



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Daniela Sofia Freire Leal Saldanha

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A Utilização Terapêutica de Vesículas Extracelulares” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação do Dr. João Gabriel dos Santos Pinto Pimentel, do Dr. Francisco Gonçalo Simões Baptista e da Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues de Sousa, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Outubro de 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Daniela Sofia Freire Leal Saldanha

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A Utilização Terapêutica de Vesículas Extracelulares” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação do Dr. João Gabriel dos Santos Pinto Pimentel, do Dr. Francisco Gonçalo Simões Baptista e da Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues de Sousa, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Outubro 2021

Eu, Daniela Sofia Freire Leal Saldanha, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2015216849, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia Intitulada “A Utilização Terapêutica de Vesículas Extracelulares” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 28 de outubro de 2021.

Daniela Sofia Freire Leal Saldanha

(Daniela Sofia Freire Leal Saldanha)

Agradecimentos

Aos meus pais, pelo apoio incondicional e por serem sempre o meu porto seguro.

Ao meu irmão e à Marina, por estarem lá sempre que preciso e por me darem os melhores
conselhos.

Aos meus avós por todos os ensinamentos de vida que me dão e por me mostrarem que
podemos ser sempre jovens, independentemente da idade.

Ao Pedro, por ser o meu maior suporte e a pessoa que acredita sempre em mim, mesmo
quando eu não acredito.

À Carmen, por ser a minha mãe de Coimbra e a minha maior conselheira.

Ao Nery, porque sem ti os Poetas da Noite não fariam sentido.

À Mó, por todas as longas conversas e por todas as maravilhosas refeições que cozinha para
mim.

À Beta e à Cabrera, porque as noites de Coimbra sem vocês não seriam as mesmas.

Aos meus afilhados, que apesar da distância, tudo se mantém igual.

À Ana, pela amizade de uma vida.

A todos os meus amigos, de infância e da Faculdade, pelas grandes noites e jantaras.

Aos meus gatos, uma companhia sempre presente.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por estes anos maravilhosos.

À Professora Doutora Maria do Céu Sousa por toda a disponibilidade e atenção que teve
comigo durante a realização desta monografia.

Ao Dr. João Pimentel e a toda a equipa da Farmácia Adriana por me integrarem tão bem e
me mostrarem o valor da profissão.

Ao Dr. Francisco Baptista e à equipa dos Laboratórios Basi por me mostrarem novas
vertentes do curso, e pelo nível de responsabilidade que me inculcaram.

A Coimbra, a minha segunda casa, a todas as vivências e a todos os amigos que levo comigo
para a vida.

O meu mais puro obrigada!

“Everything will be okay in the end.
If it’s not okay, it’s not the end.”

John Lennon

Índice

Lista de Figuras 'DUFY' =.....	9
Lista de Tabelas 'DUFY' =.....	9
PARTE I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA	
Lista de Abreviaturas.....	11
1. Introdução.....	12
2. Análise SWOT.....	13
2.1. Pontos Fortes (Strengths).....	13
2.1.2. Planeamento de Estágio Bem Definido.....	13
2.1.3. Localização da Farmácia e horário de funcionamento.....	14
2.1.4. Pequena dimensão da farmácia.....	15
2.1.5. Programas em que a farmácia está inserida.....	15
2.1.6. Preparação Individualizada da Medicação.....	16
2.2. Pontos Fracos (Weaknesses).....	17
2.2.1. Manipulados.....	17
2.2.2. Software e hardware.....	17
2.3. Oportunidades (Opportunities).....	17
2.3.1. Desenvolvimento de diversas capacidades.....	17
2.3.2. Serviços Prestados a Instituições.....	18
2.3.3. Acompanhamento Farmacoterapêutico.....	18
2.3.4. COVID-19.....	18
2.3.5. Participação em Formações.....	18
2.4. Ameaças (Threats).....	19
2.4.1. Pandemia COVID-19.....	19
2.4.2. Medicamentos esgotados.....	19
2.4.3. Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica.....	19
2.4.4. Farmácia nas redondezas.....	20
3. Casos Práticos.....	21
Caso I.....	21
Caso II.....	21
Caso III.....	22
4. Considerações Finais.....	23
5. Bibliografia.....	24
PARTE II – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA	
Lista de Abreviaturas.....	26
1. Introdução.....	27
2. Análise SWOT.....	28
2.1. Pontos Fortes (Strengths).....	28
2.1.1. Acolhimento e Integração na Equipa de Trabalho.....	28
2.1.2. Planeamento do estágio.....	28
2.1.3. Valorização do estagiário.....	' \$
2.1.4. Equipa multidisciplinar e recetiva.....	30

2.1.5. Formações.....	30
2.1.6. Utilização da Língua Inglesa e Francesa.....	30
2.1.7. Aplicação dos conhecimentos aprendidos.....	31
2.2. Pontos Fracos (Weaknesses).....	31
2.2.1. Curto Período de Estágio.....	31
2.2.2. Problemas Informáticos.....	31
2.2.3. Desperdício de Papel.....	31
2.2.4. Procura de Informação.....	32
2.3. Oportunidades (Opportunities).....	32
2.3.1. Independência e Responsabilidade.....	32
2.3.2. Desenvolvimento de Novas Competências.....	32
2.3.3. Assuntos Regulamentares, uma saída profissional.....	32
2.3.4. Contacto com diversos departamentos.....	32
2.3.5. Teletrabalho.....	33
2.4. Ameaças (Threats).....	33
2.4.1. Profissionais de Outras Áreas.....	33
2.4.2. Openspace.....	33
3. Considerações Finais.....	34
4. Bibliografia.....	35

PARTE III - MONOGRAFIA "A UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA DE VESÍCULAS EXTRACELULARES"

Lista de Abreviaturas.....	37
Resumo.....	38
Abstract.....	39
1. Introdução.....	40
2. Vesículas Extracelulares.....	41
2.1. Biogénese.....	41
2.1.1. Exossomas.....	42
2.1.2. Microvesículas.....	43
2.1.3. Corpos apoptóticos.....	43
2.2. Características.....	44
2.3. Funções.....	44
2.3.1. Sinalização intercelular.....	45
2.3.2. Adesão celular e coagulação.....	46
3. Terapêuticas com Vesículas Extracelulares.....	47
3.1. Benefícios Terapêuticos Inatos das Vesículas Extracelulares.....	47
3.2. Vesículas Extracelulares como Alvos Terapêuticos.....	47
3.3. Vetorização.....	48
3.4. Imunoterapia.....	49
4. Vesículas Extracelulares nas Doenças.....	51
4.1. Cancro.....	51
4.2. Doenças neurodegenerativas.....	52
4.3. Doenças Cardíacas.....	53
4.4. Doenças Infeciosas.....	53

4.4.1. Malária	54
4.4.2. Vesículas Extracelulares na Malária Cerebral	56
5. Vesículas Extracelulares e Vacinas.....	59
6. Conclusão	61
7. Referências.....	62

Lista de Figuras – Parte III

Figura 1 - Formação de exossomas pela via endossomal	42
Figura 2 - Formação de microvesículas pela contração da membrana celular	43
Figura 3 - Formação de corpos apoptóticos	44
Figura 4 - Funções das VEs em células saudáveis	45
Figura 5 - Ciclo de vida de <i>Plasmodium spp.</i>	55

Lista de Tabelas – Parte III

Tabela 1 - Características das VEs	41
---	----

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária



Sob orientação do Dr. João Pimentel

Lista de Abreviaturas

FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
PIM	Preparação Individualizada da Medicação
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>

I. Introdução

Segundo a Ordem dos Farmacêuticos, “A Farmácia Comunitária é a face mais visível da profissão”.¹ É o primeiro local a que a população recorre em questões de saúde, sendo-lhe reconhecida disponibilidade, proximidade, confiança e, acima de tudo, competência profissional, valorizando o papel do farmacêutico comunitário, perante a sociedade.¹

A etapa final do plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) compreende a realização de um estágio em Farmácia Comunitária que funciona como uma forma de consolidação dos conhecimentos aprendidos ao longo dos anos e sua correta aplicação prática.

O meu estágio em farmácia comunitária, foi realizado na Farmácia Adriana, situada no centro de Coimbra, sob orientação do Diretor Técnico, Dr. João Pimentel. Ao longo dos 4 meses de estágio, tive a oportunidade de integrar a equipa, tendo participado ativamente em todas as tarefas do dia-a-dia da farmácia, desde a receção e arrumação de medicamentos e produtos de saúde e bem-estar, ao atendimento e aconselhamento dos utentes, adquirindo novos conhecimentos que serão uma mais valia para o meu futuro profissional.

2. Análise SWOT

Tal como apontado nas “Normas Orientadoras”, no presente relatório irei fazer uma análise crítica do meu estágio em farmácia comunitária. Para tal, irei utilizar a análise SWOT que compreende os Pontos Fortes (*Strengths*), os Pontos Fracos (*Weaknesses*), as Oportunidades (*Opportunities*) e as Ameaças (*Threats*).

2.1. Pontos Fortes (*Strengths*)

2.1.1. Equipa

A Farmácia Adriana tem uma equipa pequena e dinâmica. A capacidade da equipa de acolher e integrar os estagiários é extraordinária, estando sempre disponível para nos ensinar e esclarecer qualquer dúvida que surja no nosso dia-a-dia. A confiança que depositam nos estagiários também é marcante, pois colocam-nos em contacto com o público desde o início do estágio, sob a supervisão de um dos elementos da equipa. Isto permite ao estagiário ser desde muito cedo confrontado com a realidade da farmácia comunitária e ganhar experiência não só no contacto com o público como com as diferentes realidades e atendimentos.

2.1.2. Planeamento de Estágio Bem Definido

O planeamento de estágio, onde as funções e o percurso do estagiário estão bem estabelecidos, é essencial para o bom funcionamento do mesmo. Como os conhecimentos adquiridos ao longo do MICF são teóricos, para a sua aplicação prática é necessário que haja um bom planeamento de estágio de forma que esta fase de aprendizagem seja gradual, faseada e consistente.

