



EXOSSOMAS COMO FERRAMENTA ESTRATÉGICA NA PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE VACINAS PARA O CÂNCER DE MAMA

KARINA MAYUMI TANI BEZERRA DE MELO; PEDRO HENRIQUE BEZERRA
FONTES; DÉBORA VITÓRIA SANTOS DE SOUZA; MARIANA SALGUEIRO DE
ALMEIDA; INGRID ANDRÊSSA DE MOURA

RESUMO

Introdução: O câncer de mama é o principal câncer diagnosticado em mulheres e, também, umas das principais causas de morte, além de apresentar uma alta taxa de metástase pelos tecidos. Ele apresenta os tipos moleculares: Luminal A, Luminal B, HER-2 e o Triplo Negativo, sendo os dois últimos considerados de difícil prognóstico, associado a ineficácia de hormonioterapias e a resistência aos tratamentos convencionais, sendo necessário terapias mais assertivas e invasivas que levem a uma maior sobrevida do paciente e uma menor taxa de recidiva do tumor. Os exossomas são vesículas formadas a partir de células normais, como macrófagos e células apresentadoras de antígenos (APCs), ou de células tumorais, como as células cancerígenas da mama. Elas participam da comunicação celular, além de participar da progressão tumoral, metástase e resistência ao tratamento. Desse modo, exossomas podem ser considerados uma nova abordagem de terapia. **Objetivo:** Apresentar os exossomas como alternativa para desenvolvimento de vacinas no tratamento do câncer de mama. **Metodologia:** Com base nessas informações, esse resumo busca, a partir de uma revisão bibliográfica nos bancos de dados PubMed, Embase e Biblioteca Virtual de Saúde, artigos que demonstram como os exossomas podem ser usados para produção de vacinas para o câncer de mama. **Resultados:** Dentre os resultados, foi observado que os exossomas podem ser usados para carregar moléculas que podem ser apresentadas para o sistema imune, além de serem modificados para apresentar na sua superfície células que vão estimular o sistema imune. Suas características como bioestabilidade, biocompatibilidade e baixa toxicidade, demonstram que podem ser uma ótima abordagem terapêutica, porém há algumas limitações como manter as características dos exossomas após as modificações e inserir moléculas antigênicas no seu interior. **Conclusão:** No geral, apesar de existirem algumas limitações, os estudos apresentam que os exossomas podem ser uma boa alternativa de terapia, levando a regressão tumoral, já que promovem a ativação de células dendríticas e de células T, além de poderem induzir a morte celular das células tumorais.

Palavras-chave: Tratamento; Imunomodulação; Imunoterapia; Biotecnologia; Oncologia

1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é uma doença causada pela multiplicação desordenada de células anormais da mama, que formam um tumor com potencial de invadir outros órgãos. De acordo com as estimativas da Globocan, o câncer de mama é um dos cânceres mais comumente diagnosticados em ambos os sexos combinados e é a principal causa de morte por câncer entre as mulheres (WANG *et al.* 2021).

Ele pode ser dividido em várias categorias: O subtipo luminal A, que apresenta

receptores para estrógeno (ER) e para progesterona (PR) e não apresenta expressão da proteína HER-2, e com relação aos demais, o melhor prognóstico. Na sua maioria, são tumores histologicamente de baixo grau e apresentam resposta inferior à quimioterapia, enquanto, tumores luminais B, que apresentam ER e/ou PR e não expressam a proteína HER-2, têm uma maior proliferação e são, muitas vezes, de alto grau histológico. Já o subtipo superexpressão do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER-2), que não apresenta receptores ER e nem PR, mas expressa HER-2, sem a terapia adjuvante sistêmica, tem menor sobrevida livre de doença e elevada taxa de recorrência, porém se beneficia de terapias alvo específicas (BARRETO-NETO *et al.* 2014).

