

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Mariana Martins Vernaschi

**O papel dos exossomos na progressão das leucemias mieloides agudas e da
leucemia mieloide crônica: uma revisão narrativa da literatura**

Florianópolis

2023

Mariana Martins Vernaschi

**O papel dos exossomos na progressão das leucemias mieloides agudas e da
leucemia mieloide crônica: uma revisão narrativa da literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Farmacêutico

Orientadora: Prof^ª. Ana Carolina Rabello de Moraes, Dr^ª

Florianópolis

2023

Vernaschi, Mariana Martins

O papel dos exossomos na progressão das leucemias mieloides agudas e da leucemia mieloide crônica : uma revisão narrativa da literatura / Mariana Martins Vernaschi ; orientadora, Ana Carolina Rabello de Moraes, 2023.

52 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Exossomos. 3. Leucemia mieloide crônica. 4. Leucemias mieloides agudas. I. Moraes, Ana Carolina Rabello de . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Mariana Martins Vernaschi

**O papel dos exossomos na progressão das leucemias mieloides agudas e da
leucemia mieloide crônica: uma revisão narrativa da literatura**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Farmacêutico e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Farmácia.

Florianópolis, 23 de junho de 2023

Insira neste espaço
a assinatura

Prof.(a) Liliete Canes Souza Cordeiro, Dr.(a)

Banca examinadora

Insira neste espaço
a assinatura

Prof.(a) Ana Carolina Rabello de Moraes, Dr.(a)

Orientador(a)

Insira neste espaço
a assinatura

Prof.(a) Izabel Galhardo Demarchi, Dr.(a)

Universidade Federal de Santa Catarina

Insira neste espaço
a assinatura

Prof.(a) Iara Fabrícia Kretzer, Dr.(a)

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2023.

AGRADECIMENTOS

A Oswaldo Vernaschi Junior, meu pai, por apoiar incondicionalmente meu sonho de ser pesquisadora, e por ser um pai brilhante e presente, que me guia sempre mostrando o melhor caminho. Faltam palavras para descrever tanto amor e admiração.

A Rubens Ramos Augusto, meu noivo, por dividir sonhos comigo, por aguentar minha chatice e por estar ao meu lado em todos os momentos, sejam eles ótimos ou péssimos. Obrigada por conceder à minha vida tons lindos de leveza.

A Rosa Maria de Souza Martins, minha avó, pelo amor incondicional, por estar do meu lado em todos os momentos (ainda que à distância) e pelo carinho infinito, que aquece meu coração todos os dias.

À Professora Doutora Ana Carolina Rabello de Moraes, pela brilhante orientação durante todo o desenvolvimento desse trabalho, por ter tolerado minha ansiedade e por ter me ensinado a diferença entre “através” e “por meio de” (risos).

À Professora Doutora Tânia Beatriz Creczynski Pasa, por ser um grande exemplo de pesquisadora e por ter me dado a oportunidade de começar a trilhar o caminho da pesquisa em seu laboratório, ainda na primeira fase da graduação.

À Professora Doutora Izabel Galhardo Demarchi, pelo apoio, pelas conversas e pelos conselhos que me ajudaram a passar de forma mais tranquila pelas fases finais da graduação.

RESUMO

As leucemias mieloides agudas e a leucemia mieloide crônica consistem em neoplasias mieloproliferativas de grande importância epidemiológica, mas apesar dos avanços no entendimento dos aspectos que envolvem a fisiopatologia e a progressão dessas doenças, muitos elementos ainda não são bem compreendidos. Paralelamente, os exossomos, uma classe de microvesículas secretadas pelas células, emergem como elementos importantes para o processo de comunicação intercelular, podendo influenciar de maneira significativa o metabolismo das células-alvo. Nesse contexto, os exossomos têm potencial de interferir na progressão de diferentes cânceres, incluindo as leucemias mieloides agudas e a leucemia mieloide crônica. Tendo em vista a importância epidemiológica assumida pelas leucemias mieloides, o presente trabalho buscou caracterizar essas neoplasias, abordando de forma detalhada os principais aspectos que envolvem a epidemiologia, fisiopatologia, tratamento e prognóstico dessas doenças. Ainda, dada a importância assumida pelos exossomos no contexto das neoplasias, esse trabalho teve como objetivo caracterizar os exossomos, descrevendo sua estrutura, seus complexos mecanismo de síntese, secreção e captação, bem como os aspectos que envolvem a comunicação intercelular. Adicionalmente, diante da limitada literatura disponível em língua portuguesa a respeito dos exossomos e sua relação com as leucemias mieloides, o presente trabalho teve por objetivo levantar, por meio de uma revisão narrativa da literatura, o papel dos exossomos na progressão das leucemias mieloides agudas e da leucemia mieloide crônica, abordando alguns importantes mecanismos já elucidados de atuação dos exossomos na progressão dessas neoplasias. Apesar da escassez da literatura, os trabalhos explorados por essa revisão narrativa apresentaram resultados promissores, descrevendo diferentes formas atuação dos exossomos como promotores da progressão das leucemias mieloides, em mecanismos que envolvem a modulação do microambiente da medula óssea e da resposta imune, a regulação autócrina das células malignas e a transferência de traços de resistência ao imatinibe.

Palavras-chave: vesículas extracelulares; leucemias mieloides; comunicação intercelular.

THE ROLE OF EXOSOMES IN THE PROGRESSION OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA AND CHRONIC MYELOID LEUKEMIA: A NARRATIVE REVIEW OF THE LITERATURE.

Acute myeloid leukemias (AML) and chronic myeloid leukemia (CML) are myeloproliferative neoplasms of great epidemiological importance. Despite advances in understanding the pathophysiology and progression of these diseases, many elements are still not well understood. Concurrently, exosomes, a class of cell-secreted microvesicles, emerge as important elements in the process of intercellular communication, with the potential to significantly influence the metabolism of target cells. In this context, exosomes have the potential to interfere in the progression of different cancers, including AML and CML. Considering the epidemiological importance of myeloid leukemias, this study aimed to characterize these neoplasms, providing a detailed overview of the key aspects involving their epidemiology, pathophysiology, treatment, and prognosis. Furthermore, given the significance of exosomes in the context of neoplasms, this study aimed to characterize exosomes by describing their structure, complex mechanisms of synthesis, secretion, and uptake, as well as the aspects involving intercellular communication. Additionally, due to the limited literature available in the Portuguese language regarding exosomes and their relationship with myeloid leukemias, this study aimed to investigate, through a narrative review of the literature, the role of exosomes in the progression of AML and CML, addressing some important mechanisms that have already been elucidated regarding the action of exosomes in the progression of these neoplasms. Despite the scarcity of literature, the studies explored in this narrative review presented promising results, describing different ways in which exosomes act as promoters of the progression of myeloid leukemias, involving the modulation of the bone marrow microenvironment and immune response, autocrine regulation of malignant cells, and the transfer of imatinib resistance traits.

Keywords: extracellular vesicles; myeloid leukemias; intercellular communication.

LISTA D E FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática da hematopoiese humana.....	12
Figura 2- Publicações relacionadas ao estudo dos exossomos ao longo dos anos, disponíveis na base de dados PubMed.	15
Figura 3 - Eletromicrografia de transmissão de exossomos isolados.	20
Figura 4 - Eletromicrografia de varredura de exossomos isolados.....	20
Figura 5 - Eletromicrografia criogênica de transmissão de exossomos isolados.	21
Figura 6 - A estrutura dos exossomos.	22
Figura 7 - Processo de biossíntese dos exossomos.....	23
Figura 8 - Mecanismos de interação dos exossomos com as células-alvo. .	25
Figura 9 - Formação do cromossomo Philadelphia.	28
Figura 10 - Atualização da classificação das leucemias mieloides agudas (LMAs) pela Organização Mundial da Saúde (OMS).....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AREG	Anfirregulina
BAD	<i>BCL2 associated agonist of cell death</i>
BAX	<i>BCL2 associated X-protein</i>
BBC3	<i>BCL2 binding component 3</i>
BCL2L2	<i>B-cell lymphoma like 2</i>
BCL-xl	<i>B-cell lymphoma extra large</i>
CB	Crise blástica
CMV	Corpos multivesiculares
CPH	Células progenitoras hematopoiéticas
CTM-MO	Células tronco mesenquimais de medula óssea
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPP-4	Dipeptidil peptidase 4
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ERK	<i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
ESCRT	<i>Endosomal sorting complex required for transport</i>
FA	Fase acelerada
FC	Fase crônica
IL-8	Interleucina-8
LMAs	Leucemias mieloides agudas
LMC	Leucemia mieloide crônica
miRNAs	Micro ácidos ribonucleicos
NK	<i>Natural killer</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PQB	Proteína quinase B
Rab	<i>Ras-associated binding</i>
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	<i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>
SNARE	<i>Soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment receptors</i>
TGF-beta	<i>Transforming growth factor beta</i>
TNF-alfa	<i>Tumor necrosis factor alpha</i>

VEGF Fator de crescimento do endotelial vascular
VIL Vesículas intraluminais

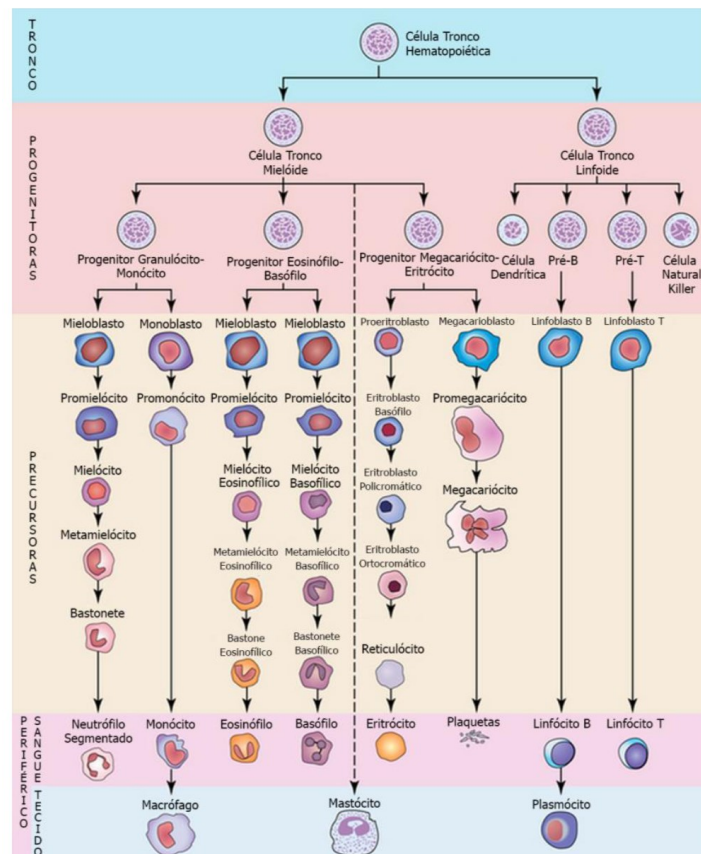
SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	JUSTIFICATIVA	14
3	OBJETIVOS	16
3.1	OBJETIVO GERAL	16
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
4	METODOLOGIA	17
5	REVISÃO NARRATIVA	18
5.1	EXOSSOMOS.....	18
5.1.1	Classificação e aplicações	18
5.1.2	Estrutura	19
5.1.3	Biossíntese e secreção	22
5.1.4	Captação e comunicação intercelular	25
5.2	LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA (LMC)	27
5.2.1	Epidemiologia, fisiopatologia, tratamento e diagnóstico	27
5.2.2	Mecanismos de atuação dos exossomos na progressão da LMC	30
5.3	LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS (LMAS).....	34
5.3.1	Epidemiologia, fisiopatologia, tratamento e diagnóstico	34
5.3.2	Mecanismos de atuação dos exossomos na progressão da LMA	38
6	CONCLUSÃO	44

1 INTRODUÇÃO

O sangue é um tecido fluido formado por células que se encontram em suspensão em um meio líquido, o plasma. A produção das células sanguíneas é chamada de hematopoiese e ocorre principalmente na medula óssea após o nascimento. Em termos quantitativos, os progenitores de granulócitos, eritrócitos e megacariócitos formam o maior contingente celular da medula óssea, e os processos relacionados com a divisão, diferenciação e maturação dessas células é conhecido como mielopoiese, um dos ramos da hematopoiese humana (Figura 1) (MITROULIS *et al.*, 2018).

Figura 1 – Representação esquemática da hematopoiese humana.



Fonte: Adaptado de ONCOHEMA KEY. **Hematopoiesis**. Disponível em: <https://oncohemakey.com/hematopoiesis/#>. Acesso em: 11 out. 2022.

Apesar da complexa regulação envolvida nesses eventos, com participação de diferentes citocinas, interleucinas e fatores de transcrição, são várias as fontes de possíveis distúrbios neste processo que podem caracterizar diferentes condições de

doença, tais como anemias, síndromes mielodisplásicas, leucemias mieloides, entre outras (WEISKOPF *et al.*, 2016).