Comecei pela receção de encomendas e o armazenamento de produtos. Esta fase, permitiu-me conhecer e aprender a utilizar a aplicação informática que apoia toda a atividade desta farmácia, o Sifarma 2000[®]; contactar com os nomes dos medicamentos e fazer a sua ligação com os princípios ativos; perceber a organização da farmácia; efetuar a arrumação dos medicamentos de acordo com a forma farmacêutica, a sua estabilidade e sempre por ordem alfabética. Nesta etapa aprendi a fazer as encomendas diárias, a transferir as faltas para outros fornecedores, a efetuar ou regularizar devoluções e a fazer reservas de produtos que não faziam parte do stock da farmácia ou que não tínhamos disponíveis as unidades pedidas pelo utente.

Contactei com os diferentes documentos contabilísticos, faturas, recibos, notas de devolução, notas de débito e crédito, guias de transporte e como tratar cada um destes documentos.

Iniciei logo a observação dos atendimentos, mas rapidamente passei para o atendimento ao público sempre com supervisão de um elemento da equipa da farmácia. Aqui contactei com as receitas manuais, com as receitas eletrónicas com e sem papel e aprendi os diferentes procedimentos a efetuar consoante a forma de prescrição.

A dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e de produtos de saúde e bem-estar foi um ponto forte de aprendizagem no meu estágio. Não posso deixar de referir a importância que o aconselhamento farmacêutico tem neste tipo de dispensas, quer no caso em que o utente vem à farmácia com um problema de saúde específico, para o qual precisa do aconselhamento farmacêutico, ou no caso do utente vir solicitar um MNSRM e a oportunidade que o farmacêutico tem em transformar esse atendimento num aconselhamento farmacêutico.

O atendimento ao público é a parte mais nobre do estágio e permitiu-me ganhar competências e confiança para colocar em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do MICEF e fazer bons aconselhamentos aos utentes.

No tempo em que não estava em atendimento, fiz a gestão dos prazos de validade e a contagem física dos *stocks* que são processos cruciais para uma boa gestão da farmácia. Tive a perceção dos produtos mais e menos vendidos, dos produtos que têm o prazo a acabar e precisam de ser primeiramente vendidos. Esta gestão permite ainda uma gestão de compras com os vendedores mais minuciosa, pois temos uma melhor noção dos produtos que fazem ou não sentido comprar e das suas quantidades.

Particpei na verificação e correção do receituário, no fecho da faturação e na preparação para o seu envio no final do mês.

Fiz a divulgação de campanhas nas redes sociais e dei-lhes visibilidade na farmácia quer em expositores quer em montras utilizando os materiais de marketing enviados pelos laboratórios.

2.1.3. Localização da Farmácia e horário de funcionamento

A Farmácia Adriana encontra-se localizada na Praça da República. Sendo uma farmácia com mais de 100 anos, tem vários clientes habituais, que acompanharam a farmácia ao longo de gerações. Uma vez que se situa numa zona central de Coimbra, muito movimentada por estudantes, por turistas e por trabalhadores das áreas envolventes, tem um público muito diversificado com diferentes necessidades a que a farmácia dá resposta. Este ambiente muito

específico tornou o meu estágio muito dinâmico e enriquecedor, ao dar-me a oportunidade de contactar com atendimentos muito diversificados e com utentes e realidades muito disparees.

Em relação ao horário a farmácia está permanentemente aberta das 8:30h às 20:30h durante a semana e aos sábados encerra às 20h. Este horário alargado é uma vantagem para o utente, pois sabe que pode contar com a sua farmácia durante um longo período de tempo.

Para mim enquanto estagiária também foi uma vantagem poder acompanhar os atendimentos ao longo de todo o horário de abertura da farmácia e todos os dias da semana incluindo dias de serviço.

2.1.4. Pequena dimensão da farmácia

As dimensões da Farmácia Adriana foram uma mais valia para o meu estágio. Tem uma equipa pequena, com um ambiente muito agradável, que sabe acolher bem os estagiários. O esclarecimento de dúvidas foi sempre fácil devido à disponibilidade da equipa e ao facto de ser a única estagiária.

2.1.5. Programas em que a farmácia está inserida

A Farmácia Adriana é uma farmácia que está muito interligada com a população, fazendo parte de alguns programas que são uma mais valia para os cidadãos.

- O Programa das Farmácias Portuguesas, é um programa de fidelização de clientes que tem por base um cartão que acumula pontos nas compras que o utente vai efetuando e estes podem ser rebatidos por produtos de um catálogo, ou convertidos em vales de desconto nas compras efetuadas. Para os utentes integrados neste programa, há mensalmente algumas promoções com parceiros da indústria farmacêutica em que se efetuam descontos em produtos logo no ato de compra e que são muito apreciados pelos utentes.²

- O programa “Diz Não a Uma Seringa em Segunda Mão”³ é um programa de troca de seringas que “tem como objetivo evitar a partilha de agulhas, seringas e outros materiais de consumo, promover comportamentos sexuais seguros, através da utilização consistente do preservativo masculino, diminuir o tempo de retenção de seringas usadas pelos utilizadores e evitar o abandono de seringas e agulhas utilizadas na via pública”.³ Este programa está muito bem implementado na Farmácia Adriana sendo muito procurado por um determinado tipo de utentes.

- O Programa Valormed, consiste na recolha e tratamento adequado dos resíduos de embalagens e medicamentos fora de prazo ou que já não são utilizados.⁴ O papel do farmacêutico consiste na sensibilização dos cidadãos e incutir-lhes a responsabilidade de recolha destes resíduos contribuindo assim para um planeta mais limpo e reduzindo o impacto ambiental do medicamento, fechando o ciclo do medicamento de forma adequada. ⁴ No estágio percebi que esta iniciativa é bem acolhida e valorizada por parte dos utentes e que com alguma facilidade entra na sua prática diária.

2.1.6. Preparação Individualizada da Medicação

A Preparação Individual da Medicação (PIM) é um serviço farmacêutico aprovado pela Ordem dos Farmacêuticos e que consiste na organização dos medicamentos dos utentes, de acordo com os horários das tomas e os dias da semana. ⁵

O uso correto e responsável dos medicamentos é fundamental para garantir a segurança e a eficácia do tratamento e por isso é importante que estes sejam tomados na dose certa e no horário recomendado. ⁵

Apesar deste serviço não ser muito solicitado nesta farmácia, a PIM é muito útil para doentes idosos e polimedicados que devido à complexidade da sua terapêutica, podem cometer erros na toma dos medicamentos.

2.2. Pontos Fracos (*Weaknesses*)

2.2.1. Manipulados

Os medicamentos manipulados eram um serviço prestado pela maioria das farmácias no passado. Hoje em dia, devido à grande oferta por parte das indústrias farmacêuticas de medicamentos embalados com diversas dosagens e apresentações farmacêuticas, estas prescrições tornaram-se escassas. Associando ainda o preço elevado das matérias-primas, de haver uma lista restrita de manipulados que são comparticipados, o elevado preço a que fica o produto final e os seus curtos prazos de validade, tornou-se um serviço pouco solicitado e por tudo isto, muitas farmácias, como a Farmácia Adriana, já quase não o praticam.

Tomei contacto com todo o material do laboratório, mas nele apenas fiz a reconstituição das suspensões dos xaropes.

2.2.2. Software e hardware

O avanço tecnológico nos últimos anos nas farmácias foi muito grande e por vários motivos, nem todas se adaptaram totalmente a esta nova realidade.

O sistema da receita médica eletrónica e a comunicação de dados entre os Serviços Partilhados do Ministério da Saúde e as Farmácias, obrigam a determinados requisitos dos equipamentos informáticos que não estando a ser cumpridos por vezes dificultam a consulta das receitas durante o atendimento.

O novo programa informático que está a substituir o Sifarma 2000[®] exige dispositivos informáticos mais avançados do que aqueles que estão em funcionamento na Farmácia Adriana por isso apenas contactei com o Sifarma 2000[®].

2.3. Oportunidades (*Opportunities*)

2.3.1. Desenvolvimento de diversas capacidades

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de comunicar com diferentes utentes, de diversas nacionalidades e faixas etárias, com situações clínicas muito distintas. Isto obrigou-me a gerir diversas situações que não faziam parte do meu dia-a-dia e que se tornaram muito enriquecedoras a nível pessoal.

Foi-me dada a possibilidade de coordenar as redes sociais da farmácia, nas quais me comprometi a criar 3 publicações semanais, e foi notório o aumento de interações obtidas.

Participei em campanhas de *marketing* onde fiz montras e organizei expositores e prateleiras. Foi interessante perceber o que capta a atenção das pessoas e como o fazer através de estratégias de *marketing*.

Tive presente em reuniões com vendedores de laboratórios, nas quais foi pedida a minha opinião acerca de compras e vendas na farmácia, o que tornou o meu envolvimento ainda maior.

Na parte de gestão da farmácia, tive a oportunidade de ajudar a fazer a caixa no fim do dia.

2.3.2. Serviços Prestados a Instituições

A Farmácia Adriana tem protocolos com instituições para o fornecimento de medicamentos e de produtos de saúde e bem-estar sendo também responsável pela entrega e transporte dos mesmos garantindo sempre o cumprimento das Boas Práticas de Distribuição Farmacêutica.

2.3.3. Acompanhamento Farmacoterapêutico

Como referido anteriormente, a Farmácia Adriana, sendo uma farmácia centenária, tem muitos utentes habituais. Assim, ao longo do estágio fui contactando regularmente com estes utentes, o que nos dá a possibilidade de fazermos um acompanhamento farmacoterapêutico mais personalizado. Temos ainda o Sifarma 2000[®] como ferramenta útil, que nos permite ter acesso à medicação que o utente vai levando da farmácia, dando-nos informação para fazermos um melhor acompanhamento destes utentes.

2.3.4. COVID-19

A pandemia do COVID-19 obrigou todos os negócios a adaptarem-se a esta nova realidade e as farmácias não foram exceção. A Farmácia Adriana passou a fazer entregas ao domicílio. As encomendas são feitas por contacto telefónico, por e-mail ou pelo site das Farmácias Portuguesas. A sua entrega é acordada pela mesma via sendo um colaborador da farmácia a ir entregá-la ao utente.

2.3.5. Participação em Formações

Como vivemos numa era de constante evolução, temos a necessidade de estar atualizados e de aprender diariamente. Assim, no meu estágio tive a possibilidade de fazer diversas formações com diversos laboratórios, principalmente na área da dermocosmética que se revelaram muito importantes para os meus atendimentos e aconselhamentos posteriores.

