

СЪВРЕМЕННИ ПОДХОДИ ПРИ ЛЕЧЕНИЕ НА РАК НА ПИКОЧЕН МЕХУР

О. Антонова¹ и В. Белчева²

¹Медицински Университет – София, МФ

²Медицински Университет – София, ФОЗ

CURRENT APPROACHES IN THE TREATMENT OF BLADDER CANCER

O. Antonova¹ and V. Belcheva²

¹Medical University – Sofia, Medical Faculty

²Medical University – Faculty of Public Health

Резюме. *Ракът на пикочния мехур е най-честото онкологично заболяване на отделителната система, като основната причина за появата му са инфекциите на уринарния тракт и ариламините в урината, които са в пряк досег със стената на мехура. Лечението на рака на пикочния мехур зависи главно от хистологичната характеристика на тумора, дълбочина на инвазия в мехурната стена и наличието на рецидиви. То бива оперативно отстраняване на тумора или хирургично лечение, съчетано слъчелечение, химиотерапия или имунотерапия. При лечението на повърхностния неинвазивен рак на пикочния мехур, химиотерапията се използва с профилактична цел като интравезикална адювантна терапия след ендоскопска резекция. Най-често използваните химиотерапевтици са митомицин, епирубицин, доксорубицин и тиотепа. При инвазивният рак на пикочния мехур над половината от пациентите загиват в резултат от далечни метастази, произлезли от микрометастази в началото на туморната инвазия. За редуциране на броя и дълбочината на прорастване на микрометастазите се прилага комбинация от локално лечение и системна химиотерапия, а намаляване на размерите на първичния тумор се постига чрез неoadювантна химиотерапия с метотрексат, винбластин, адриаамицин и цисплатина. При пациенти с напреднал метастатичен рак на пикочен мехур основен метод за лечение е химиотерапията. Прилагат се два режима на химиотерапия: M-VAC (метотрексат, винбластин, адриаамицин, цисплатина) и CMV (цисплатина, метотрексат, винбластин). Друг подход използван при лечението за рак на пикочния мехур е имунотерапията, която използва собствените сили на организма в борбата с рака. Така при Carcinoma in situ (CIS), избор за лечение е интравезикално приложение на BCG (Bacillus Calmette–Guérin), което намалява инвалидизацията в следствие на терапевтичната цистектомия.*

Summary. *Bladder cancer is the most common malignancy of the urinary system. The main reasons for its appearance are urinary tract infections and arylamines which are in direct contact with the wall of the bladder. The treatment of bladder cancer depends mainly on the histological characteristics of the tumor, invasion depth in the bladder wall and the cancer recurrence. The bladder cancer treatment is surgical removal of the tumor, combined with radiotherapy, chemotherapy or immunotherapy. In the treatment of superficial non-invasive bladder cancer, chemotherapy is used prophylactically as adjuvant intravesical therapy after endoscopic resection of the tumor. The most frequently used chemotherapeutic drugs are mitomycin, epirubicin, doxorubicin, and thiotepa. More than half of the patients with invasive bladder cancer die due to distant metastases. These metastases develop early in the process of tumor invasion. A combination of local treatments and systemic chemotherapy is used to reduce the number and depth of the micrometastases. The reduction of the size of the primary tumor is achieved by neoadjuvant chemotherapy with methotrexate, vinblastine, adriamycin and cisplatin. The main method of treatment of*

the patients with advanced metastatic bladder cancer is chemotherapy. Two modes of chemotherapy are applied: M-VAC (Methotrexate, Vinblastine, Adriamycin, Cisplatin) and CMV (cisplatin, methotrexate, vinblastine). Another approach used in the treatment of the bladder cancer is immunotherapy, which stimulate the immune system of the patient to fight cancer. For example intravesical administration of BCG (Bacillus Calmette-Guérin) is used as an immunostimulant in treatment of bladder carcinoma in situ (CIS), This approach decreases the disability as a consequence of the therapeutic cystectomy.

ВЪВЕДЕНИЕ

Злокачествените новообразувания са една от водещите причини за заболяемост и смъртност в световен мащаб [1]. Сред тях ракът на пикочния мехур заема девето място [2], като засяга предимно мъже над 60 годишна възраст от европейската раса и индустриално развитите страни [3]. В България ракът на пикочния мехур заема 18-то място [4], като сред европейските страни България се разполага по средата, както по разпространение, така и по честота на тази неоплазия [5].