A leucemia mieloide crônica (LMC) consiste em uma neoplasia mieloproliferativa caracterizada pela proliferação desordenada de granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) sem o estabelecimento de bloqueio maturativo (MINCIACCHI; KUMAR; KRAUSE, 2021). A LMC, apesar de rara, é epidemiologicamente importante, já que representa aproximadamente 10% de todos os casos de leucemia registrados no Brasil, sendo que quase metade dos pacientes diagnosticados apresenta idade superior a 65 anos (BRASIL, 2021). Outra importante característica da LMC é a presença do cromossomo Philadelphia (Ph+), que participa de forma central na leucemogênese e tem origem a partir da translocação entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22 (KANG *et al.*, 2016).

Ainda no âmbito das leucemias, destacam-se as leucemias mieloides agudas (LMAs), que consistem em um grupo heterogêneo de neoplasias malignas que respondem pela extensa maioria dos casos de leucemia aguda registrados em adultos, sendo caracterizadas pela proliferação descontrolada de células precursoras mieloides na medula óssea e no sangue periférico, acompanhada por bloqueio maturativo no estágio de blasto ou promielócito e, conseqüentemente, disfunção da medula óssea (VAKITI *et al.*, 2022; BRASIL, 2014). Na extensa maioria dos casos, a fisiopatologia das LMAs tem como ponto central uma ampla variedade de falhas na regulação da mielopoiese, as quais podem envolver diferentes mutações em uma vasta gama de genes regulatórios, o que confere grande heterogeneidade genética à doença, com pouquíssimas mutações comuns a mais de 1/4 dos casos registrados mundialmente (PIPPA; ODERO, 2020).

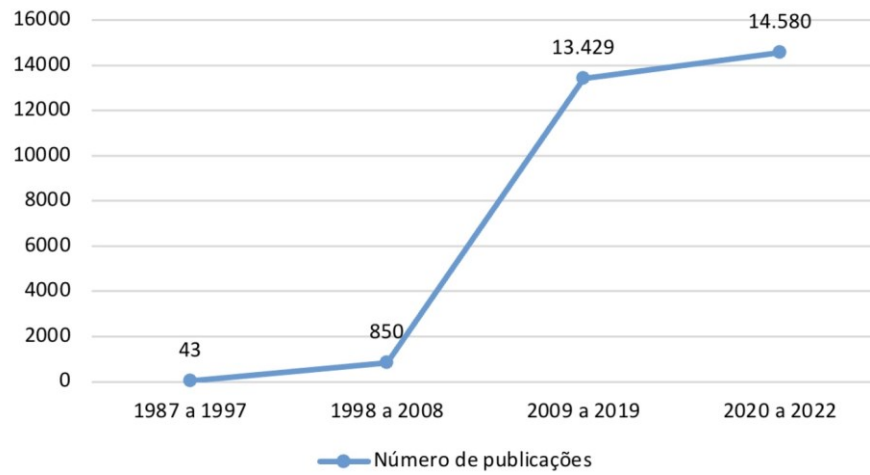
Um dos diversos pontos importantes no que se refere à manutenção e à progressão das neoplasias é a comunicação intercelular, que pode participar de forma central na modulação do microambiente tumoral e na potencialização da sobrevivência das células malignas. Levando em consideração esses aspectos, os exossomos ganham destaque, já que se tratam de vesículas extracelulares que são secretadas pelas células em condições fisiológicas e patológicas, podendo transportar uma variada gama de proteínas, além de citocinas, ácido desoxirribonucleico (DNA), ácido ribonucleico mensageiro (RNA) e micro ácidos ribonucleicos (miRNAs), assumindo um papel importante na comunicação entre células, sejam estas saudáveis ou malignas (MELDOLESI, 2018; KOK; YU, 2020).

2 JUSTIFICATIVA

As LMAs e a LMC consistem em neoplasias malignas epidemiologicamente importantes, assim, mostra-se necessária a ampliação dos conhecimentos a respeito dos aspectos que envolvem a progressão dessas neoplasias. Nesse contexto, os exossomos ganham destaque, já que participam de forma relevante na comunicação intercelular. Essa função importante assumida pelos exossomos, bem como o avanço cada vez mais acelerado das técnicas de isolamento e caracterização dessas vesículas e de seus mecanismos de interação com as células-alvo, fez crescer o interesse da comunidade científica pelo estudo dos diversos aspectos que envolvem os exossomos.

Essa tendência de aumento no número de estudos a respeito dos exossomos pode ser observada claramente quando é analisado o histórico de publicações científicas cujo tema central é os exossomos. Os primeiros trabalhos que apresentaram os exossomos, mesmo que ainda sem adotar esse nome, foram publicados em 1983, quando Harding e colaboradores, e Pan e colaboradores publicaram seus artigos nas revistas *The Journal of Cell Biology* e *Cell*, respectivamente, explanando sobre a liberação de vesículas extracelulares por reticulócitos durante seu processo de maturação (HARDING; HEUSER; STAHL, 1983; PAN; JOHNSTONE, 1983). Poucos anos depois, em 1987, Johnstone e colaboradores publicaram, na revista *Journal of Biological Chemistry*, o primeiro artigo que deu o nome “exossomos” às vesículas extracelulares descritas em 1983 (JOHNSTONE *et al.*, 1987). Nas décadas seguintes, o número de publicações oriundas de trabalhos que tinham os exossomos como objeto de estudo aumentaram de forma expressiva, principalmente a partir do ano de 2008 (Figura 1). Nesse contexto, destaca-se ainda que, muito além da simples quantidade de publicações, o aporte financeiro destinado a pesquisas relacionadas direta ou indiretamente aos exossomos também tem crescido significativamente, chegando a movimentar um bilhão de dólares até o ano de 2021, valor quatro vezes maior do que o observado até 2017 (YANG *et al.*, 2020).

Figura 2- Publicações relacionadas ao estudo dos exossomos ao longo dos anos, disponíveis na base de dados PubMed.



Fonte: elaborado pela autora.

Considerando a relevância clínica e epidemiológica da LMC e das LMAs nos contextos brasileiro e mundial, mostra-se necessária a ampliação dos conhecimentos a respeito dos aspectos que envolvem a progressão dessas doenças. Nesse sentido, os exossomos têm se destacado como vesículas essenciais para a comunicação intercelular, exercendo papéis importantes na progressão das leucemias mieloides. Dessa forma, essa revisão narrativa contribui para a compreensão de alguns dos mecanismos de atuação dos exossomos na fisiopatologia e na progressão dessas leucemias.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Elaborar uma revisão narrativa da literatura a respeito do papel exercido pelos exossomos na progressão das leucemias mieloides agudas e da leucemia mieloide crônica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar os exossomos, abordando os processos de síntese e de interação com a célula-alvo, bem como a estrutura e a importância dessas microvesículas no contexto da biologia celular;
- Caracterizar a LMC, abordando os aspectos que envolvem a epidemiologia, fisiopatologia, tratamento e prognóstico, bem como descrever os principais mecanismos pelos quais os exossomos atuam na progressão dessa doença;
- Caracterizar as LMAs, abordando os aspectos que envolvem a epidemiologia, fisiopatologia, tratamento e prognóstico, bem como descrever os principais mecanismos pelos quais os exossomos atuam na progressão dessa doença.

4 METODOLOGIA

Seguindo os preceitos de revisões narrativas da literatura expostos por Rother (2007), foram selecionados artigos que continham as palavras-chave “*exosomes*”, “*acute myeloid leukemia*” e “*chronic myeloid leukemia*”, e que tratavam, direta ou indiretamente, do papel exercido por essas microvesículas na progressão das neoplasias hematológicas citadas. Foram dispensados critérios sistemáticos e rígidos para a busca e seleção de artigos na literatura. Para a busca dos artigos, foram utilizadas as bases de dados PubMed, Google Acadêmico (Google Scholar) e Scopus, sendo selecionadas publicações em inglês e que envolvessem estudos *in vitro*, *in vivo* ou ambos.

5 REVISÃO NARRATIVA

5.1 EXOSSOMOS

5.1.1 Classificação e aplicações

As vesículas extracelulares consistem em elementos secretados pelas células em diferentes circunstâncias, podendo ser classificadas, de acordo com sua função, estrutura e processo de biossíntese, em corpos apoptóticos, exossomos ou microvesículas (GURUNG *et al.*, 2021). Os corpos apoptóticos são produtos do processo de morte celular programada, com diâmetro superior a 1.000 nm e exercem a função de facilitadores da degradação dos restos celulares. Os exossomos e as microvesículas têm importante função na comunicação intercelular, apresentando diâmetros que podem variar de 50 a 150 nm para os exossomos e de 100 a 1.000 nm para as microvesículas (DOYLE; WANG, 2019).

Essa importante função de comunicação intercelular assumida pelos exossomos é, em grande parte, explicada pela dimensão nanométrica dos exossomos e pela sua composição membranar semelhante à bicamada fosfolipídica das células, o que facilita a interação com as células-alvo (GURUNG *et al.*, 2021).

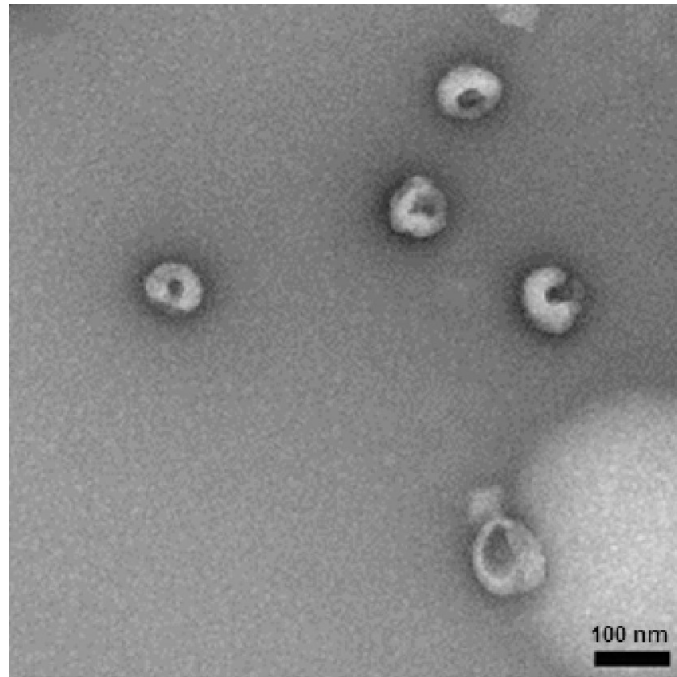
A exploração dos mais diversos aspectos que envolvem a atuação dos exossomos na fisiopatologia de variadas doenças já extrapolou a esfera estritamente *in vitro* e *in vivo*, chegando aos ensaios clínicos, com 86 registros atualmente ativos na Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (UNITED STATES, 2023), o que demonstra o potencial que os exossomos apresentam no que se refere às suas possíveis aplicações clínicas. Assim, apesar de sua descoberta e caracterização relativamente recentes, somando 40 anos, os exossomos já têm sido descritos como promissores marcadores de diagnóstico e prognóstico para uma série de doenças, tais como neoplasias e doenças autoimunes (PENG; YANG; ZHOU, 2020).

A possível aplicação dos exossomos como marcadores de diagnóstico e prognóstico, soma-se a perspectiva de emprego dessas vesículas como carreadores de fármacos, já que apresentam elevada estabilidade e baixo potencial imunogênico, além de mecanismos que permitem que a entrega ocorra de forma precisa e específica, característica que assume grande importância farmacológica, principalmente no tratamento das neoplasias (CHEN *et al.*, 2022).