2.4. Ameaças (Threats)

2.4.1. Pandemia COVID-19

A pandemia do COVID-19 apesar de já referida como uma oportunidade para as farmácias, no caso desta farmácia foi principalmente uma ameaça. Esta farmácia situa-se numa zona central de Coimbra que vive maioritariamente do turismo, do comércio e dos serviços e, praticamente não tem zona de residência. Aquando do estado de emergência, tudo ao seu redor fechou, os estudantes e os turistas, dois grandes grupos de utentes desta farmácia, deixaram de frequentar esta zona o que trouxe bastantes dificuldades ao negócio e um acentuado decréscimo das vendas.

A pandemia veio também impedir a prestação de alguns serviços como a medição de parâmetros bioquímicos e da pressão arterial, serviços estes que não voltaram a ser implementados até à data de término do meu estágio.

2.4.2. Medicamentos esgotados

Durante todo o período de estágio percebi que há sempre medicamentos esgotados.

Quando se trata de algum genérico, por vezes conseguimos substituir um medicamento de um laboratório por outro dentro do mesmo grupo homogéneo. O maior problema surge quando não há forma de se fazer essa substituição. Esta é uma realidade bastante preocupante e de difícil resolução com a qual me deparei durante o estágio.

Por vezes, por meio de chamadas telefónicas com laboratórios, armazenistas e mesmo delegados de saúde foi-nos possível adquirir alguma desta medicação.

2.4.3. Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

Em 2005 foi aprovado que os medicamentos não sujeitos a receita médica podem ser vendidos fora de farmácias, em locais que cumpram os requisitos legais e regulamentares.⁶ Este locais tornaram-se assim uma ameaça para as farmácias. Habitualmente estes locais estão associados a grandes cadeias de venda de produtos alimentares o que lhes permite fazer um grande volume de compras, com melhores descontos do que as farmácias e assim vender a preços pelos quais não é possível competir. Por outro lado, o aconselhamento prestado por um farmacêutico quando faz um atendimento, não é comparável ao dado por parte das pessoas que estão nestes locais, o que leva à facilidade de compra de MNSRM e consequentemente à automedicação com todas as consequências que daqui possam advir.

2.4.4. Farmácia nas redondezas

A menos de 10 metros do local onde se localiza a Farmácia Adriana, existe outra farmácia, que lhe faz concorrência direta. Apesar de cada uma ter os seus clientes já fidelizados, os não fidelizados têm tendência de andar entre uma e outra para fazer comparação de preços, sempre à procura do preço mais económico. Por vezes uma venda que parecia garantida, acaba por ser perdida pela proximidade entre as farmácias.

3. Casos Práticos

Caso I

Senhora, 25 anos, dirigiu-se à farmácia com pontos num dedo, pedindo produtos para fazer um penso pois o penso que lhe tinham feito no dia anterior no hospital tinha caído.

Disse-lhe que dada a extensão e aspeto da lesão, o tratamento deveria ser feito por um enfermeiro.

Explicou-me que estava sem tempo, e pediu-me para lhe dar os produtos que achasse necessários para este tratamento e para lhe explicar o modo de os utilizar.

Comecei por observar a lesão e percebi que, apesar da sua grande extensão, não apresentava sinais de infeção, apenas uma ligeira inflamação.

Como abordado ao longo do MICE, aconselhei Betadine solução dérmica que tem como princípio ativo Iodopovidona, que é uma solução anti-séptica.⁷ Deveria colocar umas gotas numa compressa esterilizada e ir limpando a zona ferida sempre da parte central para o exterior. Deixar secar. Após uns minutos, aconselhei aplicar com uma compressa uma camada de Bepanthen Plus Creme que tem uma combinação de Cloro-hexidina e Dexpantenol, indicado no tratamento, desinfeção e cicatrização de feridas.⁸

Para a proteção da ferida indiquei um penso resistente à água que tem uma compressa que não adere à ferida.

Aconselhei não molhar o dedo, protegê-lo e repetir o tratamento diariamente até à data marcada para retirar os pontos. Alertei que deveria consultar um profissional de saúde caso o dedo ficasse vermelho ou com muita dor.

Caso II

Homem, 24 anos, dirigiu-se à farmácia dizendo que fumava um maço de tabaco por dia e que gostaria de começar a reduzir o número de cigarros fumados.

Questionado, informou-me que fumava há cerca de 5 anos, que nunca tinha tentado reduzir, que já tinha lido alguma coisa sobre umas pastilhas de mentol e que não tinha nenhum problema de saúde.

Pelos conhecimentos que adquiri ao longo do MICE, aconselhei substituir alguns cigarros do dia por Nicorette 4mg Gomas Menta Fresca. Estas gomas para mascar libertam nicotina para o organismo, proporcionando alívio dos sintomas de privação da nicotina.⁹

Sugeri começar a substituição pelos cigarros menos importantes do dia e que as pastilhas deveriam ser mascadas ao mesmo ritmo com que se fuma, ou seja, mascar durante uns segundos e reservar a pastilha ao canto da boca e assim sucessivamente.⁹

Alertei para o facto de poder surgir alguma irritação na garganta caso a pastilha fosse mascada de forma contínua.

Caso III

Mulher, 35 anos, dirigiu-se à farmácia com uma lesão no lábio que apresentava umas pequenas vesículas dizendo ter alguma comichão, ardor e uma ligeira dor.

Questionei-a se era a primeira vez que lhe surgia este problema e disse-me que lhe acontecia quando tinha febre ou apanhava sol e que aplicava uma pomada e que passava.¹⁰

Dada a descrição da sintomatologia, a observação da lesão e os conhecimentos adquiridos no MICF, suspeitei de herpes labial. Aconselhei-lhe uma pomada com aciclovir, para aplicar 5 vezes ao dia, após as refeições e durante 4-6 dias até cicatrização da lesão. Alertei-a para a necessidade de tomar um suplemento para reforçar o sistema imunitário, mas não aceitou.¹¹

Como medidas não farmacológicas aconselhei não tocar nas vesículas por possibilidade de infetar outra zona do corpo ou outra pessoa e utilizar toalhetes de uso único para a higiene da zona.

4. Considerações Finais

Após a conclusão do meu estágio, percebo que a farmácia comunitária é um sítio onde os utentes não procuram apenas os medicamentos, procuram também uma palavra amiga, alguém com quem desabafar e alguém em quem confiam. É inegável que a proximidade que existe entre o utente e o farmacêutico é o que faz de nós a primeira linha de saúde a que a população recorre quer em situações de urgência quer no esclarecimento de dúvidas.

Reconheço que o estágio em farmácia comunitário é essencial para colocar em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do MICF e que o tempo de estágio é o adequado.

Em suma, os conhecimentos que adquiri tornam-me não só uma melhor profissional, mas também uma melhor pessoa. São certamente ensinamentos que levarei comigo para a vida e tenho a agradecer a toda a equipa da Farmácia Adriana, o seu contributo no meu percurso profissional.

5. Bibliografia

1. **Farmácia Comunitária - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos** - [Consult. 14 set. 2021]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/>
2. **Como funciona o cartão Saúde? | Farmácias Portuguesas** - [Consult. 13 set. 2021]. Disponível em: <https://www.farmaciasportuguesas.pt/sauda/como-funciona>
3. **Programa de Troca de Seringas – SNS** - [Consult. 14 set. 2021]. Disponível em: <https://www.sns.gov.pt/noticias/2019/11/11/programa-de-troca-de-seringas-2/>
4. **Quem somos : ValorMed** - [Consult. 13 set. 2021]. Disponível em: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
5. **Nova Norma Geral sobre Preparação Individualizada da Medicação - Notícias - Ordem dos Farmacêuticos** - [Consult. 29 set. 2021]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/noticias/nova-norma-geral-sobre-preparacao-individualizada-da-medicacao/>
6. **Decreto-Lei n.º 134/2005, 2005-08-16 - DRE** - [Consult. 29 set. 2021]. Disponível em: <https://dre.pt/pesquisa/-/search/243692/details/maximized>
7. **Linha amarela - Betadine.pt** - [Consult. 29 set. 2021]. Disponível em: <http://www.betadine.pt/familia-betadine/linha-amarela/>
8. **Bepanthen® Plus creme para feridas | Bepanthen®** - [Consult. 13 set. 2021]. Disponível em: <https://www.bepanthen.pt/gama-bepanthen/cremes-feridas/bepanthen-plus-creme>
9. **Nicorette® Gomas | Produtos para o ajudar a deixar de fumar | Nicorette®** - [Consult. 14 set. 2021]. Disponível em: <https://www.nicorette.pt/produtos/gomas>
10. **O que é um herpes labial?: Causas e sintomas | Zovirax** - [Consult. 14 set. 2021]. Disponível em: <https://www.zovirax.pt/about-cold-sores.html>
11. **Produtos para o Herpes Labial | Zovirax** - [Consult. 14 set. 2021]. Disponível em: <https://www.zovirax.pt/cold-sore-products.html>

Parte II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica



Sob orientação do Dr. Francisco Baptista

Lista de Abreviaturas

AIM	Autorização de Introdução no Mercado
CEP	<i>Certificate of Suitability</i>
CoA	<i>Certificates of Analysis</i>
CPP	<i>Certificate of Pharmaceutical Product</i>
CTD	<i>Common Technical Document</i>
eCTD	<i>Electronic Common Technical Document</i>
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>

I. Introdução

No quinto ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), para além do estágio curricular obrigatório em farmácia comunitária, é-nos dada a possibilidade de fazer um estágio noutras áreas de formação. A minha escolha foi indústria farmacêutica nos Laboratórios Basi, na área de *Regulatory Affairs*, mais propriamente em Registos.

Os Registos são uma área de assuntos regulamentares, responsável pelo registo no mercado de medicamentos, suplementos alimentares, cosméticos e dispositivos médicos.¹ Os requisitos para a colocação destes produtos no mercado são diferentes de acordo com o tipo de produtos, pelo que obrigam a um conhecimento técnico muito específico.

Para além dos diferentes requisitos para o registo de produtos pertencentes a categorias diferentes, existem também diferenças de requisitos consoante os países onde se vão registar.