Ракът на пикочния мехур е мултифакторно заболяване и представлява злокачествено израждане на тъканите, изграждащи пикочния мехур, при което клетките започват да се делят безконтролно и водят до поява на клетъчна маса формираща тумор. Въпреки, че 70-80% от туморите на пикочния мехур са повърхностни, неинвазивни, папиларни, преходно-клетъчни карциноми (pTa/T1) от гледна точка на диагнозата и лечението ракът на пикочния мехур представлява проблем в урологията [6]. Това се дължи на високата честота на разпространение на уроепителните тумори, склонността им към рецидиви и специфичния ход на развитие [7, 8].

Лечението на рака на пикочния мехур може да бъде хирургично отстраняване на тумора или на целия пикочен мехур, лъчелечение, химиотерапия, имунотерапия или комбинирано лечение [9]. Подборът на подходяща химио- или имунотерапия се прави след доказателства за нейната терапевтична и икономическа ефективност, събрани чрез провеждане на фармакоикономически проучвания [10]. Изборът на терапията при конкретния пациент зависи от степента на диференциация на тумора, неговата инвазивност, наличието на метастази, както и от общото състояние на пациента.

За подобряване на резултатите от оперативно лечение през последните две десетилетия широко се прилага химиотерапията. Според мястото

на въвеждане на химиотерапевтика се различават интравезикална и системна химиотерапия.

ХИМИОТЕРАПИЯ

При **интравезикалната** химиотерапия лекарството се въвежда направо в пикочия мехур. Този метод намалява риска от рецидивирание и не оказва влияние върху общата продължителност на живота. Интравезикалната химиотерапия се използва за лечение на неинвазивен или минимално-инвазивен рак, тъй като терапевтичните агенти действат локално и не са в състояние да унищожат злокачествените клетки дълбоко в стените на пикочния мехур или извън него.

При **системната** химиотерапия, лекарството се въвежда интравенозно, интрамускулно или се приема под формата на таблетки. За разлика от интравезикалната терапия системните химиотерапевтици навлизат в кръвообращението и достигат до всички части на тялото. Системната химиотерапия се използва за лечение на метастазиращите тумори на пикочния мехур, намаляване на туморния обем преди операция, унищожаване на останалите след операцията ракови клетки и намаляване на риска от рецидиви, а заедно с лъчетерапия – за усилване на ефекта от лъчевото въздействие.

Според времето на инстилация на лекарството се различават неоадювантна и адювантна химиотерапия. **Неоадювантната** химиотерапия се извършва преди оперативното лечение. Тя се използва за намаляване на туморните размери преди органосъхраняваща операция и позволява изясняването на чувствителността на тумора към химиотерапевтика. **Адювантната** химиотерапия се провежда след оперативно отстраняване на лезията, в отсъствие на очевиден туморен процес. Тя е насочена към унищожаването на остатъчния тумор и скритите туморни огнища, тъй като макроскопски „нормален“ уроепител в много случаи има полета на микроскопска дисплазия.

Химиотерапия на неинвазивен рак на пикочния мехур (Ta, Tis, T1)

Стандартното лечение на повърхностния неинвазивен рак на пикочния мехур е трансуретралната резекция на тумора (ТУР). Химиотерапията обикновено се използва с профилактична цел, като интравезикална адювантна терапия след ендоскопска резекция. Прилага се като единична постоперативна интравезикална инстилация веднага след или в първите 24 часа от операцията.

При единични или малки първични тумори с нисък риск от рецидив, най-ефикасна е химиопрофилактиката, получена незабавно след операцията [11-14]. Намалването на рецидивите, които произтичат от реимплантирането на тумора, се постига и при достатъчен брой по-късно получени вливания [11, 12, 14]. Предотвратяване на имплантирането на туморни клетки трябва да започне в рамките на първите часове след отстраняването на туморния семенат. В рамките на няколко часа, клетките се реимплантират и се покриват с екстрацелуларен матрикс [15-18]. В същото време, с цел избягване на тежки усложнения, ранната инстилация на химиотерапевтика се пропуска при наличие или дори при съмнение за интра- или екстраперитонеална перфорация [19]. Някои автори отричат предимствата на интравезикалната химиотерапия при неинвазивните преходноклетъчни карциноми поради това, че туморните клетки са подобни по зрялост на нормалните уроепителни клетки и химиотерапевтиците трябва да бъдат прилагани в дози, които ще засегнат и здравите клетки [20].