5.1.2 Estrutura

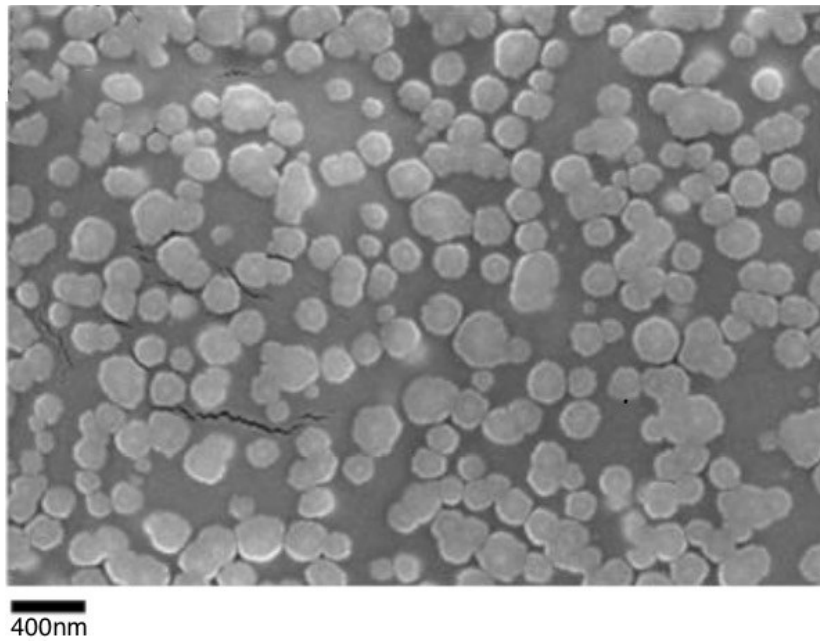
Com relação à sua forma, os exossomos geralmente apresentam-se esféricos em solução, mas mostram-se em formato côncavo ou *cup-shape* quando visualizados por meio de microscopia eletrônica de transmissão (Figura 2) (ZHANG *et al.*, 2019). Essa variação pode ser classificada como um artefato da técnica, sendo decorrente do processo de desidratação envolvido na coloração negativa por acetato de uralina, tipicamente empregada na microscopia eletrônica de transmissão (CHUO; CHIEN; LAI, 2018). Em contrapartida, a microscopia eletrônica de varredura (Figura 3) permite a visualização dos exossomos em seu formato esférico, em virtude, principalmente, da ausência da coloração com acetato de uralina e do processo de desidratação envolvido no preparo das amostras para microscopia eletrônica de transmissão (WU; DENG; II, 2015). Ademais, destaca-se a possibilidade de utilização da variação criogênica da microscopia eletrônica de transmissão, na qual a amostra é vitrificada por meio da aplicação de um rápido banho em nitrogênio líquido ou etano líquido, dispensando o processo de desidratação e permitindo, assim, que as vesículas sejam visualizadas em seu formato esférico, conforme exposto na Figura 4 (GOEL *et al.*, 2021).

Figura 3 - Eletromicrografia de transmissão de exossomos isolados.



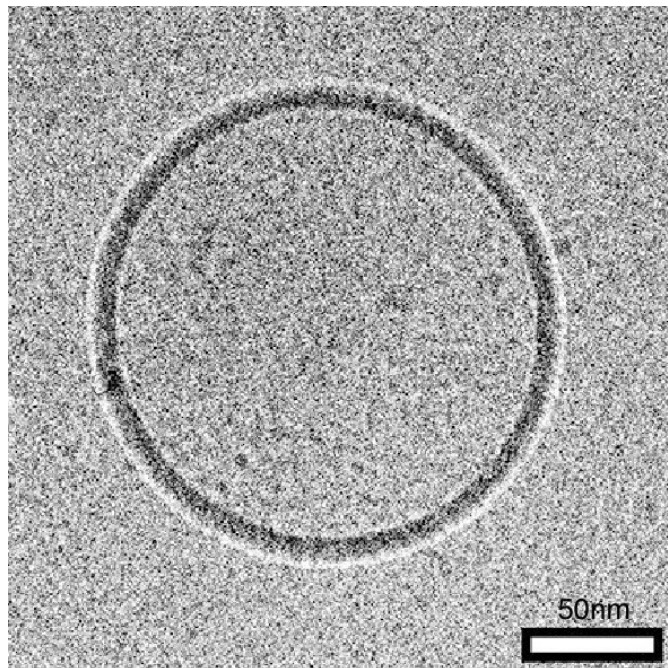
Fonte: adaptado de Jung e Mun (2018).

Figura 4 - Eletromicrografia de varredura de exossomos isolados.



Fonte: adaptado de Wu; Deng; II (2015).

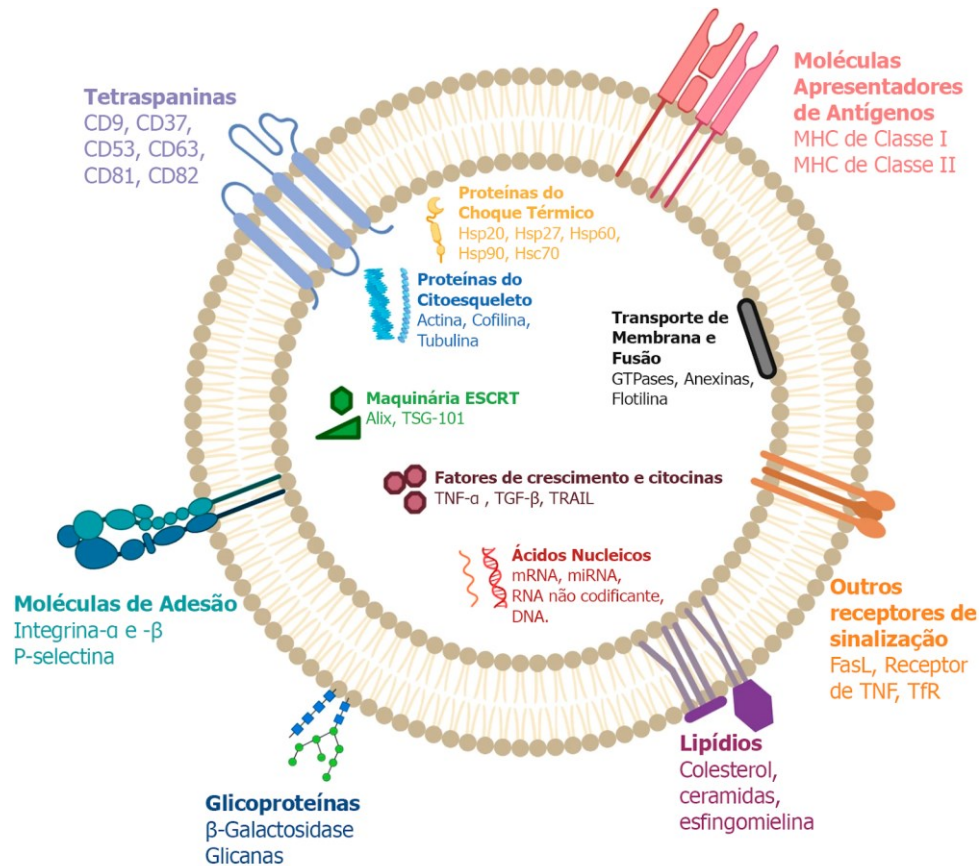
Figura 5 - Eletromicrografia criogênica de transmissão de exossomos isolados.



Fonte: adaptado de Emelyanov *et al* (2020).

Com relação à sua composição estrutural, os exossomos apresentam uma membrana externa de bicamada fosfolipídica complexa, rica em colesterol, esfingomiéline e ceramidas, além de apresentar outros lipídios minoritários, tais como fosfatidilserina, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamina e gangliosídeos (GURUNG *et al.*,2021). Além desses importantes elementos lipídicos, a arquitetura membranar dos exossomos conta com uma variedade de proteínas transmembranares, tais como tetraspaninas, integrinas, glicoproteínas, moléculas apresentadoras de antígenos e receptores de sinalização (GURUNG *et al.*,2021). Conforme ilustrado na Figura 5, aos elementos membranares citados, somam-se os componentes intraluminais dos exossomos, que incluem ácidos nucleicos, tais como DNA, RNAs e miRNAs, citocinas e proteínas, tais como as do citoesqueleto, do choque térmico, do maquinário *endosomal sorting complex required for transport* (ESCRT) e de transporte e fusão, tais como GTPases, anexinas e flotilinas (MELDOLESI, 2018).

Figura 6 - A estrutura dos exossomos.



Fonte: adaptado de Gurung *et al* (2021).

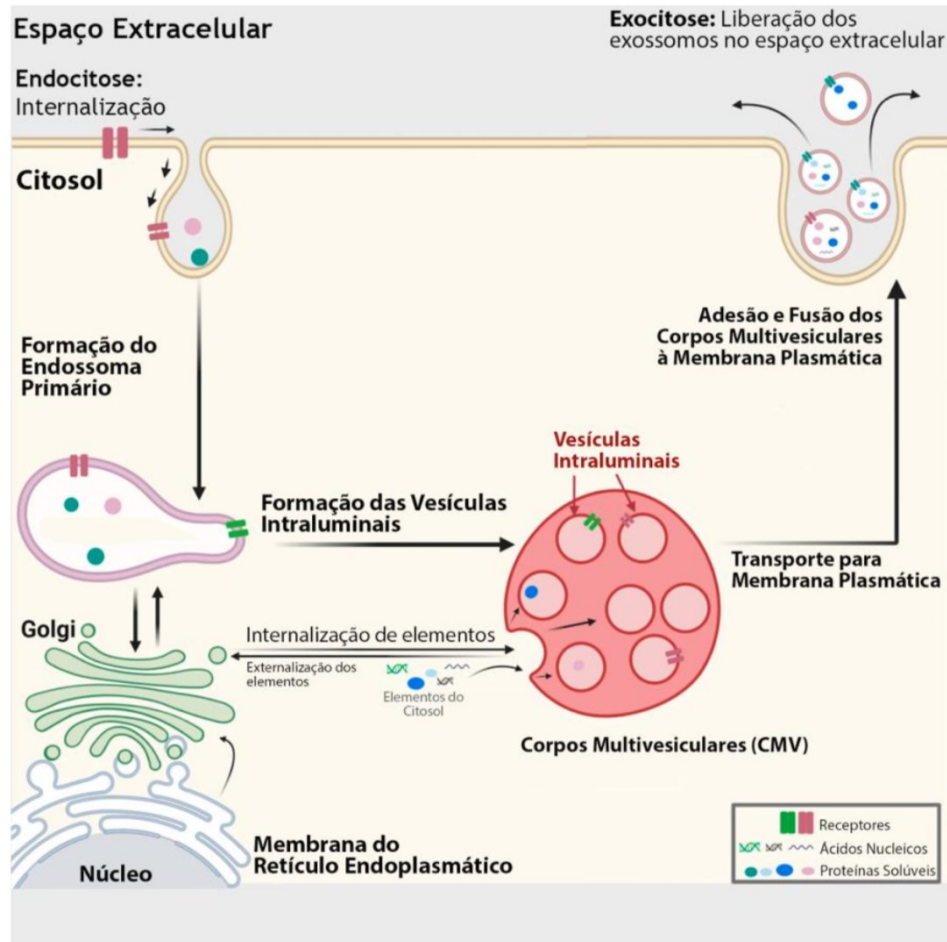
Nessa complexa e refinada estrutura dos exossomos, os diferentes componentes exercem importantes funções nos processos que envolvem biossíntese, secreção e a captação dos exossomos pelas células-alvo, assim como na comunicação intercelular, os quais serão detalhados adiante.

5.1.3 Biossíntese e secreção

A biossíntese dos exossomos (Figura 6) ocorre por via endossomal, em um processo refinado que envolve múltiplos mecanismos. Inicialmente, a partir de uma invaginação da membrana plasmática, ocorre a formação do endossoma primário, o qual apresenta, além de receptores específicos em sua membrana, proteínas solúveis que foram internalizadas durante o processo de invaginação da membrana (GURUNG *et al.*, 2021). A partir da formação do endossoma primário, ocorre a ação

o maquinário ESCRT, um sistema proteico de múltiplas subunidades, composto pelos complexos denominados ESCRT-0, ESCRT-I, ESCRT-II e ESCRT-III, que exercem papel central na biossíntese dos exossomos (ZHANG *et al.*, 2019).

Figura 7 - Processo de biossíntese dos exossomos.



Fonte: Adaptado de Gurung *et al* (2021).

A atuação do maquinário ESCRT no processo de biossíntese dos exossomos tem início quando o complexo ESCRT-0 reconhece e liga-se a proteínas ubiquitinadas localizadas na membrana do endossoma primário, com o objetivo de organizá-las em microdomínios funcionais (KRYLOVA; FENG, 2023). Durante essa primeira etapa, ocorre um trânsito de elementos oriundos do citosol ou do complexo de Golgi da célula, tais como proteínas, ácidos nucleicos e lipídios, no sentido da internalização, ou seja, no sentido citosol-endossoma primário, e também de externalização, no sentido endossoma primário-citosol. Essa importante movimentação de elementos vai determinar o que será transportado no interior das

vesículas intraluminais (VILs) (BATRAKOVA; KIM, 2015). Em seguida, são recrutados os conjuntos ESCRT-I e ESCRT-II que, em atuação sincrônica, contribuem para o processo de ordenação das proteínas ubiquitinadas e dão início à modelagem da membrana do endossoma primário, que culminará na invaginação ao redor dos microdomínios funcionais anteriormente organizados pelo complexo ESCRT-0 (TSCHUSCHKE *et al.*, 2020). Finalmente, por meio da participação do complexo ESCRT-III, que se liga ao ESCRT-II e organiza-se em formato espiral na porção superior dos microdomínios funcionais, é concluído o processo de invaginação e promovida a clivagem dos microdomínios do endossoma primário, o que dá origem às VILs propriamente ditas (XIE; ZHANG; JIANG, 2022).

