



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Palloma Porto Almeida

Influência das vesículas extracelulares liberadas por células tumorais de mama na modulação fenotípica e funcional de monócitos humanos

Rio de Janeiro
2025

Palloma Porto Almeida

Influência das vesículas extracelulares liberadas por células tumorais de mama na modulação fenotípica e funcional de monócitos humanos

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Mariana Renovato Martins
Coorientadora: Prof.^a Dra. Thereza Christina Barja-Fidalgo

Rio de Janeiro

2025

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CB/A

A447 Almeida, Palloma Porto
Influência das vesículas extracelulares liberadas por células tumorais de mama na modulação fenotípica e funcional de monócitos humanos / Palloma Porto Almeida. – 2025.
107 f.

Orientadora: Mariana Renovato Martins.
Coorientadora: Thereza Christina Barja-Fidalgo.

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-Graduação em Biociências.

1. Vesículas Extracelulares. 2. Células Tumorais Cultivadas. 3. Neoplasias da Mama. 4. Imunofenotipagem. I. Martins, Mariana Renovato. II. Barja-Fidalgo, Thereza Christina. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 618.19-006

Bibliotecário: Hugo da Costa Maia Bernardo - CRB-7/7426

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Palloma Porto Almeida

**Influência das vesículas extracelulares liberadas por células tumorais de mama
na modulação fenotípica e funcional de monócitos humanos**

Tese apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Doutor, ao
Programa de Pós-Graduação em
Biociências, da Universidade do Estado
do Rio de Janeiro.

Aprovada em 30 de julho de 2025.

Coorientadora: Prof.^a Dra. Thereza Christina Barja-Fidalgo
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes – UERJ

Banca Examinadora: _____
Prof.^a Dra. Mariana Renovato Martins (orientadora)
Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dra. Tatiana de Almeida Simão
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes – UERJ

Prof.^a Dra. Mariana Lima Boroni Martins
Instituto Nacional de Câncer

Prof.^a Dra. Juliana Echevarria Neves de Lima
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2025

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as mãos que me ajudaram a construí-lo, e a todos os abraços que me acolheram para que eu pudesse torná-lo realidade.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Professora Dra. Mariana Renovato Martins, pelas contribuições significativas ao meu trabalho e ao meu desenvolvimento tanto pessoal quanto profissional.

Ao Professor Dr. João Alfredo de Moraes, pelo acolhimento em seu laboratório e cujo apoio foi fundamental para a concretização deste trabalho.

A Professora Dra. Christina Barja-Fidalgo, por ter aberto as portas do seu laboratório e me recebido, além das valiosas contribuições ao trabalho.

Aos integrantes do LabioRedOx – UFRJ, meu profundo agradecimento pelo suporte constante, pelas trocas valiosas e pela contribuição ativa no desenvolvimento técnico e científico deste trabalho ao longo dos últimos anos. Em especial, à Aline Gomes, à Carolinne Amorim, e ao Helber Valença.

À Plataforma de Imunoanálise, nas pessoas da Camila Faria e do Rafael Torres, agradeço pela atenção dedicada, pelo suporte cuidadoso nos experimentos de citometria de fluxo, pelas trocas construtivas e pelos valiosos ensinamentos ao longo do processo.

À minha família pelo apoio e pelo acolhimento. Obrigada Jéssica Silva, por ser meu porto seguro, e, juntamente com o Fanon, trazer luz aos meus dias. Obrigada à minha avó, Alzira Almeida, por ser minha inspiração.

À Mãe Lucienne de Xangô e à Mãe Marina de Oxóssi, bem como todos os integrantes do coletivo da Casa de Marabô, ter cruzado o caminho de vocês com certeza fez as encruzilhadas da vida serem mais leves e prazerosas.

À Ana Lídia Santos, Mariana Teixeira, Júlio Batista, Cristóvão de Lanna, Liliane Silva, e Janaína Figueiredo. Vocês contribuíram ativamente para eu sustentasse meu sonho, mesmo alguns de vocês guardando pedacinhos do meu coração a quilômetros de distância.

À Milene Fontes, sem você esse trabalho teria sido muito mais difícil de ser realizado.

Ao Programa de Pós Graduação em Biociências.

À Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aos membros da banca, pelas valiosas contribuições.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de

Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, que o mais importante é o decidir.

Cora Coralina

RESUMO

ALMEIDA, Palloma Porto. **Influência das vesículas extracelulares liberadas por células tumorais de mama na modulação fenotípica e funcional de monócitos humanos**. 2025. 107 f. Tese (Doutorado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2025.

O câncer de mama é o tipo mais comum entre as mulheres. O subtipo triplo negativo, apesar de ser o subtipo menos comum, é conhecido por apresentar alta agressividade, diagnóstico desfavorável e falta de tratamentos específicos. O microambiente tumoral (TME) é de grande importância para o suporte e progressão do câncer. Dentre as células presentes nesse TME, pode-se citar os monócitos, células com alta plasticidade e capacidade de se diferenciarem em macrófagos associados ao tumor (TAMs). Células tumorais possuem a capacidade de secretar vesículas extracelulares (VEs), sendo estas de extrema importância para a comunicação entre monócitos e células tumorais. Neste estudo, objetiva-se caracterizar as alterações fenotípicas e funcionais de monócitos humanos após estímulo com VEs derivadas de células MDA-MB-231, uma linhagem celular do subtipo triplo negativo de câncer de mama. Os resultados demonstraram que a exposição dos monócitos humanos às VEs induziu alterações fenotípicas marcantes. Observou-se uma expansão significativa de monócitos clássicos $CD14^{++}CD16^{-}$, acompanhada pela redução das populações intermediária ($CD14^{+}CD16^{+}$) e não clássica ($CD14^{+-}CD16^{+}$). A expressão de CX3CR1 foi aumentada em todas as subpopulações, de maneira dependente da sinalização via TLR4, uma vez que sua inibição aboliu esse efeito. A estimulação com MDA-VEs também promoveu a migração e invasão dos monócitos e aumento da expressão de MMP-9. Foi possível observar aumento da expressão de CD206 e Arginase-1 e redução da ativação do fator de transcrição NF- κ B, sem alteração na produção de óxido nítrico. Além disso, foi observada uma diminuição na produção de espécies reativas de oxigênio, sugerindo um perfil funcional compatível com programação para ativação M2-like. O tratamento térmico das VEs para inativação das proteínas presentes nestas e posterior estímulo de monócitos com as mesmas reproduziu efeitos similares aos vistos com as VEs intactas, indicando uma participação de componentes lipídicos nos efeitos fenotípicos causados pelas VEs. Nossos dados sugerem que a reprogramação fenotípica de monócitos pelas MDA-VEs ocorre de forma dependente da sinalização via TLR4, e indicam que um forte componente lipídico também está envolvido nesse processo.

Palavras-chave: monócitos; vesículas extracelulares; imunofenotipagem; câncer de mama.

ABSTRACT

ALMEIDA, Palloma Porto. **Influence of Extracellular Vesicles Released by Breast Tumor Cells on the Phenotypic and Functional Modulation of Human Monocytes.** 2025. 107 f. Tese (Doutorado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2025.

Breast cancer is the most common type among women. Although triple-negative breast cancer (TNBC) is the least common subtype, it is known for its high aggressiveness, poor prognosis, and lack of targeted therapies. The tumor microenvironment (TME) plays a crucial role in supporting and promoting cancer progression. Among the cells present in the TME, monocytes stand out due to their high plasticity and ability to differentiate into tumor-associated macrophages (TAMs). Tumor cells can secrete extracellular vesicles (EVs), which are critical mediators of communication between tumor cells and monocytes. This study aimed to characterize the phenotypic and functional alterations in human monocytes after stimulation with EVs derived from MDA-MB-231 cells, a triple-negative breast cancer cell line. The results showed that exposure to EVs induced marked phenotypic changes in monocytes, with significant expansion of classical CD14⁺⁺CD16⁻ cells, and reduction of intermediate (CD14⁺CD16⁺) and non-classical (CD14⁺⁻CD16⁺) subsets. CX3CR1 expression was increased in all subsets in a TLR4-dependent manner, as its inhibition abolished this effect. EVs also promoted monocyte migration and invasion, and increased MMP-9 expression. Upregulation of CD206 and Arginase-1, and reduced activation of the transcription factor NF- κ B, were observed without changes in nitric oxide production. In addition, a decrease in reactive oxygen species (ROS) production was detected, suggesting a functional shift toward M2-like activation. Heat-inactivation of EV proteins reproduced similar effects, indicating a possible role of lipid components in driving these phenotypic changes. Our data suggest that the phenotypic reprogramming of monocytes by MDA-EVs occurs in a TLR4-dependent manner and indicate that a strong lipid component is also involved in this process.

Keywords: monocytes; extracellular vesicles; immunophenotyping; breast cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	<i>Hallmarks</i> do câncer.....	19
Figura 2 –	O microambiente tumoral.....	21
Figura 3 –	Estimativa de casos de câncer para o triênio de 2023-2025 por gênero.....	22
Figura 4 –	Estrutura da mama.....	23
Figura 5 –	Os subtipos moleculares de câncer de mama.....	24
Figura 6 –	Microambiente do câncer de mama.....	26
Figura 7 –	Biogênese de vesículas extracelulares.....	27
Figura 8 –	Ontogenia dos monócitos e macrófagos.....	34
Figura 9 –	Subpopulações de monócitos identificadas por citometria de fluxo.....	35
Figura 10 –	Representação esquemática dos efeitos fenotípicos induzidos pelas vesículas extracelulares derivadas de MDA-MB-231 em monócitos humanos.....	76
Figura 11 –	Modelo proposto do “ <i>priming</i> ” de monócitos por vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....	87

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Caracterização das vesículas extracelulares derivadas da linhagem celular de câncer de mama MDA-MB-231.....	51
Gráfico 2 –	Avaliação do efeito de vesículas extracelulares sobre migração e invasão de monócitos.....	53
Gráfico 3 –	Efeito das vesículas extracelulares sobre a expressão de MMP9	54
Gráfico 4 –	Efeitos das vesículas extracelulares derivadas de MDA-MB-231 sobre a atividade de NF-kB.....	55
Gráfico 5 –	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre o estado redox de monócitos.....	56
Gráfico 6 –	Efeito das vesículas extracelulares sobre o fenótipo de monócitos.....	58
Gráfico 7 –	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de receptores para quimiocinas na subpopulação de monócitos clássicos CD14++CD16-.....	60
Gráfico 8 –	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de receptores para quimiocinas na subpopulação de monócitos intermediários CD14+CD16+.....	61
Gráfico 9 –	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de receptores para quimiocinas na subpopulação de monócitos não-clássicos CD14dimCD16+.....	62
Gráfico 10 –	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de CD80 e CD206 em monócitos.....	63
Gráfico 11 –	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de Arginase-1.....	64
Gráfico 12 –	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de p-PKM2 e PKM2 total.....	65
Gráfico 13 –	Efeito da inibição de TLR4 na modulação fenotípica de monócitos por vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....	66
Gráfico 14 –	Efeito da inibição de TLR4 sobre a expressão de receptores	

	para quimiocinas nos monócitos clássicos estimulados com vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....	68
Gráfico 15 –	Efeito da inibição de TLR4 sobre a expressão de receptores para quimiocinas nos monócitos intermediários estimulados com vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....	69
Gráfico 16 –	Efeito da inibição de TLR4 sobre a expressão de receptores para quimiocinas nos monócitos não-clássicos estimulados com vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....	70
Gráfico 17 –	Efeito da desnaturação térmica das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre o perfil fenotípico de monócitos.....	71
Gráfico 18 –	Efeito da desnaturação térmica das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de receptores de quimiocinas na população clássica.....	72
Gráfico 19 –	Efeito da desnaturação térmica das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de receptores de quimiocinas na população intermediária.....	74
Gráfico 20 –	Efeito da desnaturação térmica das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de receptores de quimiocinas na população não-clássica.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARG1	Arginase-1
CCL2	<i>Chemokine (C-C motif) ligand 2</i>
CCR2	Receptor de quimiocina CC tipo 2
CCR5	Receptor de quimiocina CC tipo 5
CSF1	Colony Stimulating Factor 1
CXCL7	<i>Chemokine (C-X-C motif) ligand 7</i>
CD9	<i>Cluster of differentiation 9</i>
CD14	<i>Cluster of differentiation 14</i>
CD16	<i>Cluster of differentiation 16</i>
CD43	<i>Cluster of differentiation 43</i>
CD63	<i>Cluster of differentiation 63</i>
CD80	<i>Cluster of differentiation 80</i>
CD81	<i>Cluster of differentiation 81</i>
CD163	<i>Cluster of differentiation 163</i>
CD206	<i>Cluster of differentiation 206</i>
circRNA	<i>Circular RNA</i>
cfDNA	<i>Cell free DNA</i>
CX3CR1	Receptor de quimiocina CX3C tipo 1
DCIS	<i>Ductal carcinoma in situ</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ERK	<i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
fMLP	N-formil-metionil-leucil-fenilalanina
GM-CSF	<i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
HLA-DR	<i>Human leukocyte antigen DR</i>
HO-1	Heme oxigenase 1
IL-4	Interleucina 4
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-13	Interleucina 13
lncRNA	<i>Long non-coding RNA</i>

NO	Óxido Nítrico
MLCK	<i>Myosin light chain kinase</i>
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MMP-9	Metaloproteinase 9
mRNA	RNA mensageiro
miRNA	microRNA
MMTV-PyMT	<i>Mammary tumor virus-polyoma middle tumor-antigen</i>
MV	Microvesículas
MVB	Corpos multivesiculares
rRNA	RNA ribossomal
scRNAseq	<i>Single cell RNA sequencing</i>
TAM	Macrófagos associados ao tumor
TME	Microambiente tumoral
VE	Vesículas extracelulares

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
×	Multiplicação
β	Beta
α	Alfa
mL	Mililitro
μL	Microlitro

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	18
1	OBJETIVOS	41
1.1	Geral	41
1.2	Específicos	41
2	MATERIAIS E MÉTODOS	42
2.1	Cultura de células	42
2.2	Obtenção de meio condicionado e de vesículas extracelulares	42
2.3	Caracterização das vesículas extracelulares	42
2.4	Obtenção das células mononucleares	43
2.5	Ensaio de viabilidade	44
2.6	Ensaio de migração celular	44
2.7	Ensaio de invasão celular	45
2.8	Citometria de fluxo	46
2.9	Ativação de NF-kB	46
2.10	Ensaio para avaliação do estado redox	47
2.10.1	<u>Produção de Espécies Reativas de Oxigênio</u>	47
2.10.2	<u>Produção de Óxido Nítrico</u>	47
2.11	Avaliação da participação de TLR4 na resposta induzida pelas MDA-VEs	48
2.12	Western blotting	48
2.12.1	<u>Obtenção de extratos totais</u>	48
2.12.2	<u>Eletroforese</u>	49
2.13	Desnaturação Proteica das MDA-VEs por Tratamento Térmico	49
2.14	Análise estatística	50
3	RESULTADOS	51
3.1	Caracterização das MDA-VEs	51
3.2	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a resposta funcional dos monócitos	52
3.2.1	<u>Efeito das vesículas extracelulares sobre a quimiotaxia e invasão de monócitos</u>	52

