

REPROGRAMAÇÃO METABÓLICA NO CÂNCER DE BEXIGA NÃO-MÚSCULO INVASIVO: IMPACTO DA NANOIMUNOTERAPIA ONCOTHERAD® (MRB-CFI-1) NO METABOLISMO ENERGÉTICO CELULAR

Palavras-Chave: Câncer de Bexiga-1, Metabolismo Energético-2, Imunoterapia OncoTherad® (MRB-CFI-1)-3

Autores(as):

Manuela Gracie Nicoliello, Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP
Prof. Dr. Wagner José Fávaro (orientador), Instituto de Biologia – UNICAMP

Certificado de Aprovação Ética (CAAE)

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP (CAAE: 93619718.7.0000.5404; CAAE: 45218221.8.0000.5404) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Jundiaí (CAAE: 45218221.8.3001.5412), garantindo conformidade com os padrões éticos para pesquisas envolvendo seres humanos.

INTRODUÇÃO:

O câncer de bexiga (CB) permanece como um relevante problema de saúde pública global, devido às elevadas taxas de morbidade e mortalidade (1), (2). Caracteriza-se por alta recorrência e risco de progressão mesmo em estágios localizados (2), demandando, na maioria dos casos, terapias intravesicais repetidas e procedimentos cirúrgicos, com elevado custo para os sistemas de saúde. No Brasil, para o triênio 2023–2025, estimam-se 11.370 novos casos anuais, o que corresponde a um risco ajustado de 5,25 casos por 100 mil habitantes (3).

Aproximadamente 70% a 75% dos casos iniciais apresentam-se como câncer de bexiga não músculo-invasivo (CBNMI), restrito ao urotélio ou à lâmina própria (4), (5). Apesar de a imunoterapia intravesical com *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) ser o tratamento padrão para CBNMI de alto risco, até metade dos pacientes não mantém resposta sustentada, evidenciando a necessidade de novas estratégias terapêuticas mais eficazes.

O entendimento do metabolismo energético tumoral tem se tornado central na pesquisa translacional do CBNMI. Células normais dependem predominantemente da fosforilação oxidativa mitocondrial (OXPHOS) para geração de ATP; entretanto, células neoplásicas frequentemente reprogramam seu metabolismo, favorecendo a glicólise aeróbia mesmo em condições normóxicas — o chamado efeito Warburg — para suprir rapidamente demandas energéticas e biossintéticas associadas

à proliferação, além de contribuir para resistência à apoptose e escape imune (6), (7). Essa plasticidade metabólica pode ser investigada por meio de marcadores específicos: GLUT-1, PFK, GAPDH e LDH refletem a atividade glicolítica; enquanto PDH, CS, β -F1-ATP sintase (F1ATP), HSP60 e HADHSC informam sobre a capacidade oxidativa mitocondrial e a integridade funcional da organela (Figura 1).

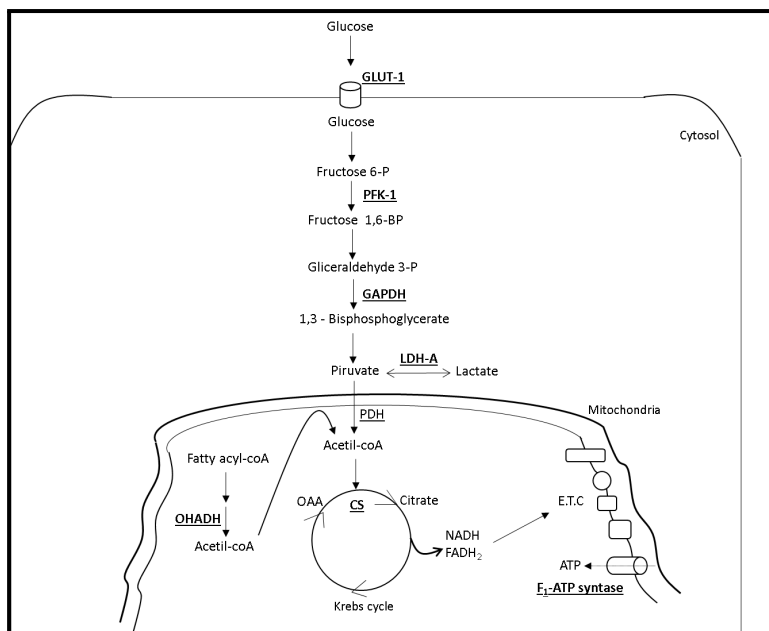


Figura 1. Vias do metabolismo energético celular

Fonte: Própria.

