

Sampson, J.R. e Harris, P.C. (1994). The molecular genetics of tuberous sclerosis. *Human Molecular Genetics*, 3, pp. 1477–1480.

Sandhu, J. S., et al. (2006). Clinical characteristics of bladder cancer in patients previously treated with radiation for prostate cancer. *BJU International*, 98(1), pp. 59–62.

Sarbassov, D.D., et al. (2005). Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor–mTOR complex. *Science*, 307, pp. 1098–1101.

Saxman, S. B., et al. (1997). Long-Term Follow-up of a Phase Iii Intergroup Study of Cisplatin Alone or in Combination with Methotrexate, Vinblastine, and Doxorubicin in Patients with Metastatic Urothelial Carcinoma: A Cooperative Group Study. *Journal of Clinical Oncology*, 15, pp. 2564–2569.

Scheper, G.C., van der Knaap, M.S. e Proud, C.G. (2007). Translation matters: protein synthesis defects in inherited disease. *Nature Reviews Genetics*, 8, pp. 711–23.

Schorge, J. O., et al. (2008). *Williams Gynecology*. New York, Mcgraw Hill.

Gray, H. (1988). *Anatomia*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A..

Schubbert, S., Shannon, K. e Bollag, G. (2007). Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nature Reviews Cancer*, 7, pp. 295–308.

Schulz, M. R. e Loomis, D. (2000). Occupational bladder cancer mortality among racial and ethnic minorities in 21 states. *American Journal of Industrial Medicine*, 38(1), pp. 90-98.

Scosyrev, E., et al. (2009). Sex and racial differences in bladder cancer presentation and mortality in the US. *Cancer*, 115(1), pp.68-74.

Seager, C. M., et al. (2009). Intravesical delivery of rapamycin suppresses tumorigenesis in a mouse model of progressive bladder cancer. *Cancer Prevention Research*, 2, pp. 1008–1014.

See, W.A., et al. (2009). Bacille-Calmette Guèrin induces caspase-independent cell death in urothelial carcinoma cells together with release of the necrosis-associated chemokine high molecular group box protein 1. *BJU International*. 12, pp. 1714-20.

Seeley, R., Stephens, T. e Tate, P. (2001). *Anatomia e Fisiologia*. Lisboa, Lusodidacta.

SEER Cancer Statistics Review, 1975-2006. [Em linha]. Disponível em <[http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2006/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2006/)>. [Consultado em 01/09/2012].

Shah, S.K., et al. (2006). Urothelial carcinoma after external beam radiation therapy for prostate cancer. *Journal of Urology*, 175(6), pp. 2063-2066.

Shaw, R.J. e Cantley, L.C. (2006). Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature*, 441, pp. 424–430.

Shelley, M. D., et al. (2002). Surgery versus radiotherapy for muscle invasive bladder cancer. *Cochrane Database System Review*.

Shi, Y., et al. (2002). Enhanced sensitivity of multiple myeloma cells containing PTEN mutations to CCI-779. *Cancer Research*, 62, pp. 5027–5034.

Shokeir, A.A. (2004). Squamous cell carcinoma of the bladder: pathology, diagnosis and treatment. *BJU International*. 93, pp. 216–220.

Silverman, D. T., et al. (1992). Epidemiology of bladder cancer. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 6(1), pp. 1–30.

Skinner, D.G., et al. (1998). 25-year experience in the management of invasive bladder cancer by radical cystectomy. *European Urology*, 33, pp. 25–26.

Skinner, H.D., et al. (2004a). Vascular endothelial growth factor transcriptional activation is mediated by hypoxia-inducible factor 1alpha, HDM2, and p70S6K1 in response to phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 279, pp. 45643–45651.

Skinner, H.D., et al. (2004b). Arsenite induces p70S6K1 activation and HIF-1alpha expression in prostate cancer cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 255, pp. 19–23.