3.2.2	<u>Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão e ativação de MMP9 em monócitos.....</u>	53
3.2.3	<u>Efeitos das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a ativação de NF-kB em monócitos.....</u>	54
3.2.4	<u>Efeitos das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre o estado redox de monócitos.....</u>	55
3.3	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre o perfil fenotípico dos monócitos.....	56
3.3.1	<u>Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-232 sobre as diferentes subpopulações de monócitos.....</u>	56
3.3.2	<u>Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-232 sobre a expressão de receptores de quimiocinas na subpopulação clássica.....</u>	58
3.3.3	<u>Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-232 sobre a expressão de receptores de quimiocinas na subpopulação intermediária.....</u>	60
3.3.4	<u>Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-232 sobre a expressão de receptores de quimiocinas na subpopulação não-clássica.....</u>	61
3.4	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de CD80 e CD206 em monócitos.....	62
3.5	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de arginase-1 em monócitos.....	63
3.6	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a ativação de PKM2.....	64
3.7	Efeito da inibição de TLR4 por TAK-242 sobre o fenótipo dos monócitos estimulados com vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....	65
3.7.1	<u>Efeito da inibição de TLR4 na modulação fenotípica de monócitos estimulados com vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....</u>	65
3.7.2	<u>Efeito da inibição de TLR4 na expressão de receptores de quimiocinas em monócitos CD14⁺⁺CD16⁻ estimulados com vesículas</u>	

	<u>extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....</u>	67
3.7.3	<u>Efeito da inibição de TLR4 na expressão de receptores de quimiocinas em monócitos CD14⁺⁺CD16⁺ estimulados com vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....</u>	68
3.7.4	<u>Efeito da inibição de TLR4 na expressão de receptores de quimiocinas em monócitos CD14^{dim}CD16⁺ estimulados com vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....</u>	69
3.8	Efeito das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 após desnaturação térmica sobre o fenótipo dos monócitos...	70
3.8.1	<u>Efeito da desnaturação térmica das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre as diferentes subpopulações de monócitos.....</u>	70
3.8.2	<u>Efeito da desnaturação térmica das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de receptores de quimiocinas na população CD14⁺⁺CD16⁻.....</u>	71
3.8.3	<u>Efeito da desnaturação térmica das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de receptores de quimiocinas na população CD14⁺CD16⁺.....</u>	73
3.8.4	<u>Efeito da desnaturação térmica das vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231 sobre a expressão de receptores de quimiocinas na população CD14^{dim}CD16⁺.....</u>	74
3.9	Resumo gráfico das alterações fenotípicas induzidas pelas vesículas extracelulares derivadas de células MDA-MB-231.....	75
4	DISCUSSÃO	77
	CONCLUSÃO.....	86
	REFERÊNCIAS.....	88
	APENDICE A – Histogramas representativos.....	103
	APÊNDICE B – Dotplots representativos da análise de vesículas extracelulares.....	104
	ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética.....	105
	ANEXO B - Formato final do 1^o artigo aceito.....	107

INTRODUÇÃO

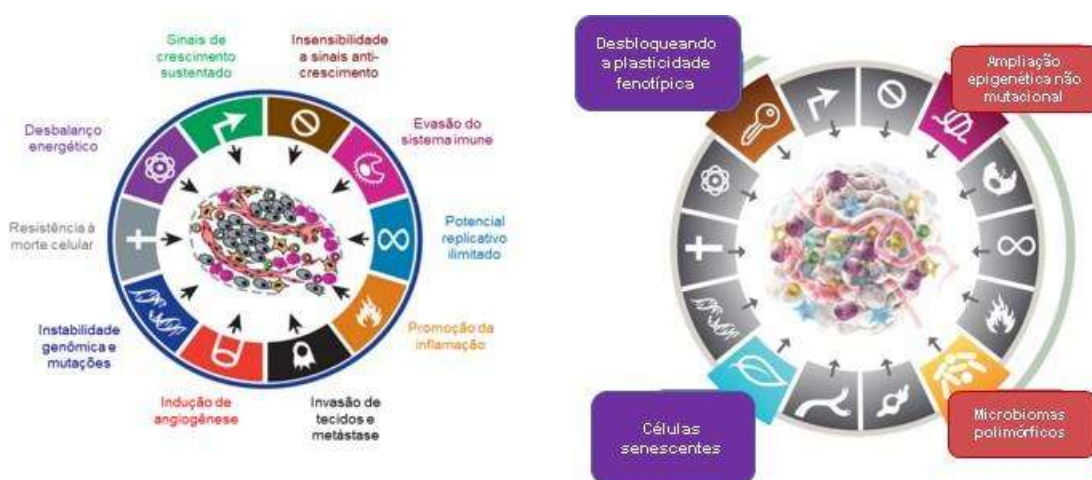
Câncer

O termo "câncer" vem do grego "karkinos" e refere-se a uma ampla variedade de mais de 100 tipos diferentes de doenças malignas que podem afetar diferentes partes do corpo. O câncer é uma patologia conhecida há muito tempo, tendo sido observada em dinossauros, como o Edmontosaurus, há milhões de anos (DAVID; ZIMMERMAN, 2010). Em humanos, já foram encontradas evidências de cânceres em múmias, como o caso de uma jovem com osteossarcoma no antebraço, descoberto no sítio arqueológico de Chiribaya, no Peru (SIDDHARTHA MUKHERJEE, 2012). Com a implementação do sistema de saúde e o desenvolvimento de antibióticos e vacinas, houve aumento da expectativa de vida e, com melhores formas de diagnosticar o câncer, o número de casos da doença cresceu exponencialmente nas últimas décadas (SUNG et al., 2021).

As neoplasias, incluindo as malignas, que correspondem ao câncer, são a terceira maior causa de morte no mundo. Ele é caracterizado pelo crescimento descontrolado das células, que escapam dos sistemas de controle celular internos e externos podendo ou não invadir tecidos adjacentes, alcançando outros locais do corpo. Este processo é conhecido como metástase (FIDLER, 2003; INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2020). Inicialmente, Hanahan e Weinberg (2000) listaram, no que eles chamaram de *hallmarks* do câncer, seis características compartilhadas pela maioria dos cânceres, que definem as capacidades biológicas adquiridas pelo tumor durante seu processo de desenvolvimento e transformação maligna. Estas foram: sustentação da sinalização proliferativa, insensibilidade à sinais anti-crescimento, resistência à morte celular, potencial replicativo ilimitado, indução da angiogênese, e ativação da invasão de tecidos e metástase (HANAHAN; WEINBERG, 2000). Com o avanço da compreensão do câncer, em 2011 esses autores revisitaram os *hallmarks*, concluindo que a complexidade biológica do câncer não pode ser resumida a apenas seis características relacionadas ao seu desenvolvimento. Novas marcas foram identificadas na progressão tumoral, como inflamação, instabilidade genômica e mutações, escape do sistema imunológico e desbalanço energético (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Mais recentemente, Hanahan ampliou e atualizou os dez *hallmarks* do câncer que ele havia descrito originalmente com Robert Weinberg em 2000 e 2011. Em sua publicação de 2022, Hanahan incluiu quatro novos *hallmarks*, sendo eles características capacitadoras como: desbloqueio da plasticidade fenotípica, reprogramação epigenética não mutacional, microbiomas polimórficos (associados ao tumor) e células senescentes (metabolicamente ativas, mas sem capacidade de divisão celular) (HANAHAN, 2022) (Figura 1).

Figura 1 – *Hallmarks* do câncer



Legenda: Os *hallmarks* do câncer são considerados as principais características ou propriedades das células tumorais que permitem o seu crescimento, sobrevivência, invasão e disseminação para outras partes do corpo. Estes *hallmarks* do câncer são inter-relacionados e permitem que as células tumorais evoluam e desenvolvam propriedades malignas, que são fundamentais para o seu crescimento e propagação. Em 2011, Hanahan e Weinberg descreveram os *hallmarks* do câncer (a esquerda), que foram atualizadas por Hanahan em 2022 (a direita).

Fonte: Adaptado de Hanahan e Weinberg (2011) e Hanahan (2022).

O câncer é uma doença genética e epigenética, com participação de dois grandes componentes principais para o seu desenvolvimento, os proto-oncogenes e os genes supressores tumorais (LEE; MULLER, 2010). Mutações somáticas causadas por um carcinógeno ou mutações espontâneas levam à ativação de proto-oncogenes em oncogenes, como *K-ras*, e resultam em uma superativação de vias de sinalização relacionadas à proliferação, desenvolvimento e migração celular (KARNOUB; WEINBERG, 2008; OGISHIMA et al., 2018). Além disso, a inativação de genes supressores de tumor, como *TP53* e *RB1*, codificadoras das proteínas p53 e pRb (ou Rb), respectivamente, impede a inibição de vias de sinalização que resultam em alterações no ciclo celular e podem levar ao desenvolvimento de tumores (TSCHÖP;

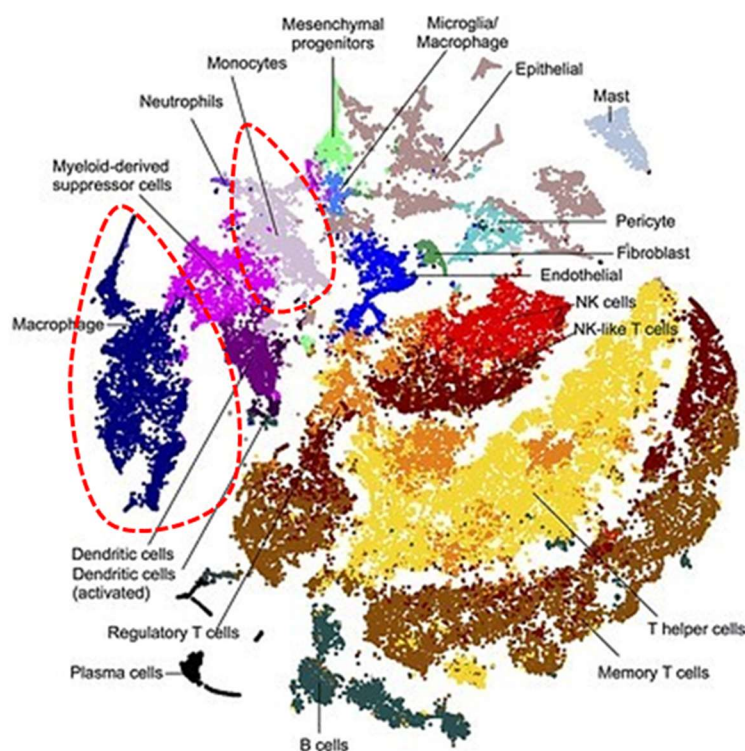
DYSON, 2011; VOGELSTEIN; LANE; LEVINE, 2000). O gene *TP53*, alterado em mais de 50% dos tumores, é essencial na regulação do ciclo celular frente a danos no DNA, atuando nos *checkpoints* que asseguram a integridade genômica e a preparação adequada para a mitose (VOGELSTEIN; LANE; LEVINE, 2000). Além disso, sinalizações inadequadas de receptores de fatores de crescimento ou mutações em genes-chave do ciclo celular, como as quinases dependentes de ciclinas, associadas à perda de genes supressores tumorais, podem levar à carcinogênese (ŁUKASIK; ZAŁUSKI; GUTOWSKA, 2021).

A instabilidade genética é um dos principais *hallmarks* do câncer, pois permite que a célula adquira outras características malignas, como replicação ilimitada, resistência à morte, invasão e evasão imune. Essa instabilidade pode ser induzida por agentes externos, como carcinógenos e radiação, ou internos, como espécies reativas de oxigênio liberadas por células imunes em contextos de inflamação crônica — condição frequentemente sustentada pelo microambiente tumoral (TME) (GIRALDO et al., 2019). Recentes estudos têm revelado a importância do microambiente para o crescimento e a progressão tumoral (WU; DAI, 2017; ARNETH, 2019). A organização e comportamento do TME pode ser influenciado por uma série de fatores, incluindo a presença de células imunes, angiogênese, liberação de fatores de crescimento celular e fatores inflamatórios (FARC; CRISTEA, 2020). Além disso, as interações entre as células tumorais e as células do microambiente podem levar a uma série de adaptações e mudanças no tumor que favorecem a sua progressão e resistência à terapias (NI et al., 2021).

O TME do câncer de mama é um sistema dinâmico que influencia o crescimento do tumor, sua capacidade de se espalhar e a resposta aos tratamentos. As células do sistema imune, fibroblastos, células endoteliais e moléculas sinalizadoras que interagem de forma constante possuem um importante papel na modulação do desenvolvimento tumoral. As células imunes têm um papel central e ambíguo, podendo tanto combater o tumor quanto favorecer sua progressão. Entre elas, destacam-se linfócitos T e B, macrófagos, neutrófilos e células dendríticas. Os macrófagos associados ao tumor, por exemplo, podem assumir um perfil M1, com efeito antitumoral, ou M2, que promove imunossupressão, angiogênese e metástase. De modo semelhante, neutrófilos podem ser classificados como antitumorais (N1) ou protumorais (N2). Os linfócitos infiltrantes de tumor (TILs) também são determinantes: células T CD8⁺ estão associadas a melhores desfechos por sua ação citotóxica,

enquanto Tregs reduzem a resposta imune, favorecendo o tumor. Células B costumam ser vistas como um sinal positivo, já as células dendríticas, essenciais para ativar respostas imunes, têm sua função frequentemente inibida no TME. Além disso, os tumores exploram mecanismos de *checkpoint* imune, como o eixo PD-1/PD-L1, para exaurir linfócitos T e escapar da resposta do organismo (LI; TSANG; TSE, 2021; MOURA et al., 2025). Assim, o equilíbrio e a interação entre esses diferentes tipos celulares no TME são determinantes para a evolução da doença e explicam por que esse ambiente se tornou um alvo estratégico das imunoterapias. (Figura 2).

Figura 2 – O microambiente tumoral



Legenda: O TME compreende uma rede complexa de componentes celulares e não celulares que interagem entre si dando suporte para o desenvolvimento e progressão para o tumor. No TME é possível observar macrófagos, células T regulatórias e de memória, células polimorfonucleares e monócitos, além de células NK e células T semelhantes à NK (NK-like T cells), células B e células T helper. Além de células imunes, é possível observar progenitores mesenquimais, perócitos e células endoteliais. Componentes como matriz extracelular e vesículas extracelulares também estão presentes no TME. Células e componentes não-celulares atuam juntos para formar um TME propício para o desenvolvimento do tumor, influenciando sua proliferação, sobrevivência, invasão, angiogênese e imunossupressão. Na imagem: projeção *t*-SNE do atlas completo de pulmão normal, tumor primário de pulmão e adenocarcinoma metastático de pulmão, colorido por tipo celular. Linhas vermelhas tracejadas destacam a presença de macrófagos e monócitos.

Fonte: Adaptado de Laughney et al., 2020.