Apesar da grande importância assumida pelo maquinário ESCRT na biossíntese das VILs, sabe-se que existem mecanismos alternativos de síntese dessas estruturas, que não são totalmente esclarecidos, dependentes de lipídios, principalmente do colesterol. A existência dessas rotas alternativas foi elucidada a partir de ensaios que demonstraram que células que passaram pela depleção do maquinário ESCRT secretam exossomos com marcação positiva para a molécula de citodiferenciação CD63, um componente da família das tetraspaninas que é comumente encontrado na estrutura dos exossomos, sendo frequentemente utilizados como marcadores para identificação de exossomos (DOYLE; WANG, 2019).

Concluída a síntese das VILs, os endossomas que as contêm passam a ser chamados de corpos multivesiculares (CMVs), cujo destino pode ser a degradação, por meio da fusão com lisossomos, ou a fusão com a membrana plasmática para consequente liberação das vesículas intraluminais, que passam a ser chamadas de exossomos (MELDOLESI, 2018).

Esse trânsito dos CMVs até a bicamada fosfolipídica celular acontece por meio da ação do citoesqueleto, cujos microtúbulos e filamentos de actina formam uma rede capaz de proporcionar o transporte dos CMVs no meio intracelular (KALLURI; LEBLEU, 2020). Concluído o trajeto, ocorre a ancoragem dos CMVs à face intraluminal da membrana plasmática, com consequente fusão e liberação dos exossomos (anteriormente denominados vesículas intraluminais) para o meio extracelular. Esse processo conta com a importante participação das proteínas *Ras-associated binding* (Rab), integrantes da família das GTPases e que promovem a ancoragem dos CMVs à membrana plasmática, e do complexo denominado *soluble*

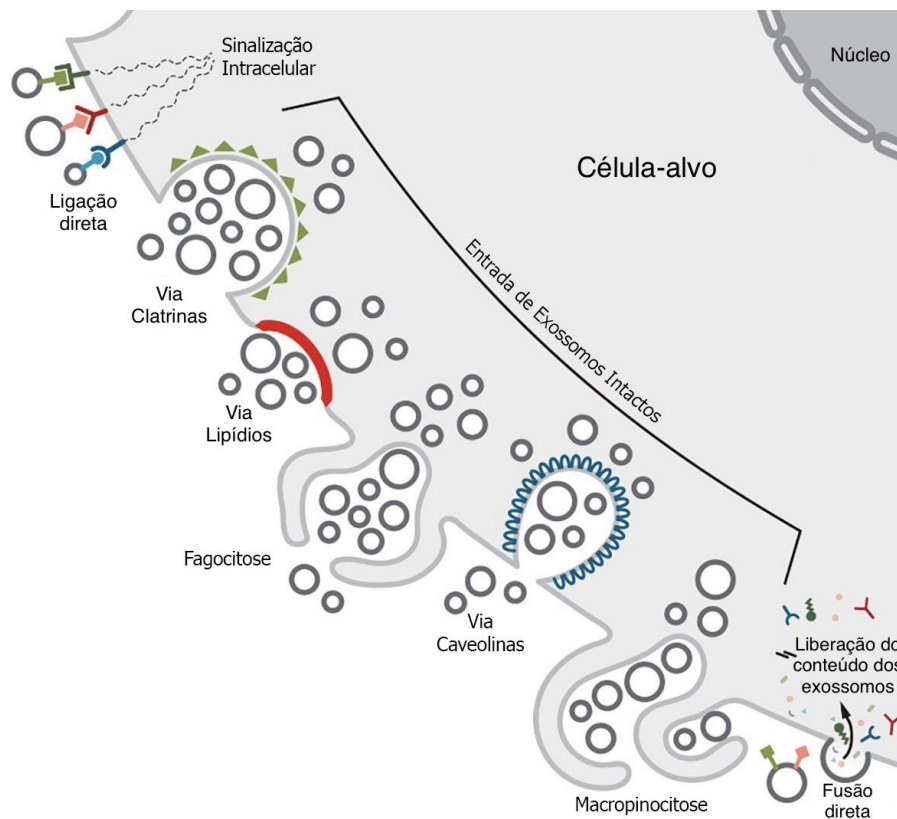
N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment receptors (SNARE), composto por múltiplas proteínas que atuam na fusão das membranas, o que permite a exocitose dos exossomos (LIU *et al.*, 2021).

5.1.4 Captação e comunicação intercelular.

Por transportarem proteínas, DNA, RNA e miRNAs em seu interior, os exossomos têm a capacidade de participar de forma importante na comunicação intercelular, podendo, assim, atuar em processos que variam desde regulação da resposta imune até a modulação do microambiente tumoral (MATHIEU *et al.*, 2019).

Para que a comunicação intercelular ocorra, é necessário que haja a interação direta entre os exossomos e os receptores da membrana da célula-alvo, o que levará à fusão ou à absorção dos exossomos. Esses processos podem ocorrer por meio de diferentes mecanismos de internalização (Figura 7) que serão mais bem descritos a seguir (O'BRIEN *et al.*, 2022).

Figura 8 - Mecanismos de interação dos exossomos com as células-alvo.



Fonte: Adaptado de Kalluri; Lebleu (2020)

A interação direta com receptores da membrana celular acontece por meio da ligação entre elementos exossomais de sinalização, tais como moléculas apresentadoras de antígenos, tetraspaninas e fator de necrose tumoral, e receptores específicos da membrana plasmática da célula-alvo, desencadeando cascatas de sinalização que podem promover alterações em uma série de fatores que envolvem a funcionalidade celular, tais como o metabolismo e a síntese proteica (GURUNG *et al.*, 2021).

Por outro lado, de forma alternativa à interação direta com receptores da membrana plasmática, a internalização dos exossomos permite que essas vesículas adentrem por inteiro nas células-alvo, chegando intactas ao citoplasma (JOSHI *et al.*, 2020). Esse processo pode acontecer por meio da macropinocitose, que envolve a polimerização de filamentos de actina para promover a formação de pequenas expansões membranosas ao redor dos exossomos, levando à sua internalização (LIN; MINTERN; GLEESON, 2020). Alternativamente, os exossomos podem chegar ao citoplasma da célula-alvo por meio de fagocitose ou, ainda, por diferentes mecanismos de endocitose, que podem ser mediados por clatrin, uma importante classe de proteínas citoplasmáticas, por caveolinas, que consistem em proteínas transmembranares ou por lipídios membranares (KAKSONEN; ROUX, 2018; ZHAO *et al.*, 2020).

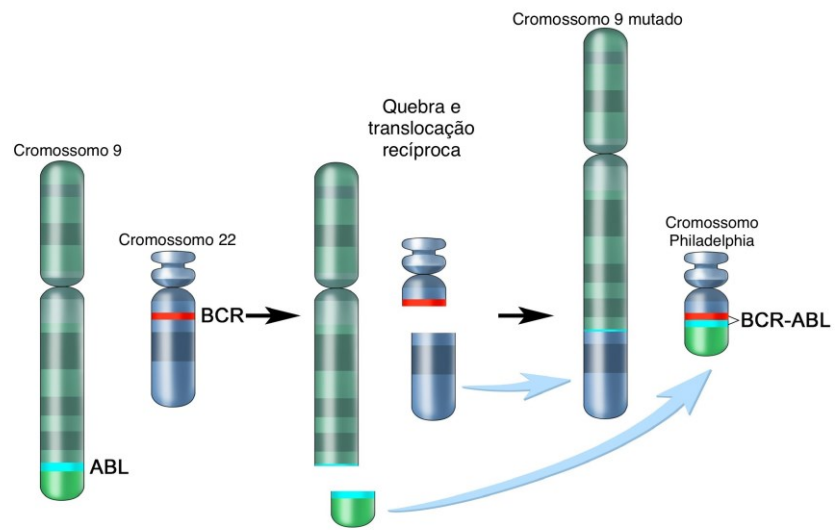
Uma vez internalizados, os exossomos seguem a via endossomal clássica nas células-alvo, podendo seguir a rota de formação de endossomas primários e até a maturação para corpos multivesiculares, ou ser degradados a partir da fusão com lisossomos (PAROLINI *et al.*, 2009). Destaca-se ainda a possibilidade de ocorrer a fusão dos exossomos com a membrana plasmática, processo que leva à liberação do conteúdo das vesículas no citoplasma e acontece mediante a participação de proteínas Rab e do complexo SNARE, que medeiam a fusão entre as duas membranas de forma semelhante ao papel que desenvolvem no processo de secreção dos exossomos (PRADA; MELDOLESI, 2016).

5.2 LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA (LMC)

5.2.1 Epidemiologia, fisiopatologia, tratamento e diagnóstico.

A LMC é uma neoplasia mieloproliferativa predominantemente diagnosticada em adultos com idade superior a 50 anos (BRASIL, 2021). Caracterizada pela multiplicação descontrolada de células granulocíticas da linhagem mieloide, a LMC não apresenta o bloqueio maturativo que se observa nas leucemias agudas e, por isso, são encontrados granulócitos em diferentes estágios de maturação no sangue periférico dos pacientes (MINCIACCHI; KUMAR; KRAUSE, 2021). Destaca-se, ainda, que a fisiopatologia da LMC passa por outro aspecto central da doença, que é a presença do cromossomo Philadelphia (Ph⁺), originado a partir da translocação recíproca entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22, t(9;22) (q34; q11.2), conforme representado na Figura 8 (SOVERINI; BASSAN; LION, 2019). Essa alteração genética dá origem ao gene mutante BCR-ABL1, que codifica uma enzima tirosina quinase de mesmo nome, constitutivamente ativa, que exerce papel fundamental na leucemogênese ao ativar uma série de cascatas de sinalização que promovem a sobrevivência, inibem a apoptose e potencializam a capacidade de multiplicação das células leucêmicas (ZHOU; MEDEIROS; HU, 2018). Assim, um dos pontos centrais do diagnóstico da LMC, além da realização do hemograma, consiste na avaliação da presença do cromossomo Philadelphia (Ph⁺) e, conseqüentemente, do gene mutante BCR-ABL1 (BRASIL, 2021).

Figura 9 - Formação do cromossomo Philadelphia.



Fonte: Adaptado de National Cancer Institute (2023).

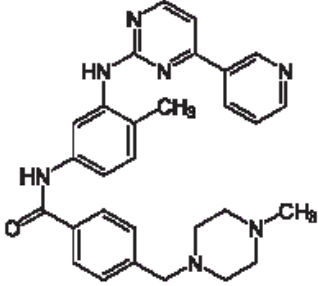
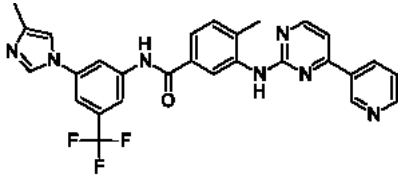

Com relação à história natural da LMC, observa-se uma alteração importante, proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2022, com relação ao estadiamento da doença, que até então era dividida em fase crônica (FC), fase acelerada (FA) e crise blástica (CB). Nesse contexto, a FC, na qual cerca de 90% dos pacientes são diagnosticados, é caracterizada pela presença de leucocitose, basofilia, eosinofilia, desvio à esquerda não escalonado e presença de blastos em quantidade inferior a 2% da leucometria total no sangue periférico (BRASIL, 2021; FURTADO *et al.*, 2015). Em relação à medula óssea, observa-se celularidade aumentada, com os blastos representando, no máximo, 5% das células nucleadas, além da presença de micro-megacariócitos (OSMAN; DEININGER, 2021). Em média, após três a cinco anos sem tratamento ou de falha deste, ocorre a progressão para a FA, na qual observa-se, no sangue periférico, aumento persistente da leucometria, mais de 20% de basófilos e 10 a 19% de blastos, além da possibilidade de trombocitopenia persistente (BRASIL, 2021; DEININGER *et al.*, 2020). Do ponto de vista genético, a FA pode trazer consigo alterações cromossômicas adicionais nas células Ph⁺, tais como a trissomia do cromossomo 8, isocromossomo 17q e trissomia do cromossomo 19 (MINCIACCHI; KUMAR; KRAUSE, 2021). A ocorrência dessas alterações adicionais, bem como a presença de mais de 20% de basófilos no sangue periférico, indica tendência de avanço da FA

para a CB, na qual a LMC adquire comportamento de leucemia aguda, com contagem de blastos superior a 20% no sangue periférico ou na medula óssea e ocorrência de bloqueio maturativo (BRASIL, 2021; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2022 a).

Com a nova classificação proposta pela OMS, a FA é omitida, mantendo-se apenas a FC e a CB (KHOURY *et al.*, 2022). Essa alteração tem como objetivo dar ênfase aos fatores de risco associados à progressão da doença para a CB e à resistência ao tratamento, tais como alterações genéticas adicionais, conforme citado anteriormente (KHOURY *et al.*, 2022).