Химиотерапевтиците, използвани при повърхностния рак на пикочния мехур, са: **Mitomycin C**, **Epirubicin**, **Thiotepa** и **Doxorubicin** [21, 22]. **Mitomycin C** е антигуморен антибиотик с алкилиращи свойства, което води до селективно инхибиране на синтеза на ДНК в активно делящи се туморни клетки. Във висока концентрация той води до потискане на клетъчната РНК и синтеза на протеини, особено в края на G1 и S фазата от клетъчния цикъл. Използването на митомин след ТУР намалява честотата на туморните рецидиви на 15%. Поради интравезикалното му приложение, наблюдаваните странични ефекти се ограничават до болки и възпаление в пикочния мехур. Рискът от увреждане или перфорация на стената на пикочния мехур е минимален [23]. **Thiotepa** (Tiophosphamidum) е един от първите противоракови препарати. Той принадлежи към групата етиленими, представлява полифункциона-

нален алкилиращ агент и потиска синтеза на ДНК в активно делящи се клетки. Основните недостатъци на препарата са липса на ефект при една трета от пациентите, значителна проникваемост през мукозата на пикочния мехур в кръвния ток и възможност за токсично въздействие върху организма, костния мозък, развитието на левкопения и тромбоцитопения. Поради това мониторирането на кръвните показатели е задължително. Сега с появата на нови лекарствени средства, тиотепа се използва много по-рядко. **Doxorubicin** (Adriamycinum) и **Epirubicin** (Pharmarubicin) са антигуморни антибиотици от рода на антрациклините. Циститът е най-честото усложнение при тяхното приложение. При поява на изразена дизурия се прави пауза в лечението, до отшумяване на симптомите на възпаление. Други, значително по-редки странични ефекти са: потискане на хемопоезата, гадене, повръщане, алоpecia и кардиотоксичност. Епирубин е по-малко токсичен от доксорубин. Доксорубинът и епирубинът се прилагат значително по-често от тиотепа за лечение на повърхностния рак на пикочния мехур.

Химиотерапия на мускул-инвазивен рак на пикочния мехур

Инвазивният рак на пикочния мехур се разглежда като дисеминирано заболяване. Над половината от пациентите с инвазивен уротелен карцином загиват в резултат от далечни метастази, произлезли от микрометастазите в началото на туморната инвазия. За намаляването на броя и дълбочината на прорастване на микрометастазите, а в някои случаи и като радиосенсибилизиращ фактор се прилага комбинация от системна химиотерапия с локално лечение.

Неoadювантна химиотерапия с 2-3 цикъла на метотрексат, винбластин, адриамицин и цисплатина (MVAC) или цисплатина, метотрексат и винбластин (CMV) води до намаляване на първичния тумор [24-27]. Пълен отговор на първичните тумори на пикочния мехур се достига в 12-50% от пациентите след терапия с MVAC и в 12-22% от пациентите след гемцитамин/цисплатин (GC) във фаза II и фаза III клинични проучвания [24, 26, 28-33]. Резултатите от наскоро проведени проучвания с GC, последвани от радикална цистектомия, свидетелстват за доста по-ниски проценти на отговор на туморите към терапията. Това се свързва с ниската плътност на дозата и забавянето на операцията [34]. При определени пациенти, с цел орган – съхраняваща терапия се използва TUR и

системна химиотерапия на базата на цисплатин, за предпочитане MVAC. Въпреки че това позволява дългосрочно оцеляване на пациентите при запазен пикочен мехур [35], този подход не може да се препоръча за рутинна употреба.

Локално напреднал рак на пикочния мехур се третира с включване на платина или 5-FU, а напоследък и гемцитабин в съчетание с радиация (поради тяхната установена роля като радиосенситизатори). Цисплатин-базираната химиотерапия в комбинация с лъчетерапия и последваща TUR води до отговор от 60-80% при туморите [36].

При добавяне на адювантна химиотерапия се постига преживяемост без рецидиви за 3 години при 70% от болните в сравнение с 46%, при които не се осъществява допълнително лечение. След въвеждането на адювантна химиотерапия се наблюдава и значително увеличение на преживяемостта от 2,4 до 4,3 години [37].

При наскоро проведени клинични проучвания се установява, че цисплатин-базираната химиотерапия води до свободно от заболяване оцеляване в дългосрочен план, дори и при открити метастази в лимфните възли [38-40]. При напреднал раков процес с метастази в лимфните възли се използват три до четири цикъла CMV (цисплатин, метотрексат, винбластин), CISCA (цисплатин, циклофосфамид, адриаамицин), MVA (E) C (метотрексат, винбластин, адриаамицин или епирубицин и цисплатин) и MC (метотрексат, цисплатин) [41].