Estudos demonstraram que a comunicação das células tumorais e as demais

presentes no TME é um processo mútuo e complexo e pode incluir contato direto entre células, contato das células com a matriz extracelular e comunicação celular mediada por vesículas extracelulares (VEs). Essas VEs carregam informações genéticas do tumor primário para locais distantes, onde podem ser captados por outras células tumorais, células imunes ou células normais. Essa troca que ocorre entre o local primário e sítios distantes pode levar à disseminação do câncer e ao desenvolvimento de resistência a medicamentos, tornando-se uma área crítica de pesquisa na luta contra o câncer (BAGHBAN et al., 2020; BALKWILL; CAPASSO; HAGEMANN, 2012).

Câncer de mama

Abaixo do câncer de pele não-melanoma, o câncer de mama feminino é o segundo câncer de maior incidência em todas as regiões do Brasil. O número de novos casos estimado pelo Instituto Nacional de Câncer para o triênio de 2023-2025 é de 73.610 casos, correspondendo a um risco estimado de 66,54 casos novos a cada 100 mil mulheres (Figura 3).

Figura 3 - Estimativa de casos de câncer para o triênio de 2023-2025 por gênero.

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	71.730	30,0%	Homens	Mulheres	Mama feminina	73.610	30,1%
Cólon e reto	21.970	9,2%			Cólon e reto	23.660	9,7%
Traqueia, brônquio e pulmão	18.020	7,5%			Colo do útero	17.010	7,0%
Estômago	13.340	5,6%			Traqueia, brônquio e pulmão	14.540	6,0%
Cavidade oral	10.900	4,6%			Glândula tireoide	14.160	5,8%
Esôfago	8.200	3,4%			Estômago	8.140	3,3%
Bexiga	7.870	3,3%			Corpo do útero	7.840	3,2%
Laringe	6.570	2,7%			Ovário	7.310	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.420	2,7%			Pâncreas	5.690	2,3%
Fígado	6.390	2,7%			Linfoma não Hodgkin	5.620	2,3%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

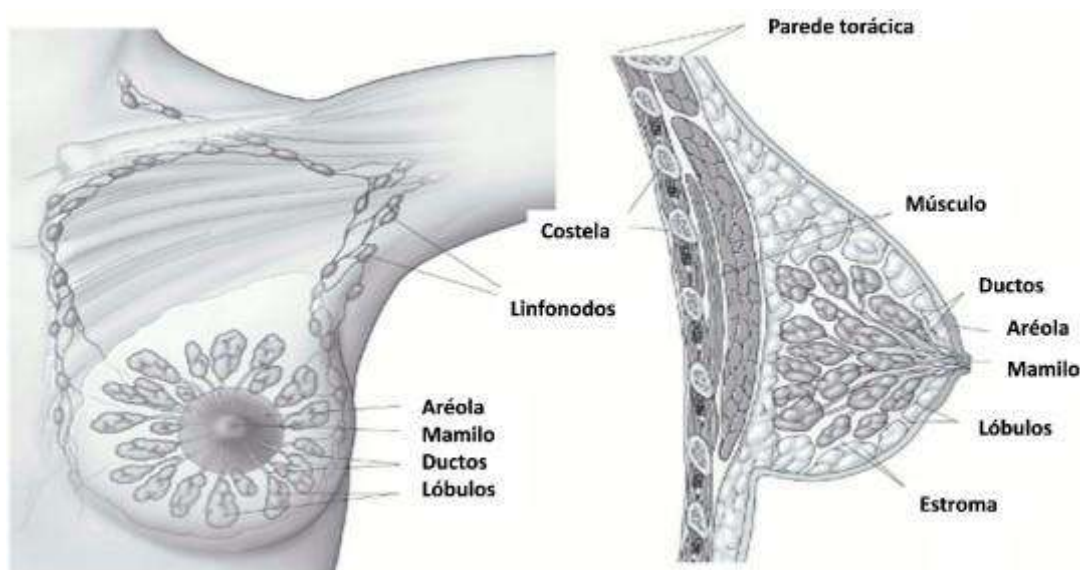
Legenda: Distribuição proporcional dos dez cânceres mais comuns, excluindo o câncer de pele não-melanoma. Destaque em vermelho o câncer de mama feminina, ocupando o primeiro lugar entre as mulheres.

Fonte: Adaptado Instituto Nacional do Câncer, 2023.

O câncer de mama é uma doença heterogênea que pode surgir em qualquer lugar da mama. A mama é composta por lóbulos (responsáveis pela produção de leite) e ductos (responsáveis pelo transporte do leite até o mamilo), e um arcabouço

denominado estroma, composto majoritariamente por células adiposas (Figura 4). O câncer de mama pode surgir nas células epiteliais da mama, denominando-se carcinoma, ou nas células glandulares, denominando-se adenocarcinoma. Os tipos de câncer de mama mais frequentes são o carcinoma ductal *in situ* (DCIS) e o carcinoma lobular *in situ* (LCIS). Além destes, há outros tipos menos comuns de câncer de mama, como carcinoma papilífero, carcinoma medular, carcinoma mucinoso e carcinoma metaplásico, entre outros (FERLAY et al., 2019). Cada tipo de câncer de mama apresenta características diferentes de evolução e tratamento. É importante destacar que o câncer de mama é uma doença que pode afetar homens e mulheres, mas a incidência é significativamente mais alta nas mulheres. A detecção precoce e o tratamento adequado são fundamentais para aumentar as chances de cura e melhorar a qualidade de vida dos pacientes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024).

Figura 4 – Estrutura da mama



Legenda: A mama é composta por glândulas mamárias, tecido adiposo, músculos, vasos sanguíneos, nervos e ductos mamários. As glândulas mamárias são responsáveis por produzir e armazenar o leite materno. Os ductos mamários conduzem o leite das glândulas para o mamilo. O tecido adiposo fornece suporte e proteção para as glândulas mamárias e os músculos, nervos e vasos sanguíneos fornecem suporte e nutrição.

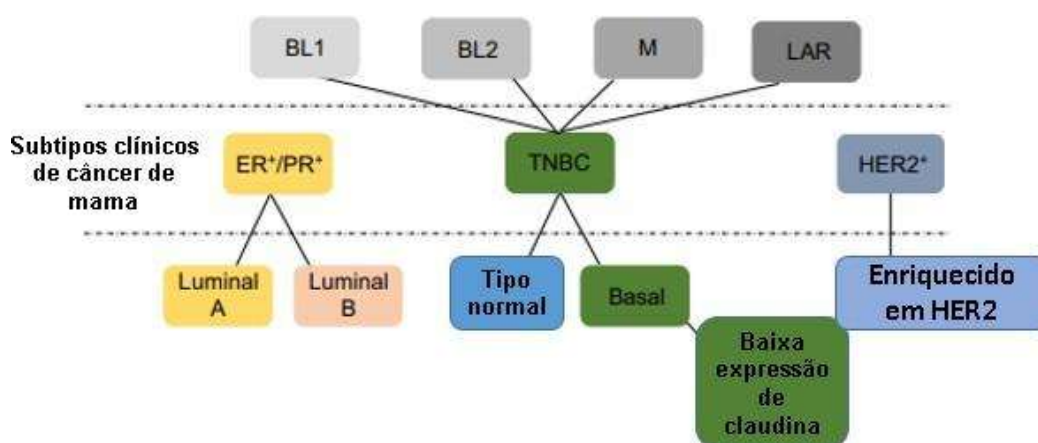
Fonte: Adaptado de AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020.

A heterogeneidade intertumoral (diferenças do tumor entre pacientes) e a heterogeneidade intratumoral (dentro do mesmo tumor) são resultantes de diferenças nas características intrínsecas das células tumorais, incluindo o perfil genético, habilidade de migração e invasão, taxa de proliferação, presença de células-tronco

tumorais e plasticidade celular (LÜÖND; TIEDE; CHRISTOFORI, 2021). Estudos sobre a heterogeneidade intratumoral indicam que subtipos moleculares podem coexistir em um mesmo tumor. Os subtipos moleculares de câncer de mama são bem definidos ao longo da literatura, com base na expressão dos receptores de estrógenos, progesterona e amplificação de HER2, sendo a terapia antiestrogênica um dos primeiros exemplo de medicina de precisão no tratamento de tumores da mama (ABE et al., 1998).

Considerando os subtipos previamente apresentados, o câncer de mama pode ser molecularmente classificado em: luminal A e luminal B, ambos positivos para os receptores de estrógeno e progesterona; e triplo negativo, que engloba subtipos como *basal-like* (BL) 1, BL2, mesenquimal (M) e aqueles com expressão dos receptores luminiais de andrógeno (LAR). Há também o subtipo HER2+, caracterizado pelo enriquecimento em receptores HER2; Por fim, o grupo triplo negativo, que pode ser subdividido nas categorias normal e basal, sendo que este último engloba tumores com base na expressão de claudinas, grupo ao qual as células MDA-MB-231 pertencem. Por fim, (Figura 5) (EUROPEAN COLLECTION OF AUTHENTICATED CELL CULTURES (ECACC), [s.d.]; HOLLIDAY; SPEIRS, 2011; TURNER et al., 2021).

Figura 5 – Os subtipos moleculares de câncer de mama.



Legenda: Basal Like 1 (BL1), Basal Like 2 (BL2), Mesenquimal (M), Receptores Luminiais de Andrógenos (LAR) e Câncer de Mama Triplo Negativo (TNBC). Estes subtipos são classificados com base nas características biológicas e moleculares das células tumorais. Cada subtipo tem suas próprias características únicas e respostas ao tratamento, o que é importante para o planejamento do tratamento e o prognóstico do paciente.

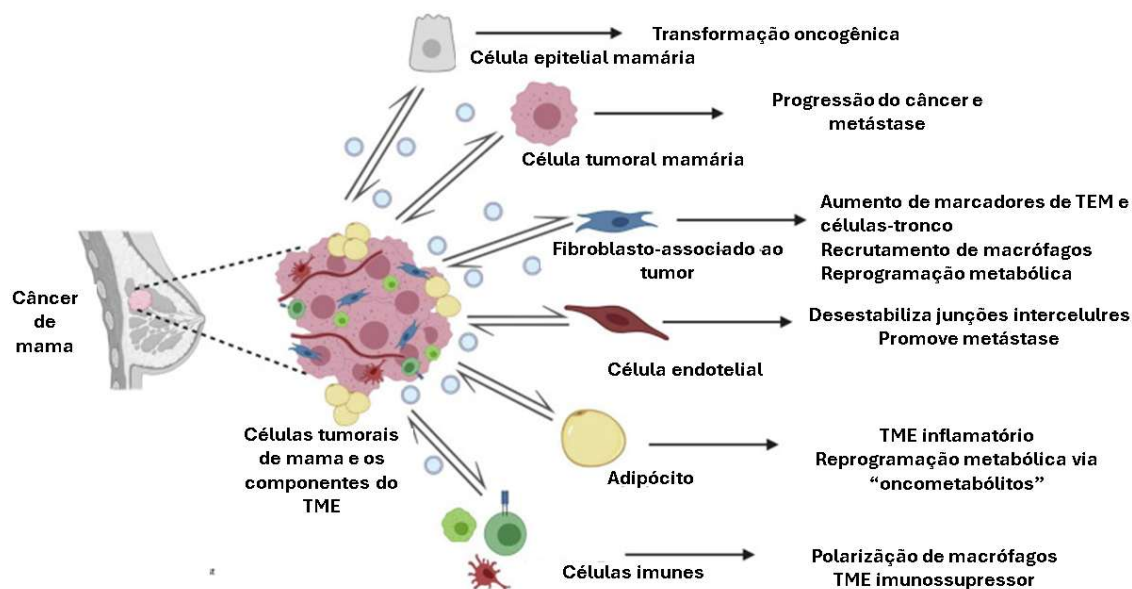
Fonte: Adaptado de TURNER et al., 2021.

Devido à complexidade do câncer de mama, é essencial considerar os

mediadores da comunicação entre as células tumorais e seu TME. Embora as alterações genéticas e epigenéticas desempenhem papel fundamental no desenvolvimento da doença, mudanças físico-espaciais no microambiente também são determinantes nesse processo. O acúmulo desses eventos resulta na proliferação descontrolada das células, na desorganização da membrana basal e na perda da polaridade celular, podendo levar à ruptura da estrutura ductal mamária e à capacidade invasiva aumentada das células tumorais (HARBECK et al., 2019). Estudos indicam que o câncer de mama é uma condição caracterizada por um ecossistema complexo, fortemente influenciado pelas células que compõem seu microambiente (BARCELLOS-HOFF; LYDEN; WANG, 2013; QUAIL; JOYCE, 2013). Nesse contexto, é importante destacar que as células da mama são circundadas por uma matriz extracelular (MEC) e por diversos tipos de células do estroma, incluindo fibroblastos, células endoteliais, células imunológicas e adipócitos, que oferecem suporte para o desenvolvimento tumoral (HARBECK et al., 2019).

A comunicação entre as células tumorais e os componentes do TME é fundamental para a sustentação da progressão tumoral, uma vez que é por meio desse *crosstalk* que células imunes e estromais passam a adotar perfis de ativação pró-tumorais. Nesse contexto, destaca-se que as VEs derivadas de tumores atuam na indução de respostas celulares que sustentam a progressão do câncer. A liberação e captação de VEs associadas ao tumor promovem um TME permissivo, capaz de sustentar o crescimento tumoral, estabelecer nova vascularização, remodelar a matriz extracelular e viabilizar a invasão e migração (HARBECK et al., 2019). Além disso, essas VEs modulam funcionalmente as células presentes no TME, como fibroblastos, células endoteliais e células imunes, em destaque macrófagos, favorecendo a ativação de perfis celulares que contribuem para a progressão do câncer de mama. (Figura 6) (HANNAFON; DING, 2013; RUIVO et al., 2017). Dessa forma, as VEs desempenham papel essencial como mediadoras da comunicação intercelular, modulando respostas e influenciando o comportamento celular em diversos contextos.

Figura 6 – Microambiente do câncer de mama



Legenda: As vesículas extracelulares liberadas por células tumorais mamárias desempenham um papel-chave na comunicação com o microambiente tumoral, composto por diversos tipos celulares, como fibroblastos, adipócitos, células endoteliais e imunes. Ao transferirem moléculas como microRNAs e RNAs não codificadores, essas VEs reprogramam as células do TME, favorecendo a proliferação, a invasão, alterações metabólicas e a imunossupressão, contribuindo para a progressão tumoral.

Fonte: DOGRA; HANNAFON, 2021.