Quando se pretende fazer o registo de um produto num determinado país, existe muita documentação de qualidade clínica e não clínica que acompanham o pedido de registo.

Estagiar nos Laboratórios Basi permitiu-me pôr em prática conhecimentos adquiridos ao longo do MICF, e adquirir novas competências que me serão muito úteis tanto a nível profissional como a nível pessoal.

2. Análise SWOT

Tal como apontado nas “Normas Orientadoras”, no presente relatório irei fazer uma análise crítica do meu estágio em Indústria Farmacêutica. Para tal, irei utilizar a análise SWOT que compreende os Pontos Fortes (*Strengths*), os Pontos Fracos (*Weaknesses*), as Oportunidades (*Opportunities*) e as Ameaças (*Threats*).

2.1. Pontos Fortes (*Strengths*)

2.1.1. Acolhimento e Integração na Equipa de Trabalho

No primeiro dia de estágio, fui muito bem recebida, com muita simpatia e cuidado por parte de toda a equipa dos Laboratórios Basi. Fui conhecer o *openspace*, espaço aberto de trabalho, onde posteriormente conheci não só os meus colegas de departamento, mas também colegas dos diversos departamentos. O facto de ser um *openspace* foi para mim, enquanto estagiária, um ponto muito positivo, pois permite-me estar em contacto constante com os colegas e facilmente tirar dúvidas, sempre que elas surgiam.

No segundo dia, o meu departamento fez uma reunião de equipa na qual foram abordados os planos de trabalho dos elementos do departamento para essa semana e foi definido o plano do meu estágio. Rapidamente fui integrada nas tarefas da equipa, onde me propuseram fazer trabalhos que complementariam o trabalho desta.

2.1.2. Planeamento do estágio

No dia em que cheguei aos Laboratórios Basi, foi-me dado um computador já com as minhas credenciais, com um email da empresa e com a maioria das pastas de rede que eu iria utilizar.

Dentro do meu departamento, foi-me sempre dado trabalho que envolvia os *dossiers* dos países nos quais a equipa estava a trabalhar ou que iria trabalhar num futuro próximo.

O meu estágio foi planeado como um processo de aprendizagem crescente, tornando-me cada vez mais independente na execução de tarefas.

Explicaram-me o que desenvolviam dentro do departamento, e como organizavam o trabalho entre eles. Posteriormente deram-me a conhecer diversos documentos essenciais para o desenvolvimento do meu trabalho, como por exemplo *Certificate of Suitability* (CEP), Autorização de Introdução no Mercado (AIM), *Common Technical Document* (CTD), *Certificate of Pharmaceutical Product* (CPP) e *Certificates of Analysis* (CoA).

Complementando as formações que me foram dadas nos primeiros dias, deram-me a conhecer diversas plataformas de trabalho tais como:

- Orimed, que nos permite ver quais os CPPs que temos, para que países e se estão atualizados. Permite também ver os mock-ups que são designs gráficos das embalagens de acondicionamento primário e secundário e o folheto informativo.

- eCTD (*Electronic Common Technical Document*), que é uma plataforma informática que permite fazer as compilações do CTD, dando origem a um CTD eletrónico. Quando se fazem alterações no CTD, este sistema permite que se coloque só a alteração feita, e origina um novo CTD.

- QPulse é uma plataforma interna dos Laboratórios Basi que permite aceder a todos os documentos que tenham a ver com os ingredientes dos produtos, a sua forma de fabrico e controlos de qualidade.

Complementando os conhecimentos que tinha, foi-me lembrada toda a estrutura de um CTD e a organização da sua informação, para posterior pesquisa.

Comecei por fazer os Módulos I do CTD de alguns medicamentos, que consiste em informações acerca do produto que estamos a registar naquele mercado, e varia consoante as exigências de cada país. Muitos países apenas pedem o Módulo I e algumas secções do Módulo de qualidade para registo de produtos farmacêuticos, em vez de pedirem os 5 módulos, pelo que este se torna um resumo de todo o CTD.

Para fazer os Módulos I, tive também a oportunidade de ir buscar documentos, tanto à rede dos Laboratórios Basi como a diversos sites, tais como o site da *European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare*² para ter acesso aos CEPs mais atualizados e o site EudraGMDP³ para ter acesso ao certificado de boas práticas de fabrico.

Fiz dossiers completos de Suplementos Alimentares e de Cosméticos, que consistem na documentação exigida por cada país acerca do produto que iremos introduzir no mercado, mas não tão específico como um CTD.

Quando os Módulos I e CTDs se encontram prontos para envio para os respetivos países, para muitos deles é exigido o envio em papel, pelo que tem de haver um grande cuidado para todos os documentos irem pela ordem certa, sendo também esta uma das tarefas que me foi entregue.

Mesmo o estágio sendo curto, não me permitindo fazer um pouco de todas as tarefas efetuadas dentro do departamento, os meus colegas tiveram sempre o cuidado de me mostrar como se faziam.

2.1.3. Valorização do estagiário

Sendo a única estagiária deste departamento, tive toda a atenção e disponibilidade da equipa. Sempre que havia tarefas novas ou diferentes que os meus colegas estivessem a fazer, eu era posta ao corrente das mesmas, ficando com uma noção dos procedimentos, pois não houve tempo para eu experienciar todas as tarefas efetuadas pelo departamento.

Em todas as tarefas que me foram dadas, foi-me demonstrado que eram importantes e que havia prazos de entrega apertados para cumprir, pelo que senti que foi depositada confiança em mim e responsabilidade perante o meu trabalho.

2.1.4. Equipa multidisciplinar e recetiva

Como referi anteriormente, sendo o espaço de trabalho um *openspace*, existe uma interação muito próxima entre os diferentes departamentos. Todos os departamentos de assuntos regulamentares encontram-se próximos uns dos outros de forma que conseguem facilmente articular entre si, dado que há complementaridade entre os seus trabalhos.

Esta proximidade espacial, e as relações interpessoais que têm entre si, faz com que haja uma entreatajuda notável, e um ambiente de trabalho muito agradável.

2.1.5. Formações

Desde o dia em que entrei nas Laboratórios Basi, foi-me dada formação constante, desde as regras a cumprir dentro da indústria, aos diversos programas que eram usados por diversos departamentos, qual a sua funcionalidade e como podíamos trabalhar com eles.

Foram dadas várias formações exclusivas para os estagiários, para nos integrarem nestes programas.

2.1.6. Utilização da Língua Inglesa e Francesa

No departamento dos Registos trabalha-se quase exclusivamente em inglês porque se preparam documentos para vários países do mundo e o inglês é língua universal.

Foi para mim um ponto muito positivo relembrar e aprofundar as minhas capacidades nesta língua.

Outra língua com a qual trabalhei foi o francês, porque o departamento estava a trabalhar com países de África Francófona, em que a documentação tinha de ser enviada em francês.

2.1.7. Aplicação dos conhecimentos aprendidos

No meu percurso em MICF, uma cadeira que me despertou muita atenção foi a de Assuntos Regulamentares do Medicamento. Esta cadeira deu-me bases sólidas para o trabalho que desenvolvi ao longo do meu estágio nos Laboratórios Basi.

Neste estágio, tive a oportunidade de colocar em prática algumas das matérias lecionadas nesta cadeira, principalmente CTD.

O CTD é um documento técnico que permite organizar, em 5 módulos, um pedido de autorização de introdução no mercado, de medicamentos para uso humano.⁴ Tem por objetivo, tornar o procedimento entre a Indústria Farmacêutica e as Autoridades Regulamentares, mais rápido e dinâmico, dado ser um documento *standard*.

2.2. Pontos Fracos (*Weaknesses*)

2.2.1. Curto Período de Estágio

Como já referido anteriormente, o meu estágio de 3 meses em Registos, demonstrou ser curto, dado o potencial que a área tem para oferecer. Sendo uma área tão vasta, e pouco explorada ao longo do MICF, a adaptação à linguagem de siglas utilizadas, os novos programas informáticos e as tarefas que nunca tinha visto fazer, exigem um tempo de adaptação relativamente grande, sendo, na minha perspetiva, um estágio que fica limitado no tempo, relativamente ao que poderia ser.

2.2.2. Problemas Informáticos

Como todo o trabalho efetuado no *openspace* é trabalho informático, enquanto estagiária foi-me cedido um computador da empresa. No entanto este computador, já antigo, era demasiado lento e por vezes, quando estava a guardar os documentos, era perdida informação.

2.2.3. Desperdício de Papel

Existem países que exigem que a documentação lhes seja enviada em papel. Como todos os documentos são feitos em computador e todas as pessoas na área de *Regulatory Affairs* trabalham com base num computador, para mim foi um ponto fraco as autoridades dos diversos países ainda não terem chegado a um acordo de modo que a transmissão da informação seja feita por meios digitais, para não haver tanto desperdício de papel.

2.2.4. Procura de Informação

Ao longo do meu estágio, tive de procurar documentos na rede dos Laboratórios Basi e, por vezes, encontrei para o mesmo produto, dois ou três documentos que eram versões mais ou menos atualizadas do mesmo documento. Não havendo um programa que tenha a capacidade de detetar o documento mais atualizado, dificulta bastante o trabalho de pesquisa.

2.3. Oportunidades (*Opportunities*)

2.3.1. Independência e Responsabilidade

Ao longo do tempo, e principalmente na realização de Módulos I de CTDs, comecei por me tornar mais independente, não necessitando de tanta ajuda e conseguindo sozinha fazer todo o processo.

2.3.2. Desenvolvimento de Novas Competências

Uma das oportunidades que tive foi o facto de o trabalho ser feito em idiomas que não o português. Tive a oportunidade de trabalhar essencialmente em inglês, e um pouco em francês. Isto levou a um desenvolvimento pessoal pois o inglês é uma língua utilizada a nível internacional e é muito importante a nível da Indústria Farmacêutica.

Aprender a gerir o tempo foi outra grande oportunidade. Contactar pela primeira vez com prazos de entregas de trabalhos a nível profissional, e saber dar prioridade a umas tarefas em relação a outras, foi importante para mim não só a nível profissional, mas também pessoal.

2.3.3. Assuntos Regulamentares, uma saída profissional

Apesar de haver cadeiras ao longo do MICF que nos dão uma base sobre Assuntos Regulamentares, só me apercebi da sua real importância com este estágio. Foi muito importante perceber que é uma área que tem imenso potencial e que, no fundo, o MICF é um curso muito completo, tornando um farmacêutico um profissional multifacetado.