Химиотерапия на метастатичен рак на пикочния мехур

В настоящия момент химиотерапията е основен метод за лечение на пациентите с напреднал метастатичен рак. Около 30% от пациентите с преходноклетъчен карцином реагират на монотерапия с цисплатина и метотрексат. Платиновите съединения са основна сърцевина при много схеми на онкотерапия, а химиотерапевтиците карбоплатина, адриабластин, винбластин, циклофосфамид и 5-флуороурацил показват различна степен на анти tumorна активност. Лечението на пациенти с напреднало метастатично заболяване обикновено е палиативно, но въпреки това, комбинираната терапия с нови лекарства в някои случаи води до ремисия и подобряване на качеството на живота.

В клиничната практика се прилагат два режима на химиотерапия за лечение на метастатичен рак на пикочния мехур: M-VAC (метотрексат, винбластин, адриаамицин, цисплатина) и CMV (циспла-

тина, метотрексат, винбластин) [42-44]. В резултат на тези схеми се постига ремисия при 40-70% от пациентите, като пълна ремисия се среща в 15-25% от случаите. В следствие в преобладаващата част от пациентите заболяването рецидивира, като средната продължителност на живота при метастатичния рак на пикочния мехур е около 12 месеца.

ИМУНОТЕРАПИЯ

Друг подход използван при лечението на рака на пикочния мехур е имунотерапията, която използва собствените сили на организма в борбата с рака. Имунотерапията на уроепителиалните карциноми получава широко разпространение след 1976 г., когато Mogaes и съавт. публикуват първите данни относно ефективното интравезикално приложение на BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) при повърхностните тумори на пикочния мехур [45].

Противотуморният ефект на BCG се дължи на развитието на неспецифичен локален възпалителен процес, т.к. изисква присъствие на CD8 цитотоксични и CD4 хелперни лимфоцити. Доказано е, че след директен контакт на микобактериите със стената на пикочния мехур се развива възпалителен отговор, като свързването на BCG със стената на пикочния мехур се потенцира от фибронектина [46-48].

Профилактични режими на 6 – седмични вливания, подобни на тези, използвани при химиотерапията, водят до пълна степен на повлияване на заболяването в 60% до 100% от пациентите за 1 година и 55% до 75% за 2 години [49]. Отговорът към BCG не е дългосрочен, но времето без рецидиви е по-дълго от това, постигнато с помощта на повечето химиотерапевтични агенти. При сравнителни изследвания между BCG и антрациклиновите средства адриаамицин и епирубицин, се установява, че BCG има по-голямо предимство, поради намаление на честота на рецидивите с около 30% [50]. Предполага се, че лечението с BCG може да забави прогресията на туморния стадий или да забави необходимостта от радикална интервенция (цистектомия или лъчетерапия) при високо-рискови тумори [51].

Въпреки че мета-анализът на сравнителни проучвания между Mitomycin-C и BCG показва леко превъзходството на BCG с 2-годишна средна честота на рецидивирание от 46,4% и 38,6%, съответно [52], американската асоциация на уролозите (AUA) препоръчва използването на MMC или BCG за профилактика на pT1 и pTа тумори от висок грейд [53].

BCG е избор и за лечение на CIS (Carcinoma in situ), тъй като резултатите, постигнати с цитостатиците антрациклин и ММС, са ограничени във времето, с над 80% рецидиви за 5 годишен период [54]. Тази химиорезистентност отразява високия грейд на CIS (G3), като се предполага, че тумори с по-висок грейд експресират повече антигени и са по-чувствителни към терапия с BCG. 60% до 70% от пациентите, подложени на интравезикална имунотерапия с Bacille Calmette-Guérin, показват пълен отговор към терапията за срок от над 3 години, а 45% от пациентите – за над 5 години. 30% до 40% от пациентите с CIS не реагират на единичен курс на лечение с BCG [54], но степента и трайността на терапевтичния отговор се подобряват след провеждането на няколко поддържащи курса [55, 56]. Според Европейската асоциация на уролозите (EAU), пациентите, които не се повлияват от два последователни цикъла на имунотерапия, се насочват към цистектомия [57].

Други имуномодулатори, използвани при лечението на туморите на пикочния мехур, са интерферони (IFNs) и Keyhole limpet Hemocyanin (KLH).

Интерфероните (IFNs) са група от сигнални протеини, активиращи имунния отговор и освобождавани от клетките на гостоприемника в отговор на вируси, бактерии, паразити и туморни клетки. Висока активност срещу рака на пикочния мехур се постига при интравезикалното приложение на IFN- α 2b [58-60], като *in vitro* проучвания сочат, че комбинацията от IFN- α и стандартните интравезикални средства епирубидин, ММС и BCG имат синергичен ефект [60-63]. Комбинацията от имуностимулантите BCG и IFN- α повлиява пациенти, нечувствителни само към BCG [50].