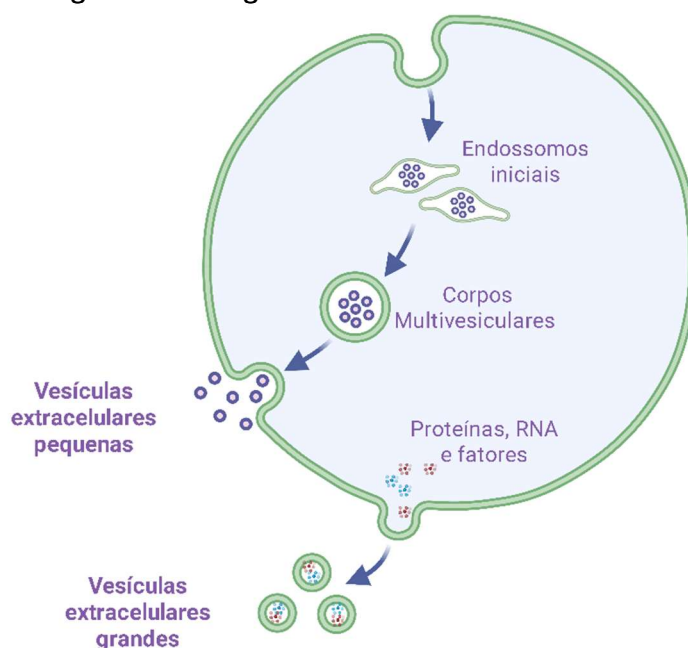
Vesículas extracelulares

Vesículas extracelulares são nanoestruturas delimitadas por uma bicamada lipídica produzidas e secretadas por diferentes tipos celulares. Tais estruturas podem carrear uma grande variedade de biomoléculas derivadas da célula de origem, como miRNA, lncRNA, mRNA, proteínas, lipídeos e fatores de crescimento, os quais podem participar na sinalização celular (VAN NIEL; D'ANGELO; RAPOSO, 2018). Inicialmente, as VEs foram descritas como "sacos de lixo" através dos quais a célula ejetava seus resíduos (PAN; JOHNSTONE, 1983). Entretanto, atualmente, sua importância na comunicação entre células é amplamente reconhecida (GININI et al., 2022).

As VEs são heterogêneas na sua biogênese, tamanho e conteúdo (Figura 7) (COCUCCI; MELDOLESI, 2015). De acordo com a categorização estabelecida pelas diretrizes do MISEV 2023 (Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles), as VEs podem ser classificadas em vesículas grandes (gVEs) e vesículas pequenas (pVEs). As gVEs (>200 nm de diâmetro), em geral isoladas por centrifugação entre

10.000 e 20.000xg, são formadas através do brotamento da membrana plasmática e subsequente fissão (WELSH et al., 2024). São comumente referidas na literatura como microvesículas, ectossomas, micropartículas e exovesículas (THÉRY; OSTROWSKI; SEGURA, 2009). As gVEs são liberadas por todos os tipos celulares, inclusive tumores (AL-NEDAWI et al., 2008). As pVEs (<200 nm de diâmetro), geralmente obtidas em por centrifugação maior ou igual a 100.000xg, são secretadas após a fusão dos compartimentos internos que contêm vesículas intraluminais (ILVs) com a membrana plasmática. São comumente referidas como exossomos, nanopartículas ou vesículas-tipo exossomos; os exossomos compartilham características físicas e bioquímicas com corpos multivesiculares (MVBs), o que os distingue das outras vesículas menores (THÉRY; OSTROWSKI; SEGURA, 2009).

Figura 7 – Biogênese de vesículas extracelulares



Legenda: As VEs são heterogêneas na sua biogênese, tamanho e conteúdo. As vesículas grandes são formadas através do brotamento da membrana plasmática e subsequente fissão, carregando material oriundo do citoplasma da célula de origem, como proteínas, RNAs e fatores celulares. Já as vesículas pequenas, se originam através da formação de endossomos iniciais que se fundem e dão origem a corpos multivesiculares (MVBs). OS MVBs se fundem a membrana plasmática a liberam as vesículas para o meio extracelular.

Fonte: A autora, 2025. Criado com Biorender.com

Vesículas grandes

Essas estruturas são produzidas por meio de um processo em que ocorre protrusão da membrana plasmática, seguida de fissão. Esse processo requer rearranjos dos lipídeos de membrana e é iniciado pelo aumento dos níveis de cálcio

intracelular, ativando a calpaína, protease responsável por separar proteínas de membrana do citoesqueleto (PASQUET; DACHARY-PRIGENT; NURDEN, 1996). Por consequência, há um remodelamento dos filamentos de actina, permitindo a ocorrência de bolhas, sendo a liberação das vesículas através de microdomínios da membrana plasmática conhecidos como *lipids rafts* (DEL CONDE et al., 2005; STÄHL et al., 2019). Adicionalmente, Muralidharan-Chari e colaboradores (2009) demonstraram a importância da proteína ARF6 na liberação de microvesículas, sendo o complexo endossomal regulado por ARF6 de extrema importância na incorporação seletiva da carga molecular a ser transportada nessas estruturas (D'SOUZA-SCHOREY; CHAVRIER, 2006; MURALIDHARAN-CHARI et al., 2009). Os alvos da ARF6 incluem ERK e MLCK, importantes reguladores de polimerização de actina e da atividade de miosina, ambos essenciais para a liberação de microvesículas (MINCIACCHI; FREEMAN; DI VIZIO, 2015; MURALIDHARAN-CHARI et al., 2009).

Apesar das vesículas grandes e pequenas serem estruturalmente similares, eles diferem na composição. A membrana das vesículas maiores é enriquecida com colesterol e diacilglicerol, fosfatidilserina exposta e *lipid rafts*; possuem como conteúdo receptores derivados de membranas, citocinas, quimiocinas, lipídeos e material genético, como DNA e diferentes tipos de RNA (CAMUSSI et al., 2010; STÄHL et al., 2019). Em um estudo conduzido por Dolo e colaboradores (1998) foi possível observar que microvesículas liberadas por células de câncer de mama continham proteases, como MMP-2 e MMP-9, e integrina $\beta 1$, indicando a importância da liberação de VEs na proteólise de matriz extracelular durante a migração celular (DOLO et al., 1998). Em um estudo mais recente, o proteoma dessas estruturas foi investigado, identificando que as principais funções biológicas das gVEs estão relacionadas com a iniciação da tradução, adesão célula-célula, processamento de rRNA e o ciclo do ácido cítrico. Além disso, as gVEs são enriquecidas tanto em proteínas ribossômicas citosólicas (60S e 40S) e mitocondriais (39S e 28S), bem como proteínas envolvidas na citocinese (LISCHNIG et al., 2022).

O conteúdo das gVEs pode ser fonte de informação para o microambiente celular, atuando como sinalizadores de dano celular, inflamação e outros processos importantes para a resposta celular. Além disso, as gVEs também são consideradas importantes na progressão de várias doenças, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas, uma vez que podem conter moléculas que promovem a angiogênese, infiltração de células tumorais, inibição da

resposta imune, entre outros efeitos (LOYER et al., 2014; TRICARICO; CLANCY; D'SOUZA-SCHOREY, 2017).

Vesículas pequenas

Os exossomos/pVEs foram identificados na década de 1980 e inicialmente considerados resíduos resultantes de danos celulares (JOHNSTONE et al., 1987). Mais tarde, observou-se a importância destes para a comunicação intercelular em diferentes processos celulares. São estruturas ricas em proteínas como tetraspaninas CD9, CD63, CD81, proteínas de choque térmico (HSP70, HSP90), e proteínas de formação de MVBs que estão envolvidas na sua liberação como Alix e TSG101. Adicionalmente, possuem RNAs em abundância, como miRNA, lncRNA e circRNAs (ZHANG et al., 2019b).

A caracterização e estudo da formação de exossomos é bastante discutida na literatura. O processo de formação de exossomos inicia-se com a invaginação da membrana plasmática para formar os endossomos, que são compartimentos intracelulares envolvidos na triagem e degradação de moléculas internalizadas do meio extracelular. À medida que os endossomos amadurecem, eles se fundem para formar MVBs, que são intermediários do sistema endossomal. A formação de exossomos requer a atuação de proteínas do Complexo de Triagem Endossomal III Necessário para o Transporte (ESCRT), composto de quatro proteínas que trabalham em conjunto para promover a formação dos MVBs (JAMES H, 2015). O mecanismo do ESCRT é iniciado através do reconhecimento e sequestro de proteínas ubiquitinadas para domínios endossomais específicos. As vesículas dentro dos MVBs são conhecidas como ILVs. Após a clivagem das ILVs, o complexo ESCRT-III se separa da membrana dos MVB, resultando na secreção de exossomos através da fusão destes com a membrana plasmática (ZHANG et al., 2019b).

As pVEs participam de uma variedade de processos biológicos importantes, incluindo imunomodulação, inflamação, angiogênese e progressão tumoral (KURYWCHAK; TAVORMINA; KALLURI, 2018; SONG et al., 2018). Além disso, têm sido estudadas como potenciais biomarcadores em doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e câncer, pois podem conter informações valiosas sobre a função celular (RAPOSO; STOORVOGEL, 2013). As principais funções das pVEs estão relacionadas com a reorganização da matriz extracelular, adesão celular, transporte

endossomal e organização nuclear. São enriquecidas em tetraspaninas, ADAMs e ESCRT, bem como SNAREs e proteínas Rab associadas a endossomos (LISCHNIG et al., 2022).

Vesículas extracelulares associadas ao câncer de mama

As vesículas extracelulares VEs atuam como “cavalos de Troia” no contexto tumoral, onde facilitam o diálogo entre células tumorais de mama e seu microambiente. Um papel-chave das VEs no câncer de mama é a formação de nichos pré-metastáticos em órgãos distantes, criando condições favoráveis para a colonização e crescimento de células cancerígenas (KANG et al., 2025). A composição e a função das VEs variam conforme os subtipos moleculares do câncer de mama, como luminal A, luminal B, basal-like e HER2-enriquecido, cada um com padrões metastáticos distintos. No TNBC, as VEs têm destaque especial, pois podem induzir a diferenciação de macrófagos em fenótipos pró-inflamatórios, além de estimular a proliferação e a resistência a fármacos em células epiteliais mamárias. Estudos mostram que VEs derivadas de TNBC podem apresentar alta expressão de TGF- β 1, favorecendo a adesão a células hepáticas e subsequente metástase. Além disso, assinaturas moleculares específicas têm sido associadas às VEs desse subtipo, como a superexpressão de Lin28B, relacionada à manutenção de características de células-tronco, e baixos níveis de miRNAs da família let-7 em exossomos (QI et al., 2022). Certos miRNAs exossomais também se correlacionam a subtipos distintos, como miR-520 no TNBC e miR-34 em tumores ER+. Essa heterogeneidade de cargas e funções reforça o potencial das VEs como biomarcadores valiosos, capazes de refletir a assinatura de suas células de origem e oferecer subsídios para diagnóstico e tratamentos personalizados (LORIC et al., 2023).

Monócitos

O sistema imunológico dos mamíferos é composto por diversos tipos de células e mediadores que interagem com células não-imunes em redes complexas e dinâmicas, com o objetivo de garantir a proteção contra patógenos e o desenvolvimento de câncer (DE VISSER; EICHTEN; COUSSENS, 2006). Este sistema é constituído por uma rede intrincada de órgãos, células e moléculas que

trabalham em conjunto para manter a homeostase do organismo, combatendo agressões de forma geral. É dividido em imunidade inata e a imunidade adaptativa, de modo que ambas atuam em conjunto. Enquanto a imunidade inata se caracteriza por uma resposta rápida frente a injúrias causadas por patógenos, a imunidade adaptativa é responsável pela produção de anticorpos direcionados a um patógeno específico ou seus produtos (VIVIER; MALISSEN, 2005).

As células mieloides, componentes centrais do sistema imune inato, desempenham múltiplas funções na detecção, resposta e modulação de estímulos imunológicos. Entre essas células, destacam-se os monócitos e os macrófagos, que atuam de forma coordenada na defesa contra patógenos e na manutenção da homeostase tecidual (GABRILOVICH; OSTRAND-ROSENBERG; BRONTE, 2012). Em condições homeostáticas, os monócitos circulam no sangue periférico e migram para os tecidos, onde se diferenciam em macrófagos para a manutenção da população de um percentual dos macrófagos residentes teciduais (GINHOUX; GUILLIAMS, 2016). Na inflamação, os monócitos são atraídos para o sítio inflamatório através da ação de citocinas e quimiocinas, se diferenciando em macrófagos, que são responsáveis por fagocitar patógenos invasores e remodelar o tecido após a inflamação (SERBINA et al., 2008; YONA et al., 2013). Vale ressaltar, que a inflamação é uma característica do câncer, onde o ambiente inflamatório predispõe as células tumorais a uma instabilidade genética, levando à aquisição de características favoráveis ao tumor (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Neste contexto, há um recrutamento de monócitos para o TME, os quais acabam por se diferenciar nos macrófagos associados ao tumor (TAM), gerando um ambiente imunossuprimido que favorece a progressão tumoral e metástase.

Monócitos são células do sistema imune inato com alta plasticidade, pertencentes ao sistema fagocítico mononuclear (VAN FURTH; COHN, 1968). Participam de vários mecanismos como imunotolerância, angiogênese e aumento na disseminação de células tumorais (DING et al., 2016; UGEL et al., 2021). Estima-se que macrófagos derivados de monócitos sejam a maior população de leucócitos infiltrantes no tumor, participando em todos os estágios da progressão tumoral e cuja densidade está relacionada a um pior prognóstico em diferentes tipos de câncer (FAN et al., 2014; FRIDMAN et al., 2017; MEDREK et al., 2012). (DEHNE et al., 2017; NIELSEN; SCHMID, 2017). Isso se deve à capacidade de monócitos e macrófagos desempenharem um papel crítico no estabelecimento de interações entre células

imunes e células tumorais, necessário para a progressão tumoral (QIAN; POLLARD, 2010)