2.3.4. Contacto com diversos departamentos

Como já referi anteriormente, o espaço em que fui inserida nos Laboratórios Basi, era um *openspace*. Assim, todos os departamentos de *Medical Affairs* se encontram perto uns dos outros. Isto permite que haja uma interação muito dinâmica entre todos eles e uma elevada entreajuda. Para mim, foi uma mais valia ter a percepção do que cada um faz, e observar de perto os seus trabalhos, permitindo-me ter uma ideia mais alargada daquilo que se faz para além do meu departamento.

2.3.5. Teletrabalho

Ao longo do meu estágio tive situações que me impediram de fazer trabalho presencial nos Laboratórios Basi. Por isso, foi-me dada a possibilidade de fazer teletrabalho, dando-me outra realidade em relação à forma de se trabalhar.

2.4. Ameaças (*Threats*)

2.4.1. Profissionais de Outras Áreas

Durante o meu estágio, fui confrontada com a realidade de que nem todos os profissionais que trabalham na área de *Medical Affairs* são farmacêuticos.

Existe uma grande variedade de profissionais com habilitações para exercer o que o farmacêutico exerce em *Medical Affairs*, pelo que se torna uma ameaça à profissão.

2.4.2. *Openspace*

Apesar de considerar que o *openspace*, no início, foi muito interessante para mim, apercebi-me que ao longo tempo, causa desgaste a quem lá trabalha. O facto dos diversos departamentos poderem facilmente contactar uns com os outros é uma grande vantagem. No entanto, muitas pessoas a trabalharem e a falarem neste espaço, cria distrações quando precisamos de estar focados no trabalho e o barulho torna-se um elemento perturbador e cansativo.

3. Considerações Finais

O facto de a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra permitir que os alunos estagiem em Indústria Farmacêutica é uma experiência importante e enriquecedora para um aluno de MICF.

O estágio de *Regulatory Affairs*, mais propriamente em Registos, permitiu-me desenvolver inúmeras capacidades, e contactar com a realidade de Indústria Farmacêutica.

Estes três meses de estágio foram muito enriquecedores para mim, tanto a nível pessoal, como profissional. A dinâmica e o trabalho em equipa realizado pelos departamentos, são sem dúvida uma mais-valia para eu considerar este espaço um bom local de estágio.

A nível do departamento de Registos, foi interessante perceber toda a dinâmica associada ao registo de produtos no mercado, perceber que não é igual em todos os países e que há critérios que tem mais importância nuns países do que noutros.

Deixo um agradecimento a toda a equipa dos Laboratórios Basi e em especial ao meu departamento, por me terem integrado tão bem na equipa, por me terem fornecido todas as ferramentas para o meu crescimento profissional e por terem confiado em mim e no meu trabalho, fazendo-me sempre sentir responsável e útil. Obrigada.

4. Bibliografia

1. **Assuntos Regulamentares - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos** - [Consult. 12 set. 2021]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/assuntos-regulamentares/>
2. **Certificates catalogue** - [Consult. 12 set. 2021]. Disponível em: <URL:https://extranet.edqm.eu/publications/recherches_CEP.shtml
3. **Eudra GMP - Public Layout** - [Consult. 12 set. 2021]. Disponível em: <http://eudragmdp.ema.europa.eu/inspections/gmpc/searchGMPCCompliance.do>
4. **EudraLex - Volume 2 - Pharmaceutical legislation on notice to applicants and regulatory guidelines for medicinal products for human use | Saúde pública** - [Consult. 12 set. 2021]. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-2_pt

Parte III

Monografia

“A Utilização Terapêutica de Vesículas Extracelulares”

Lista de Abreviaturas

ABCA 1	Transportador de Cassetes de Ligação ao ATP
DA	Doença de Alzheimer
EVs	Extracelular Vesicles
GVs	Glóbulos Vermelhos
HER 2	Recetor de Crescimento Epidérmico 2
HSPG	Proteoglicanos de Sulfato de Heparina
MC	Malária Cerebral
MHC	Complexo Major de Histocompatibilidade
MVs	Microvesículas
PAMPs	Padrões Moleculares Associados a Agentes Patogénicos
pVEs	Vesículas Extracelulares Derivadas de Plaquetas
SNC	Sistema Nervoso Central
sVEs	Vesículas Extracelulares Pequenas
VEs	Vesículas Extracelulares

Resumo

Vesículas extracelulares (VEs) são pequenas partículas revestidas por uma camada lipídica com a capacidade de transportar ácidos nucleicos, proteínas e lipídios. Existem três tipos principais de VEs: exossomas originários do compartimento endossômico, microvesículas originárias da membrana celular e corpos apoptóticos que são libertados durante a apoptose.

VEs são conhecidas por serem libertadas por todos os tipos de células e mediar a comunicação intercelular enquanto organelos de sinalização extracelular, transmitindo informações específicas das células de origem para as células-alvo. Devido a estas propriedades, VEs podem ser aplicadas em novas abordagens terapêuticas incluindo terapia anti tumoral, antiparasitária, para doenças neurodegenerativas, doenças cardíacas, vacinação e imunoterapia.

Existem ainda inúmeras barreiras associadas ao uso de VEs como veículos terapêuticos. No entanto, devido à crescente pesquisa e consequentemente melhor conhecimento das funções das VEs, o seu enorme potencial tem vindo a revelar-se.

Palavras-Chave: Imunoterapia, interação parasita-hospedeiro, malária, vacinas, vesículas extracelulares.

Abstract

Extracellular vesicles (EVs) are small, lipid-enclosed particles with the ability to transport nucleic acids, proteins, and lipids. There are three major types of EVs: exosomes originating from the endosomal compartment, microvesicles from the cell membrane, and apoptotic bodies released during apoptosis.

EVs are known to be released by all cell types and mediate intercellular communication as cell-derived extracellular signaling organelles that transmit specific information from their cell of origin to their target cells. As a result of these properties, EVs may serve as novel tools for various therapeutic approaches, including anti-tumor and anti-parasitic therapies, therapies for neurodegenerative and cardiac diseases, vaccination, and immunotherapy.

There are still numerous barriers preventing the use of EVs as therapeutic vehicles. However, as the body of research grows - and with it, the understanding of EVs and their various functions - the therapeutic potential of these organelles starts unraveling.

Keywords: Extracellular vesicles, immunotherapy, malaria, parasite-host interaction, vaccines.

I. Introdução

O estudo das vesículas extracelulares (VEs) é um campo de estudo emergente que tem tido um grande impacto na investigação e desenvolvimento nas últimas décadas ao nível da sua biogénese, o seu papel na comunicação intercelular, o transporte de biomoléculas e as suas funções em estados normais e de fisiopatologia.¹

A medicina de precisão é uma abordagem relativamente antiga a nível teórico, mas que, recentemente, tem atingido uma realidade prática. A especificidade do diagnóstico e terapêutica são determinantes para o sucesso da identificação da patologia e a adequação do tratamento, de forma a reduzir a severidade dos *outcomes* da doença, tempo de incapacidade e em última instância a redução/eliminação da mortalidade. Este tipo de sucesso clínico apenas é possível e absoluto num contexto de abordagem clínica individual e específica, nomeadamente em patologias com um contexto clínico complexo como o cancro, as doenças neurodegenerativas e doenças infecciosas com origem em agentes etiológicos complexos ou adaptados a determinadas resistências.²

As VEs caracterizam-se como estruturas que derivam de vias celulares, classificadas por subtipos consoante a sua biogénese. Estas partículas de pequena dimensão (entre 30 e 1000 nm), envolvidas numa camada lipídica, estão aptas a transportar vários tipos de conteúdo tais como proteínas, ácidos nucleicos e vários tipos de metabolitos. Este conteúdo pode ser transportado entre várias células, tornando-se uma forma significativa de sinalização e comunicação celular capaz de induzir sinais específicos celulares.²

Existem três tipos principais de VEs que se designam por exossomas, microvesículas e corpos apoptóticos. Estas vesículas têm origens e funções distintas consoante as condições fisiológicas do organismo, normais ou patológicas.²

A abordagem às VEs enquanto alvo terapêutico tem demonstrado ser uma oportunidade eficaz na modulação da sinalização e comunicação celular, pela inibição, ativação ou alteração desses mesmos sinais. Como são veículos de transporte de substâncias de várias vias metabólicas e de sinalização, é possível utilizar estas estruturas para a vectorização de fármacos para locais ou células específicas, com o objetivo de aumentar a eficácia terapêutica e evitar os efeitos secundários dos fármacos noutros tecidos e células saudáveis.²

2. Vesículas Extracelulares

As Vesículas Extracelulares (VEs) são um grupo heterogêneo de estruturas de pequenas dimensões constituídas por uma membrana lipídica, libertadas por todas as células e são amplamente reconhecidas por estarem envolvidas em muitos processos celulares, tanto em condições fisiológicas como patológicas.³

As células são capazes de secretar vários tipos de vesículas, quer em ambiente *in vivo*, quer em ambiente *in vitro*, que estão envolvidas em processos de sinalização e de comunicação intercelular bem como na eliminação de material celular.⁴

No ambiente *in vivo*, as VEs são encontradas em diversos fluidos corporais como o sangue, urina, líquido amniótico, leite materno, líquido seminal, saliva e derrames malignos.⁴

2.1. Biogénese

As VEs são atualmente classificadas com base na sua dimensão e forma de libertação. De acordo com estes parâmetros pode-se, então, designar três principais subtipos: exossomas, microvesículas e corpos apoptóticos. Os vários tipos de VEs apresentam vias de biogénese distintas o que resulta, essencialmente, em diferentes atividades e alvos, tipos de marcadores e conteúdos, quer à superfície quer no seu interior.⁵ Na Tabela I estão resumidas algumas das suas características, bem como as proteínas e/ou outros tipos de moléculas associadas.