KLH се прилага при имунотерапия на неинвазивен рак на пикочен мехур (Ta, T1 и CIS) [64]. KLH представлява кислород-пренасяща металопротеиназа, изолирана от хемолимфата на калифорнийската мида *Megatuga crenulata* [65]. Първата клинична употреба на KLH за имунотерапия на рака на пикочния мехур се съобщава от Olsson през 1974 г. [66].

KLH се характеризира със силни антигенни свойства. Предполагаемият му механизъм на действие е активиране на имунния отговор от епитопи с кръстосана реактивност като Thomson–Friederich антиген (Gal(β 1–3)-N-acetyl epitope), еквивалентен на епитоп от повърхността на туморите на пикочния мехур [67] и на въглехидратни епитопи от повърхността на ларвите на *Schistosoma mansoni* [68]. *In vivo* KLH индуцира производството на за-

щитни антитела срещу тези антигени и повишава T1 хелперния имунитет [69].

KLH първоначално се прилага като подкожна инжекция за предизвикването на имунен отговор, последвана от 18-месечни интравезикални вливания. След имунизацията, пациентите генерират IgG антитела срещу KLH [70, 71] и развиват отговор на свръхчувствителност от забавен тип (DTH) [72]. Jurincic и съавт. съобщават, че 95% от пациентите, лекувани с KLH, са имали пълен отговор към терапията, в сравнение с 69% от пациентите лекувани с Mitomycin C. Този клиничен отговор на KLH е сравним с клиничния отговор към BCG, макар и с по-малко странични ефекти [73, 74]. В проучване, което включва 101 пациенти, само трима са имали леко повишаване на температурата след началното интрадермално инжектиране, като не е наблюдавана системна токсичност или други неблагоприятни странични ефекти [65]. При друго сравнително проучване между KLH и Mitomycin C се установява, че KLH е по-ниско ефективен от Mitomycin C в предотвратяването на рецидивите на неинвазивния рак на пикочния мехур, но е по-ефективен в забавянето на прогресията на заболяването [75]. И тук както и при терапията с BCG, най-добри терапевтични резултати се постигат при пациенти с CIS, като обемистите тумори се повлияват трудно чрез имунотерапия [65, 76].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лечението на рака на пикочния мехур зависи главно от хистологичната характеристика на тумора, дълбочина на инвазия (например неинвазивен или мускул-инвазивен) и наличието на рецидиви. При част от пациентите за подобряване на резултатите от оперативното лечение, локално или системно се прилагат терапевтични схеми, включващи химиотерапевтици или имуностимулатори. Оптимизирането на лечението с оглед на по-добрата поносимост за пациента води до намаляване на инвалидизацията в следствие терапевтична цистектомия, времето на вътреболничен престой на пациента, количеството хоспитализации и като цяло спомага за подобряване на качеството на живот на пациента.

Библиография

1. Ferlay J SI, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. et al. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. GLOBOCAN 2012 v1.0 2013 [cited 2014 november]; Available from: <http://globocan.iarc.fr>