Soloway, M.S., et al. (1983). A comparison of cisplatin and the combination of cisplatin and cyclophosphamide in advanced urothelial cancer. A National Bladder Cancer Collaborative Group A Study. *Cancer*, 52(5), pp. 767–772.

Soloway, M.S., Sofer, M. e Vaidya, A. (2002). Contemporary management of stage T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *Journal of Urology*, 167, pp. 1573-1583.

Smith, S.M., et al. (2008). Activity of single agent temsirolimus (CCI-779) in non-mantle-cell non-Hodgkin lymphoma subtypes. *Journal of Clinical Oncology*, 26(15s), pp. 8514.

Sonenberg, N. e Gingras, A.C. (1998). The mRNA 5' cap-binding protein eIF4E and control of cell growth. *Current Opinion in Cell Biology*, 10, pp. 268–275.

Song, J.H., et al. (2001). Bladder tumor detection at virtual cystoscopy. *Radiology*, 218(1), pp. 95–100.

Sorrells, D.L., et al. (1998). Detection of eIF4E gene amplification in breast cancer by competitive PCR. *Annals of Surgical Oncology*, 5, pp. 232–237.

Sorrells, D.L., et al. (1999) . Competitive PCR to detect eIF4E gene amplification in head and neck cancer. *Head & Neck*, 21, pp. 60–65.

Spiess, P.E. e Czerniak, B. (2006). Dual-track Pathway in Bladder Carcinogenesis.

*Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 130, pp. 844-852.

Sridhar S., et al. (2005). Phase II study of bortezomib in advanced or metastatic urothelial cancer. A trial of the Princess Margaret Hospital [PMH] Phase II Consortium. *Journal of Clinical Oncology*, 23(16S), pp. 4677.

Stallone, G., et al. (2005). Sirolimus for Kaposi's sarcoma in renal-transplant recipients. *New England Journal of Medicine*, 352, pp. 1317-1323.

Stein, J. P., et al. (2003). Risk factors for patients with pelvic lymph node metastases following radical cystectomy with en bloc pelvic lymphadenectomy: concept of lymph node density. *Journal of Urology*, 170(1), pp. 35-41.

Stenzl, A., et al. (2011). Guidelines on Bladder Cancer Muscle-invasive and Metastatic. *European Association of Urology*.

Sternberg, C.N. et al. (1985). Preliminary results of M-VAC (methotrexate, vinblastine, doxorubicin and cisplatin) for transitional cell carcinoma of the urothelium. *Journal of Urology*, 133(3), pp. 403-407.

Sternberg, C.N., et al. (1989). Methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin for advanced transitional cell carcinoma of the urothelium. Efficacy and patterns of response and relapse. *Cancer*, 64(12), pp. 2448-2458.

Sternberg, C.N., e Vogelzang, N.J. (2003). Gemcitabine, paclitaxel, pemetrexed and other newer agents in urothelial and kidney cancers. *Critical Reviews in Oncology/ Hematology*, 46, pp. S105-S115.

Sternberg, C. N., et al. (2006). Seven year update of an EORTC phase III trial of high-dose intensity M-VAC chemotherapy and G-CSF versus classic M-VAC in advanced urothelial tract tumours. *European Journal of Cancer*, 42, pp. 50–54.

Stimson, C. J., et al.(2010). Early and late perioperative outcomes following radical cystectomy: 90-day readmissions, morbidity and mortality in a contemporary series. *Journal of Urology*, 184, pp. 1296–1300

Svatek, R., et al. (2008). Screening for bladder cancer using urine-based tumor markers. *Minerva Urologica e Nefrologica*, 60(4), pp. 247–253.

Sweeney, C.J., et al. (2006). Phase II study of pemetrexed for second-line treatment of transitional cell cancer of the urothelium. *Journal of Clinical Oncology*, 24(21), pp. 3451-7.

Sylvester, R.J., van der Meijden, A. e Lamm, D.L. (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. *Journal of Urology*, 168, pp. 1964–1970.