Neste contexto, a nanoimunoterapia OncoTherad® (MRB-CFI-1) surge como uma alternativa inovadora para pacientes com CBNMI refratário ao BCG. Trata-se de um complexo fosfatado nanoestruturado com potente ação imunomodulatória, mediada pela ativação de receptores Toll-like e indução da via de interferon. Estudos pré-clínicos e clínicos demonstraram taxas de resposta patológica completa de até 72,7%, controle prolongado da doença e baixo perfil de toxicidade (8), (9), (10), (11).

Diante disso, o presente estudo caracterizou o metabolismo energético tumoral em biópsias vesicais de pacientes com CBNMI antes e após tratamento com OncoTherad®, por meio da quantificação imunoistoquímica de biomarcadores do metabolismo energético celular, bem como correlacionou com parâmetros clínico-patológicos.

METODOLOGIA:

Este estudo retrospectivo incluiu 40 amostras de tecido vesical de 20 pacientes com CBNMI não-responsivos ao BCG e tratados com a nanoimunoterapia OncoTherad® (MRB-CFI-1) em dois centros hospitalares. As amostras foram obtidas por cistoscopia ou ressecção transuretral (RTU), fixadas em formalina tamponada a 10% e embebidas em parafina.

As biópsias vesicais de cada paciente foram divididas em dois grupos (n=20 amostras por grupo): Grupo 1 [biópsia inicial, antes do tratamento com OncoTherad®]; e Grupo 2 [biópsia da bexiga

após o tratamento]. As amostras foram submetidas a análises IHC detalhadas para avaliar os marcadores das vias metabólicas: Glicolítica (GLUT1, PFK, GAPDH) e Fosforilação Oxidativa (PDH, CS, HADHSC, β -F1-ATP sintase).

A avaliação imunohistoquímica (IHC) considerou cinco campos representativos por amostra e marcador (aumento de 400 $\times$). As imagens foram adquiridas em microscópio óptico e analisadas com o software ImageJ (National Institutes of Health, EUA) por macro de Análise de Perfil, obtendo-se a porcentagem de células positivas (10), (11). Os achados de IHC foram correlacionados com dados clínicos e patológicos, incluindo idade, sexo, histórico e resposta prévia ao BCG, resposta patológica completa, sobrevida livre de recidiva, duração da resposta, tamanho e número de lesões, focalidade, subtipo histológico, grau e estágio tumoral, visando estabelecer critérios prognósticos e preditivos de resposta à imunoterapia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A maioria dos pacientes incluídos (85,0%) havia recebido dois cursos prévios de BCG, enquanto 15,0% foram tratados com quimioterapia intravesical à base de gemcitabina após falha ou indisponibilidade do BCG. Quanto ao tipo de falha ao BCG, 60,0% foram classificados como refratários, 35,0% como recidivantes e 5,0% como intolerantes. O estadiamento e a gradação histológica iniciais mostraram predomínio de pT1 (35,0%) e pTa de baixo grau (35,0%), seguidos por pTa de alto grau (20,0%) e pTis (10,0%). Lesões multifocais ocorreram em 80,0% dos casos e tumores >3 cm em 75,0% dos pacientes.

O tratamento com OncoTherad® (MRB-CFI-1) resultou em redução significativa da gradação histológica, assim como diminuição do tamanho e da multifocalidade das lesões em comparação ao cenário pós-BCG e/ou quimioterapia intravesical. Recorrências ocorreram em 30,0% dos pacientes ao longo de 24 meses, predominantemente entre 10 e 12 meses (33,3%) e entre 19 e 24 meses (33,3%) de acompanhamento, e manifestaram-se principalmente como tumores >3 cm e solitários. Ao final do seguimento, 70,0% dos pacientes alcançaram resposta patológica completa, com sobrevida livre de doença média de 21,2 meses e duração média da resposta de 14,8 meses.

A análise IHC demonstrou que o OncoTherad® induziu uma modulação metabólica coordenada. No eixo glicolítico, houve aumento significativo de GAPDH e PFK, indicando intensificação do processamento citosólico da glicose e aumento da disponibilidade de intermediários biossintéticos essenciais para a ativação imune. Em contrapartida, observou-se redução significativa de GLUT-1 (**Figuras 2 e 3**), sugerindo que o efeito metabólico não dependeu do aumento da captação de glicose, mas sim da otimização de seu aproveitamento intracelular.