2. Ploeg M et al. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. *World journal of urology* 2009; 27(3): 289-93.
3. van Tilborg AA et al. Selection of microsatellite markers for bladder cancer diagnosis without the need for corresponding blood. *PLoS one* 2012; 7(8): e43345.
4. di Martino E et al. An integrated genomic, transcriptional and protein investigation of FGFR1 as a putative 4p16.3 deletion target in bladder cancer. *Genes, chromosomes & cancer* 2013; 52(9): 860-71.
5. Lopez-Beltran A et al. Loss of heterozygosity at 9q32-33 (DBC1 locus) in primary non-invasive papillary urothelial neoplasm of low malignant potential and low-grade urothelial carcinoma of the bladder and their associated normal urothelium. *The Journal of pathology* 2008; 215(3): 263-72.
6. Ploussard G et al. Prognostic value of loss of heterozygosity at chromosome 9p in non-muscle-invasive bladder cancer. *Urology* 2010; 76(2): 513 e13-8.
7. Lopez-Beltran A et al. Urothelial carcinoma of the bladder, lipid cell variant: clinicopathologic findings and LOH analysis. *The American journal of surgical pathology* 2010; 34(3): 371-6.
8. Szarvas T. [The diagnostic value of microsatellite LOH analysis and the prognostic relevance of angiogenic gene expression in urinary bladder cancer]. *Magyar onkologia* 2009; 53(4): 385-9.
9. Zieger K et al. Consistent genomic alterations in carcinoma in situ of the urinary bladder confirm the presence of two major pathways in bladder cancer development. *International journal of cancer. Journal international du cancer* 2009; 125(9): 2095-103.
10. Grigorov E et al. Applied pharmacoeconomics – methodology, structuring and conducting of pharmacoeconomical studies. *Journal of International Scientific Publications: Economy & Business* 2013; 7(1): 540-551.
11. Bouffloux C et al. Intravesical adjuvant chemotherapy for superficial transitional cell bladder carcinoma: results of 2 European Organization for Research and Treatment of Cancer randomized trials with mitomycin C and doxorubicin comparing early versus delayed instillations and short-term versus long-term treatment. *European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Group. The Journal of urology* 1995; 153(3 Pt 2): 934-41.
12. Kaasinen E et al. Factors explaining recurrence in patients undergoing chemioimmunotherapy regimens for frequently recurring superficial bladder carcinoma. *European urology* 2002; 42(2): 167-74.
13. Tolley DA et al. The effect of intravesical mitomycin C on recurrence of newly diagnosed superficial bladder cancer: a further report with 7 years of follow up. *The Journal of urology* 1996; 155(4): 1233-8.
14. Brocks CP et al. Inhibition of tumor implantation by intravesical gemcitabine in a murine model of superficial bladder cancer. *The Journal of urology* 2005; 174(3): 1115-8.
15. Pan JS et al. Inhibition of implantation of murine bladder tumor by thiotepa in cauterized bladder. *The Journal of urology* 1989; 142(6): 1589-93.
16. Pode D et al. The mechanism of human bladder tumor implantation in an in vitro model. *The Journal of urology* 1986; 136(2): 482-6.
17. Gunther JH et al. Optimizing syngeneic orthotopic murine bladder cancer (MB49). *Cancer research* 1999; 59(12): 2834-7.
18. Bohle A et al. Inhibition of bladder carcinoma cell adhesion by oligopeptide combinations in vitro and in vivo. *The Journal of urology* 2002; 167(1): 357-63.
19. Oddens JR et al. One immediate postoperative instillation of chemotherapy in low risk Ta, T1 bladder cancer patients. Is it always safe? *European urology* 2004; 46(3): 336-8.
20. Чакъров С. Рак на пикочния мехур. *Health.bg – нефрология, урология, андрология* 2013; 6: 34-37.
21. Shelley MD et al. Intravesical therapy for superficial bladder cancer: a systematic review of randomised trials and meta-analyses. *Cancer treatment reviews* 2010; 36(3): 195-205.
22. Sylvester RJ et al. A single immediate postoperative instillation of chemotherapy decreases the risk of recurrence in patients with stage Ta T1 bladder cancer: a meta-analysis of published results of randomized clinical trials. *The Journal of urology* 2004; 171(6 Pt 1): 2186-90, quiz 2435.
23. Volpe A et al. Mitomycin C for the treatment of bladder cancer. *Minerva urologica e nefrologica = The Italian journal of urology and nephrology* 2010; 62(2): 133-44.
24. Grossman HB et al. Neoadjuvant chemotherapy plus cystectomy compared with cystectomy alone for locally advanced bladder cancer. *The New England journal of medicine* 2003; 349(9): 859-66.
25. Neoadjuvant cisplatin, methotrexate, and vinblastine chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer: a randomised controlled trial. *International collaboration of trialists. Lancet* 1999; 354(9178): 533-40.
26. Kachnic LA et al. Bladder preservation by combined modality therapy for invasive bladder cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 1997; 15(3): 1022-9.
27. Bajorin DF et al. Long-term survival in metastatic transitional-cell carcinoma and prognostic factors predicting outcome of therapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 1999; 17(10): 3173-81.
28. Sternberg CN et al. M-VAC (methotrexate, vinblastine, doxorubicin and cisplatin) for advanced transitional cell carcinoma of the urothelium. *The Journal of urology* 1988; 139(3): 461-9.
29. Logothetis CJ et al. A prospective randomized trial comparing MVAC and CISCA chemotherapy for patients with metastatic urothelial tumors. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 1990; 8(6): 1050-5.
30. Loehrer PJ, Sr. et al. A randomized comparison 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 : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 1992; 10(7): 1066-73.
31. Kaufman D et al. Phase II trial of gemcitabine plus cisplatin in patients with metastatic urothelial cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2000; 18(9): 1921-7.
32. Moore MJ et al. Gemcitabine plus cisplatin, an active regimen in advanced urothelial cancer: a phase II trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 1999; 17(9): 2876-81.
33. von der Maase H et al. Weekly gemcitabine and cisplatin combination therapy in patients with transitional cell carcinoma of the urothelium: a phase II clinical trial. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 1999; 10(12): 1461-5.
34. Weight CJ et al. Lack of pathologic down-staging with neoadjuvant chemotherapy for muscle-invasive urothelial car-