No entanto, aproximadamente 20% de todos os cânceres de mama não apresentam essas características, sem expressão de HER-2, ER e PR, sendo assim conhecido como o câncer de mama triplo-negativo (TNBC). A TNBC é um subtipo particularmente agressivo de tumores, não respondendo à terapia hormonal e sendo mais prevalente em mulheres mais jovens. Suas opções terapêuticas atuais variam de acordo com o subtipo e o estágio do tumor e são baseadas em cirurgia e terapêutica convencional, que podem ser adjuvantes ou neoadjuvantes, ou seja, quimioterapia, radioterapia (RT) e imunoterapia (TORRES QUINTAS *et al.* 2023). Embora estratégias avançadas de tratamento tenham sido aplicadas e as taxas atuais de mortalidade reduzidas, o controle do câncer de mama continua insatisfatório.

Foi visto por WANG *et al.* (2021) que as células do câncer de mama são quimio e radioresistentes, resistentes à terapia com hormônios e terapia anti-HER-2, algo que tem comprometido o tratamento de seus pacientes e, por isso, os exossomas aparecem no cenário como a saída, para melhorar os resultados observados (MURILLO *et al.* 2019). Eles regulam a resistência às drogas farmacêuticas e participam da transferência de resistência às células cancerígenas sensíveis a estes medicamentos, pela liberação de microRNAs (miRNAs) exossômicos específicos (CHEN *et al.* 2014). Pesquisadores descobriram que o miRNA-221/222 exossômico secretado pelas células tumorais positivas para ER- α apresentam resistência ao tamoxifeno, reduzindo a expressão da proteína P27 e ER- α nas células consideradas sensíveis a ele. Discutiu-se na literatura que RNAs não codificantes exossômicos parecem estar envolvidos na regulação de funções inerentes de doenças humanas, como o câncer de mama. Em um estudo anterior, AUNG *et al.* (2011) identificaram que os exossomas tinham ligação direta com os resultados de alguns medicamentos associados a anticorpos, além de que, ao serem liberados de células cancerígenas supressoras de HER-2 com a proteína HER-2, estes exossomas tendem a neutralizar o trastuzumabe baseado em anticorpos direcionados a HER-2 e amenizam a ligação com células-alvo (CIRAVOLO *et al.* 2012).

Diante disso, os exossomas aparecem com um grande potencial terapêutico devido ao seu pequeno tamanho, composição configurável, tropismo celular e ao fato de que essas pequenas partículas podem se acumular melhor em tumores sobre tecidos saudáveis, devido ao vazamento e à drenagem linfática subdesenvolvida presente (TORRES QUINTAS *et al.* 2023). Eles mediam um novo modo de comunicação intercelular através de suas cargas bioativas, como lipídios, ácidos nucleicos, metabólitos e proteínas, que podem ser entregues às células-alvo (WANG *et al.* 2021). Devido a essas características e juntamente com o fato de que os exossomos têm uma origem endógena, o que facilita a circulação sistêmica de drogas com baixa imunogenicidade e toxicidade, eles também podem ser usados para aumentar a entrega de medicamentos aos tumores (TORRES QUINTAS *et al.* 2023). Apesar disso, ainda existem limitações no direcionamento específico dos exossomos incluindo: I) encontrar uma maneira de selecionar o marcador específico de superfície celular TNBC ou receptor para direcionamento, II) revelando como projetar as modificações da superfície exossômica, para maximizar a eficiência de ligação e especificidade para biomarcadores de superfície celular TNBC, com preservação do exossômico estrutura e conteúdo, III) realizar essas modificações sem perder características naturais dos exossomos, cruciais para o sucesso desta terapia

abordagem (TORRES QUINTAS *et al.* 2023).

Com isso, o objetivo deste resumo é apresentar os exossomas como alternativa para desenvolvimento de vacinas no tratamento de câncer de mama.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi feita uma pesquisa bibliográfica e transversal por meio de publicações de artigos científicos de acesso aberto nas bases de dados: PubMed, Embase e Biblioteca Virtual em Saúde. As palavras chaves utilizadas na busca foram: “exosome”, “vaccine” e “breast cancer”. Os artigos foram selecionados de acordo com o diagrama de fluxo de itens de Relatório Preferido para Revisões Sistemáticas e Meta-análises (PRISMA).