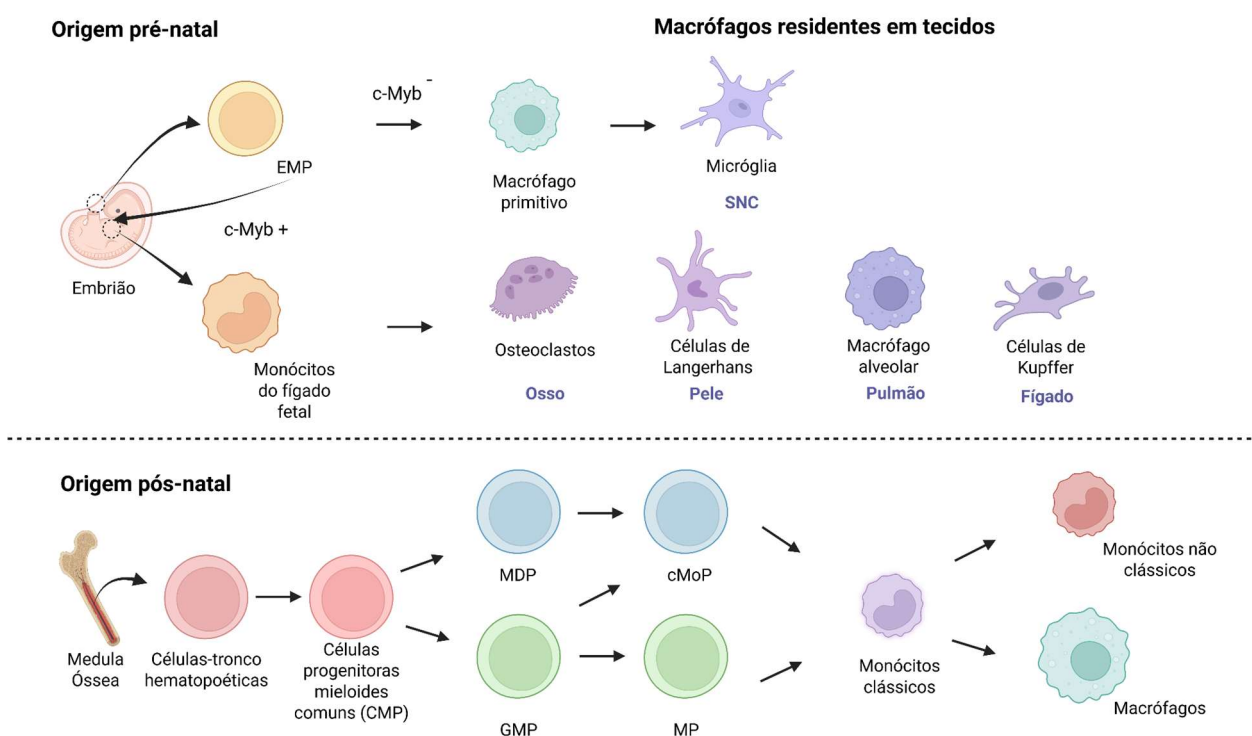
Tradicionalmente, em relação ao contexto tumoral, aos monócitos têm sido atribuído, principalmente, o papel de atuarem como precursores dos TAMs (DOGRA; HANNAFON, 2021). Além disso, evidências emergentes sugerem que os monócitos também desempenham funções distintas e centrais. Zhang e colaboradores (2023) demonstraram que o TME de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço “educam” os monócitos através da regulação positiva da expressão de BEST1 pela via MEK1/2-ERK1/2-ELK1. A expressão desse fator permite a migração dos monócitos “educados” de volta à circulação, carregando alterações funcionais adquiridas durante sua interação com o tumor que favorecem a progressão tumoral (ZHANG et al., 2023). Além disso, já foi descrito que monócitos podem ser reprogramados ainda no sangue periférico por fatores solúveis derivados de câncer colorretal, sem necessidade de migração prévia por quimiotaxia induzida pelas células tumorais. Essa reprogramação induz uma assinatura distinta em monócitos educados que pode ser usada como um biomarcador tumoral (HAMM et al., 2016). Essas evidências ressaltam o papel específico dos monócitos no TME, indicando que a atuação de monócitos e TAMs é um fator-chave para a compreensão da progressão do câncer e seu potencial prognóstico (FRIDMAN et al., 2017; NIELSEN; SCHMID, 2017).

Descobertas recentes acerca da ontogenia de monócitos e macrófagos transformaram a compreensão sobre o desenvolvimento dessas células. Evidências recentes mostram que a maioria dos macrófagos residentes em tecidos (TRMs) origina-se de progenitores eritro-mieloides (EMPs) embrionários, que surgem no saco vitelino. Esses progenitores seguem duas vias principais: uma independente de c-Myb, que gera macrófagos primitivos, e outra dependente de c-Myb, que dá origem a monócitos fetais no fígado. As micróglia derivam dos macrófagos primitivos e permanecem no cérebro, enquanto os monócitos fetais colonizam os demais tecidos, formando a principal população de TRMs na vida adulta. De acordo com Guilliams & Scott (2017), o estabelecimento de TRMs parece se dar de acordo com uma “janela perinatal”. Em um processo tecido-específico, a colonização por precursores de macrófagos varia: em alguns tecidos esse processo acontece antes do nascimento (como o cérebro), em outros apenas no período perinatal (como as artérias), e em acontecem ao longo da vida (como intestino e pele) (GUILLIAMS; SCOTT, 2017;

HOEFFEL; GINHOUX, 2018).

Após o nascimento, os monócitos passam a se originar na medula óssea, a partir de células tronco-hematopoiéticas. Essas células originam as células progenitoras mielóide comuns (CMP), que subsequentemente se diferenciam em progenitores de granulócitos-monócitos (GMPs) e em progenitores de monócitos e células dendríticas (MDPs). Inicialmente, acreditava-se que apenas os MDPs originavam monócitos. Contudo, atualmente já se aceita que tanto os progenitores GMPs quanto os MDPs dão origem aos monócitos, uma vez que os progenitores comuns de monócitos (cMoPs, que representam o primeiro estágio do comprometimento para monócitos) podem se originar de ambos os progenitores (TEH; CHOOI; CHONG, 2023; YÁÑEZ et al., 2017). Em contrapartida, de acordo com Wolf e colaboradores (2019), progenitores comprometidos com a diferenciação em monócitos também pode ser originados exclusivamente de GMPs (conhecidos como MPs) (WOLF et al., 2019). Por fim, tanto os cMoPs quanto os MPs dão origem aos monócitos denominados clássicos, prontos para circularem no sangue periférico, de onde podem se diferenciar em monócitos não clássicos ou serem recrutados para tecidos normais ou sítios inflamatórios, e se diferenciarem em macrófagos (GINHOUX; GUILLIAMS, 2016; WOLF et al., 2019) (Figura 6).

Figura 8 – Ontogenia dos monócitos e macrófagos



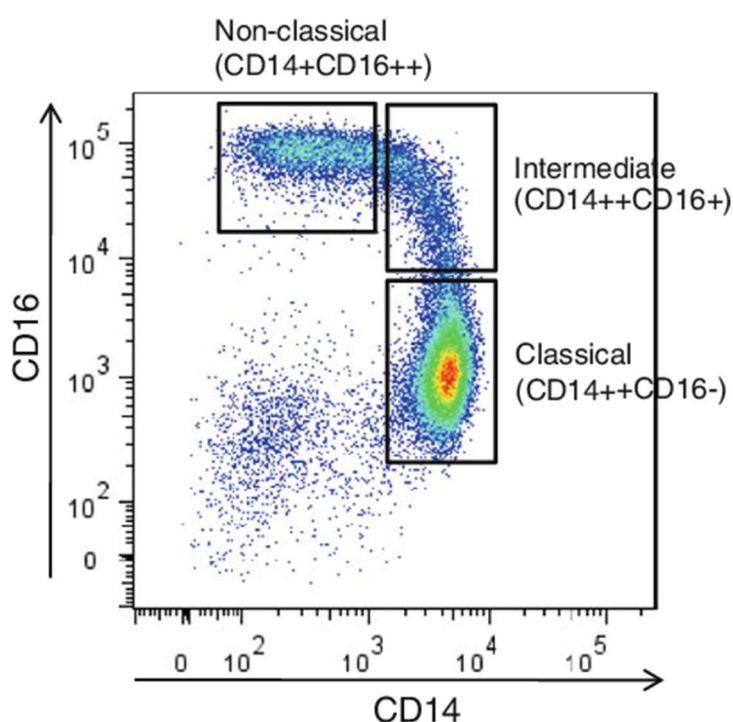
Legenda: Os monócitos podem se originar tanto antes quanto após o nascimento. No período embrionário, eles se desenvolvem no fígado fetal a partir do progenitor eritro-mieloide (EMP) c-Myb⁺ e colonizam tecidos, onde dão origem a macrófagos residentes. Após o nascimento, os monócitos derivam de células-tronco hematopoiéticas da medula óssea, passando por diversas etapas de diferenciação a partir de progenitores intermediários. Já está bem estabelecido que as células progenitoras mieloides comuns (CMPs) originam tanto o progenitor de granulócitos/macrófagos (GMP) quanto o progenitor de macrófagos e células dendríticas (MDP). Os progenitores de monócitos (MPs) derivam exclusivamente dos GMPs, enquanto os progenitores comuns de monócitos (cMoPs) podem se originar de ambos, GMPs e MDPs. Esses dois tipos de progenitores comprometidos (MPs e cMoPs) dão origem aos monócitos clássicos, que entram na circulação sanguínea. A partir daí, os monócitos podem originar monócitos não clássicos ou migrar para os tecidos, onde se diferenciam em macrófagos. Os macrófagos, por sua vez, além de se originarem dos monócitos no período pós-natal, também podem derivar do EMP c-Myb⁻ durante o desenvolvimento embrionário, diferenciando-se em macrófagos primitivos, que dão origem à micróglia. Esses macrófagos também colonizam outros tecidos, mas, ao longo do desenvolvimento, tendem a ser substituídos por macrófagos derivados de monócitos provenientes do fígado fetal. SNC = Sistema Nervoso Central.

Fonte: A autora, 2025. Criado com Biorender.com

Inicialmente os monócitos foram identificados de acordo com a expressão do receptor CD14, sendo nomeados como monócitos convencionais (ZIEGLER-HEITBROCK, 1996). Posteriormente, descobriu-se a expressão de receptor de baixa afinidade para a região Fc de IgG (FCγRIII) CD16, demonstrando a possibilidade de classificar essas células de acordo com as expressões diferenciais destes dois marcadores (PASSLICK; FLIEGER; ZIEGLER-HEITBROCK, 1989). Atualmente, são

descritas três subpopulações de monócitos. A subpopulação clássica $CD14^{++}CD16^{-}$, que expressa altos níveis de CCR2 e tem a capacidade de extravasar para tecidos e dar origem a macrófagos ou células dendríticas. Esse subtipo corresponde a cerca de 80-90% da população de monócitos. A subpopulação intermediária possui a capacidade de produzir grandes quantidades de $TNF-\alpha$ após estimulação com LPS, expressando altos níveis de CCR5 e corresponde a cerca de 5 a 10% da população de monócitos (HIJDRA et al., 2013). A terceira subpopulação, com expressão de CD14 diminuída, é denominada não-clássica $CD14^{dim}CD16^{+}$, expressa CX3CR1 (GEISSMANN; JUNG; LITTMAN, 2003) e tem função de patrulhamento do endotélio vascular e resolução de inflamação (KAPELLOS et al., 2019). Esse subtipo corresponde a cerca de 5- 7% dos subtipos de monócitos (Figura 7).

Figura 9 - Subpopulações de monócitos identificadas por citometria de fluxo



Legenda: As três subpopulações de monócitos descritas são: a subpopulação clássica ($CD14^{++}CD16^{-}$), a subpopulação intermediária ($CD14^{++}CD16^{+}$) e a subpopulação não clássica ($CD14^{dim}CD16^{+}$). Cada subpopulação pode ter funções diferentes e contribuir de forma distinta para o desenvolvimento e progressão do tumor.

Fonte: (WONG et al., 2012)

Em camundongos, os monócitos do sangue periférico podem ser divididos em: clássicos $Ly6C^{++}CD43^{+}$, intermediário, $Ly6C^{++}CD43^{++}$, e monócitos não clássico de patrulhamento $Ly6C^{low/-}CD43^{high/+}$ (ZIEGLER-HEITBROCK et al., 2010). Já foi

demonstrado que no estado estacionário, os monócitos Ly6C^{high/+} dão origem aos monócitos Ly6C^{low/-}, responsáveis por patrulhar o endotélio de pequenos vasos sanguíneos se ligando ao mesmo através do receptor CX3CR1 de maneira LAF-1/ICAM1 dependente (YANG et al., 2014). Em um estudo realizado por Patel e colaboradores (2017), a relação de desenvolvimento das subpopulações de monócitos foi investigada por *fate mapping* (mapeamento de destino, em tradução livre), de monócitos clássicos humanos enxertados em camundongos humanizados. Foi possível observar que os monócitos clássicos se diferenciam em monócitos intermediários após 24 horas e em não clássicos após 96 horas (PATEL et al., 2017). Monócitos murinos clássicos recrutados por CCL2 e têm sido relacionados a um papel promotor de metástase de câncer de mama, enquanto os monócitos não clássicos atuam na prevenção da metástase, sendo recrutados para sítios de metástase pulmonar via receptor CX3CR1, onde desempenham um papel crucial na eliminação do material tumoral, recrutamento e ativação de células NK (HANNA et al., 2015).

Todavia, estudos recentes baseados em abordagens ômicas têm ampliado a compreensão sobre os fenótipos de monócitos no contexto homeostático e tumoral, revelando sua heterogeneidade funcional e seu papel dinâmico na resposta imune e na progressão do câncer. Em um estudo conduzido por Villani e colaboradores (2017), 372 monócitos foram analisados e agrupados em 4 *clusters* distintos. Os dois maiores grupos representavam monócitos clássicos e não clássicos, enquanto os dois restantes representavam monócitos derivados do subtipo intermediário, indicando que essa população pode não ser tão homogênea, revelando potenciais novos subtipos de monócitos (VILLANI et al., 2017). Rapozo e colaboradores (2024), utilizando dados de sequenciamento de RNA de célula única (scRNA-seq) de 10.321 monócitos humanos provenientes de amostras de tumor, sangue periférico, linfonodos e tecido normal, identificaram quatro grupos principais de monócitos: clássico, não clássico, inflamatório e intermediário, refletindo seis perfis transcricionais distintos. Os monócitos não clássicos foram caracterizados pela coexpressão de FCGR3A (CD16a) e FAM110A, enquanto os monócitos clássicos expressavam CD14 e foram subdivididos com base na expressão de FOS em dois subgrupos: CD14⁺FOS⁺ e CD14⁺FOS⁻, sendo este último predominante no sangue periférico. Ambos os subgrupos clássicos apresentaram enriquecimento em vias de sinalização mediadas por receptores tipo Toll (TLRs), embora ainda pouco descritos na literatura. Além disso, dois clusters com características intermediárias também foram identificados

(GUIMARÃES et al., 2024). Um estudo de Wagner e colaboradores (2019), aplicando a técnica scRNAseq em células mielóides, identificou 19 *clusters*, dentre estes: dois grupos de monócitos CD14⁺⁺CD16⁻, dois grupos de monócitos CD14⁺CD16⁺, quatro grupos de macrófagos migrantes, quatro grupos de macrófagos residentes e seis de grupos de TAMs no TME de câncer de mama (WAGNER et al., 2019). Chung e colaboradores (2017) analisaram 175 células imunes associadas ao tumor de 11 pacientes acometidas com câncer de mama (incluindo aquelas afetadas por câncer de mama tipo luminal A, luminal B, HER2 e TNBC) e identificaram três tipos diferentes de células imunes: linfócitos T, linfócitos B e macrófagos, de acordo com seu perfil de expressão gênica, sendo que os macrófagos exibiram características imunossupressoras (CHUNG et al., 2017). Esses achados reforçam a heterogeneidade dos monócitos e destacam a necessidade de estudos adicionais para elucidar os determinantes fenotípicos dessa população celular.

