



EFEITOS DA NANO-IMUNOTERAPIA ONCOTHERAD® (MRB-CFI-1) NA MODULAÇÃO DAS MONOAMINAS OXIDASES: IMPLICAÇÕES CLÍNICAS NO CÂNCER DE BEXIGA NÃO-MÚSCULO INVASIVO

Palavras-Chave: CÂNCER DE BEXIGA, ONCOTHERAD, MONOAMINA OXIDASE

Autores/as:

MONALIZA ÁVILA (aluna), FCM, UNICAMP

Prof.(a) Dr.(a) WAGNER JOSÉ FÁVARO (orientador), IB, UNICAMP

Coautores: Gabriela Cardoso de Arruda Camargo, Gabriela Oliveira, João Cardoso Alonso, Bianca Ribeiro de Souza, Bruna Nayara Silva Santos, Isadora Manzato Roberto, Nelson Duran (LCURGIM, IB-UNICAMP)

INTRODUÇÃO:

A imunoterapia com *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) tem sido o tratamento padrão-ouro para o câncer de bexiga não-músculo invasivo (CBNMI) por quase meio século. No entanto, muitos pacientes com doença de alto risco apresentam recorrência, incluindo aqueles que progridem e, eventualmente, não respondem ao BCG. Durante décadas, além da cistectomia radical, poucas opções terapêuticas existiam para essa população de risco. No entanto, o advento de novos agentes imunoterápicos transformou o tratamento de vários tipos de tumores, incluindo o carcinoma urotelial. Essas imunoterapias têm apresentado resultados promissores no tratamento do câncer de bexiga. Nesse cenário, nosso grupo de pesquisa desenvolveu a imunoterapia OncoTherad® (MRB-CFI-1), a qual tem apresentado resultados positivos no tratamento do câncer, em especial o CBNMI. Com base nos estudos pré-clínicos, clínico-veterinários e clínicos Fase 1/2 em seres humanos realizados nos últimos anos, a imunoterapia OncoTherad® (MRB-CFI-1) representa uma nova abordagem para combater lesões malignas de alto grau ainda na bexiga urinária, antes de se espalharem para tecidos e órgãos adjacentes.

Devido à complexidade inerente da resposta imune, a seleção de pacientes e o desenvolvimento de biomarcadores para orientar a identificação de pacientes que obterão o maior benefício de uma determinada imunoterapia permanecem críticos. A maioria das imunoterapias funciona através do aumento das respostas antitumorais das células T CD8+, que podem ser bastante limitadas pelo microambiente tumoral (TME) imunossupressor. Os macrófagos associados ao tumor (TAMs), um componente chave do TME imunossupressor, diminuem a reatividade antitumoral das células T na maioria dos tumores sólidos. Nos últimos anos, vários estudos demonstraram a regulação positiva das monoamina oxidases (MAOs) em comparação com tecidos normais. As MAOs são enzimas oxidativas que catalisam a conversão de amins biogênicas em seus aldeídos e cetonas correspondentes por meio

de desaminação oxidativa (Aljanabi et al., 2021; Durán et al., 2021). As MAOs podem ser classificadas em dois tipos: monoamina oxidase A (MAO-A) e monoamina oxidase B (MAO-B) (Tripathi et al., 2018; Manzoor & Hoda, 2020; Durán et al., 2021). O gene MAO-A é um gene localizado no cromossomo X (Xp11.23), que codifica a proteína MAO-A na membrana mitocondrial externa (Bach et al., 1988; Aljanabi et al., 2021). A MAO-A está presente no trato gastrointestinal, pulmão, fígado e placenta; enquanto a MAO-B está presente nas plaquetas (Bach et al., 1988; Aljanabi et al., 2021; Durán et al., 2021). O papel das MAOs no câncer de bexiga ainda é pouco explorado. Os relatos na literatura são escassos quanto as funções e tipos de MAO no tecido vesical normal e neoplásico.

Assim, os objetivos do presente estudo foram caracterizar os efeitos da nano-imunoterapia OncoTherad® (MRB-CFI-1) na modulação das monoaminas oxidases (MAO-A e MAO-B) na bexiga urinária de pacientes com CBNMI irresponsivos (recidivados, refratários, intolerantes) ao tratamento com BCG.