Foram excluídos artigos duplicados, artigos de acesso restrito e, por fim, artigos que não falassem sobre o uso de exossomas para a construção de vacinas para câncer de mama. Após a leitura e aplicação dos critérios de seleção adotados, restaram 9 artigos para serem utilizados neste resumo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os resultados, foram vistos artigos que abordam o uso de exossomas das células tumorais da mama ou de células normais, como macrófagos e células dendríticas, em vacinas para o câncer de mama tipo HER-2 e para o triplo negativo, que são considerados de pior prognóstico. Para o tipo HER-2, uma das terapias utilizadas é o uso do Trastuzumabe, porém alguns pacientes adquirem resistência ao fármaco, além de que ele apresenta efeitos adversos, como toxicidade cardíaca (WANG *et al.* 2013; XIE *et al.* 2018). E em relação ao tipo Triplo Negativo, por não ter receptores de estrogênio, progesterona e do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano, suas terapias são limitadas, por isso a mais utilizada é a quimioterapia, porém também apresenta uma série de efeitos colaterais e uma alta taxa de recidiva do tumor (LI, Z. *et al.* 2018; TORRES QUINTAS *et al.* 2023).

Para o câncer do tipo Triplo Negativo, o artigo de HUANG *et al.* (2022) evidenciou o uso de uma vacina com exossomas derivados das células tumorais da mama que foram modificados para expressar a proteína α -lactalbumina (α -LA) e carrear, por meio da eletroporação, hiltonol (agonista de TLR3) e um indutor imunogênico de morte celular (ICD), a elastase neutrofílica humana (ELANE), formando a vacina HELA-Exos. Essa vacina foi testada tanto em camundongos quanto em enxertos humanos, e foi observada uma ativação das células dendríticas e uma resposta das células TCD8⁺, sugerindo uma inibição tumoral em ambos os modelos. Uma das limitações desse artigo, foi a avaliação da toxicidade, apesar de ter sido feita uma avaliação piloto e ter uma segurança, é necessária uma avaliação mais firme. Além disso, foi citada a dificuldade de inserir nos exossomas macro proteínas e grandes moléculas de ácidos nucleicos por meio da eletroporação, sendo necessárias novas abordagens para pesquisas futuras que usem exossomas como carreadores.

Em outro estudo, HU *et al.* (2021) construíram uma vacina com nanovesículas de exossomas de células tumorais que expressam o gene da proteína de ativação dos fibroblastos (FAP), formando a vacina eNPs-FAP. Essa proteína é altamente expressa nos fibroblastos associados ao câncer (CAF) e vacinas que são direcionadas a ela podem ser uma estratégia vacinal para o câncer. Estudos *in vivo* e *in vitro* mostraram uma boa capacidade de ativar as células dendríticas, além de que quando comparada com eNPs, induzia uma melhor resposta antitumoral, isso acontece por causa da resposta CTL contra os antígenos câncer-específicos, visto que eNPs-FAP, além de apresentarem o antígeno tumoral, apresentam o antígeno FAP, em comparação com eNPs que apenas apresenta o antígeno tumoral. No estudo *in vitro*, foi visto que essa vacina pode levar a ferroptose, a morte celular programada causada pela liberação de IFN γ pelas células T, porém no estudo *in vivo* essa liberação não foi significativa comparada com eNPs, sugerindo que a ferroptose pode estar acontecendo por outras proteínas.