Os monócitos podem ser divididos em uma miríade de perfis macrofágicos, sendo dois perfis os extremos de um espectro de polarização: o M1 classicamente ativado, pró-inflamatório (marcado pela presença marcadores membranares como HLA-DR, CD80/CD86), e o M2 ativado alternativamente, comumente nomeado “anti-inflamatório” (marcado pela presença de marcadores de membrana como o CD206 e CD163) (ZHOU et al., 2020). A presença de citocinas e quimiocinas no TME influencia diretamente a ativação dessas células. Enquanto IL-10 e TGF- β favorecem a ativação para um fenótipo M2 pró-tumoral, IL-12 e IFN- γ estimulam o fenótipo M1, associado ao controle tumoral (IVASHKIV, 2018; ORECCHIONI et al., 2019). Esse diálogo entre tumor e TAMs é crucial para a progressão tumoral, já que macrófagos promovem crescimento, invasão, metástase e resistência terapêutica (DENARDO; RUFFELL, 2019). No entanto, estudos de scRNAseq mostraram que o comportamento dos TAMs não corresponde ao clássico eixo de polarização M1/M2. Garrido-Martin e colaboradores (2020), aplicando técnicas ômicas observaram que as assinaturas M1 e M2 não são mutualmente exclusivas, sendo que alguns pacientes podem apresentar tanto a expressão simultânea de marcadores do tipo M2 quanto de marcadores do tipo M1 (GARRIDO-MARTIN et al., 2020). Além dos marcadores de membrana, a expressão de algumas enzimas por parte dos monócitos/macrófagos também pode estar associada à sua diferenciação e fenótipo. Já foi demonstrado que TAMs expressam altos níveis de arginase-1 (Arg-1), além da expressão de IL-10 e CD206, similar a macrófagos M2 (DENARDO; RUFFELL, 2019). Em um estudo realizado por

Su e colaboradores (2021), foi observado que células mielóides que expressam Arg-1 se acumulam no TME da mama, sendo que o GM-CSF é necessário para induzir a expressão de Arg-1 nestas células (SU et al., 2021). A Arg-1 é uma isoforma da arginase, enzima responsável por catalisar a conversão do aminoácido L-arginina (L-Arg) em ornitina e ureia (WU; MORRIS, 1998). Devido à sua ação, tem importante papel imunomodulador, pois limita a disponibilidade de L-Arg no microambiente. Uma vez que linfócitos T não são capazes de produzir esse aminoácido essencial, a indisponibilidade do mesmo leva as células T a pararem o ciclo celular e perderem a capacidade de proliferar em resposta à estimulação, sofrendo apoptose (DE BONIFACE et al., 2012). Tumores lançam mão desse mecanismo de imunossupressão induzindo um *subset* de monócitos com capacidade de expressar Arg-1 e limitar a resposta de linfócitos T CD8⁺ (GALLINA et al., 2006). Além disso, a L-arginina é um substrato comum tanto a Arg-1 quanto a iNOS. Em macrófagos M1-like essa competição resulta na redução da produção de óxido nítrico (NO), um mediador inflamatório importante na resposta imune. Desse modo, macrófagos M2-like ao utilizarem a L-arginina para a produção de outras componentes, inibem uma resposta pró-inflamatória (RATH et al., 2014).

A alteração do metabolismo dos macrófagos também é um fator importante relacionado à sua ativação imunológica. Macrófagos com perfil M1, geralmente ativados por LPS, apresentam maior dependência da glicólise, enquanto aqueles com características M2 utilizam preferencialmente a fosforilação oxidativa (OXPHOS) como principal fonte de energia (TORRES-CASTRO et al., 2016a; VATS et al., 2006a). A PKM2, um importante regulador nesse processo, é uma enzima chave na regulação metabólica de células imunes e tumorais, podendo existir na forma tetramérica, com alta atividade catalítica, ou dimérica, de baixa atividade catalítica (CAO et al., 2023a). A fosforilação em tirosina 105 (p-PKM2 Tyr105) impede a formação do tetrâmero e favorece a forma dimérica, comum em células tumorais, facilitando o desvio de metabólitos glicolíticos para vias biossintéticas e a adaptação ao efeito Warburg. Além disso, a PKM2 dimérica pode translocar-se para o núcleo e atuar como coativadora de fatores como HIF-1 α e STAT3, regulando genes relacionados à inflamação e sobrevivência celular (ISRAELSEN; VANDER HEIDEN, 2015; PALSSON-MCDERMOTT et al., 2015a; WONG; DE MELO; TANG, 2013). Em macrófagos, essa atividade nuclear da p-PKM2 está associada ao perfil pró-inflamatório M1, enquanto a estabilização da forma tetramérica pode favorecer um fenótipo mais regulador,

semelhante ao M2 (PALSSON-MCDERMOTT et al., 2015a). Uma tabela resumindo os principais marcadores dos perfis monócitos está a seguir:

Tabela 1. Principais marcadores dos perfis de ativação de monócitos

Perfil monocítico	Marcadores
M1-like	HLA-DR, CD80/CD86, pPKM2, NO, iNOS
M2-like	CD206, CD163, Arg-1, PKM2 tetramérica

Fonte: A autora, 2025.

Além das citocinas e quimiocinas presentes no microambiente tumoral, outros sinais derivados dos tecidos também exercem papel determinante na migração, diferenciação e atuação dos monócitos, tanto em condições homeostáticas quanto em contextos fisiopatológicos. De modo geral, é bem estabelecido que o recrutamento de monócitos para o tumor se dá principalmente pelo eixo CCL2–CCR2, cujo receptor é predominantemente expresso na subpopulação de monócitos clássicos (YANG et al., 2020). De fato, a CCL2, também conhecida como proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1), foi relacionada ao recrutamento de monócitos para facilitar a metástase em câncer de mama (QIAN et al., 2011). Além disso, mediante a ativação de receptores-chave da resposta imune, como TLR2 e TLR4, os monócitos são capazes de produzir citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-6 e IL-1 β , que podem atuar no TME (BOYETTE et al., 2017). O lipopolissacarídeo (LPS), o mais bem caracterizado agonista do TLR4, ativa esse receptor e desencadeia vias de sinalização intracelular que têm sido amplamente estudadas (BEUTLER et al., 2003). Já foi demonstrado que a ativação de TLR4 pelo LPS, potencializa a migração de monócitos induzida por CCL2 (LIU et al., 2013). A ligação do LPS ao TLR4 requer a participação de MD2 e CD14, componentes essenciais para o reconhecimento do agonista e a ativação da via de sinalização (NAGAI et al., 2002; WRIGHT et al., 1990). Além disso, o CD14 é fundamental para a internalização endocítica do complexo LPS–TLR4, um passo decisivo para a ativação de vias intracelulares específicas (ZANONI et al., 2011). Orr e colaboradores (2012) reportaram que a deficiência de TLR4 em modelo murino está relacionada com a promoção da ativação alternativa de macrófagos, com aumento significativo da expressão de CD206, no contexto da inflamação do tecido adiposo (ORR et al., 2012), indicando a participação desse receptor no contexto pró-inflamatório.

Devido à natureza lipídica do LPS, alguns estudos foram realizados na tentativa de compreender a responsividade do TLR4 a diferentes componentes lipídicos. Griffin e colaboradores (2018) demonstraram que TLR4 é necessário para a geração de macrófagos ativados derivados da medula óssea em resposta a ácidos graxos saturados (AGS) (GRIFFIN et al., 2018). Lee e colaboradores (2003) sugerem que tanto o CD14 quanto o MD2 são necessários para a ativação do TLR4 pelo ácido láurico, de maneira semelhante ao LPS, sinalizando por meio da via inflamatória mediada pelo complexo CD14–TLR4–MD2 (LEE et al., 2003). Diante do exposto, compreender a possível interação dos componentes lipídicos das membranas biológicas, como as das VEs, com monócitos e macrófagos pode contribuir para elucidar o papel destas na resposta celular. Um estudo de Skotland e colaboradores (2020) destacou o colesterol, a esfingomiéline, a fosfatidilcolina, a fosfatidiletanolamina e a fosfatidilserina principais como os principais componentes lipídicos das VEs liberadas por células tumorais *in vitro* (SKOTLAND et al., 2020). De forma interessante, já foi demonstrado que a ativação do metabolismo do colesterol (incluindo sua captação, síntese e rotas de autofagia/lipofagia) não apenas é fundamental para a resposta imune inata em macrófagos, como também está diretamente relacionada à ativação do TLR4 (HAYAKAWA et al., 2022). Além disso, lipossomos compostos por fosfatidilcolina e colesterol são capazes de induzir um fenótipo M2 em macrófagos peritoneais, caracterizado por uma resposta regulatória. No entanto, esse perfil pode ser revertido para um fenótipo M1 pró-inflamatório mediante estímulo com LPS (CRUZ-LEAL et al., 2014). Adicionalmente, a presença de fosfatidilserina na membrana de VEs pode atuar como um sinal de "eat-me", promovendo o reconhecimento específico por macrófagos, porém sem necessariamente desencadear resposta inflamatória, similar ao processo em células apoptóticas (FADOK et al., 1992).

Considerando a heterogeneidade dos monócitos e seu potencial de diferenciação no TME, a caracterização fenotípica e funcional dos mesmos expostos às VEs tumorais se torna essencial. No contexto do câncer de mama triplo negativo, subtipo agressivo e com opções terapêuticas limitadas, compreender como essas vesículas influenciam o perfil dos monócitos pode revelar novos aspectos da interação entre tumor e sistema imune e abrir possibilidades para desenvolvimento de alvos terapêuticos.

REFERÊNCIAS

- ABE, O. et al. Tamoxifen for early breast cancer: An overview of the randomised trials. **The Lancet**, v. 351, n. 9114, 1998.
- AKIRA, S.; TAKEDA, K. Toll-like receptor signalling. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 7, p. 499–511, 2004.
- AL-NEDAWI, K. et al. Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells. **Nature Cell Biology**, v. 10, n. 5, 2008.
- ALMEIDA, P. P. et al. Extracellular vesicles as modulators of monocyte and macrophage function in tumors. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, n. 2, p. 1–20, 2024.
- ARNETH, B. Tumor Microenvironment. **Medicina**, v. 56, n. 1, p. 15, 30 dez. 2019.
- AZAMBUJA, J. H. et al. Arginase-1+ exosomes from reprogrammed macrophages promote glioblastoma progression. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 11, 2020.
- BAGHBAN, R. et al. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. **Cell Communication and Signaling**, v. 18, n. 1, p. 59, 7 dez. 2020.
- BALKWILL, F. R.; CAPASSO, M.; HAGEMANN, T. The tumor microenvironment at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 125, n. 23, 2012.
- BARCELLOS-HOFF, M. H.; LYDEN, D.; WANG, T. C. The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis. **Nature Reviews Cancer**, v. 13, n. 7, p. 511–518, 13 jul. 2013.
- BEN-MORDECHAI, T. et al. CX3CR1-Expressing Immune Cells Infiltrate the Tumor Microenvironment and Promote Radiation Resistance in a Mouse Model of Lung Cancer. **Cancers**, v. 15, n. 22, nov. 2023.
- BEUTLER, B. et al. How we detect microbes and respond to them: the Toll-like receptors and their transducers. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 74, n. 4, p. 479–485, 1 out. 2003.
- BJØRNETRØ, T. et al. Uptake of circulating extracellular vesicles from rectal cancer patients and differential responses by human monocyte cultures. **FEBS Open Bio**, v. 11, n. 3, 2021.

BOYETTE, L. B. et al. Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets. **PLOS ONE**, v. 12, n. 4, p. e0176460, 1 abr. 2017.

CAMUSSI, G. et al. **Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication** *Kidney International*, 2010.

CAO, J. et al. Effects of glycolysis on the polarization and function of tumor-associated macrophages (Review). **International Journal of Oncology**, v. 62, n. 6, p. 70, 4 maio 2023a.

CAO, J. et al. Effects of glycolysis on the polarization and function of tumor-associated macrophages (Review). **International journal of oncology**, v. 62, n. 6, jun. 2023b.

CASSETTA, L. et al. Human Tumor-Associated Macrophage and Monocyte Transcriptional Landscapes Reveal Cancer-Specific Reprogramming, Biomarkers, and Therapeutic Targets. **Cancer cell**, v. 35, n. 4, p. 588- 602.e10, 15 abr. 2019.

CHANG, C.; WERB, Z. The many faces of metalloproteases: cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis. **Trends in cell biology**, v. 11, n. 11, p. S37-43, nov. 2001.

CHOCKECHANACHAISAKUL, U. et al. Gene expression analysis of resident macrophages in lipopolysaccharide- stimulated rat molar pulps. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 9, p. 1258–1263, 2011.

CHOW, A. et al. Macrophage immunomodulation by breast cancer-derived exosomes requires Toll-like receptor 2-mediated activation of NF- κ B. **Scientific Reports**, v. 4, 2014.

CHUNG, W. et al. Single-cell RNA-seq enables comprehensive tumour and immune cell profiling in primary breast cancer. **Nature Communications**, v. 8, 2017.

COCUCCI, E.; MELDOLESI, J. **Ectosomes and exosomes: Shedding the confusion between extracellular vesicles** *Trends in Cell Biology*, 2015.

COUSSENS, L. M.; FINGLETON, B.; MATRISIAN, L. M. Matrix Metalloproteinase Inhibitors and Cancer—Trials and Tribulations. **Science**, v. 295, n. 5564, p. 2387–2392, 29 mar. 2002.

COVARRUBIAS, A.; BYLES, V.; HORNG, T. ROS sets the stage for macrophage differentiation. **Cell Research**, v. 23, n. 8, 2013.

CRUZ-LEAL, Y. et al. Liposomes of phosphatidylcholine and cholesterol induce an M2-like macrophage phenotype reprogrammable to M1 pattern with the involvement of B-1 cells. **Immunobiology**, v. 219, n. 6, p. 403–415, jun. 2014.

- D'HAESE, J. G. et al. Fractalkine/CX3CR1: why a single chemokine-receptor duo bears a major and unique therapeutic potential. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 14, n. 2, p. 207–219, 8 fev. 2010.
- D'SOUZA-SCHOREY, C.; CHAVRIER, P. ARF proteins: roles in membrane traffic and beyond. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 7, n. 5, p. 347–358, maio 2006.
- DAVID, A. R.; ZIMMERMAN, M. R. Cancer: an old disease, a new disease or something in between? **Nature Reviews Cancer** 2010 10:10, v. 10, n. 10, p. 728–733, 3 set. 2010.
- DE BONIFACE, J. et al. Expression patterns of the immunomodulatory enzyme arginase 1 in blood, lymph nodes and tumor tissue of early-stage breast cancer patients. **OncImmunology**, v. 1, n. 8, 2012.
- DE VISSER, K. E.; EICHTEN, A.; COUSSENS, L. M. **Paradoxical roles of the immune system during cancer development** **Nature Reviews Cancer**, 2006.
- DEHNE, N. et al. Cancer cell and macrophage cross-talk in the tumor microenvironment. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 35, p. 12–19, ago. 2017.
- DEL CONDE, I. et al. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. **Blood**, v. 106, n. 5, 2005.
- DENARDO, D. G.; RUFFELL, B. Macrophages as regulators of tumour immunity and immunotherapy. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, n. 6, p. 369–382, 4 jun. 2019.
- DING, J. et al. CSF1 is involved in breast cancer progression through inducing monocyte differentiation and homing. **International Journal of Oncology**, v. 49, n. 5, p. 2064–2074, 1 nov. 2016.
- DOGRA, S.; HANNAFON, B. N. Breast Cancer Microenvironment Cross Talk through Extracellular Vesicle RNAs. **The American Journal of Pathology**, v. 191, n. 8, p. 1330–1341, ago. 2021.
- DOLO, V. et al. Selective localization of matrix metalloproteinase 9, β 1 integrins, and human lymphocyte antigen class I molecules on membrane vesicles shed by 8701-BC breast carcinoma cells. **Cancer Research**, v. 58, n. 19, 1998.
- ELJASZEWICZ, A. et al. **Collaborating with the enemy: Function of macrophages in the development of neoplastic disease** **Mediators of Inflammation**, 2013.
- EUROPEAN COLLECTION OF AUTHENTICATED CELL CULTURES (ECACC). **Cell line profile MDA-MB-231**. Disponível em:

<<https://www.culturecollections.org.uk/media/133182/mda-mb-231-cell-line-profile.pdf>>.