METODOLOGIA:

Foram recebidas e analisadas as 40 biópsias de tecido da bexiga urinária de pacientes obtidas por cistoscopia ou ressecção transuretral (RTU), provenientes do Ambulatório de Saúde do Homem do Hospital Municipal de Paulínia (HMP)/Paulínia-SP e do Ambulatório de Urologia do Hospital de Caridade São Vicente de Paulo (HSV)/Jundiaí-SP, com câncer de bexiga não-músculo invasivo irresponsivo (recidivado, refratário, intolerante) ao tratamento com *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) e/ou quimioterapia intravesical, submetidos ao tratamento da nano-imunoterapia OncoTherad®. A partir disso, as lesões foram classificadas conforme o estadiamento proposto pelo Consenso da Organização Mundial da Saúde/Sociedade Internacional de Patologia Urológica e os pacientes foram designados aos dois grupos do estudo (n=20 por grupo): **Grupo 1** (biópsia inicial, antes do tratamento com Oncotherad®) e **Grupo 2** (biópsia da bexiga após o tratamento com Oncotherad®).

A partir disso, foram realizadas imunoistoquímicas, nas amostras obtidas, para os anticorpos MAO-A (sc-271123) e MAO-B (sc-515354), seguidas de análises da imunorreatividade total através do software *Image J*.

Os valores das análises imunoistoquímicas foram representados em média ± desvio padrão. As imunorreatividades para cada proteína e para cada grupo foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Mann-Whitney. As análises foram realizadas com o software *GraphPad Prism, versão 7.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, Califórnia, EUA). A significância estatística estabelecida foi de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Em relação ao estadiamento e gradação histológica inicial, os tumores mais frequentes foram pT1 (35,0%) e pTa baixo grau (35,0%), seguidos de pTa alto grau (20,0%) e pTis (10,0%). A maioria dos tumores apresentaram-se como lesões multifocais em 80,0% dos pacientes e, solitárias em 20,0%. Tumores >3,0 cm ocorreram em 75,0% dos pacientes, enquanto tumores <3,0 cm ocorreram em 25,0%.

A imunoterapia OncoTherad® reduziu significativamente a gradação histológica em relação ao tratamento prévio com oncoBCG e/ou quimioterapia intravesical. A maioria das lesões malignas foi pTa baixo grau (20,0%), seguido de pTa alto grau (5,0%). A maioria das lesões apresentaram-se como lesões solitárias (85,0%) e <3,0 cm (90,0%). Neoplasia urotelial de baixo potencial maligno ocorreu em 25,0% dos pacientes. Alterações teciduais não-neoplásicas como cistite crônica folicular, cistite crônica inespecífica ocorreram em 25,0% e 25,0% dos pacientes, respectivamente.

Em relação as análises imunoistoquímicas para as MAOs, nossos resultados demonstraram elevadas imunorreatividades tanto para MAO-A quanto para MAO-B no microambiente tumoral da bexiga urinária antes do tratamento com OncoTherad® (**Tabela 1**), confirmando que o padrão relatado pelos estudos da literatura também pode ser observado nos tumores de bexiga não-músculo invasivos.

As imunorreatividades totais para MAO-A não diferiram estatisticamente (**Tabela 1**) nas biópsias vesicais antes (**Figura 1A**) e após o tratamento com OncoTherad® (**Figura 1B**), indicando que esse tratamento não interfere na ação da MAO-A no tecido vesical. Em contraste, as imunorreatividades para MAO-B foram significativamente menores (**Tabela 1**) nas biópsias vesicais após o tratamento com OncoTherad® (**Figura 2B**) em relação as biópsias prévias (**Figura 2A**), indicando que essa imunoterapia reverteu o estado de imunossupressão e a progressão tumoral induzidos por MAO-B.

Tabela 1: Média \pm desvio padrão da imunorreatividade total (%) para os diferentes antígenos antes e após o tratamento com OncoTherad®.

| Antígenos | Grupos | |
|-----------|---------------------|---------------------|
| | G1 (n=20) | G2 (n=20) |
| MAO-A | 51,60 \pm 15,54 a | 46,26 \pm 22,58 a |
| MAO-B | 45,60 \pm 19,37 a | 34,46 \pm 14,51 b |

Na mesma linha, valores seguidos por letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

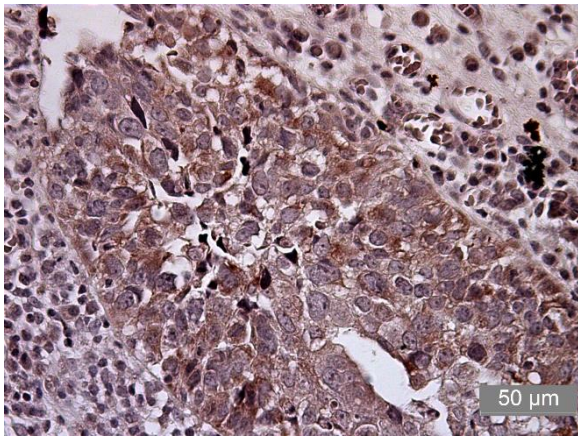


Figura 1A: Imunomarcção representativa para monoamina oxidase A (MAO-A) na bexiga urinária antes