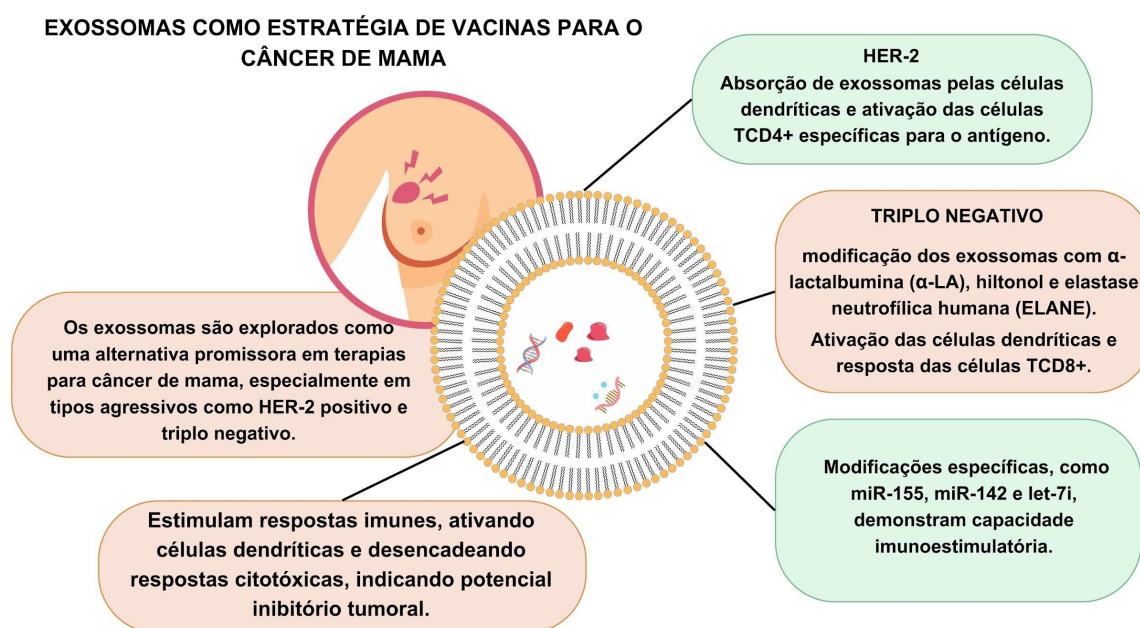
Outros estudos sugerem que os CAF podem afetar direta ou indiretamente a ferroptose, então HU *et al.* (2021) sugeriram que a ferroptose acontece tanto pela liberação de IFN γ e a diminuição de FAP+CAF.

Com relação ao câncer de mama do tipo HER2, LI, R. *et al.* (2018) já evidenciam o uso de vacinas com exossomas baseadas em linfócitos TCD4+. Por meio dessas vacinas, os linfócitos TCD4+ policlonais conseguem absorver EXOs liberados por células dendríticas, que são específicos do antígeno, por meio da interação da proteína CD54 do exossomo com o antígeno 1 associado à função dos linfócitos T. Como resultado, ocorre a expressão de algumas moléculas que estão presentes na superfície do exossoma, pMCH-I e CD80, fazendo com que as células TCD4+ policlonais tornem-se uma vacina que seja específica para o antígeno (HAO *et al.* 2007; WANG *et al.* 2014). O que promete ser eficaz contra tumores positivos para HER-2 e um tratamento promissor para o câncer, por estimular respostas imunes no sistema imunológico do paciente com células cancerígenas.

Além disso, vacinas com exossomas baseadas em células 4T1/Her2 também se mostraram bastantes eficazes no combate ao câncer de mama do tipo HER2. YILDIRIM *et al.* (2021) modificaram esse tipo de vacina utilizando CpG ODN e p (I:C), dois adjuvantes potentes, que foram capazes de ativar respostas de células T primárias e de memórias específicas do antígeno. Além disso, a vacina foi capaz de estimular a secreção de anticorpos IgG2a e IFN γ por meio da resposta de TH1. Como consequência, foi observado uma regressão tumoral em camundongos. A combinação desses adjuvantes deve ter desencadeado uma resposta imune mais eficaz quando foram administrados dentro de um transportador (KRUMMEN *et al.* 2010).

Também, foi comprovado que exossomas modificados com miR-155, miR-142 e let-7i, possuem a capacidade imunoestimulatória suficiente para maturar células dendríticas (TAGHIKHANI *et al.* 2019).

Figura: Possíveis usos dos exossomas e suas propriedades para a construção de vacinas para o câncer de mama.



Fonte: Autores (2024)

4 CONCLUSÃO

Os achados desse resumo mostram que os exossomas tem um grande potencial para combater o câncer, em especial o câncer de mama, apesar de ainda existirem algumas

limitações. Estas baseiam-se na difícil inserção do conteúdo antigênico e manutenção das características dos exossomas após modificações na sua membrana. Dentre os resultados, foram observados a ativação de células T e de células dendríticas, além da secreção de anticorpos e citocinas, levando a regressão tumoral, alteração do microambiente tumoral e a morte celular das células tumorais.