FADOK, V. A. et al. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 148, n. 7, p. 2207–2216, abr. 1992.

FAN, Q. M. et al. Tumor-associated macrophages promote cancer stem cell-like properties via transforming growth factor-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. **Cancer Letters**, v. 352, n. 2, 2014.

FARC, O.; CRISTEA, V. An overview of the tumor microenvironment, from cells to complex networks (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 21, n. 1, 2020.

FENG, A.-L. et al. CD16+ monocytes in breast cancer patients: expanded by monocyte chemoattractant protein-1 and may be useful for early diagnosis. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 164, n. 1, p. 57–65, 10 mar. 2011.

FERLAY, J. et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. **International Journal of Cancer**, v. 144, n. 8, p. 1941–1953, 15 abr. 2019.

FIDLER, I. J. The pathogenesis of cancer metastasis: the “seed and soil” hypothesis revisited. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 6, p. 453–458, jun. 2003.

FRIDMAN, W. H. et al. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 14, n. 12, p. 717–734, 25 dez. 2017.

GABRILOVICH, D. I.; OSTRAND-ROSENBERG, S.; BRONTE, V. **Coordinated regulation of myeloid cells by tumours** **Nature Reviews Immunology**, 2012.

GALLINA, G. et al. Tumors induce a subset of inflammatory monocytes with immunosuppressive activity on CD8+ T cells. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 10, 2006.

GAN, A. M. et al. Inflammatory effects of resistin on human smooth muscle cells: Up-regulation of fractalkine and its receptor, CX3CR1 expression by TLR4 and Gi-protein pathways. **Cell and Tissue Research**, v. 351, n. 1, p. 161–174, 2013.

GARRIDO-MARTIN, E. M. et al. M1 hot tumor-associated macrophages boost tissue-resident memory T cells infiltration and survival in human lung cancer. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**, v. 8, n. 2, 2020.

GEISSMANN, F.; JUNG, S.; LITTMAN, D. R. Blood Monocytes Consist of Two Principal Subsets with Distinct Migratory Properties. **Immunity**, v. 19, n. 1, p. 71–82,

1 jul. 2003.

GIALELI, C.; THEOCHARIS, A. D.; KARAMANOS, N. K. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. **The FEBS Journal**, v. 278, n. 1, p. 16–27, 19 jan. 2011.

GINHOUX, F.; GUILLIAMS, M. Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis. **Immunity**, v. 44, n. 3, p. 439–449, 15 mar. 2016.

GININI, L. et al. Insight into Extracellular Vesicle-Cell Communication: From Cell Recognition to Intracellular Fate. **Cells**, v. 11, n. 9, abr. 2022.

GIRALDO, N. A. et al. The clinical role of the TME in solid cancer. **British Journal of Cancer**, v. 120, n. 1, p. 45–53, 9 jan. 2019.

GRIESS, B. et al. Scavenging reactive oxygen species selectively inhibits M2 macrophage polarization and their pro-tumorigenic function in part, via Stat3 suppression. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 147, p. 48–60, 2020.

GRIFFIN, C. et al. TLR4, TRIF, and MyD88 are essential for myelopoiesis and CD11c+ adipose tissue macrophage production in obese mice. **Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n. 23, p. 8775–8786, jun. 2018.

GUILLIAMS, M.; SCOTT, C. L. Does niche competition determine the origin of tissue-resident macrophages? **Nature Reviews Immunology**, v. 17, n. 7, p. 451–460, 2 jul. 2017.

GUIMARÃES, G. R. et al. Single-cell resolution characterization of myeloid-derived cell states with implication in cancer outcome. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 5694, 7 jul. 2024.

HAMM, A. et al. Tumour-educated circulating monocytes are powerful candidate biomarkers for diagnosis and disease follow-up of colorectal cancer. **Gut**, v. 65, n. 6, p. 990–1000, jun. 2016.

HANAHAH, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31–46, 1 jan. 2022.

HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. The Hallmarks of Cancer Review. **Cell**, v. 100, p. 57–70, 2000.

HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 4 mar. 2011.

HANNA, R. N. et al. Patrolling monocytes control tumor metastasis to the lung. **Science**, v. 350, n. 6263, p. 985–990, 20 nov. 2015.

HANNAFON, B.; DING, W.-Q. Intercellular Communication by Exosome-Derived

- microRNAs in Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 7, p. 14240–14269, 9 jul. 2013.
- HARBECK, N. et al. Breast cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 5, n. 1, p. 66, 23 set. 2019.
- HAYAKAWA, S. et al. Activated cholesterol metabolism is integral for innate macrophage responses by amplifying Myd88 signaling. **JCI Insight**, v. 7, n. 22, 22 nov. 2022.
- HAYDEN, M. S.; GHOSH, S. Regulation of NF- κ B by TNF family cytokines. **Seminars in immunology**, v. 26, n. 3, p. 253–266, jun. 2014.
- HEO, W. et al. Triple-Negative Breast Cancer-Derived Extracellular Vesicles Promote a Hepatic Premetastatic Niche via a Cascade of Microenvironment Remodeling. **Molecular Cancer Research**, v. 21, n. 7, p. 726–740, 2023.
- HIJDRA, D. et al. Phenotypic Characterization of Human Intermediate Monocytes. **Frontiers in Immunology**, v. 4, 2013.
- HITOSUGI, T. et al. Tyrosine phosphorylation inhibits PKM2 to promote the Warburg effect and tumor growth. **Science signaling**, v. 2, n. 97, p. ra73, nov. 2009.
- HOEFFEL, G.; GINHOUX, F. Fetal monocytes and the origins of tissue-resident macrophages. **Cellular Immunology**, v. 330, p. 5–15, ago. 2018.
- HOLLIDAY, D. L.; SPEIRS, V. Choosing the right cell line for breast cancer research. **Breast Cancer Research**, v. 13, n. 4, p. 215, 12 ago. 2011.
- HUANG, R. et al. Dual Role of Reactive Oxygen Species and their Application in Cancer Therapy. **Journal of Cancer**, v. 12, n. 18, p. 5543–5561, 2021.
- INSALL, R. H. Understanding eukaryotic chemotaxis: a pseudopod-centred view. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 11, n. 6, p. 453–458, 2010.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **O que é câncer**. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>>.
- ISHIDA, Y. et al. Pivotal Involvement of the CX3CL1-CX3CR1 Axis for the Recruitment of M2 Tumor-Associated Macrophages in Skin Carcinogenesis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 140, n. 10, p. 1951- 1961.e6, 2020.
- ISRAELSEN, W. J.; VANDER HEIDEN, M. G. Pyruvate kinase: Function, regulation and role in cancer. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 43, p. 43–51, jul. 2015.
- IVASHKIV, L. B. IFN γ : signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy. **Nature Reviews Immunology**, v. 18, n. 9, p.

545–558, 19 set. 2018.

JAMES H, H. ESCRTs are everywhere. **Embo J**, v. 34, n. 19, 2015.

JOHNSTONE, R. M. et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation.

Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes).

Journal of Biological Chemistry, v. 262, n. 19, 1987.

KANG, Y. et al. Extracellular vesicles: the “Trojan Horse” within breast cancer host microenvironments. **Molecular Cancer**, v. 24, n. 1, 2025.

KAPELLOS, T. S. et al. Human Monocyte Subsets and Phenotypes in Major Chronic Inflammatory Diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. AUG, p. 2035, 30 ago. 2019.

KARNOUB, A. E.; WEINBERG, R. A. Ras oncogenes: split personalities. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 9, n. 7, p. 517, jul. 2008.

KESSENBROCK, K.; PLAKS, V.; WERB, Z. Matrix Metalloproteinases: Regulators of the Tumor Microenvironment. **Cell**, v. 141, n. 1, p. 52–67, abr. 2010.

KHAN, A. Q. et al. Reactive oxygen species (ROS) in cancer pathogenesis and therapy: An update on the role of ROS in anticancer action of benzophenanthridine alkaloids. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 143, p. 112142, nov. 2021.

KISS, M. et al. **Systemic Reprogramming of Monocytes in Cancer** **Frontiers in Oncology**, 2020.

KITANO, Y. et al. Tumour-infiltrating inflammatory and immune cells in patients with extrahepatic cholangiocarcinoma. **British Journal of Cancer**, v. 118, n. 2, 2018.

KURYWCHAK, P.; TAVORMINA, J.; KALLURI, R. The emerging roles of exosomes in the modulation of immune responses in cancer. **Genome Medicine**, v. 10, n. 1, p. 23, 26 dez. 2018.

LAPUC, I. et al. Circulating classical CD14⁺⁺CD16⁻ monocytes predict shorter time to initial treatment in chronic lymphocytic leukemia patients: Differential effects of immune chemotherapy on monocyte-related membrane and soluble forms of CD163. **Oncology Reports**, v. 34, n. 3, 2015.

LAUGHNEY, A. M. et al. Regenerative lineages and immune-mediated pruning in lung cancer metastasis. **Nature medicine**, v. 26, n. 2, p. 259–269, fev. 2020.

LEE, E. Y. H. P.; MULLER, W. J. Oncogenes and Tumor Suppressor Genes. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 10, 2010.

LEE, J. Y. et al. Reciprocal Modulation of Toll-like Receptor-4 Signaling Pathways

- Involving MyD88 and Phosphatidylinositol 3-Kinase/AKT by Saturated and Polyunsaturated Fatty Acids. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 39, p. 37041–37051, set. 2003.
- LI, J. J.; TSANG, J. Y.; TSE, G. M. Tumor microenvironment in breast cancer—Updates on therapeutic implications and pathologic assessment. **Cancers**, v. 13, n. 16, 2021.
- LIN, G. et al. PPAR- γ /NF- κ B/AQP3 axis in M2 macrophage orchestrates lung adenocarcinoma progression by upregulating IL-6. **Cell Death & Disease**, v. 15, n. 7, p. 532, 2024.
- LIN, X. et al. Oxidative stress in malignant melanoma enhances tumor necrosis factor- α secretion of tumor-associated macrophages that promote cancer cell invasion. **Antioxidants & redox signaling**, v. 19, n. 12, p. 1337–1355, out. 2013.
- LISCHNIG, A. et al. Quantitative Proteomics Identifies Proteins Enriched in Large and Small Extracellular Vesicles. **Molecular and Cellular Proteomics**, v. 21, n. 9, 2022.
- LIU, J. et al. New insights into M1/M2 macrophages: key modulators in cancer progression. **Cancer Cell International**, v. 21, n. 1, p. 389, 21 dez. 2021.
- LIU, T. et al. NF- κ B signaling in inflammation. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 2, n. 1, p. 17023, 2017.
- LIU, Z. et al. TLR4 Signaling Augments Monocyte Chemotaxis by Regulating G Protein–Coupled Receptor Kinase 2 Translocation. **The Journal of Immunology**, v. 191, n. 2, p. 857–864, 15 jul. 2013.
- LORIC, S. et al. Extracellular Vesicles in Breast Cancer: From Biology and Function to Clinical Diagnosis and Therapeutic Management. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 8, 2023.
- LOYER, X. et al. Microvesicles as Cell–Cell Messengers in Cardiovascular Diseases. **Circulation Research**, v. 114, n. 2, p. 345–353, 17 jan. 2014.
- LU, Y.-C.; YEH, W.-C.; OHASHI, P. S. LPS/TLR4 signal transduction pathway. **Cytokine**, v. 42, n. 2, p. 145–151, maio 2008.
- ŁUKASIK, P.; ZAŁUSKI, M.; GUTOWSKA, I. Cyclin-Dependent Kinases (CDK) and Their Role in Diseases Development—Review. **International Journal of Molecular Sciences 2021, Vol. 22, Page 2935**, v. 22, n. 6, p. 2935, 13 mar. 2021.
- LÜÖND, F.; TIEDE, S.; CHRISTOFORI, G. Breast cancer as an example of tumour heterogeneity and tumour cell plasticity during malignant progression. **British Journal of Cancer**, v. 125, n. 2, p. 164–175, 20 jul. 2021.

- MANTOVANI, A. et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. **Trends in Immunology**, v. 25, n. 12, p. 677–686, 1 dez. 2004.
- MARCOUX, G. et al. Revealing the diversity of extracellular vesicles using high-dimensional flow cytometry analyses. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 35928, 2016.
- MEDREK, C. et al. The presence of tumor associated macrophages in tumor stroma as a prognostic marker for breast cancer patients. **BMC cancer**, v. 12, 23 jul. 2012.
- MENJIVAR, R. E. et al. Arginase 1 is a key driver of immune suppression in pancreatic cancer. **eLife**, v. 12, 2 fev. 2023.
- MINCIACCHI, V. R.; FREEMAN, M. R.; DI VIZIO, D. Extracellular Vesicles in Cancer: Exosomes, Microvesicles and the Emerging Role of Large Oncosomes. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 40, p. 41–51, abr. 2015.
- MITCHELL, J. P.; CARMODY, R. J. Chapter Two - NF- κ B and the Transcriptional Control of Inflammation. In: LOOS, F. B. T.-I. R. OF C. AND M. B. (Ed.). . **Transcriptional Gene Regulation in Health and Disease**. [s.l.] Academic Press, 2018. v. 335p. 41–84.
- MOMEN-HERAVI, F.; BALA, S. Extracellular vesicles in oral squamous carcinoma carry oncogenic miRNA profile and reprogramme monocytes via NF- κ B pathway. **Oncotarget**, v. 9, n. 78, 2018.
- MORRIS, S. M. J. Arginine Metabolism Revisited. **The Journal of nutrition**, v. 146, n. 12, p. 2579S-2586S, dez. 2016.
- MOURA, T. et al. Breast Cancer and Tumor Microenvironment: The Crucial Role of Immune Cells. **Current Oncology**, v. 32, n. 3, 2025.
- MURALIDHARAN-CHARI, V. et al. ARF6-Regulated Shedding of Tumor Cell-Derived Plasma Membrane Microvesicles. **Current Biology**, v. 19, n. 22, 2009.
- NAGAI, Y. et al. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. **Nature Immunology**, v. 3, n. 7, p. 667–672, 10 jul. 2002.
- NI, Y. et al. The Role of Tumor-Stroma Interactions in Drug Resistance Within Tumor Microenvironment. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, 20 maio 2021.
- NIELSEN, S. R.; SCHMID, M. C. Macrophages as Key Drivers of Cancer Progression and Metastasis. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, p. 1–11, 2017.
- OGISHIMA, J. et al. The oncogene KRAS promotes cancer cell dissemination by stabilizing spheroid formation via the MEK pathway. **BMC Cancer**, v. 18, n. 1, p. 1–

13, 3 dez. 2018.