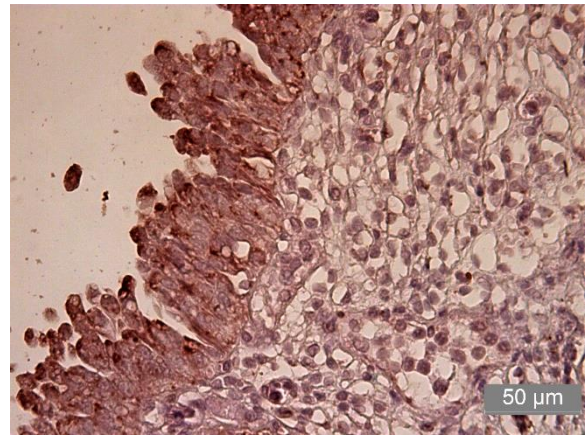


Figura 1B: Imunomarcção representativa para monoamina oxidase A (MAO-A) na bexiga urinária depois do tratamento com Oncotherad®

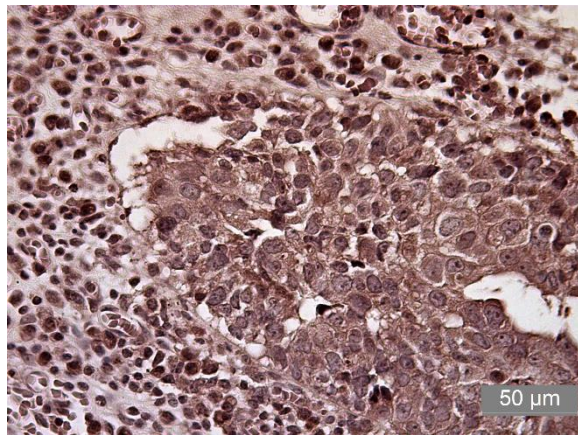


Figura 2A: Imunomarcção representativa para monoamina oxidase B (MAO-B) na bexiga urinária antes

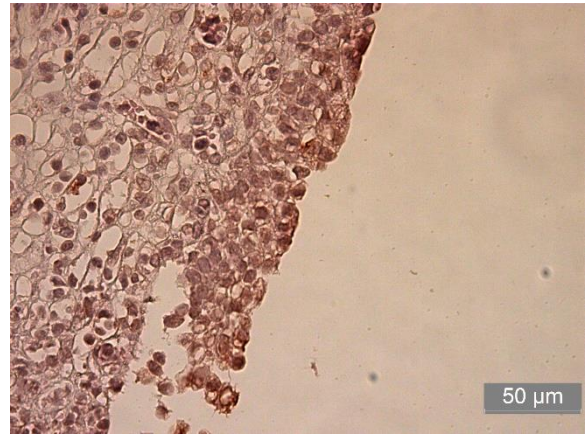


Figura 2B: Imunomarcção representativa para monoamina oxidase B (MAO-B) na bexiga urinária depois do tratamento com Oncotherad®

CONCLUSÕES:

Nossos resultados demonstraram elevadas imunorreatividades tanto para MAO-A quanto para MAO-B no microambiente tumoral da bexiga urinária, confirmando que o padrão relatado pelos estudos da literatura também pode ser observado nos tumores de bexiga não-músculo invasivos. O tratamento com OncoTherad® não alterou as imunorreatividades para MAO-A. A diminuição das imunorreatividades para MAO-B após o tratamento com OncoTherad® relacionou-se com a resposta antitumoral dessa imunoterapia, a qual reverteu o estado de imunossupressão e a progressão tumoral induzidos por MAO-B. Ainda, nossos resultados apoiam a utilização da MAO-B como um biomarcador de resposta clínica à terapia com OncoTherad®.

BIBLIOGRAFIA

Aljanabi R, Alsous L, Sabbah DA, Gul HI, Gul M, Bardaweel SK. Monoamine oxidase (MAO) as a potential target for anticancer drug design and development. *Molecules* 2021, 26:6019.

Durán N, Alonso JCC, Favaro WJ. Deprenyl, an old drug with new anticancer potential: Mini review. *arXiv preprint* 2021, arXiv:2104.01829.

Tripathi AC, Upadhyay S, Paliwal S, Saraf SK. Privileged scaffolds as MAO inhibitors: Retrospect and prospects. *Eur J Med Chem* 2018, 145: 445–497.

Manzoor S, Hoda N. A Comprehensive Review of Monoamine Oxidase Inhibitors as Anti-Alzheimer's Disease Agents: A Review. *Eur J Med Chem* 2020, 206: 112787.

Bach AW, Lan NC, Johnson DL, Abell CW, Bembenek ME, Kwan SW, et al.. cDNA cloning of human liver monoamine oxidase A and B: Molecular basis of differences in enzymatic properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988, 85: 4934–4938.