Tabela I - Características das VEs. (Adaptada de Andaloussi *et al.*, 2013)¹

Tipos de Vesículas	Características		
	Origem	Tamanho	Conteúdo
Exossomas	Via Endolisossomal; ligação intraluminal de microvesículas; fusão de microvesículas com a membrana celular	40-120 nm	mRNA, microRNA e outros RNAs não codificantes; proteínas citoplasmáticas e de membrana, incluindo recetores; moléculas do complexo major de histocompatibilidade
Microvesículas	Superfície celular	50-1000 nm	mRNA, microRNA e outros RNAs não codificantes; proteínas citoplasmáticas e de membrana, incluindo recetores
Corpos Apoptóticos	Superfície celular; Formação de corpos apoptóticos	500-2000 nm	Frações nucleares; organelos celulares

2.1.1. Exossomas

Os exossomas são pequenas vesículas de origem endossomal, de membrana única com a mesma tipologia da célula e são enriquecidos em proteínas citoplasmáticas e de membrana, lípidos, ácidos nucleicos (mRNA, microRNA e outros RNAs não codificantes) e glicoconjugados. Contêm uma série de complexos de proteínas oligoméricas, com estruturas e funções complexas, associadas à membrana e apresentam heterogeneidade molecular pronunciada, incluindo recetores e moléculas do complexo major de histocompatibilidade (MHC).^{1; 6}

A formação dos exossomas ocorre no interior de endossomas, podendo identificar-se três tipos: endossomas iniciais, endossomas tardios e endossomas de reciclagem (Figura 1). Os endossomas iniciais fundem-se com as vesículas endocíticas e incorporam compostos destinados à reciclagem, degradação ou exocitose. Os conteúdos destinados à reciclagem são separados em endossomas de reciclagem (Figura 1 a). Os restantes endossomas iniciais passam por uma série de transformações até se tornarem endossomas tardios. Os endossomas tardios, também designados de corpos multi-vesiculares, contêm no seu interior diversas vesículas, denominadas de vesículas intraluminais. Os endossomas tardios fundem-se com os lisossomas ou com a membrana plasmática. A fusão com lisossomas resultará na destruição do conteúdo do endossoma tardio (Figura 1 b). Por outro lado, a fusão com a membrana plasmática resultará na secreção das vesículas para o espaço extracelular, formando os exossomas (Figura 1 c).⁶

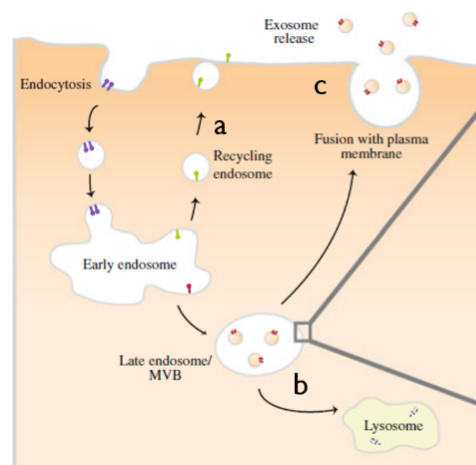


Figura 1 - Formação de exossomas pela via endossomal. (Adaptada de AKERS, Johnny C. *et al.* 2013)⁶

2.1.2. Microvesículas

Microvesículas são vesículas esféricas heterogêneas, libertadas da superfície da membrana, de diversos tipos de células, num mecanismo dependente de cálcio.⁷ Analogamente aos exossomas, são constituídas por mRNA, microRNA e outros RNAs não codificantes, proteínas citoplasmáticas e de membrana e recetores.¹

A formação das microvesículas (MVs) está associada ao desenvolvimento de uma protuberância na membrana celular (“budding”) e à sua separação ou clivagem (Figura 2). Este fenómeno está relacionado com a redistribuição da camada fosfolipídica e a sua capacidade móvel em interagir com proteínas membranares e transmembranares.⁶ Esta dinâmica da membrana é modulada por flipases e floppases o que induz a formação da referida protuberância culminando numa contração da membrana por ação de actina-miosina (Figura 2).^{8,9} Após este processo é então formada uma vesícula que contém diversos tipos de moléculas e estruturas no seu interior a qual será libertada pela célula.⁶

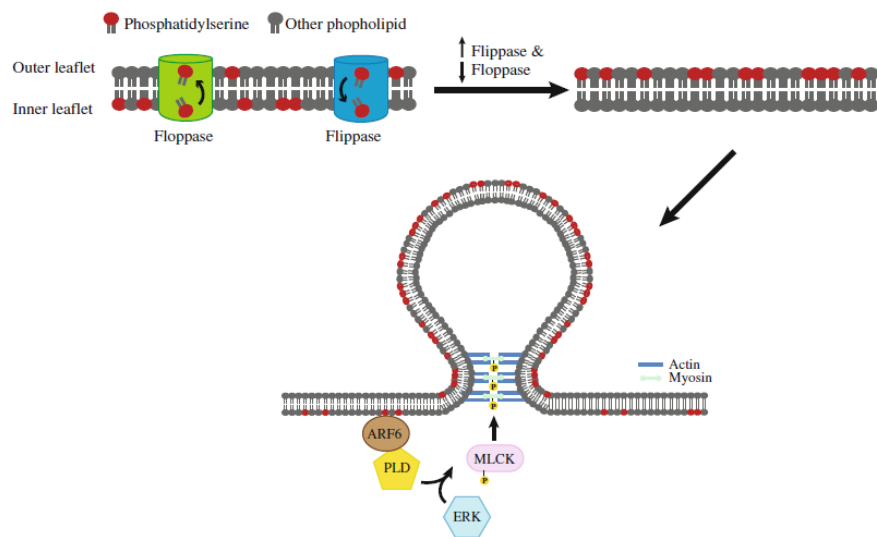


Figura 2 - Formação de microvesículas pela contração da membrana celular. (Adaptada de AKERS, Johnny C. et al. 2013)⁶

2.1.3. Corpos apoptóticos

Os corpos apoptóticos formam-se durante o processo de apoptose e são pequenos fragmentos rodeados por membrana que são eliminados por fagocitose.⁹

A formação de corpos apoptóticos está associada a um processo de morte celular (apoptose) que culmina na perda de integridade e consequente desintegração da membrana celular. São constituídas por frações nucleares e organelos celulares.⁶

Uma célula em apoptose passa por vários estádios, iniciando pela condensação da cromatina nuclear, seguida pela formação de uma protuberância de membrana, progredindo

para a desintegração do conteúdo celular em vesículas fechadas por membrana própria denominados de corpos apoptóticos.⁶

Os corpos apoptóticos são fagocitados localmente por macrófagos ou outros tipos de fagócitos. A fagocitose resultante destes corpos apoptóticos é um tipo de apresentação de antígeno em casos de infecção intracelular por agentes etiológicos como bactérias ou vírus.⁶

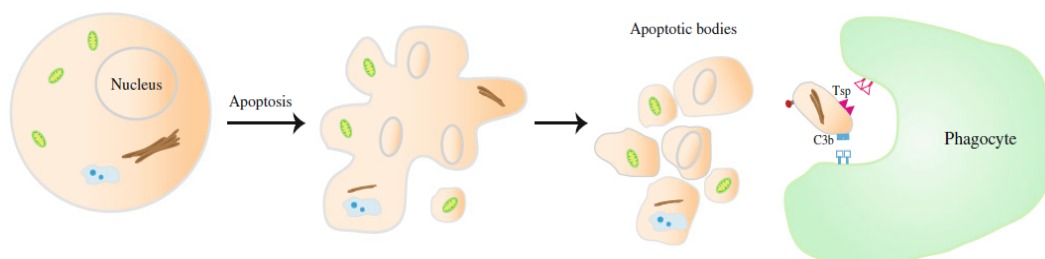


Figura 3 - Formação de corpos apoptóticos. (Adaptada de AKERS, Johnny C. *et al.* 2013)⁶

2.2. Características

Todas as VEs partilham de uma composição característica de biomoléculas: proteínas, lipídios (p.ex.: colesterol, ceramida), material genético (p.ex.: mRNA, miRNA, tRNA e DNA) e metabolitos de baixo peso molecular, ou seja, aminoácidos, ATP, glutatona, etc.⁴

Os exossomas apresentam um tamanho bastante reduzido (40-120 nm de diâmetro) e têm uma morfologia “cup-shaped”.¹² São revestidos por uma bicamada fosfolipídica, contendo elevados níveis de colesterol, esfingomielina e ceramida e contém recetores de proteínas organizados em microdomínios lipídicos das glicoproteínas. As proteínas transmembranares dos exossomas têm a mesma orientação externa da célula e têm muitas proteínas características, incluindo proteínas envolvidas no transporte e fusão da membrana.^{1:11}

As MVs apresentam um tamanho ligeiramente superior (50-1000 nm) e têm também uma morfologia “cup-shaped”.^{1:11}

Os corpos apoptóticos possuem um diâmetro maior (50-2000 nm) e têm uma morfologia mais heterogênea que as MVs e os exossomas, o que os torna mais fáceis de distinguir.^{1:11}

2.3. Funções

As VEs apresentam diversas funções de extrema relevância para o organismo como o papel regulador na sinalização intercelular, na adesão celular, coagulação, e na homeostase. (Figura 4).¹¹

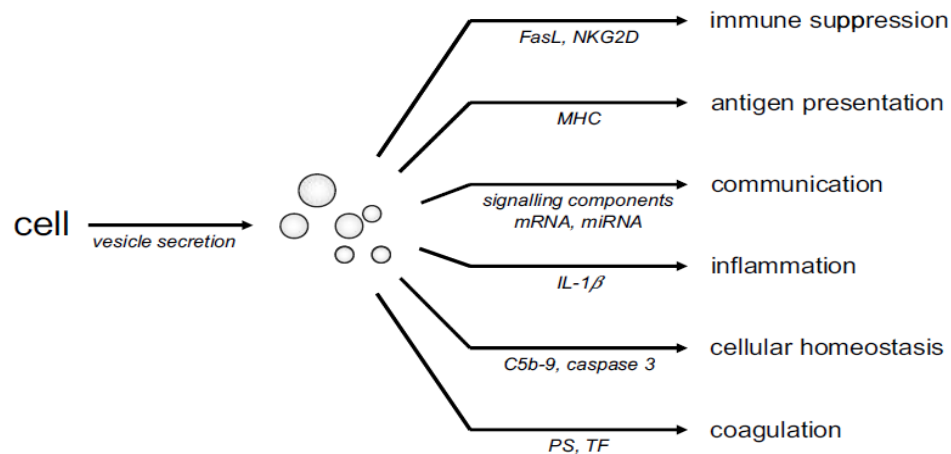


Figura 4 - Funções das VEs em células saudáveis. C5b-9 - complexo C5b-9 do sistema de complemento; IL-1 β - interleucina-1 β ; MHC - Complexo de histocompatibilidade major; NKG2D - Recetor G2D das células NK; PAF - Fator de ativação plaquetar; TF - fator tecidual. (Adaptada de HARRISON *et al.*, 2014)¹¹