Esse novo estadiamento da LMC leva em consideração, ainda, o grande sucesso do tratamento com os medicamentos inibidores de tirosina-quinase (Tabela 1), cuja incorporação, em 1998, reduziu drasticamente os casos de progressão da LMC, levando a taxa de sobrevida em 10 anos a quase 90%, o que também contribui para a redução da importância da manutenção da FA na classificação da doença (KHOURY *et al.*, 2022; AGRAWAL *et al.*, 2010). No Brasil, o imatinibe é o medicamento preconizado pelo Ministério da Saúde como a primeira linha de tratamento para a LMC em adultos, em qualquer dos estágios da doença (BRASIL, 2021). Em caso de resistência ao tratamento, cuja ocorrência é avaliada por meio da determinação da quantidade relativa de células Ph⁺ e do gene mutante BCR- ALB1, além da ocorrência de alterações genéticas adicionais, utiliza-se o nilotinibe ou o dasatinibe (BRASIL, 2021). Apesar de não apresentarem grande perda de efetividade diante das mutações no domínio ABL1 da enzima BCR-ABL, e de promoverem uma taxa maior de resposta precoce quando comparados ao imatinibe, o nilotinibe e o dasatinibe não são utilizados como primeira linha de tratamento, pois essas características não refletem em aumento da sobrevida global dos pacientes (OSMAN; DEININGER, 2021; BRASIL, 2021). O Quadro 1 mostra as fórmulas estruturais dos inibidores de tirosina-quinase citados, bem como as doses recomendadas para o tratamento (BRASIL, 2021).

Quadro 1 - Medicamentos inibidores de tirosina-quinase preconizados pelo Ministério da Saúde para o tratamento da leucemia mieloide crônica em adultos.

Medicamento e fórmula estrutural	Dose*
<p>Imatinibe</p> 	De 400 a 600 mg por dia, dependendo da fase da doença.
<p>Nilotinibe</p> 	800 mg por dia
<p>Dasatinibe</p> 	De 100 a 140 mg por dia, dependendo da fase da doença

Fonte: *Adaptado de BRASIL. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Leucemia Mieloide Crônica do Adulto (2021).

5.2.2 Mecanismos de atuação dos exossomos na progressão da LMC

Ainda que a atuação dos exossomos na progressão da LMC esteja em suas fases iniciais de elucidação, alguns mecanismos envolvendo aspectos importantes da doença já foram demonstrados, tais como a modulação do microambiente da medula óssea, a resistência ao tratamento e a potencialização da sobrevivência das células leucêmicas.

5.2.2.1 Modulação do microambiente da medula óssea

O microambiente da medula óssea exerce papel importantíssimo na regulação e manutenção do processo normal de hematopoiese. De composição complexa, contando com variadas linhagens celulares, o microambiente da medula

óssea também pode atuar na manutenção de neoplasias hematológicas a partir do estabelecimento de um ambiente permissivo para tal (HOUSHMAND *et al.*, 2019). Nesse contexto, os exossomos surgem como possíveis atores na comunicação intercelular, que participa de forma importante na funcionalidade do microambiente medular.

Tendo em vista o importante papel exercido pelos exossomos no que se refere ao transporte de citocinas, proteínas, miRNAs e DNA, emergiram estudos que buscaram elucidar as possíveis atuações dos exossomos na modulação do microambiente da medula óssea na LMC. Jafarzadeh e colaboradores (2018) demonstraram, entre outros achados, que exossomos derivados da linhagem celular K562 de LMC podem promover alterações importantes na liberação de citocinas pelas células tronco mesenquimais na medula óssea. Entre essas citocinas, estão o *tumor necrosis factor alpha* (TNF-alfa) e o *transforming growth factor beta* (TGF-beta), que exercem papéis regulatórios importantes durante a leucemogênese. O TNF-alfa atua por meio de diversas cascatas de sinalização no sentido de promover um microambiente medular favorável ao desenvolvimento das células leucêmicas, potencializando a sobrevivência dessas células (VERMA *et al.*, 2022). Já o TGF-beta atua em diversas neoplasias hematológicas por meio de uma série de mecanismos, muitos dos quais ainda não foram completamente esclarecidos, que levam à inibição da proliferação e indução da diferenciação celular e da apoptose (DONG; BLOBE, 2006; WU *et al.*, 2016). No estudo conduzido por Jafarzadeh e colaboradores, células-tronco mesenquimais humanas, isoladas de aspirados de medula óssea, foram incubadas com exossomos isolados das células da linhagem K562, sendo a captação dessas vesículas observado por meio de microscopia confocal. Adicionalmente, por meio de ensaios imunoenzimáticos (*Enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA), foi demonstrado que os exossomos derivados da linhagem celular K562 foram capazes de promover aumento da secreção de TNF-alfa e diminuição da secreção de TGF-beta pelas células tronco mesenquimais humanas, culminando na modulação do microambiente da medula óssea, que passa a favorecer o desenvolvimento e a manutenção das células leucêmicas (JAFARZADEH *et al.*, 2018).

Outro mecanismo de modulação do microambiente da medula óssea pelos exossomos no contexto da LMC foi descrito por Corrado e colaboradores (2014), que demonstraram que exossomos derivados da linhagem celular LAMA84 de LMC

potencializam a expressão e a liberação de interleucina-8 (IL-8) por células da linhagem HS5 de estroma de medula óssea (CORRADO *et al.*, 2014). A IL-8 consiste em uma importante citocina inflamatória que, por meio de variadas cascatas de sinalização, atua em diferentes neoplasias potencializando a sobrevivência e a migração de células malignas, além de promover a angiogênese (BAKOUNY; CHOUËIRI, 2020). No estudo publicado em 2014 por Corrado e colaboradores, foi demonstrado que células da linhagem celular HS5, incubadas com exossomos derivados da linhagem celular LAMA84, passam a apresentar maior expressão do RNA mensageiro da IL-8, o que foi observado por meio de reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), além de secreção aumentada dessa citocina, o que foi confirmado mediante a realização de ELISA. A consequência desses importantes achados também foi explorada no mesmo estudo por meio de ensaios *in vitro*, em que foi demonstrada a atuação dos exossomos derivados da linhagem LAMA84 de LMC como moduladores da expressão e da secreção de IL-8 pelas células do estroma da medula óssea, o que potencializa a capacidade de adesão das células leucêmicas ao estroma medular e facilita a sobrevivência destas células malignas (CORRADO *et al.*, 2014).

5.2.2.2 *Mecanismo autócrino de regulação*

Um caminho ainda pouco explorado no contexto do papel dos exossomos na progressão da LMC é o que envolve os possíveis mecanismos autócrinos de regulação, nos quais os exossomos podem atuar no sentido de modular o comportamento das próprias células malignas, não do microambiente da medula óssea.

Assim, buscando explorar o papel dos exossomos na regulação autócrina das células de LMC, Raimondo e colaboradores (2015) demonstraram que exossomos derivados de células da linhagem LAMA84 são capazes de potencializar a proliferação e a sobrevivência dessas células por meio de mecanismos autócrinos que envolviam a modulação da expressão dos genes anti-apoptóticos como os responsáveis pela produção de survivina e proteínas anti-apoptóticas da família BCL2 (BCL-xl e BCL2L2), e dos genes responsáveis pela expressão de proteínas pró-apoptóticos da mesma família (BAD, BAX e BBC3). Por meio de PCR em tempo real, verificou-se que células da linhagem LAMA84 incubadas com exossomos dela

derivados apresentaram aumento na expressão dos genes anti-apoptóticos survivina, BCL-xl e BCL2L2, e diminuição da expressão dos genes pró-apoptóticos BAD, BAX e BBC3. Adicionalmente, por meio de *western blot*, foi demonstrado que exossomos derivados das células LAMA84 induziram a fosforilação da quinase regulada por sinal extracelular (ERK) e da proteína quinase B (PQB), o que levou a ativação de suas vias de sinalização. Estas vias, por sua vez, que participam do controle da proliferação e da sobrevivência celular e, frequentemente, encontram-se excessivamente ativadas em uma variedade de neoplasias (GUO *et al.*, 2020; RASCIO *et al.*, 2021). Finalmente, a capacidade dos exossomos derivados da linhagem LAMA84 em potencializarem a proliferação dessas células foi demonstrada a partir de ensaios de viabilidade celular, nos quais se observou que células LAMA84 incubadas com exossomos derivados delas apresentam taxas de proliferação celular superiores quando comparadas às células não incubadas com os exossomos, além de apresentarem maior capacidade de formar colônias, o que foi demonstrado por meio de ensaios em metilcelulose (RAIMONDO *et al.*, 2015).

Ainda que os mecanismos autócrinos de atuação dos exossomos na progressão da LMC estejam em suas fases iniciais de elucidação, trabalhos como o acima descrito começam a lançar luz sobre esse tema, contribuindo para o entendimento dos mais diversos mecanismos por meio dos quais os exossomos são capazes de atuar na progressão da LMC.

5.2.2.3 *Transferência de traços de resistência ao imatinibe*

Apesar da descoberta dos fármacos inibidores de tirosina quinase, principalmente do imatinibe, ter revolucionado o tratamento da LMC, a resistência a esses medicamentos apresenta-se como um importante desafio, já que aproximadamente 25% dos pacientes não responderão ao tratamento, potencializando a progressão da LMC para a FA, cujo prognóstico é pobre (MIN *et al.*, 2018; PATEL; O'HARE; DEININGER, 2017). Alguns mecanismos de resistência ao imatinibe já estão elucidados, tais como diferentes mutações na enzima tirosina quinase BCR-ABL ou ainda mecanismos que são independentes dessa enzima.

Em trabalho publicado em 2018, Min e colaboradores demonstraram que exossomos derivados da linhagem K562/G01 de LMC resistente ao imatinibe são capazes de conferir resistência a esse fármaco a células da linhagem K562 de LMC

sensíveis ao imatinibe. No mesmo estudo, foi demonstrada a transferência do miRNA-365 da linhagem resistente para a sensível por meio dos exossomos, além da participação desse miRNA na promoção de resistência ao imatinibe (MIN *et al.*, 2018).

A partir do tratamento de células da linhagem K562 com imatinibe, acompanhado ou não de incubação concomitante com exossomos derivados da linhagem K562/G01, foi observado, por meio de ensaios de viabilidade e citometria de fluxo, o aumento da viabilidade celular e redução da apoptose nas células incubadas com os exossomos. Ainda, análises de microarranjo e PCR demonstraram que exossomos da linhagem K562/G01 apresentaram maior expressão do miRNA-365 em relação aos exossomos derivados da linhagem K562, e que células da linhagem K562 incubadas com exossomos da linhagem K562/G01 também apresentaram aumento na expressão de miRNA-365. Adicionalmente, a análise por microscopia confocal confirmou a captação dos exossomos da linhagem K562/G01 pelas células da linhagem K562 (MIN *et al.*, 2018).

Ainda, para confirmar o envolvimento do miRNA-365 na promoção da resistência ao imatinibe, células da linhagem K562 receberam o precursor do miRNA-365 por transfecção, sendo em seguida tratadas com imatinibe. Ensaios de viabilidade celular e citometria de fluxo confirmaram que as células que receberam o miRNA-365 apresentaram aumento da viabilidade celular, bem como redução da apoptose, em comparação às células que não passaram pela transfecção (MIN *et al.*, 2018).

5.3 LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS (LMAs)

5.3.1 Epidemiologia, fisiopatologia, tratamento e diagnóstico.

As LMAs são um grupo heterogêneo de neoplasias malignas que respondem por cerca de 80% de todos os casos de leucemia aguda registrados em adultos. Com média de idade de diagnóstico girando em torno de 65 anos, as LMAs são caracterizadas pela proliferação descontrolada de células precursoras mieloides na medula óssea e no sangue periférico, acompanhada por bloqueio maturativo no estágio de blasto ou promielócito e, conseqüentemente, disfunção da medula óssea. Assim, os sinais, sintomas e achados clínicos nas LMAs envolvem, majoritariamente,

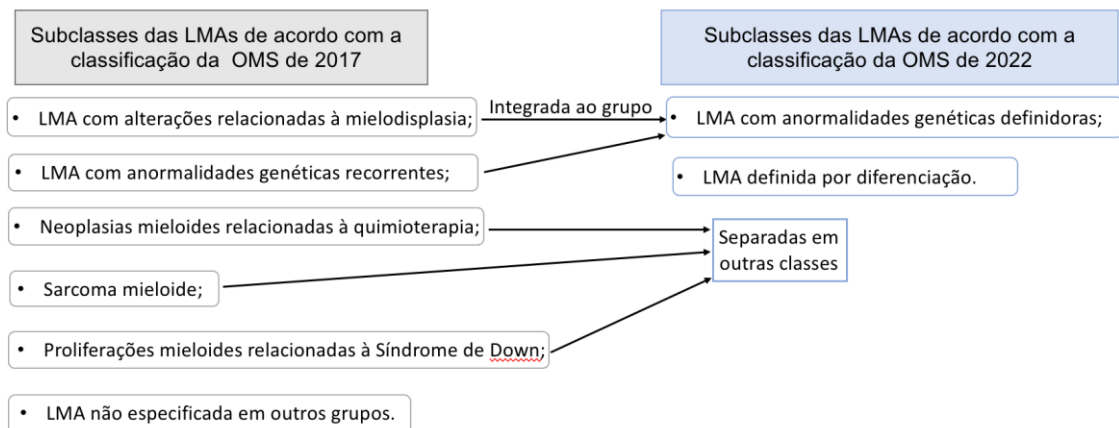
anemia, infecções recorrentes e capacidade de agregação comprometida em virtude da trombocitopenia, normalmente observada no hemograma, que também mostra leucocitose com predomínio de células imaturas (blastos) (BRASIL, 2014; VAKITI *et al.*, 2022).