REFERÊNCIAS

AUNG, T.; CHAPUY, B.; VOGEL, D.; WENZEL, D.; OPPERMAN, M.; LAHMANN, M.; WEINHAGE, T.; MENCK, K.; HUPFELD, T.; KOCH, R.; TRÜMPER, L.; WULF, G. G. Exosomal evasion of humoral immunotherapy in aggressive B-cell lymphoma modulated by ATP-binding cassette transporter A3. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 108, n. 37, p. 15336–15341, 2011.

BARRETO-NETO, N. J. D. S.; PINHEIRO, A. B.; OLIVEIRA, J. F.; CRUSOÉ, N. S. D. R.; BERTRAND, S. A. B.; MACHADO, M. C. M.; PINTO, R. M. O.; CARVALHO-JUNIOR, J. D.; MACHADO, C. A. C. Perfil epidemiológico dos subtipos moleculares de carcinoma ductal da mama em população de pacientes em Salvador, Bahia. **Revista Brasileira de Mastologia**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 98–102, 2014.

CHEN, W.; LIU, X.; LV, M.; CHEN, L.; ZHAO, J.; ZHONG, S.; JI, M.; HU, Q.; LUO, Z.; WU, J.; TANG, J. Exosomes from Drug-Resistant Breast Cancer Cells Transmit Chemoresistance by a Horizontal Transfer of MicroRNAs. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. e95240, 2014.

CIRAVOLO, V.; HUBER, V.; GHEDINI, G. C.; VENTURELLI, E.; BIANCHI, F.; CAMPIGLIO, M.; MORELLI, D.; VILLA, A.; MINA, P. D.; MENARD, S.; FILIPAZZI, P.; RIVOLTINI, L.; TAGLIABUE, E.; PUPA, S. M. Potential role of HER2-overexpressing exosomes in countering trastuzumab-based therapy. **Journal of Cellular Physiology**, [s. l.], v. 227, n. 2, p. 658–667, 2012.

HAO, S.; YUAN, J.; XIANG, J. Nonspecific CD4⁺ T cells with uptake of antigen-specific dendritic cell-released exosomes stimulate antigen-specific CD8⁺ CTL responses and long-term T cell memory. **Journal of Leukocyte Biology**, [s. l.], v. 82, n. 4, p. 829–838, 2007.

HU, S.; MA, J.; SU, C.; CHEN, Y.; SHU, Y.; QI, Z.; ZHANG, B.; SHI, G.; ZHANG, Yan; ZHANG, Yuwei; HUANG, A.; KUANG, Y.; CHENG, P. Engineered exosome-like nanovesicles suppress tumor growth by reprogramming tumor microenvironment and promoting tumor ferroptosis. **Acta Biomaterialia**, [s. l.], v. 135, p. 567–581, 2021.

HUANG, L.; RONG, Y.; TANG, X.; YI, K.; QI, P.; HOU, J.; LIU, W.; HE, Y.; GAO, X.; YUAN, C.; WANG, F. Engineered exosomes as an in situ DC-primed vaccine to boost antitumor immunity in breast cancer. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 45, 2022.

KRUMMEN, M.; BALKOW, S.; SHEN, L.; HEINZ, S.; LOQUAI, C.; PROBST, H.-C.; GRABBE, S. Release of IL-12 by dendritic cells activated by TLR ligation is dependent on MyD88 signaling, whereas TRIF signaling is indispensable for TLR synergy. **Journal of Leukocyte Biology**, [s. l.], v. 88, n. 1, p. 189–199, 2010.

LI, R.; CHIBBAR, R.; XIANG, J. Novel EXO-T vaccine using polyclonal CD4⁺ T cells

armed with HER2-specific exosomes for HER2-positive breast cancer. **OncoTargets and Therapy**, [s. l.], v. Volume 11, p. 7089–7093, 2018.

LI, Z.; QIU, Y.; LU, W.; JIANG, Y.; WANG, J. Immunotherapeutic interventions of Triple Negative Breast Cancer. **Journal of Translational Medicine**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 147, 2018.