OHTAKI, Y. et al. Stromal Macrophage Expressing CD204 is Associated with Tumor Aggressiveness in Lung Adenocarcinoma. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 5, n. 10, p. 1507–1515, out. 2010.

OLINGY, C. E. et al. Non-classical monocytes are biased progenitors of wound healing macrophages during soft tissue injury. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

ORECCHIONI, M. et al. Macrophage Polarization: Different Gene Signatures in M1(LPS+) vs. Classically and M2(LPS-) vs. Alternatively Activated Macrophages. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. MAY, 24 maio 2019.

ORR, J. S. et al. Toll-like Receptor 4 Deficiency Promotes the Alternative Activation of Adipose Tissue Macrophages. **Diabetes**, v. 61, n. 11, p. 2718–2727, 1 nov. 2012.

PALSSON-MCDERMOTT, E. M. et al. Pyruvate Kinase M2 Regulates Hif-1 α Activity and IL-1 β Induction and Is a Critical Determinant of the Warburg Effect in LPS-Activated Macrophages. **Cell Metabolism**, v. 21, n. 1, p. 65–80, jan. 2015a.

PALSSON-MCDERMOTT, E. M. et al. Pyruvate kinase M2 regulates Hif-1 α activity and IL-1 β induction and is a critical determinant of the warburg effect in LPS-activated macrophages. **Cell metabolism**, v. 21, n. 1, p. 65–80, jan. 2015b.

PAN, B. T.; JOHNSTONE, R. M. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: Selective externalization of the receptor. **Cell**, v. 33, n. 3, 1983.

PARKER, L. C. et al. Toll-Like Receptor (TLR)2 and TLR4 Agonists Regulate CCR Expression in Human Monocytic Cells. **The Journal of Immunology**, v. 172, n. 8, p. 4977–4986, 2004.

PASQUET, J. M.; DACHARY-PRIGENT, J.; NURDEN, A. T. Calcium influx is a determining factor of calpain activation and microparticle formation in platelets. **European Journal of Biochemistry**, v. 239, n. 3, 1996.

PASSLICK, B.; FLIEGER, D.; ZIEGLER-HEITBROCK, H. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. **Blood**, v. 74, n. 7, p. 2527–2534, 15 nov. 1989.

PATEL, A. A. et al. The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation. **Journal of Experimental Medicine**, v. 214, n. 7, 2017.

PATYSHEVA, M. et al. Effect of Early-Stage Human Breast Carcinoma on Monocyte Programming. **Frontiers in Oncology**, v. 11, 2022.

PE, K. C. S. et al. Triple-negative breast cancer influences a mixed M1/M2

macrophage phenotype associated with tumor aggressiveness. **PLoS ONE**, v. 17, n. 8 August, 2022.

PLEBANEK, M. P. et al. Pre-metastatic cancer exosomes induce immune surveillance by patrolling monocytes at the metastatic niche. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, 2017.

PRAT, M. et al. Circulating CD14 high CD16 low intermediate blood monocytes as a biomarker of ascites immune status and ovarian cancer progression. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**, v. 8, n. 1, 2020.

QI, M. et al. Lin28B-high breast cancer cells promote immune suppression in the lung pre-metastatic niche via exosomes and support cancer progression. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, 2022.

QIAN, B.-Z.; POLLARD, J. W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. **Cell**, v. 141, n. 1, p. 39–51, abr. 2010.

QIAN, B. Z. et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis. **Nature 2011 475:7355**, v. 475, n. 7355, p. 222–225, 8 jun. 2011.

QUAIL, D. F.; JOYCE, J. A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. **Nature Medicine**, v. 19, n. 11, p. 1423–1437, 7 nov. 2013.

RABE, D. C. et al. Tumor extracellular vesicles are required for tumor-associated macrophage programming. **bioRxiv**, p. 375022, 1 jan. 2018.

RAHMAN, K. et al. Inflammatory Ly6Chi monocytes and their conversion to M2 macrophages drive atherosclerosis regression. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 8, 2017.

RAPOSO, G.; STOORVOGEL, W. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. **Journal of Cell Biology**, v. 200, n. 4, p. 373–383, 18 fev. 2013.

RATH, M. et al. Metabolism via Arginase or Nitric Oxide Synthase: Two Competing Arginine Pathways in Macrophages. **Frontiers in immunology**, v. 5, p. 532, 2014.

ROSS, R. J. et al. Immunological protein expression profile in Ccl2/Cx3cr1 deficient mice with lesions similar to age-related macular degeneration. **Experimental Eye Research**, v. 86, n. 4, p. 675–683, 2008.

RUIVO, C. F. et al. The Biology of Cancer Exosomes: Insights and New Perspectives. **Cancer Research**, v. 77, n. 23, p. 6480–6488, 1 dez. 2017.

SATO, S. et al. Essential function for the kinase TAK1 in innate and adaptive immune responses. **Nature Immunology**, v. 6, n. 11, p. 1087–1095, 25 nov. 2005.

SEKTON, B. Matrix metalloproteinases - an overview. **Research and Reports in**

Biology, p. 1, set. 2010.

SERBINA, N. V. et al. **Monocyte-mediated defense against microbial pathogens***Annual Review of Immunology*, 2008.

SIDDHARTHA MUKHERJEE. O imperador de todos os male. p. 648, 2012.

SKOTLAND, T. et al. An emerging focus on lipids in extracellular vesicles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 159, p. 308–321, 2020.

SONG, W. et al. Tumor-derived extracellular vesicles in angiogenesis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 102, p. 1203–1208, jun. 2018.

SOYSAL, S. D.; TZANKOV, A.; MUENST, S. E. **Role of the Tumor Microenvironment in Breast Cancer***Pathobiology*, 2015.

STÅHL, A. et al. Exosomes and microvesicles in normal physiology, pathophysiology, and renal diseases. **Pediatric Nephrology**, v. 34, n. 1, p. 11–30, 27 jan. 2019.

SU, X. et al. Breast cancer-derived GM-CSF regulates arginase 1 in myeloid cells to promote an immunosuppressive microenvironment. **Journal of Clinical Investigation**, v. 131, n. 20, 2021.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 1 maio 2021.

SUZUKI, H. et al. Glycolytic pathway affects differentiation of human monocytes to regulatory macrophages. **Immunology letters**, v. 176, p. 18–27, ago. 2016.

SZAFLARSKA, A. et al. Antitumor response of CD14 +/CD16 + monocyte subpopulation. **Experimental Hematology**, v. 32, n. 8, 2004.

TEH, Y. C.; CHOOI, M. Y.; CHONG, S. Z. Behind the monocyte's mystique: uncovering their developmental trajectories and fates. **Discovery Immunology**, v. 2, n. 1, 1 jan. 2023.

THÉRY, C.; OSTROWSKI, M.; SEGURA, E. **Membrane vesicles as conveyors of immune responses***Nature Reviews Immunology*, 2009.

TKACH, M. et al. Extracellular vesicles from triple negative breast cancer promote pro-inflammatory macrophages associated with better clinical outcome. **PNAS**, v. 119(17), n. e2107394119, 2022.

TORRES-CASTRO, I. et al. Human monocytes and macrophages undergo M1-type inflammatory polarization in response to high levels of glucose. **Immunology Letters**, v. 176, p. 81–89, ago. 2016a.

TORRES-CASTRO, I. et al. Human monocytes and macrophages undergo M1-type

- inflammatory polarization in response to high levels of glucose. **Immunology letters**, v. 176, p. 81–89, ago. 2016b.
- TRICARICO, C.; CLANCY, J.; D'SOUZA-SCHOREY, C. Biology and biogenesis of shed microvesicles. **Small GTPases**, v. 8, n. 4, p. 220–232, 2 out. 2017.
- TSCHÖP, K.; DYSON, N. Identifying players in the functional network around pRB. **Cell Cycle**, 2011.
- TURNER, K. M. et al. Heterogeneity within molecular subtypes of breast cancer. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 321, n. 2, p. C343–C354, 1 ago. 2021.
- UGEL, S. et al. Monocytes in the Tumor Microenvironment. **Annual review of pathology**, v. 16, p. 93–122, 24 jan. 2021.
- VAN FURTH, R.; COHN, Z. A. The origin and kinetics of mononuclear phagocytes. **The Journal of experimental medicine**, v. 128, n. 3, 1968.
- VAN NIEL, G.; D'ANGELO, G.; RAPOSO, G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. **Nature Reviews Molecular Cell Biology** 2018 19:4, v. 19, n. 4, p. 213–228, 17 jan. 2018.
- VATS, D. et al. Oxidative metabolism and PGC-1 β attenuate macrophage-mediated inflammation. **Cell Metabolism**, v. 4, n. 1, p. 13–24, jul. 2006a.
- VATS, D. et al. Oxidative metabolism and PGC-1 β attenuate macrophage-mediated inflammation. **Cell metabolism**, v. 4, n. 1, p. 13–24, jul. 2006b.
- VILLANI, A. C. et al. Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes and progenitors. **Science (New York, N.Y.)**, v. 356, n. 6335, 21 abr. 2017.
- VIVIER, E.; MALISSEN, B. Innate and adaptive immunity: specificities and signaling hierarchies revisited. **Nature Immunology**, v. 6, n. 1, p. 17–21, 1 jan. 2005.
- VOGELSTEIN, B.; LANE, D.; LEVINE, A. J. Surfing the p53 network. **Nature**, v. 408, n. 6810, p. 307–310, 2000.
- WAGNER, J. et al. A Single-Cell Atlas of the Tumor and Immune Ecosystem of Human Breast Cancer. **Cell**, v. 177, n. 5, 2019.
- WALENS, A. et al. CCL5 promotes breast cancer recurrence through macrophage recruitment in residual tumors. **eLife**, v. 8, 16 abr. 2019.
- WANG, R. et al. Intermediate monocytes induced by IFN- γ inhibit cancer metastasis by promoting NK cell activation through FOXO1 and interleukin-27. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**, v. 10, n. 1, 2022.

- WANG, X. et al. Hypoxic Tumor-Derived Exosomal miR-301a Mediates M2 Macrophage Polarization via PTEN/PI3K γ to Promote Pancreatic Cancer Metastasis. **Cancer Res.**, v. 78, n. 16, p. 4586–4598, 2018.
- WARD, R. et al. Monocytes and macrophages, implications for breast cancer migration and stem cell-like activity and treatment. **Oncotarget**; **Vol 6, No 16**, 2015.
- WELSH, J. A. et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. **Journal of extracellular vesicles**, v. 13, n. 2, p. e12404, fev. 2024.
- WOLF, A. A. et al. The Ontogeny of Monocyte Subsets. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 17 jul. 2019.
- WONG, N.; DE MELO, J.; TANG, D. PKM2, a Central Point of Regulation in Cancer Metabolism. **International Journal of Cell Biology**, v. 2013, p. 1–11, 2013.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Breast cancer. 2024.
- WRIGHT, S. D. et al. CD14, a Receptor for Complexes of Lipopolysaccharide (LPS) and LPS Binding Protein. **Science**, v. 249, n. 4975, p. 1431–1433, 21 set. 1990.
- WU, G.; MORRIS, S. M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochemical Journal**, v. 336, n. 1, p. 1–17, 15 nov. 1998.
- WU, T.; DAI, Y. Tumor microenvironment and therapeutic response. **Cancer Letters**, v. 387, p. 61–68, 28 fev. 2017.
- XU, D. et al. Tumor-derived small extracellular vesicles promote breast cancer progression by upregulating PD-L1 expression in macrophages. **Cancer Cell International**, v. 23, n. 1, p. 137, 2023.
- XU, L. et al. Identification of a novel mechanism for endotoxin-mediated down-modulation of CC chemokine receptor expression. **European Journal of Immunology**, v. 30, n. 1, p. 227–235, 2000.
- XU, Z. J. et al. The M2 macrophage marker CD206: a novel prognostic indicator for acute myeloid leukemia. **Oncolmmunology**, v. 9, n. 1, 2020.
- XUN, J. et al. Cancer-derived exosomal miR-138-5p modulates polarization of tumor-associated macrophages through inhibition of KDM6B. **Theranostics**, v. 11, n. 14, p. 6847–6859, 2021.
- YAGI, T. et al. Tumour-associated macrophages are associated with poor prognosis and programmed death ligand 1 expression in oesophageal cancer. **European Journal of Cancer**, v. 111, 2019.
- YÁÑEZ, A. et al. Granulocyte-Monocyte Progenitors and Monocyte-Dendritic Cell

- Progenitors Independently Produce Functionally Distinct Monocytes. **Immunity**, v. 47, n. 5, p. 890- 902.e4, nov. 2017.
- YANG, H. et al. CCL2-CCR2 axis recruits tumor associated macrophages to induce immune evasion through PD-1 signaling in esophageal carcinogenesis. **Molecular Cancer**, v. 19, n. 1, p. 41, 27 dez. 2020.
- YANG, J. et al. Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. **Biomarker Research**, v. 2, n. 1, p. 1, 7 dez. 2014.
- YONA, S. et al. Fate Mapping Reveals Origins and Dynamics of Monocytes and Tissue Macrophages under Homeostasis. **Immunity**, v. 38, n. 1, 2013.
- ZANONI, I. et al. CD14 Controls the LPS-Induced Endocytosis of Toll-like Receptor 4. **Cell**, v. 147, n. 4, p. 868–880, nov. 2011.
- ZHANG, B. et al. M2-Polarized tumor-associated macrophages are associated with poor prognoses resulting from accelerated lymphangiogenesis in lung adenocarcinoma. **Clinics**, v. 66, n. 11, p. 1879–1886, nov. 2011.
- ZHANG, B. et al. Increased circulating M2-like monocytes in patients with breast cancer. **Tumor Biology**, v. 39, n. 6, 2017.
- ZHANG, J. et al. Tumoral NOX4 recruits M2 tumor-associated macrophages via ROS/PI3K signaling-dependent various cytokine production to promote NSCLC growth. **Redox biology**, v. 22, p. 101116, abr. 2019a.
- ZHANG, L. et al. BEST1 Positive Monocytes in Circulation: Visualize Intratumoral Crosstalk between Cancer Cells and Monocytes. **Advanced Science**, v. 10, n. 17, p. 2205915, 1 jun. 2023.
- ZHANG, Y. et al. ROS play a critical role in the differentiation of alternatively activated macrophages and the occurrence of tumor-associated macrophages. **Cell Research**, v. 23, n. 7, 2013.
- ZHANG, Y. et al. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential. **Cell & Bioscience**, v. 9, n. 1, p. 19, 15 dez. 2019b.
- ZHOU, J. et al. Tumor-Associated Macrophages: Recent Insights and Therapies. **Frontiers in Oncology**, v. 10, 25 fev. 2020.
- ZIEGLER-HEITBROCK, H. W. L. **Heterogeneity of human blood monocytes: The CD14+CD16+ subpopulation** **Immunology Today**, 1996.
- ZIEGLER-HEITBROCK, L. et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. **Blood**, v. 116, n. 16, p. e74–e80, 21 out. 2010.