2.3.1. Sinalização intercelular

Diversos estudos realizados recorrendo, principalmente, a melanócitos e queratinócitos na epiderme, macrófagos e células-tronco mesenquimais permitiram conhecer o papel das VEs na sinalização intercelular.¹² Salienta-se, entre outras, a capacidade das VEs suprimirem a atividade imunológica, apresentarem antígenos, participarem na comunicação intercelular, modularem a resposta inflamatória e fazer a regeneração e reparação tecidual.¹¹

¹²

Em relação à supressão imunitária, as VEs regulam a resposta imune, ativando ou inativando a resposta ao agente estranho ao corpo. Têm capacidade de induzir ou contribuir para a resistência celular à apoptose, controlar a ativação e/ou proliferação de células da imune adaptativa. Em consequência, também células tumorais, vírus e parasitas recorrem a estes processos para escapar ao sistema imune e, deste modo, crescer e proliferar.¹¹

Quanto à apresentação de antígenos, as VEs utilizam os MHC como mediadores desta apresentação, através dos quais conseguem regular as respostas imunes adaptativas.¹³

A comunicação intercelular pode ser mediada por meio do contacto directo célula-célula ou por transferência de moléculas secretadas, por interação no local ou à distância. Assim, as VEs funcionam como veículos para a transferência de proteínas citosólicas, lípidos e RNA entre as células.¹⁴

A reparação e regeneração tecidual desenvolve-se em três fases: inflamação, reparação e remodelação. Uma vez que as VEs têm a capacidade de regular a resposta imune,

atuam nos diferentes processos que ocorrem em cada uma das fases de reparação / regeneração tecidual.¹⁵

2.3.2. Adesão celular e coagulação

As MVs facilitam a adesão de plaquetas à matriz celular endotelial nos locais onde possa ocorrer a lesão vascular, o que faz com que as MVs derivadas de plaquetas ajudem na adesão e na formação de trombos nestes locais.¹¹

As VEs derivadas de plaquetas (pVEs) podem ser divididas em dois tipos de acordo com o seu diâmetro em vesículas pequenas (80-200nm) e vesículas grandes (400-600nm). As pVEs apresentam potencial atividade quer anticoagulante quer pró-coagulante.¹⁶

3. Terapêuticas com Vesículas Extracelulares

A crescente pesquisa e compreensão da função das VEs como mediadores importantes de diversas funções celulares têm naturalmente levado a um progressivo interesse no seu uso terapêutico.

3.1. Benefícios Terapêuticos Inatos das Vesículas Extracelulares

As VEs recolhidas de vários tipos de células mostraram uma capacidade notável em induzir a regeneração e a reparação de tecidos.¹⁷

No campo da medicina regenerativa tem havido um interesse particular nas VEs produzidas por células estaminais. As VEs derivadas de células estaminais foram utilizadas na regeneração de, entre outros, ossos e cartilagens, tecido cardíaco após enfarte de miocárdio, tecido renal em modelos de lesão renal aguda e crônica, e tecido hepático após fibrose induzida por fármacos. Na maioria desses estudos, a funcionalidade das VEs foi atribuída à transferência funcional da carga de proteção para a célula lesada.¹⁷

As VEs derivadas de células estaminais podem transferir fatores de transcrição pluripotentes iniciais para progenitores hematopoiéticos para promover a proliferação e sobrevivência.¹⁷

Outras VEs, não derivadas de células estaminais, demonstraram potencial regenerativo como por exemplo, as VEs derivadas de osteoblastos que promoveram a diferenciação osteogênica e biomineralização em células estaminais da medula óssea. Células dendríticas apresentadoras de antígenos estimuladas promoveram mielinização de oligodendrócitos mediada por VEs.¹⁷

Além disso, alguns estudos mostraram que as VEs podem induzir indiretamente a reparação por meio da regulação imunológica mediada por VEs.¹⁷

3.2. Vesículas Extracelulares como Alvos Terapêuticos

Existe extensa literatura científica sobre o papel das VEs em patologias. De um modo geral, as VEs funcionam como mediadores de vias de sinalização, como vetores de transporte e/ou como vetores de transdução de sinais em processos biológicos e bioquímicos específicos.¹⁸ O seu uso terapêutico pode ser resumido no bloqueio exógeno das vias de sinalização (caso seja prejudicial), ou na indução das vias de sinalização (caso tenha ação protetora).¹⁷

Em muitos estudos relacionados com doenças oncológicas, as VEs produziram efeitos pró-tumorais através da transferência de ácidos nucleicos oncogênicos e de proteínas. As VEs participam em muitos processos patogênicos no cancro, incluindo a resistência à terapia, *crosstalk* do tumor do estroma e angiogênese, estabelecendo nichos pré-metastáticos, e na modulação imunológica. Nestes casos, a inibição da produção, libertação ou absorção de VEs pró-tumorais específicas no microambiente tumoral pode ser benéfica para interromper a metástase e prevenir fenótipos invasivos.¹⁷

O silenciamento de Rab27a, uma Rab-GTPase chave envolvida na biogênese de VEs, reduziu o crescimento tumoral e metástase em ratos, sugerindo que a modulação da biogênese de VEs poderá ser uma estratégia terapêutica eficaz. O GW4869, um inibidor da esfingomielinase, é normalmente usado para bloquear a biogênese de VEs em vários estudos. No entanto, tanto o silenciamento de GW4869 como o de Rab27a são acompanhados por efeitos secundários, como alteração da homeostase e prevenção da secreção relacionada com lisossomas e, portanto, podem interferir na fisiologia celular normal.¹⁷

Alternativamente, o uso de inibidores farmacológicos de endocitose para inibir o *uptake* de VEs também pode ser uma via terapêutica a ser explorada. Porém, qualquer um destes inibidores farmacológicos de endocitose seria inespecífico, uma vez que são incapazes de distinguir entre atividade “normal” e “patogénica” de VEs, bem como existem efeitos fora do alvo pretendido. É necessário conhecer os mecanismos de *uptake* específicos de VEs para desenvolver novas formas de direcionar a comunicação de VEs patogénicas.¹⁷

3.3. Vetorização

A vetorização corresponde ao processo de introdução na célula de diferentes partículas, como elementos funcionais (proteínas, lípidos e ácidos nucleicos), fármacos, parasitas, vírus, entre outros. Para tal, é necessário um vetor (essencialmente um transportador dessas partículas) que seja capaz de ultrapassar barreiras fisiológicas para entrega do seu conteúdo e que o faça no local certo. A escolha do vetor depende do objetivo da vetorização e tem de ser realizada de forma minuciosa para não haver destruição das diferentes partículas que queremos introduzir e para garantir que o vetor consegue fazer a entrega no local pretendido sem se degradar.¹⁹

As VEs atuam como vetores de transporte ou transdutores de sinal, e são candidatas ideais para serem utilizadas como transportadores terapêuticos. Possuem o potencial de penetrar tecidos e aumentar a capacidade de direcionamento de biomoléculas e, de modo semelhante a outros nanotransportadores com polímeros sintéticos (como lipossomas, polimerossomas ou nanopartículas lipídicas), são capazes de encapsular fármacos hidrofóbicos

e proteger a carga de RNA/proteína da degradação enzimática. Desta forma, aumentam a semi-vida do fármaco em circulação através do aumento da sua solubilidade e estabilidade.^{18;}

20; 21

A constituição das VEs pode ser uma “réplica” das suas células-mãe (i.e. ao conterem os mesmos lípidos, proteínas e hidratos de carbono) e conseqüentemente apresentam baixa toxicidade e imunorreatividade enquanto veículos. Apresentam várias vantagens sobre outras nanopartículas com polímeros sintéticos, pois oferecem a capacidade intrínseca única de cruzar barreiras biológicas, como a barreira hematoencefálica, têm marcadores que reduzem a sua eliminação imunológica e, em alguns casos, têm a capacidade de serem direcionadas para células da imunidade inata.¹⁷

Tem havido algum sucesso em estudos pré-clínicos usando VEs para fornecer novas terapias direcionadas para o cancro:

- VEs contendo paclitaxel quimioterapêutico (medicamento citotóxico com indicações terapêuticas em diversas neoplasias) pode ser absorvido pelo adenocarcinoma pancreático humano inibindo a proliferação e linhas celulares de cancro da próstata de modo a induzir a morte celular.^{22; 23}
- VEs carregadas com doxorrubicina (outro citotóxico com indicações terapêuticas em diversas neoplasias) são capazes de passar a barreira hematoencefálica, num modelo de cancro de peixe-zebra, reduzindo o número de células carcinogénicas.²⁴
- VEs de células dendríticas carregadas com antígenos associados a tumor possuem potencial para o tratamento do melanoma metastático e cancro de pulmão.^{25; 26}

Desenvolvimentos recentes incluem, também, o uso de VEs para administração de antibióticos, para o tratamento de infeções localizadas; siRNA com o objetivo de direcionar genes relacionados com a doença de Huntington, e antígenos, para o desenvolvimento de vacinas.^{17; 27}

As VEs também entregaram com sucesso o sistema CRISPR/Cas9 às células recetoras, de modo a editar genes específicos, abrindo caminho para VEs serem usadas no futuro para edição direcionada de genes.²

3.4. Imunoterapia

A aplicação extensiva de VEs na modulação do sistema imune, para aumentar ou suprimir a atividade imunológica, torna as VEs candidatas atraentes à imunoterapia para doenças como o cancro. Embora esta dicotomia funcional aumente a versatilidade das VEs como agentes terapêuticos, também aumenta o risco de resultados adversos imprevisíveis.