O diagnóstico das LMAs é realizado por meio do hemograma e do mielograma, além da avaliação citogenética, imunofenotípica e de biologia molecular, que assumem grande importância na determinação das mutações envolvidas e, conseqüentemente, do prognóstico do paciente (MEDINGER *et al.*, 2019). Antes de 2022, com exceção dos casos em que há translocação (8;21), (15;17) ou (16;16), ou ainda a inversão (16) (p13.1q22), o diagnóstico das LMAs só poderia ser confirmado mediante a contagem de mieloblastos ou monoblastos ou megacarioblastos superior a 20% na medula óssea ou no sangue periférico (BRASIL, 2014). Porém, com a atualização das diretrizes da OMS em relação às LMAs, todos os casos da doença que se enquadram na categoria “LMA com alterações genéticas recorrentes”, com exceção daqueles que apresentam a fusão BCR-ABL1 ou a mutação CEPBA, podem ter o diagnóstico confirmado mesmo com contagem de blastos inferior a 20% no sangue periférico ou na medula óssea, contanto que seja observada correlação entre os aspectos clínicos, morfológicos e genéticos (KHOURY *et al.*, 2022).

Na extensa maioria dos casos, a fisiopatologia das LMAs têm como ponto central uma ampla variedade de falhas na regulação da mielopoiese, as quais podem envolver diferentes mutações em uma vasta gama de genes regulatórios, o que confere grande heterogeneidade genética à doença, com pouquíssimas mutações comuns a mais de 1/4 dos casos registrados (PIPPA; ODERO, 2020). As mutações relacionadas às LMAs, cada qual à sua maneira, têm grande importância na determinação do prognóstico do paciente diagnosticado com LMA, levando em consideração, também, a resposta ao tratamento. Enquanto algumas mutações trazem consigo um prognóstico favorável, com taxa de sobrevida de 64% após cinco anos, outras são mais agressivas ao processo de regulação da mielopoiese, representando um prognóstico desfavorável ao paciente, com taxa de sobrevida de 11%, em média, após cinco anos. Há ainda algumas mutações que trazem a classificação de prognóstico intermediário, com taxa de sobrevida de 41% após cinco anos (PELCOVITS *et al.*, 2020).

A grande heterogeneidade das LMAs abre caminho para que a doença seja sub-classificada em diferentes grupos, de acordo com critérios morfológicos e fisiopatológicos da neoplasia, tendo as mutações um papel central nessa categorização (BRASIL, 2014). Até 2022, a OMS considerava os seis seguintes grupos diferentes para a classificação da LMA: LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia, neoplasias mieloides relacionadas à quimioterapia, sarcoma mieloide, proliferações mieloides relacionadas à Síndrome de Down, LMA com anormalidades genéticas recorrentes e LMA não especificada em outros grupos (HWANG, 2020). Em 2022, porém, conforme ilustrado na Figura 9, a OMS condensou essa classificação, com o objetivo de enfatizar os avanços recentes na compreensão dos mecanismos patológicos, principalmente com relação às mutações e seus papéis no desenvolvimento da LMA. Assim, foram mantidos apenas os dois seguintes grupos: LMA com anormalidades genéticas definidoras e LMA definida por diferenciação. Dessa forma, passam a ficar separadas, em outras classes, neoplasias mieloides relacionadas à quimioterapia, sarcoma mieloide e proliferações mieloides relacionadas à Síndrome de Down. A LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia, que antes representava um dos seis grupos, passa a ser denominada LMA relacionada à mielodisplasia e se junta ao grupo “LMA com anormalidades genéticas definidoras”, ao qual também foi incluído um novo subgrupo, intitulado “LMA com outras alterações genéticas definidas”, para dar espaço às novas mutações, conforme sejam descobertas (KHOURY *et al.*, 2022).

Figura 10 - Atualização da classificação das leucemias mieloides agudas (LMAs) pela Organização Mundial da Saúde (OMS).



Fonte: elaborado pela autora.

Como pode ser percebido, o avanço das técnicas de sequenciamento gênico permitiu que as anomalias presentes nas LMAs sejam identificadas com precisão, o que possibilitou, ao longo dos anos, o desenvolvimento de terapias-alvo específicas, tais como o ácido all-trans-retinóico (ATRA), que estimula a diferenciação celular em casos de leucemia promielocítica aguda que apresentam a translocação PML-RAR α , e os inibidores da enzima FLT3 quinase, que é derivada do gene de mesmo nome, cuja mutação, presente em cerca de 20% dos pacientes com LMA, leva à potencialização da proliferação de blastos (PIPPA; ODERO, 2020; THOL; GANSER, 2020). Apesar desses avanços contínuos, o tratamento para a maior parte dos pacientes ainda tem como alicerce o uso de quimioterápicos citotóxicos ou agentes alquilantes (DONG *et al.*, 2022). Nesse âmbito, divide-se o tratamento das LMAs em fases, sendo a primeira denominada de terapia de indução, seguida pela terapia de consolidação, que pode ou não ser sucedida pela terapia de manutenção (ESTEY, 2018).

De acordo com as diretrizes estabelecidas pelo Ministério da Saúde, a terapia de indução, classicamente representada pelo “protocolo 7+3”, consiste na infusão de citarabina por sete dias e de uma antraciclina (daunorrubicina, idarrubicina ou mitoxantrona) por três dias, tendo como objetivo a indução da remissão completa (menos de 5% de mieloblastos na medula óssea, leucócitos em quantidade superior a 1.000/mm³ e plaquetas acima de 100.000/mm³), que é alcançada por cerca de 60 a 80% dos pacientes jovens com prognóstico favorável (BRASIL, 2014). Apesar disso, devido ao caráter agressivo da terapia de indução, que traz consigo um quadro de pancitopenia grave, deve ser realizada uma avaliação precisa do estado geral do paciente e da existência de possíveis comorbidades antes do início do tratamento (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2022 b). Após atingida a remissão completa, segue a terapia de consolidação, que consiste em repetidos ciclos de infusão de citarabina em altas doses, com objetivo de impedir a recidiva da doença, que acontece em cerca de 30% e 50% dos pacientes após seis meses e um ano da remissão, respectivamente (PELCOVITS *et al.*, 2020). Para os casos com prognóstico intermediário ou desfavorável, cuja resposta à terapia de indução costuma ser pobre, apresenta-se a alternativa do transplante de células tronco hematopoiéticas, cuja morbidade associada vem diminuindo em decorrência do avanço nas estratégias de controle de infecção e rejeição (BRASIL, 2014).

5.3.2 Mecanismos de atuação dos exossomos na progressão da LMA

Assim como o que se observa no contexto da LMC, o papel dos exossomos na progressão das LMAs ainda foi pouco explorado. Apesar disso, alguns importantes mecanismos já foram elucidados, envolvendo as modulações do microambiente da medula óssea, da resposta imune e da resistência ao tratamento.

5.3.2.1 Modulação do microambiente da medula óssea

Assim como descrito para a LMC, a modulação do microambiente da medula óssea também apresenta grande importância no contexto das LMAs, envolvendo uma série de mecanismos que atuam desde o estabelecimento até a manutenção e progressão dessas neoplasias (HOUSHMAND *et al.*, 2019).

Em trabalho publicado em 2020, Namburi e colaboradores demonstraram que exossomos isolados de células da linhagem Kasumi-1 de LMA e também do plasma de pacientes recém-diagnosticados com LMA são capazes de modular o microambiente da medula óssea por meio da atividade da proteína Dipeptidil peptidase 4 (DPP-4), promovendo a mielossupressão e, assim, prejudicando a hematopoiese (NAMBURI *et al.*, 2020).

A DPP-4 consiste em uma glicoproteína transmembranar que exerce atividade proteolítica e participa da regulação de uma série de processos fisiológicos, sendo expressa em variados tecidos, incluindo o hematopoético (WANG *et al.*, 2023). Por meio de ensaios de citometria de fluxo, Namburi e colaboradores identificaram a presença da DPP-4 na superfície de exossomos derivados do plasma de pacientes diagnosticados com LMA, da linhagem celular Kasumi-1 e também do plasma de doadores saudáveis. Além disso, foi demonstrado que a quantidade de DPP-4 expressa na superfície dos exossomos isolados de pacientes diagnosticados com LMA era maior do que a observada em exossomos isolados de doadores saudáveis (NAMBURI *et al.*, 2020).

A capacidade de supressão da hematopoiese pelos exossomos derivados do plasma de pacientes com LMA e das células da linhagem Kasumi-1 foi demonstrada a partir de ensaios em metilcelulose. Para isso, células progenitoras hematopoiéticas (CPH) humanas foram isoladas a partir de cordões umbilicais e incubadas separadamente com exossomos derivados do plasma de pacientes com

LMA e das células Kasumi-1, sendo que a capacidade das CPH de formarem colônias em metilcelulose foi seriamente prejudicada. Destaca-se que a atuação dos exossomos na formação de colônias de CPH, observada nos ensaios em metilcelulose, foi mitigada mediante a adição de diprotina A, um inibidor da DPP-4, ao experimento citado anteriormente, o que indica a participação direta da DPP-4 no processo de inibição da formação de colônias de CPH, promovido pelos exossomos isolados do plasma de pacientes com LMA e das células da linhagem Kasumi-1 (NAMBURI *et al.*, 2020).

No intuito de explorar a diferença na atuação dos exossomos derivados do plasma de pacientes recém-diagnosticados com LMA e do plasma de pacientes que atingiram a remissão completa da doença na supressão da formação de colônias, os mesmos ensaios em metilcelulose foram repetidos. Assim, foi observado que os exossomos derivados do plasma de pacientes que atingiram a remissão completa apresentaram uma capacidade muito menor de suprimir a formação de colônias de HPC com relação ao que foi observado para os exossomos isolados do plasma de pacientes recém-diagnosticados. Ainda, por meio de ensaios de luminescência, foi demonstrado que a atividade da DPP-4 estava consideravelmente reduzida nos exossomos isolados de pacientes que atingiram a remissão completa, quando comparado ao que se observou para os exossomos isolados do plasma de pacientes recém-diagnosticados (NAMBURI *et al.*, 2020).

Outro mecanismo de modulação do microambiente da medula óssea pelos exossomos foi elucidado por Wang e colaboradores (2018), que demonstraram que exossomos derivados da linhagem HL-60 de leucemia promielocítica aguda, um subtipo de LMA, são capazes de promover a migração, proliferação e formação de estruturas tubulares em células da linhagem HUVEC de endotélio vascular, indicando que os exossomos podem atuar no sentido de promover a remodelação vascular no microambiente da medula óssea (WANG *et al.*, 2018).

Por meio de ensaios em matriz de membrana basal solubilizada, foi demonstrado que células da linhagem HUVEC, incubadas com exossomos derivados da linhagem HL-60, apresentam um aumento importante em sua capacidade de migração e formação de estruturas tubulares. Ainda, ensaios de viabilidade demonstraram o aumento da capacidade de proliferação das células da linhagem HUVEC após incubação com os exossomos isolados da linhagem HL-60 (WANG *et al.*, 2018).

Uma consequência direta da capacidade que os exossomos demonstraram de promover remodelação vascular no microambiente da medula óssea foi demonstrada a partir da co-cultura de células da linhagem HUVEC com células da linhagem HL-60 e posterior tratamento com citarabina. Os ensaios de viabilidade celular e citometria de fluxo demonstraram que a co-cultura das células HL-60 com as HUVEC diminuiu o efeito citotóxico e apoptótico da citarabina sobre as células leucêmicas, demonstrando que as células da linhagem HUVEC promovem proteção às células HL-60 contra os efeitos citotóxicos da citarabina. Assim, ficou claro que a remodelação vascular, demonstrada pelo aumento da capacidade de migração, proliferação e formação de estruturas tubulares das células da linhagem HUVEC, promovida pelos exossomos derivados das células HL-60, culmina na potencialização da proteção das células HL-60, promovida pelas HUVEC, contra a ação da citarabina (WANG *et al.*, 2018).