Tang, D., et al. (2001). Association between carcinogen-DNA adducts in white blood cells and lung cancer risk in the physicians health study. *Cancer Research*, 61, pp. 6708–6712.

Tee, A.R., et al. (2002). Esclerosis complex-1 and -2 gene products function together to inhibit mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated downstream signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, pp. 13571-6.

Tee, A.R. e Blenis, J. (2005). mTOR, translational control and human disease. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 16 pp. 29–37.

Tekes, A., et al. (2005). Dynamic MRI of bladder cancer: evaluation of staging accuracy. *American Journal of Roentgenology*, 184, pp. 121–127.

Testa, J.R. e Bellacosa, A. (2001). AKT plays a central role in tumorigenesis. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 98, pp. 10983-5.

The American Cancer Society. [Em linha]. Disponível em <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003085-pdf.pdf>.>. [Consultado em 01/09/2012].

Theodorescu, D., Laderoute, K.R. e Gulding, K.M. (1998). Epidermal growth factor receptor-regulated human bladder cancer motility is in part a phosphatidylinositol 3-kinase-mediated process. *Cell Growth & Differentiation*, 9, pp.919–928.

Thomson, A.W., Turnquist, H.R. e Raimondi, G. (2009). Immunoregulatory functions of mTOR inhibition. *Nature Reviews Immunology*, 9, pp. 324-37.

Thompson, I.M., Peek, M. e Rodriguez, F.R. (1987). The impact of cigarette smoking on stage, grade and number of recurrences of transitional cell carcinoma of the bladder. *Journal of Urology*, 137(3), pp. 401-403.

Thimmaiah, K.N., et al. (2003). Insulin-like growth factor I-mediated protection from rapamycin-induced apoptosis is independent of Ras-Erk1-Erk2 and phosphatidylinositol 3-kinase-Akt signaling pathways. *Cancer Research*, 63, pp. 364–374.

Tonoli, S., et al. (2006). Radical radiotherapy for bladder cancer: retrospective analysis of a series of 459 patients treated in an Italian institution. *Clinical Oncology*, 18(1), pp. 52-9.

Trickler, A.R., et al. (1989). Urinary excretion of nitrate, nitrite and Nnitroso compounds in Schistosomiasis and bilharzia bladder cancer patients. *Carcinogenesis*, 10(3), pp. 547–552.

Tsampoulas, C., et al. (2008) 16-MDCT cystoscopy in the evaluation of neoplasms of the urinary bladder. *American Journal of Roentgenology*, 190(3), pp. 729–735.

Tsang, C.K., et al. (2007). Targeting mammalian target of rapamycin (mTOR) for health and diseases. *Drug Discovery Today*, 12, pp. 112–124.

Tuncbilek, N., et al. (2009). Value of dynamic contrast-enhanced MRI and correlation with tumor angiogenesis in bladder cancer. *American Journal of Roentgenology*, 192(4), pp. 949–955.

Vallancien, G., et al. (1986). Can transabdominal ultrasonography of the bladder replace cystoscopy in the follow up of superficial bladder tumors?. *Journal of Urology*, 136(1), pp. 32–34.

Vaughn, D.J., et al. (2002). Phase II trial of weekly paclitaxel in patients with previously treated advanced urothelial cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 20(4), pp. 937-40.

Vercelli, M., et al.(1999). Cancer prevalence in the elderly. *Tumori*, 85(5), pp. 391-399.

Vignot, S., et al. (2005). mTOR-targeted therapy of cancer with rapamycin derivatives. *Annals of Oncology*, 16, pp. 525–537.

Vineis, P. e Simonato L. (1991). Proportion of lung and bladder cancers in males resulting from occupation: a systematic approach. *Arch Environ Health*, 46, pp. 6-15.

Vineis, P. e Pirastu, R. (1997). Aromatic amines and cancer. *Cancer Causes and Control*, 8, pp.346–355.

Vishnu, P., Mathew, J. e Tan, W.W. (2011). Current therapeutic strategies for invasive and metastatic bladder cancer. *Oncotargets and Therapy* , 4, pp. 97-113.