- cinoma of the bladder: a contemporary series. *Cancer* 2009; 115(4): 792-9.
35. Sternberg CN et al. Can patient selection for bladder preservation be based on response to chemotherapy? *Cancer* 2003; 97(7): 1644-52.
 36. Caffo O et al. Gemcitabine and radiotherapy plus cisplatin after transurethral resection as conservative treatment for infiltrating bladder cancer: Long-term cumulative results of 2 prospective single-institution studies. *Cancer* 2011; 117(6): 1190-6.
 37. Skinner DG et al. The role of adjuvant chemotherapy following cystectomy for invasive bladder cancer: a prospective comparative trial. *The Journal of urology* 1991; 145(3): 459-64; discussion 464-7.
 38. von der Maase H et al. Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2005; 23(21): 4602-8.
 39. Sternberg CN. Perioperative chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer to enhance survival and/or as a strategy for bladder preservation. *Seminars in oncology* 2007; 34(2): 122-8.
 40. Stadler WM et al. Long-term survival in phase II trials of gemcitabine plus cisplatin for advanced transitional cell cancer. *Urologic oncology* 2002; 7(4): 153-7.
 41. Lehmann J et al. Adjuvant cisplatin plus methotrexate versus methotrexate, vinblastine, epirubicin, and cisplatin in locally advanced bladder cancer: results of a randomized, multicenter, phase III trial (AUO-AB 05/95). *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2005; 23(22): 4963-74.
 42. NCCN. Clinical Practice Guidelines in Oncology:Bladder Cancer. v.1.2013. 2013 [cited 2015 08.02.2015]; Available from: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/bladder.pdf.
 43. Waxman J et al. New combination chemotherapy programme for bladder cancer. *British journal of urology* 1989; 63(1): 68-71.
 44. Bellmunt J et al. Carboplatin-based versus cisplatin-based chemotherapy in the treatment of surgically incurable advanced bladder carcinoma. *Cancer* 1997; 80(10): 1966-72.
 45. Morales A et al. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *The Journal of urology* 1976; 116(2): 180-3.
 46. Kavoussi LR et al. Fibronectin-mediated Calmette-Guerin bacillus attachment to murine bladder mucosa. Requirement for the expression of an antitumor response. *The Journal of clinical investigation* 1990; 85(1): 62-7.
 47. Ratliff TL et al. Requirement of a thymus dependent immune response for BCG-mediated antitumor activity. *The Journal of urology* 1987; 137(1): 155-8.
 48. Ratliff TL et al. Role of fibronectin in intravesical BCG therapy for superficial bladder cancer. *The Journal of urology* 1988; 139(2): 410-4.
 49. Mungan NA et al. Bacille Calmette-Guerin in superficial transitional cell carcinoma. *British journal of urology* 1998; 82(2): 213-23.
 50. O'Donnell MA et al. Salvage intravesical therapy with interferon-alpha 2b plus low dose bacillus Calmette-Guerin is effective in patients with superficial bladder cancer in whom bacillus Calmette-Guerin alone previously failed. *The Journal of urology* 2001; 166(4): 1300-4, discussion 1304-5.
 51. Knight-Shapiro C et al. The relationship between delayed type hypersensitivity and acquired cellular resistance in experimental airborne tuberculosis. *Journal of hygiene, epidemiology, microbiology, and immunology* 1975; 19(4): 421-4.
 52. Bohle A et al. Intravesical bacillus Calmette-Guerin versus mitomycin C for superficial bladder cancer: a formal meta-analysis of comparative studies on recurrence and toxicity. *The Journal of urology* 2003; 169(1): 90-5.
 53. Smith JA, Jr. et al. Bladder cancer clinical guidelines panel summary report on the management of nonmuscle invasive bladder cancer (stages Ta, T1 and TIS). *The American Urological Association. The Journal of urology* 1999; 162(5): 1697-701.
 54. Lamm DL. BCG immunotherapy for transitional-cell carcinoma in situ of the bladder. *Oncology (Williston Park)* 1995; 9(10): 947-52, 955, discussion 955-65.
 55. Sylvester RJ et al. 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. *The Journal of urology* 2002; 168(5): 1964-70.
 56. Lamm DL et al. Maintenance bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for recurrent TA, T1 and carcinoma in situ transitional cell carcinoma of the bladder: a randomized Southwest Oncology Group Study. *The Journal of urology* 2000; 163(4): 1124-9.
 57. Oosterlinck W et al. [EAU Recommendations 2001. „Guidelines on bladder cancer“]. *Progres en urologie : journal de l'Association francaise d'urologie et de la Societe francaise d'urologie* 2002; 12(5): 1161-3.
 58. Glashan RW. A randomized controlled study of intravesical alpha-2b-interferon in carcinoma in situ of the bladder. *The Journal of urology* 1990; 144(3): 658-61.
 59. Boccardo F et al. Prophylaxis of superficial bladder cancer with mitomycin or interferon alfa-2b: results of a multicentric Italian study. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 1994; 12(1): 7-13.
 60. Beldegrun AS et al. Superficial bladder cancer: the role of interferon-alpha. *The Journal of urology* 1998; 159(6): 1793-801.
 61. Ferrari P et al. Chemoimmunotherapy for prophylaxis of recurrence in superficial bladder cancer: interferon-alpha 2b versus interferon-alpha 2b with epirubicin. *Anti-cancer drugs* 1992; 3 Suppl 1: 25-7.
 62. Engelmann U et al. Interferon-alpha 2b instillation prophylaxis in superficial bladder cancer--a prospective, controlled three-armed trial. *Project Group Bochum--Interferon and Superficial Bladder Cancer. Anti-cancer drugs* 1992; 3 Suppl 1: 33-7.
 63. Stricker P et al. Bacillus Calmette-Guerin plus intravesical interferon alpha-2b in patients with superficial bladder cancer. *Urology* 1996; 48(6): 957-61; discussion 961-2.
 64. Linn JF et al. Keyhole limpet haemocyanin in experimental bladder cancer: literature review and own results. *European urology* 2000; 37 Suppl 3: 34-40.
 65. Jurincic CD et al. Immunotherapy in bladder cancer with keyhole-limpet hemocyanin: a randomized study. *The Journal of urology* 1988; 139(4): 723-6.
 66. Olsson CA et al. Immunologic reduction of bladder cancer recurrence rate. *The Journal of urology* 1974; 111(2): 173-6.
 67. Wirguin I et al. Axonal degeneration accompanied by conduction block induced by toxin mediated immune reactivity to GM1 ganglioside in rat nerves. *Journal of the neurological sciences* 1995; 130(1): 17-21.