No metabolismo oxidativo, registrou-se elevação marcante de F1ATP (β -F1-ATP sintase), PDH e HADHSC, compatível com aumento da capacidade mitocondrial de produção de ATP e maior flexibilidade no uso de substratos, incluindo glicose oxidada e ácidos graxos. A discreta redução de CS sugere possível redirecionamento do citrato para vias biossintéticas e de sinalização pró-inflamatória.

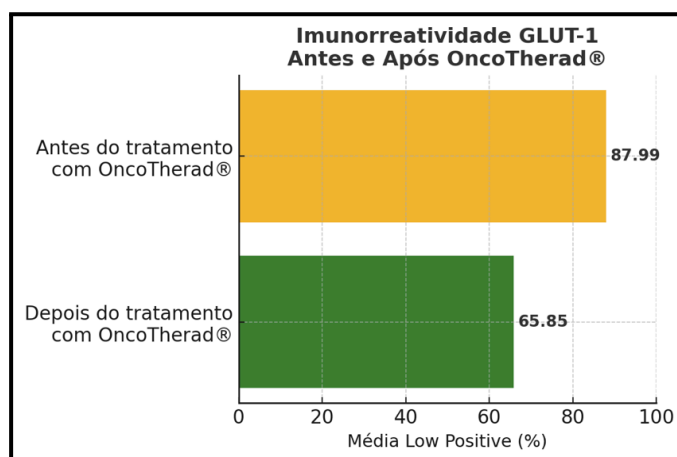


Figura 2. Média da imunorreatividade para GLUT-1 antes e após o tratamento com OncoTherad® (MRB-CFI-1)

Fonte: Própria.

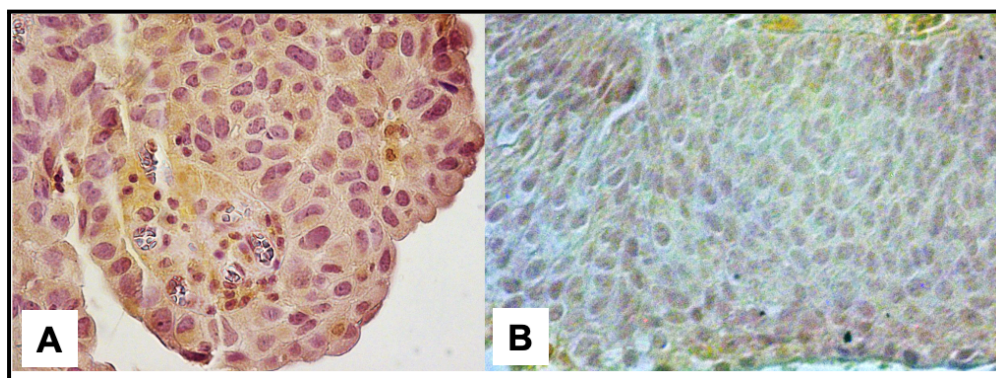


Figura 3. Fotomicrografias representativas da imunomarcagem para GLUT-1 antes (A) e após (B) o tratamento com OncoTherad® (MRB-CFI-1)

Fonte: Própria

CONCLUSÕES:

O presente estudo demonstrou que o tratamento com a nanoimunoterapia OncoTherad® (MRB-CFI-1) em pacientes com CBNMI não-responsivos ao BCG resultou em impacto clínico e metabólico significativo. Clinicamente, observou-se redução expressiva da graduação histológica, do tamanho tumoral e da multifocalidade das lesões, além de elevadas taxas de resposta patológica completa (70,0%) e prolongamento da sobrevida livre de doença (média de 21,2 meses), corroborando o potencial da terapia como alternativa eficaz em casos de falha ao BCG.

Metabolicamente, a análise IHC evidenciou uma reprogramação bioenergética seletiva e coordenada. No eixo glicolítico, verificou-se redução significativa da expressão de GLUT-1, associada a aumento de PFK e GAPDH, sugerindo uma otimização do processamento intracelular da glicose e do fluxo glicolítico, sem dependência de maior captação extracelular. No metabolismo oxidativo, o aumento de F1ATP, PDH e HADHSC indica expansão da capacidade mitocondrial de geração de ATP e maior flexibilidade no uso de substratos, enquanto a discreta redução de CS pode refletir redirecionamento de intermediários do ciclo de Krebs para vias biossintéticas pró-inflamatórias. Esses achados apontam para um fenótipo imunometabólico híbrido, caracterizado pela ativação sinérgica da

glicólise aeróbia e da fosforilação oxidativa, conferindo alta plasticidade bioenergética às células efectoras antitumorais. Tal perfil é consistente com mecanismos descritos em imunoterapias de nova geração e pode sustentar respostas imunes prolongadas e mais eficientes no microambiente tumoral vesical.