Adicionalmente, por meio de RT-PCR, foi demonstrado que a incubação das células da linhagem HUVEC com exossomos isolados da linhagem HL-60 promoveu aumento na expressão do RNA mensageiro correspondente ao receptor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) nas células HUVEC, o que foi traduzido, também, no aumento da expressão do receptor, demonstrado por *western blot* (WANG *et al.*, 2018). Esses resultados relacionados à expressão do receptor de VEGF pelas células HUVEC indicam um mecanismo por meio do qual os exossomos derivados da linhagem HL-60 promovem a remodelação vascular citada anteriormente, uma vez que o VEGF consiste em um importante fator que promove a angiogênese e a remodelação vascular por meio de diferentes cascatas de sinalização (KHODABAKHSH *et al.*, 2021).

5.3.2.2 *Atuações das células-tronco mesenquimais da medula óssea*

Dentro das possibilidades de atuação dos exossomos na progressão das LMAs, as mais exploradas envolvem exossomos derivados das células leucêmicas. Apesar disso, exossomos provenientes de células saudáveis também são capazes de atuar na progressão das LMAs. Nesse contexto, Lyu e colaboradores (2021) estudaram os possíveis mecanismos exercidos por exossomos derivados de células tronco mesenquimais de medula óssea (CTM-MO), isoladas de pacientes saudáveis, sobre a proliferação, migração e invasão de células das linhagens Kasumi-1 e THP-

1 de LMA. Assim, por meio de ensaios em matriz de membrana basal solubilizada e membranas de policarbonato, foi demonstrado que células da linhagem Kasumi-1 e THP-1 apresentam aumento importante da sua capacidade de invasão e migração após incubação com exossomos derivados das CTM-MO (LYU *et al.*, 2021). Ainda, por meio de ensaios de viabilidade celular, foi demonstrado que células da linhagem THP-1, incubadas com exossomos derivados das CTM-MO e tratadas com citarabina, apresentaram resistência à citotoxicidade desse fármaco. Assim, ficou demonstrado que os exossomos derivados das CTM-MO, além de potencializarem a capacidade metastática das células da linhagem Kasumi-1 e THP-1 de LMA, também atuam no sentido de conferir resistência à citarabina (LYU *et al.*, 2021).

Com objetivo de descrever o mecanismo por meio do qual os exossomos derivados das CTM-MO são capazes de promover os efeitos descritos nas células Kasumi-1 e THP-1, foram realizados ensaios de *western blot* e RT-PCR, que demonstraram que as referidas células de LMA apresentaram aumento na expressão da proteína S100A4 e, também, de seu respectivo RNA mensageiro após a incubação com exossomos derivados das CTM-MO (LYU *et al.*, 2021).

A S100A4 consiste em uma proteína ligadora de cálcio que atua na regulação de processos celulares importantes tais como migração, proliferação, invasão, diferenciação e apoptose, encontrando-se com expressão aumentada em diversas neoplasias, incluindo as LMAs (YAO *et al.*, 2022; ISHIKAWA *et al.*, 2019).

Um outro ensaio realizado por Lyu e colaboradores (2021) utilizou RNAs de interferência e demonstrou que o bloqueio da expressão do gene referente à proteína S100A4 reverte os efeitos promovidos pelos exossomos derivados das CTM-MO nas células da linhagem Kasumi-1 e THP-1, indicando que a potencialização da capacidade metastática e da resistência à citarabina dessas células malignas foi promovida pelos exossomos por meio da proteína S100A4 (LYU *et al.*, 2021).

Outro mecanismo de atuação de exossomos derivados de CTM-MO na progressão das LMAs foi demonstrado por Wu e colaboradores (2022). Por meio de metodologias muito semelhantes às utilizadas no trabalho desenvolvido por Wang e colaboradores (2018), descrito no item 5.3.2.1, foi elucidado que exossomos derivados de células tronco mesenquimais isoladas de aspirados de medula óssea de pacientes com LMA são capazes de promover a resistência à citarabina em células de linhagens de LMAs quando incubados com estas. Ainda, por meio de

análises de microarranjo e RT-PCR, foi demonstrada a participação do miRNA-10a, que apresenta expressão aumentada em diversas neoplasias, na aquisição de resistência à citarabina pelas linhagens de LMA. Isso se deve ao fato de que a expressão desse miRNA mostrou-se significativamente aumentada nas células de LMA após a incubação com os exossomos derivados das células tronco mesenquimais isoladas de pacientes com LMA. Destaca-se, ainda, que os exossomos derivados de células tronco mesenquimais da medula óssea de pacientes com LMA apresentaram elevada expressão do miRNA-10a, sugerindo a ocorrência de transferência desse miRNA para as células das linhagens de LMA pelos exossomos. A participação do miRNA-10a na aquisição de resistência à citarabina pelas células de LMA foi comprovada por meio do bloqueio da expressão desse miRNA, processo que reverteu a resistência das células à citarabina (WU *et al.*, 2022).

5.3.2.3 Modulação da resposta imune

A agressividade das terapias citotóxicas preconizadas para o tratamento das LMAs representa um desafio para muitos pacientes, principalmente aqueles com prognóstico desfavorável, idosos ou com comorbidades associadas. Diante desse contexto, a busca por novas alternativas de tratamento é indispensável e o entendimento de todos os possíveis aspectos envolvidos na resposta imune dos pacientes é fundamental.

Hong e colaboradores (2017) estudaram o papel exercido pelos exossomos na resposta à terapia celular por transferência de linfócitos *natural killer* (NK) ativadas em pacientes com LMA em recidiva. Nesse estudo, exossomos foram isolados do plasma de pacientes com LMA em recidiva e incubados com células da linhagem NK-92, uma linhagem de linfócitos NK humanos dependente de interleucina 2. Por meio de ensaios de viabilidade celular, verificou-se que a taxa de proliferação celular das células NK-92 foi consideravelmente reduzida após a incubação com os exossomos derivados do plasma de pacientes com LMA em recidiva. Ainda, por meio de ensaios *in vitro* de migração celular, foi demonstrado que células NK-92 incubadas com exossomos isolados do plasma de pacientes com LMA em recidiva apresentam importante redução na capacidade de migração em direção ao sobrenadante da cultura de células da linhagem Kasumi-1 de LMA. De

forma complementar, por meio de ensaios de microarranjo, foi demonstrado que as células NK-92 apresentavam uma redução considerável na expressão do receptor de quimiocinas C-X-C tipo 3 (CXCR3) após a incubação com os exossomos derivados do plasma de pacientes com LMA em recidiva. Esse achado se mostra valioso tendo em vista a atuação importante desse receptor na regulação da migração quimiotática de células do sistema imune (HONG *et al.*, 2017).

6 CONCLUSÃO

A integralização da presente revisão narrativa permitiu concluir que:

- Apesar dos avanços observados ao longo dos anos, muitos mecanismos de progressão das leucemias mieloides ainda não foram elucidados;
- Apesar da escassa literatura disponível, alguns mecanismos de atuação dos exossomos como promotores da progressão da LMC e das LMAs já foram elucidados;
- Os resultados encontrados nos artigos explorados nesse trabalho de conclusão de curso mostram-se promissores, podendo lançar luz sobre aspectos ainda pouco explorados no contexto da progressão das leucemias mieloides.

REFERÊNCIAS

ADVANI, Anjali S.; PENDERGAST, Ann Marie. Bcr–Abl variants: biological and clinical aspects. **Leukemia Research**, [S.L.], v. 26, n. 8, p. 713-720, ago. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0145-2126\(01\)00197-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0145-2126(01)00197-7).

AGRAWAL, Meetu *et al.* Tyrosine Kinase Inhibitors: the first decade. **Current Hematologic Malignancy Reports**, [S.L.], v. 5, n. 2, p. 70-80, 2 mar. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11899-010-0045-y>.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Phases of Chronic Myeloid Leukemia**. 2022 a. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/chronic-myeloid-leukemia/detection-diagnosis-staging/staging.html>. Acesso em: 20 out. 2022.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Typical Treatment of Acute Myeloid Leukemia (Except APL)**. 2022 b. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/acute-myeloid-leukemia/treating/typical-treatment-of-aml.html>. Acesso em: 02 nov. 2022.

BAKOUNY, Ziad; CHOUERI, Toni K.. IL-8 and cancer prognosis on immunotherapy. **Nature Medicine**, [S.L.], v. 26, n. 5, p. 650-651, maio 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0873-9>.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas da Leucemia Mieloide Aguda do Adulto**. Brasília, 2014.

BRASIL. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. . **Estimativa 2023 | Incidência de câncer no Brasil**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2023.pdf>. Acesso em: 20 maio 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas da Leucemia Mieloide Crônica do Adulto**. Brasília, 2021.

CHEN, Lan *et al.* Exosomes as Drug Carriers in Anti-Cancer Therapy. **Frontiers In Cell And Developmental Biology**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 745-757, 26 jan. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2022.728616>.

CHUO, Steven Ting-Yu; CHIEN, Jasper Che-Yung; LAI, Charles Pin-Kuang. Imaging extracellular vesicles: current and emerging methods. **Journal Of Biomedical Science**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 91-101, dez. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12929-018-0494-5>.

CORBEEL, Lucien; FRESON, Kathleen. Rab proteins and Rab-associated proteins: major actors in the mechanism of protein-traffic disorders. **European Journal Of Pediatrics**, [S.L.], v. 167, n. 7, p. 723-729, 8 maio 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00431-008-0740-z>.

CORRADO, Chiara *et al.* Chronic myelogenous leukaemia exosomes modulate bone marrow microenvironment through activation of epidermal growth factor receptor.

Journal Of Cellular And Molecular Medicine, [S.L.], v. 20, n. 10, p. 1829-1839, 14 maio 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jcmm.12873>.

CORRADO, Chiara *et al.* Exosome-mediated crosstalk between chronic myelogenous leukemia cells and human bone marrow stromal cells triggers an Interleukin 8-dependent survival of leukemia cells. **Cancer Letters**, [S.L.], v. 348, n. 1-2, p. 71-76, jun. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2014.03.009>.

COUCH, Yvonne *et al.* A brief history of nearly EV-erything – The rise and rise of extracellular vesicles. **Journal Of Extracellular Vesicles**, [S.L.], v. 10, n. 14, p. 367-371, dez. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jev2.12144>.

DONG, Mei; BLOBE, Gerard C.. Role of transforming growth factor- β in hematologic malignancies. **Blood**, [S.L.], v. 107, n. 12, p. [4589-4596](#), 15 jun. 2006. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2005-10-4169>.

DOYLE, Laura; WANG, Michael. Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. **Cells**, [S.L.], v. 8, n. 7, p. 727-751, 15 jul. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells8070727>.

EMELYANOV, Anton *et al.* Cryo-electron microscopy of extracellular vesicles from cerebrospinal fluid. **Plos One**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 949-960, 30 jan. 2020. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0227949>.

ESTEY, Elihu H. Acute myeloid leukemia: 2019 update on risk-stratification and management. **American Journal Of Hematology**, [S.L.], v. 93, n. 10, p. 1267-1291, out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ajh.25214>.

GOEL, Honey *et al.* In vitro physiochemical characterization of nanocarriers: a road to optimization. In: KESHARWANI, Prashant *et al.* **Nanoparticle Therapeutics: Production Technologies, Types of Nanoparticles, and Regulatory Aspects**. Cambridge: Academic Press, 2021. p. 133-179.

GOMES, Rodrigo Vieira *et al.* Expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in cholangiocarcinomas: predictive factors and survival. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, [S.L.], v. 45, n. 3, p. 1826-1835, 10 jul. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-6991e-20181826>.

GUO, Yan-Jun *et al.* ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis (Review). **Experimental And Therapeutic Medicine**, [S.L.], p. [4567-4573](#), 15 jan. 2020. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/etm.2020.8454>.

GURUNG, Sonam *et al.* The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling. **Cell Communication And Signaling**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 47-66, 23 abr. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12964-021-00730-1>.

HARDING, C; HEUSER, J; STAHL, P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. **Journal Of Cell Biology**,

[S.L.], v. 97, n. 2, p. 329-339, 1 ago. 1983. Rockefeller University Press.
<http://dx.doi.org/10.1083/jcb.97.2.329>.

HARDING, Clifford V. *et al.* Exosomes: looking back three decades and into the future. **Journal Of Cell Biology**, [S.L.], v. 200, n. 4, p. 367-371, 18 fev. 2013. Rockefeller University Press. <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.201212113>.

HONG, Chang-Sook *et al.* Circulating exosomes carrying an immunosuppressive cargo interfere with cellular immunotherapy in acute myeloid leukemia. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. [14684-14694](https://doi.org/10.1038/s41598-017-14661-w), 31 out. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-14661-w>.

HOUSHMAND, Mohammad *et al.* Bone marrow microenvironment: the guardian of leukemia stem cells. **World Journal Of Stem Cells**, [S.L.], v. 11, n. 8, p. 476-490, 26 ago. 2019. Baishideng Publishing Group Inc..
<http://dx.doi.org/10.4252/wjsc.v11.i8.476>.