68. Li Y et al. The serological differentiation of acute and chronic *Schistosoma japonicum* infection by ELISA using keyhole limpet haemocyanin as antigen. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1994; 88(2): 249-51.
69. Moltedo B et al. Immunotherapeutic Effect of Concholepas Hemocyanin in the Murine Bladder Cancer Model: Evidence for Conserved Antitumor Properties Among Hemocyanins. *THE JOURNAL OF UROLOGY*® 2006; 176: 2690-2695.
70. Moroz LA et al. Normal human IgG with antibody activity for keyhole limpet haemocyanin. *Immunology* 1973; 25(3): 441-9.
71. Burke GP et al. Anti-keyhole limpet hemocyanin antibody in normal unsensitized individuals. *The Journal of allergy and clinical immunology* 1977; 59(4): 309-13.
72. Hortobagyi GN et al. Prognostic value of prechemotherapy skin tests in patients with metastatic breast carcinoma. *Cancer* 1981; 47(6): 1369-76.
73. Flamm J et al. Recurrent superficial transitional cell carcinoma of the bladder: adjuvant topical chemotherapy versus immunotherapy. A prospective randomized trial. *The Journal of urology* 1990; 144(2 Pt 1): 260-3.
74. Schenkman E et al. Superficial bladder cancer therapy. *The-ScientificWorldJournal* 2004; 4 Suppl 1: 387-99.
75. Lammers RJ et al. Intracutaneous and intravesical immunotherapy with keyhole limpet hemocyanin compared with intravesical mitomycin in patients with non-muscle-invasive bladder cancer: results from a prospective randomized phase III trial. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2012; 30(18): 2273-9.
76. Lamm DL et al. Keyhole limpet hemocyanin immunotherapy of bladder cancer: laboratory and clinical studies. *European urology* 2000; 37 Suppl 3: 41-4.

✉ *Адрес за кореспонденция:*
Асистент д-р Олга Антонова, дб
Катедра по медицинска генетика
МУ – София
ул. Здраве 2, 1431 София, България
Тел.: + 359 884209250,
e-mail: olga.boyanova@gmail.com