Vlaovic P. e Jewett, M. A. (1999). Cyclophosphamide-induced bladder cancer. *The Canadian Journal of Urology*, 6(2), pp. 745–748.

Von der Maase, H. (2003). Gemcitabine in transitional cell carcinoma of the urothelium. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 3(1), pp. 11-9.

Von Der Maase, H. et al. (2005). Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxor-

bicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 23(21), pp. 4602-4608.

Wakui, M. e Shiigai, T. (2000). Urinary tract cancer screening through analysis of urinary red blood cell volume distribution. *International Journal of Urology*, 7, pp. 248–253.

Wallerand, H., et al. (2005). Mutations in TP53, but not FGFR3, in urothelial cell carcinoma of the bladder are influenced by smoking: contribution of exogenous versus endogenous carcinogens. *Carcinogenesis*, 26(1), pp.177-184.

Wang, L.J., et al. (2009). Diagnostic accuracy of transitional cell carcinoma on multidetector computerized tomography urography in patients with gross hematuria. *Journal of Urology*, 181(2), pp. 524–531.

Ward, S.G. e Finan, P.(2003). Isoform-specific phosphoinositide 3-kinase inhibitors as therapeutic agents. *Current Opinion in Pharmacology*, 3, pp. 426–434.

Witte, R.S., et al. (1997). Eastern Cooperative Oncology Group phase II trial of ifosfamide in the treatment of previously treated advanced urothelial carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*, 15(2), pp. 589-93.

Witte, R.S., et al. (1998). Topotecan in previously treated advanced urothelial carcinoma: an ECOG phase II trial. *Investigational New Drugs*, 16(2), pp. 191-5.

Witzig, T. E., et al. (2005). Phase II trial of single-agent temsirolimus (CCI-779) for relapsed mantle-cell lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*, 23, pp. 5347-5356.

Wolthuis, R.M. e Bos, J.L. (1999). Ras caught in another affair: the exchange factors for Ral. *Current Opinion in Genetics & Development*, 9, pp. 112–117.

Wulfing, C., et al.(2005). A single arm, multicenter, open-label, ph II study of lapatinib as 2L treatment of pts with locally advanced/metastatic transitional cell carcinoma (TCC) of the urothelial tract. *Journal of Clinical Oncology, 2005 ASCO Annual Meeting Proceedings*, 23(16S), pp. 4594.

Yee, K.W., et al. (2006). Phase I/II study of the mammalian target of rapamycin inhibitor everolimus (RAD001) in patients with relapsed or refractory hematologic malignancies. *Clinical Cancer Research*, 12, pp. 5165-5173.

Yeung, R.S., et al. (1994). Predisposition to renal carcinoma in the Eker rat is determined by germ-line mutation of the tuberous sclerosis 2 (TSC2) gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, pp. 11413–11416.

Young, B. e Heath, J.W. (2000). *Wheater's Functional Histology – A Text and Colour Atlas*. Edinburgh. Churchill Livingstone.

Yu, M.C., et al. (1994). Acetylator phenotype, aminobiphenylhromoglobin adduct levels, and bladder cancer risk in white, black, and Asian men in Los Angeles. *Journal of the National Cancer Institute*, 86, pp. 712-716.

Zhong, X.S., et al. (2004). SU5416 inhibited VEGF and HIF-1alpha expression through the PI3K/AKT/p70S6K1 signaling pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 324, pp. 471–480.

Zhou, Q., et al. (2007). Reactive oxygen species regulate insulin-induced VEGF and HIF-1alpha expression through the activation of p70S6K1 in human prostate cancer cells. *Carcinogenesis*, 28, pp. 28–37.

Zhuang, Z.G., et al. (2006). Enhanced expression of LKB1 in breast cancer cells attenuates angiogenesis, invasion, and metastatic potential. *Molecular Cancer Research*, 4, pp. 843–849.