Em conjunto, os resultados reforçam o papel do OncoTherad® como estratégia terapêutica promissora para CBNMI refratário ao BCG e sugerem que a modulação coordenada do metabolismo energético tumoral pode representar um determinante crítico de eficácia clínica e um potencial biomarcador de resposta à imunoterapia.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo nº 2024/09261-6) pelo apoio financeiro e concessão de bolsa, e ao orientador, membros e colaboradores do Laboratório de Carcinogênese Urogenital e Imunoterapia (LCURGIM) do Instituto de Biologia da UNICAMP pelo suporte científico e técnico.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Faguet GB. A brief history of cancer: Age-old milestones underlying our current knowledge database. *Int J Cancer*. 2015; 136:2022–2036.
- (2) Celada Luis G, Albers Acosta E, de la Fuente H, et al. A comprehensive analysis of immune response in patients with non-muscle-invasive bladder cancer. *Cancers (Basel)*. 2023; 15:1364.
- (3) Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. – Rio de Janeiro: INCA, 2022.
- (4) Askeland EJ, Newton MR, O'Donnell MA, Luo Y. Bladder cancer immunotherapy: BCG and beyond. *Adv Urol*. 2012, 2012:181987.
- (5) Lamm D, Persad R, Brausi M, et al. Defining progression in nonmuscle invasive bladder cancer: It is time for a new, standard definition. *J Urol*. 2014; 191:20–27.
- (6) Semeniuk-Wojtaś A, Poddebniak-Strama K, Modzelewska M, Baryła M, Dziąg-Dudek E, Syryło T, et al. Tumour microenvironment as a predictive factor for immunotherapy in non-muscle-invasive bladder cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2023;72(7):1971-1989.
- (7) Costa GP, Böckelmann PK, Costa RP, Schaal CH, Sala FC, Vanni AP, Freitas LLL, Alonso JCC, Camargo GCA, Oliveira, G, Ribeiro de Souza B, Billis A, Fávaro WJ. Profiling energy metabolism in normal bladder tissue and non-muscle-invasive bladder cancer cases of different histological grades. *Tumor Discovery* 2024, 3(1):2290.
- (8) Alonso JCC, de Souza BR, Reis IB, de Arruda Camargo GC, de Oliveira G, de Barros Frazão Salmazo MI, Gonçalves JM, de Castro Roston JR, Caria PHF, da Silva Santos A, de Freitas LLL, Billis A, Durán N, Fávaro WJ. OncoTherad® (MRB-CFI-1) Nanoimmunotherapy: A Promising Strategy to Treat Bacillus Calmette-Guerin-Unresponsive Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer: Crosstalk among T-Cell CX3CR1, Immune Checkpoints, and the Toll-Like Receptor 4 Signaling Pathway. *Int J Mol Sci*. 2023, 24(24):17535.
- (9) Fávaro WJ, Alonso JCC, de Souza BR, Reis IB, Gonçalves JM, Deckmann AC, Oliveira G, Dias QC, Durán N. New synthetic nano-immunotherapy (OncoTherad®) for non-muscle invasive bladder cancer: Its synthesis, characterization and anticancer property. *Tissue Cell*. 2023; 80:101988.
- (10) de Arruda Camargo GC, Oliveira G, Santos BNS, Roberto IM, Ávila M, de Souza BR, et al. Modulation of the tumor microenvironment in non-muscle-invasive bladder cancer by OncoTherad® (MRB-CFI-1) nanoimmunotherapy: effects on tumor-associated macrophages, tumor-infiltrating lymphocytes, and monoamine oxidases. *Med Oncol*. 2024; 41(11):287.
- (11) Salmazo MIBF, Alonso JCC, de Arruda Camargo GC, de Oliveira G, da Silva Santos A, Ávila M, Roberto IM, de Freitas LLL, Bottene MC, Lestingi JFP, Caria PHF, Durán N, Kobarg J, Fávaro WJ. Clinical and immunohistochemical effects of OncoTherad (MRB-CFI-1) nanoimmunotherapy on SERBP1, HABP4, CD44 and Ki-67 in BCG-unresponsive non-muscle invasive bladder cancer. *Tissue Cell*. 2025;93:102783.