MURILLO, O. D.; THISTLETHWAITE, W.; ROZOWSKY, J.; SUBRAMANIAN, S. L.; LUCERO, R.; SHAH, N.; JACKSON, A. R.; SRINIVASAN, S.; CHUNG, A.; LAURENT, C. D.; KITCHEN, R. R.; GALEEV, T.; WARRELL, J.; DIAO, J. A.; WELSH, J. A.; HANSPERS, K.; RIUTTA, A.; BURGSTALLER-MUEHLBACHER, S.; SHAH, R. V.; YERI, A.; JENKINS, L. M.; AHSEN, M. E.; CORDON-CARDO, C.; DOGRA, N.; GIFFORD, S. M.; SMITH, J. T.; STOLOVITZKY, G.; TEWARI, A. K.; WUNSCH, B. H.; YADAV, K. K.; DANIELSON, K. M.; FILANT, J.; MOELLER, C.; NEJAD, P.; PAUL, A.; SIMONSON, B.; WONG, D. K.; ZHANG, X.; BALAJ, L.; GANDHI, R.; SOOD, A. K.; ALEXANDER, R. P.; WANG, L.; WU, C.; WONG, D. T. W.; GALAS, D. J.; VAN KEUREN-JENSEN, K.; PATEL, T.; JONES, J. C.; DAS, S.; CHEUNG, K.-H.; PICO, A. R.; SU, A. I.; RAFFAI, R. L.; LAURENT, L. C.; ROTH, M. E.; GERSTEIN, M. B.; MILOSAVLJEVIC, A. exRNA Atlas Analysis Reveals Distinct Extracellular RNA Cargo Types and Their Carriers Present across Human Biofluids. **Cell**, [s. l.], v. 177, n. 2, p. 463-477.e15, 2019.

TAGHIKHANI, A.; HASSAN, Z. M.; EBRAHIMI, M.; MOAZZENI, S. microRNA modified tumor-derived exosomes as novel tools for maturation of dendritic cells. **Journal of Cellular Physiology**, [s. l.], v. 234, n. 6, p. 9417–9427, 2019.

TORRES QUINTAS, S.; CANHA-BORGES, A.; OLIVEIRA, M. J.; SARMENTO, B.; CASTRO, F. Special Issue: Nanotherapeutics in Women's Health Emerging Nanotechnologies for Triple-Negative Breast Cancer Treatment. **Small**, [s. l.], p. 2300666, 2023.

WANG, X.; SUN, C.; HUANG, X.; LI, J.; FU, Z.; LI, W.; YIN, Y. The Advancing Roles of Exosomes in Breast Cancer. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, [s. l.], v. 9, p. 731062, 2021.

WANG, L.; XIE, Y.; AHMED, K. A.; AHMED, S.; SAMI, A.; CHIBBAR, R.; XU, Q.; KANE, S. E.; HAO, S.; MULLIGAN, S. J.; XIANG, J. Exosomal pMHC-I complex targets T cell-based vaccine to directly stimulate CTL responses leading to antitumor immunity in transgenic FVBneuN and HLA-A2/HER2 mice and eradicating trastuzumab-resistant tumor in athymic nude mice. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 140, n. 2, p. 273–284, 2013.

WANG, R.; XIE, Y.; ZHAO, T.; TAN, X.; XU, J.; XIANG, J. HIV-1 Gag-specific exosome-targeted T cell-based vaccine stimulates effector CTL responses leading to therapeutic and long-term immunity against Gag/HLA-A2-expressing B16 melanoma in transgenic HLA-A2 mice. **Trials in Vaccinology**, [s. l.], v. 3, p. 19–25, 2014.

XIE, Y.; WU, J.; XU, A.; AHMEQD, S.; SAMI, A.; CHIBBAR, R.; FREYWALD, A.; ZHENG, C.; XIANG, J. Heterologous human/rat HER2-specific exosome-targeted T cell vaccine stimulates potent humoral and CTL responses leading to enhanced circumvention of HER2 tolerance in double transgenic HLA-A2/HER2 mice. **Vaccine**, [s. l.], v. 36, n. 11, p. 1414–1422, 2018.

YILDIRIM, M.; YILDIRIM, T. C.; TURAY, N.; BILDIK, T.; IBIBIK, B.; EVCILI, I.; ERSAN, P. G.; TOKAT, U. M.; SAHIN, O.; GURSEL, I. TLR ligand loaded exosome mediated immunotherapy of established mammary Tumor in mice. **Immunology Letters**, [s. l.], v. 239, p. 32–41, 2021.