HWANG, Sang Mee. Classification of acute myeloid leukemia. **Blood Research**, [S.L.], v. 55, n. 1, p. 1-4, 31 jul. 2020. The Korean Society of Hematology.
<http://dx.doi.org/10.5045/br.2020.s001>.

ISHIKAWA, Mizuho *et al.* Correlation of two distinct metastasis-associated proteins, MTA1 and S100A4, in angiogenesis for promoting tumor growth. **Oncogene**, [S.L.], v. 38, n. 24, p. [4715-4728](https://doi.org/10.1038/s41388-019-0748-z), 11 fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41388-019-0748-z>.

JAFARZADEH, Nazli *et al.* Alteration of cellular and immune-related properties of bone marrow mesenchymal stem cells and macrophages by K562 chronic myeloid leukemia cell derived exosomes. **Journal Of Cellular Physiology**, [S.L.], v. 234, n. 4, p. [3697-3710](https://doi.org/10.1002/jcp.27142), 14 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.27142>.

JOHNSTONE, R M *et al.* Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 262, n. 19, p. [9412-9420](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)48095-7), jul. 1987. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)48095-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9258(18)48095-7).

JOSHI, Bhagyashree S. *et al.* Endocytosis of Extracellular Vesicles and Release of Their Cargo from Endosomes. **ACS Nano**, [S.L.], v. 14, n. 4, p. [4444-4455](https://doi.org/10.1021/acsnano.9b10033), 13 abr. 2020. American Chemical Society (ACS).
<http://dx.doi.org/10.1021/acsnano.9b10033>.

JUNG, Min Kyo; MUN, Ji Young. Sample Preparation and Imaging of Exosomes by Transmission Electron Microscopy. **Journal Of Visualized Experiments**, [S.L.], v. 6, n. 131, p. 345-350, 4 jan. 2018. MyJove Corporation.
<http://dx.doi.org/10.3791/56482>.

KAKSONEN, Marko; ROUX, Aurélien. Mechanisms of clathrin-mediated endocytosis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [S.L.], v. 19, n. 5, p. 313-326, 7 fev. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm.2017.132>.

KALLURI, Raghu; LEBLEU, Valerie S.. The biology, function and, biomedical applications of exosomes. **Science**, [S.L.], v. 367, n. 6478, p. 837-877, 7 fev. 2020. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.aau6977>.

KANG, Zhi-Jie *et al.* The Philadelphia chromosome in leukemogenesis. **Chinese Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 35, n. 1, p. 774-799, 27 maio 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40880-016-0108-0>.

KHODABAKHSH, Farnaz *et al.* Crosstalk between MUC1 and VEGF in angiogenesis and metastasis: a review highlighting roles of the muc1 with an emphasis on metastatic and angiogenic signaling. **Cancer Cell International**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. [3456-3467](https://doi.org/10.1186/s12935-021-01899-8), 9 abr. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12935-021-01899-8>.

KHOURY, Joseph D. *et al.* The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. *Leukemia*, [S.L.], v. 36, n. 7, p. 1703-1719, 22 jun. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41375-022-01613-1>.

KOK, Victor C; YU, Cheng-Chia. Cancer-Derived Exosomes: their role in cancer biology and biomarker development. *International Journal Of Nanomedicine*, [S.L.], v. 15, p. 8019-8036, out. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s272378>.

KRYLOVA, Sofia V.; FENG, Daorong. The Machinery of Exosomes: biogenesis, release, and uptake. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 1337-1352, 10 jan. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24021337>.

LIN, Xiao Peng; MINTERN, Justine D.; GLEESON, Paul A.. Macropinocytosis in Different Cell Types: similarities and differences. **Membranes**, [S.L.], v. 10, n. 8, p. 177-198, 3 ago. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/membranes10080177>.

LIU, Jinyi *et al.* The biology, function, and applications of exosomes in cancer. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, [S.L.], v. 11, n. 9, p. [2783-2797](https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.01.001), set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsb.2021.01.001>.

LYU, Tianxin *et al.* Exosomes from BM-MSCs promote acute myeloid leukemia cell proliferation, invasion and chemoresistance via upregulation of S100A4. **Experimental Hematology & Oncology**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. [2445-2458](https://doi.org/10.1186/s40164-021-00220-7), 31 mar. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40164-021-00220-7>.

MATHIEU, Mathilde *et al.* Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. **Nature Cell Biology**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 9-17, jan. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41556-018-0250-9>.

MEDINGER, Michael et al. Diagnostik und Therapie der Akuten Myeloischen Leukämie. **Therapeutische Umschau**, [S.L.], v. 76, n. 9, p. 481-486, dez. 2019. Hogrefe Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.1024/0040-5930/a001126>.

MELDOLESI, Jacopo. Exosomes and Ectosomes in Intercellular Communication. **Current Biology**, [S.L.], v. 28, n. 8, p. 435-444, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2018.01.059>.

MIN, Qing-Hua *et al.* Exosomes derived from imatinib-resistant chronic myeloid leukemia cells mediate a horizontal transfer of drug-resistant trait by delivering miR-365. **Experimental Cell Research**, [S.L.], v. 362, n. 2, p. 386-393, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.12.001>.

MINCIACCHI, Valentina R.; KUMAR, Rahul; KRAUSE, Daniela S. Chronic Myeloid Leukemia: a model disease of the past, present and future. **Cells**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 117-140, 10 jan. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells10010117>.

MITROULIS, Ioannis et al. Modulation of Myelopoiesis Progenitors Is an Integral Component of Trained Immunity. **Cell**, [S.L.], v. 172, n. 1-2, p. 147-161, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.11.034>.

MITROULIS, Ioannis et al. Myelopoiesis in the Context of Innate Immunity. **Journal Of Innate Immunity**, [S.L.], v. 10, n. 5-6, p. 365-372, jun. 2018. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000489406>.

NAMBURI, Swathi *et al.* DPP4+ exosomes in AML patients' plasma suppress proliferation of hematopoietic progenitor cells. **Leukemia**, [S.L.], v. 35, n. 7, p. 1925-1932, 2 nov. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41375-020-01047-7>.

O'BRIEN, Killian *et al.* Uptake, functionality, and re-release of extracellular vesicle-encapsulated cargo. **Cell Reports**, [S.L.], v. 39, n. 2, p. [110651-110665](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110651), abr. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110651>.

OSMAN, Afaf E.G.; DEININGER, Michael W.. Chronic Myeloid Leukemia: modern therapies, current challenges and future directions. **Blood Reviews**, [S.L.], v. 49, p. [100825-100890](https://doi.org/10.1016/j.blre.2021.100825), set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2021.100825>.

PAN, Bin-Tao; JOHNSTONE, Rose M.. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. **Cell**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 967-978, jul. 1983. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(83\)90040-5](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(83)90040-5).

PAROLINI, Isabella *et al.* Microenvironmental pH Is a Key Factor for Exosome Traffic in Tumor Cells. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 284, n. 49, p. [34211-34222](https://doi.org/10.1074/jbc.m109.041152), dez. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m109.041152>.

PATEL, Ami B.; O'HARE, Thomas; DEININGER, Michael W.. Mechanisms of Resistance to ABL Kinase Inhibition in Chronic Myeloid Leukemia and

the Development of Next Generation ABL Kinase Inhibitors. **Hematology/Oncology Clinics Of North America**, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 589-612, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hoc.2017.04.007>.

PENG, Qiao; YANG, Jing-Ya; ZHOU, Gang. Emerging functions and clinical applications of exosomes in human oral diseases. **Cell & Bioscience**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 870-883, 24 maio 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13578-020-00424>.

PIPPA, Raffaella; ODERO, Maria D.. The Role of MYC and PP2A in the Initiation and Progression of Myeloid Leukemias. **Cells**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 544-560, 26 fev. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells9030544>.

PRADA, Ilaria; MELDOLESI, Jacopo. Binding and Fusion of Extracellular Vesicles to the Plasma Membrane of Their Cell Targets. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 1296-1304, 9 ago. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17081296>.

RAIMONDO, Stefania *et al.* Chronic myeloid leukemia-derived exosomes promote tumor growth through an autocrine mechanism. **Cell Communication And Signaling**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 456-468, 3 fev. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12964-015-0086-x>.

RASCIO, Federica *et al.* The Pathogenic Role of PI3K/AKT Pathway in Cancer Onset and Drug Resistance: an updated review. **Cancers**, [S.L.], v. 13, n. 16, p. [3949-3957](#), 5 ago. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers13163949>.

ROTHER, Edna Terezinha. Revisão sistemática X revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 5-6, jun. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103>.

SOVERINI, Simona; BASSAN, Renato; LION, Thomas. Treatment and monitoring of Philadelphia chromosome-positive leukemia patients: recent advances and remaining challenges. **Journal Of Hematology & Oncology**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 2-24, 23 abr. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13045-019-0729-2>.

TAI, Yu-Ling *et al.* Exosomes in cancer development and clinical applications. **Cancer Science**, [S.L.], v. 109, n. 8, p. [2364-2374](#), 13 jul. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/cas.13697>.

THOL, Felicitas; GANSER, Arnold. Treatment of Relapsed Acute Myeloid Leukemia. **Current Treatment Options In Oncology**, [S.L.], v. 21, n. 8, p. 66-76, 29 jun. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11864-020-00765-5>.

TSCHUSCHKE, Max *et al.* Inclusion Biogenesis, Methods of Isolation and Clinical Application of Human Cellular Exosomes. **Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 436-455, 6 fev. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jcm9020436>.

UNITED STATES. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. . **Clinical Trials**.

Disponível em:

<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=Exosome&recrs=abdf&type=Intr>. Acesso em: 27 fev. 2023.

VAKITI, Anusha *et al.* Acute Myeloid Leukemia. Treasure Island: Statpearls, 2022.

VERMA, Sapana *et al.* Serum Tumor Necrosis Factor-Alpha Levels in Acute Leukemia and Its Prognostic Significance. **Cureus**, [S.L.], v. 5, n. 14, p. 775-781, 8 maio 2022. Cureus, Inc.. <http://dx.doi.org/10.7759/cureus.24835>.

WANG, Bin *et al.* Exosomes derived from acute myeloid leukemia cells promote chemoresistance by enhancing glycolysis-mediated vascular remodeling. **Journal Of Cellular Physiology**, [S.L.], v. 234, n. 7, p. [10602-10614](https://doi.org/10.1002/jcp.27735), 11 nov. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.27735>.

WANG, Chen *et al.* Dipeptidylpeptidase 4 promotes survival and stemness of acute myeloid leukemia stem cells. **Cell Reports**, [S.L.], v. 42, n. 2, p. [112105-112134](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112105), fev. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112105>.

WU, Juan *et al.* Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells decrease chemosensitivity of acute myeloid leukemia cells via delivering miR-10a. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [S.L.], v. 622, p. 149-156, set. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.07.017>.

WU, Yong *et al.* Abnormal expression of TGF-beta type II receptor isoforms contributes to acute myeloid leukemia. **Oncotarget**, [S.L.], v. 8, n. 6, p. [10037-10049](https://doi.org/10.18632/oncotarget.14325), 28 dez. 2016. Impact Journals, LLC. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.14325>.

WU, Yueting; DENG, Wentao; II, David J. Klinke. Exosomes: improved methods to characterize their morphology, rna content, and surface protein biomarkers. **The Analyst**, [S.L.], v. 140, n. 19, p. [6631-6642](https://doi.org/10.1039/c5an00688k), out. 2015. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c5an00688k>.

XIE, Shenmin; ZHANG, Qin; JIANG, Li. Current Knowledge on Exosome Biogenesis, Cargo-Sorting Mechanism and Therapeutic Implications. **Membranes**, [S.L.], v. 12, n. 5, p. 498-525, 6 maio 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/membranes12050498>.

YANG, Dongbin *et al.* Progress, opportunity, and perspective on exosome isolation - efforts for efficient exosome-based theranostics. **Theranostics**, [S.L.], v. 10, n. 8, p. [3684-3707](https://doi.org/10.7150/thno.41580), fev. 2020. Ivyspring International Publisher. <http://dx.doi.org/10.7150/thno.41580>.

YAO, Chi-Yuan *et al.* The clinical and biological characterization of acute myeloid leukemia patients with S100A4 overexpression. **Journal Of The Formosan Medical Association**, [S.L.], p. [5775-5787](https://doi.org/10.1016/j.jfma.2022.11.003), nov. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfma.2022.11.003>.

ZHANG, Yuan *et al.* Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential. **Cell & Bioscience**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 647-665, 15 fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13578-019-0282-2>.

ZHOU, Ting; MEDEIROS, L. Jeffrey; HU, Shimin. Chronic Myeloid Leukemia: beyond bcr-abl1. **Current Hematologic Malignancy Reports**. [S.L.], v. 13, n. 6, p. 435-445, 29 out. 2018. Springer Science and Business Media LLC. , 435-445. <http://dx.doi.org/10.1007/s11899-018-0474-6>.