Para minimizar esse risco, é fundamental que as VEs, com as propriedades funcionais adequadas, sejam isoladas para terapêutica. A capacidade das VEs aumentarem ou suprimirem a atividade imunológica depende da fonte celular, do estado da origem celular, como por exemplo a maturidade, e do tipo de VEs. Assim, um requisito para o desenvolvimento de VEs como agentes imunoterapêuticos é a caracterização física e biológica de cada um dos tipos de VEs produzidas por uma célula num estado fisiológico específico.²⁸

Uma das aplicações é a utilização de VEs derivadas de tumor. Estas VEs conseguem transportar moléculas imunossupressoras, que as tornam importantes mediadores da evasão do tumor e possíveis alvos na imunoterapia.²⁹

4. Vesículas Extracelulares nas Doenças

4.1. Cancro

As VEs são importantes na modulação do crescimento do cancro, mediante diversos mecanismos. De um modo geral, células no microambiente do tumor comunicam entre si principalmente por quimiocinas, citocinas e fatores de crescimento. Contudo, a comunicação é também mediada por VEs derivadas de células do microambiente do tumor. Quando o microambiente do tumor se torna mais maduro a produção de VEs aumenta exponencialmente, promovendo a progressão do tumor.³⁰

Assim, a redução da quantidade de VEs derivadas do tumor pode representar uma oportunidade terapêutica na inibição da progressão do cancro. Existem neste momento descritas três tipos de estratégias terapêuticas cujo alvo são as VEs: eliminação de VEs da circulação sanguínea, inibição da secreção de VEs e o bloqueio da absorção de VEs.³⁰

Um exemplo é o uso de hemofiltração para remoção de VEs em cancros de recetor de crescimento epidérmico humano 2 (HER-2). A amplificação ou expressão excessiva do recetor HER-2, pertencente à família dos recetores de crescimento epidérmico, está associada ao desenvolvimento e progressão de diversos tipos de cancros da mama agressivos.³¹ Além da sua presença nos tecidos, o HER-2 está também presente na superfície das VEs derivadas das células cancerígenas, interferindo na eficácia da terapêutica com anticorpos monoclonais. Consequentemente, terapias com o trastuzumab (anticorpo monoclonal humanizado, utilizado em tratamentos de cancro da mama), cuja ação depende da ligação HER-2, são menos efetivas porque os anticorpos ligam-se também às VEs. A remoção seletiva das VEs que exprimem HER-2, mediante o uso de um sistema de hemofiltração, demonstrou ser uma via altamente benéfica no tratamento deste tipo de cancros.^{30,34} Outra abordagem para eliminar as VEs é a utilização de anticorpos.³² Os anticorpos anti-CD9 e anti-CD63, marcadores presentes na superfície de VEs derivadas de cancro, foram administrados em ratos, em modelo de xenoenxerto de cancro da mama humano, e embora não tenha demonstrado efeito no crescimento do cancro primário, preveniram significativamente o aparecimento de metástases pulmonares.³³

Existe uma grande variedade de estudos focados em abordagens terapêuticas envolvendo a inibição da secreção de VEs. Estudos de triagem e consequente “reaproveitamento” de moléculas previamente conhecidas é uma das estratégias mais promissoras desta via terapêutica. Salienta-se a triagem com 4 580 compostos que permitiu identificar inibidores seletivos da biogénese de VEs no cancro da próstata. A identificação da

manicina A, um antibiótico já conhecido, pode ser agora “reaproveitado” pela sua capacidade de inibir a secreção de VEs derivadas de células de cancro da próstata, sem interferência nas VEs de células epiteliais saudáveis da próstata.³⁴

A identificação de mecanismos específicos de absorção de VEs permite desenvolver novas estratégias de inibição da progressão de cancro.³⁰ O *uptake* de VEs é reduzido significativamente após o tratamento com proteinase K, indicando que as proteínas à superfície das VEs participam no processo.³⁵ Foi demonstrado que os proteoglicanos de sulfato de heparina (HSPG) funcionam na membrana da célula como recetores de VEs e, consequentemente, os inibidores de HSPG inibem o *uptake* de VEs. Estes dois mecanismos distintos (proteínas das VEs e recetores celulares de VEs) podem representar novas estratégias no tratamento de cancro.³⁰

4.2. Doenças neurodegenerativas

Doenças neurodegenerativas são caracterizadas pela degeneração progressiva dos neurónios no Sistema Nervoso Central (SNC) ou no Sistema Nervoso Periférico. Estas incluem a Esclerose Amiotrófica Unilateral, o Alzheimer, o Parkinson e as doenças de prião.³⁶

Vesículas extracelulares pequenas (sVEs) foram envolvidas na propagação das doenças neurodegenerativas. A capacidade que as sVEs têm em passar a barreira hemato-encefálica, por transcitose, permite uma comunicação entre o SNC e os órgãos distais.³⁶

As VEs possuem potencial para entrega de agentes terapêuticos e siRNA no cérebro. A maioria das proteínas “misfolded” associadas a doenças neurodegenerativas são transportadas via VEs (VEs neuronais), podendo ser consideradas como novos marcadores de diagnóstico e com potencial aplicação no desenvolvimento de medicamentos.³⁷

O fornecimento da enzima catalase ao cérebro através de exossomas pode ser usado para o tratamento da Doença de Parkinson.³⁷

Os exossomas podem conter biomarcadores como proteínas e microRNAs, que apresentam variações nos seus níveis em doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer (DA). Foi descoberto que o nível de miRNAs era significativamente diferente e que a regulação negativa de miR-342-3p foi o melhor biomarcador de diagnóstico de DA. Assim, os microRNAs podem ser usados como biomarcadores no diagnóstico de DA, mesmo em estágios pré-clínicos.³⁷

4.3. Doenças Cardíacas

Doenças cardíacas são a causa mais prevalente de mortalidade e morbidade, no mundo, apesar dos avanços e das descobertas de novas terapias.³⁸ O interesse no desenvolvimento de terapêuticas livres de células, particularmente aquelas que envolvem VEs, tem aumentado, uma vez que evita o transplante de grande número de células, é um produto melhor definido e mais barato.³⁹

Evidências sugerem que as VEs estão envolvidas em muitos processos cardiovasculares, fisiológicos e patológicos, incluindo a regulação da angiogênese, controlo da pressão arterial, hipertrofia dos cardiomiócitos, apoptose e/ou sobrevivência e fibrose cardíaca. Dada a sua presença em muitos fluidos corporais, as VEs têm sido usadas como potenciais biomarcadores de doenças cardíacas. Além disso, como as VEs são uma componente importante do efeito parácrino (atinge um conjunto de células vizinhas com uma elevada concentração de hormonas, sem comprometer outras células do corpo) nas terapias baseadas em células estaminais, as VEs são candidatas para a terapêutica de doenças cardiovasculares. Estudos pré-clínicos demonstraram o potencial terapêutico das VEs como protetoras do coração contra a lesão isquémica. Subsequentemente, muitos outros estudos pré-clínicos reportaram as vantagens de VEs na regeneração e proteção cardiovascular.³⁹

4.4. Doenças Infeciosas

A comunicação intercelular é crítica para a manutenção da homeostase corporal e para a resposta rápida e apropriada à lesão celular e à invasão patológica. Esta comunicação pode ser mediada por contacto direto célula-célula, mas geralmente é realizada por fatores solúveis como hormonas, citocinas e mediadores inflamatórios que conseguem comunicar com um número elevado de células efectoras, quer localmente quer dispersas. Uma vez que as VEs são libertadas pela maioria das células nucleadas e que a composição muda sob diferentes condições fisiológicas e patológicas, são cada vez mais reconhecidas como importantes reguladoras das funções celulares e dos mecanismos de doença.⁴⁰

As VEs libertadas por células durante uma infeção podem ser derivadas quer do hospedeiro quer do agente patogénico, apresentando atividade e composição diferentes. Estas diferentes populações de VEs podem ter efeitos sinérgicos ou mesmo antagónicos nas células recetoras.⁴⁰

Os agentes patogénicos podem ser intracelulares ou extracelulares, e esta característica é determinante nos mecanismos de invasão usados pelo agente patogénico e nas

respostas imunes do hospedeiro. Também é uma característica importante para o papel das VEs no mecanismo da doença.⁴⁰

Para agentes patogênicos extracelulares, os padrões moleculares associados a agentes patogênicos (PAMPs), que são eliminados ou secretados por meio de vesículas membranares ou fatores solúveis, podem interagir diretamente com recetores de reconhecimento padrão na membrana plasmática da célula hospedeira. Alternativamente, PAMPs ou antígenos podem ser endocitados por células apresentadoras de antígeno, permitindo a interação com recetores intracelulares ou processamento de antígenos para apresentação por moléculas MHC classe II.⁴⁰

Existem mecanismos análogos para agentes patogênicos intracelulares, que comunicam por endocitose e exocitose com o espaço extracelular. Por exemplo, macrófagos infectados com *Mycobacterium tuberculosis* podem libertar moléculas bacterianas por via de vesículas membranares ou por incorporação quer na membrana do hospedeiro quer nas vesículas intraluminais, para serem libertadas através das VEs. A capacidade que os agentes patogênicos intracelulares têm em libertar moléculas para o espaço extracelular é pouco claro mas pode ocorrer pela lise de células infectadas ou libertação de VEs que incluem materiais derivados do citosol.⁴⁰

Existem muitas vantagens associadas ao uso de VEs como base para um sistema terapêutico específico para agentes patogênicos.⁴¹

As VEs podem ser modificadas, de modo a incorporar vários fatores derivados de agentes patogênicos, incluindo fatores que as direcionem para as células de interesse. VEs são eficazmente internalizadas por células apresentadoras de antígeno, que podem ser úteis na entrega direta de antígenos ou de complexos antígeno-MHC ou por moléculas co-estimulatórias para promover diretamente respostas imunes contra um agente patogênico.⁴¹

4.4.1. Malária

A malária é uma doença complexa causada por protozoários do género *Plasmodium* e é a maior causa de morte e morbidade no mundo por parasitas. A infeção é transmitida principalmente pela picada de um mosquito fêmea do género *Anopheles*.⁴²

O ciclo de vida de *Plasmodium* spp. é heteroxeno e apresenta três fases distintas: fase exo-eritrocítica, fase eritrocítica e fase esporogónica, sendo que as duas primeiras correspondem à reprodução assexuada e a última à reprodução sexuada (Figura 5).⁴³

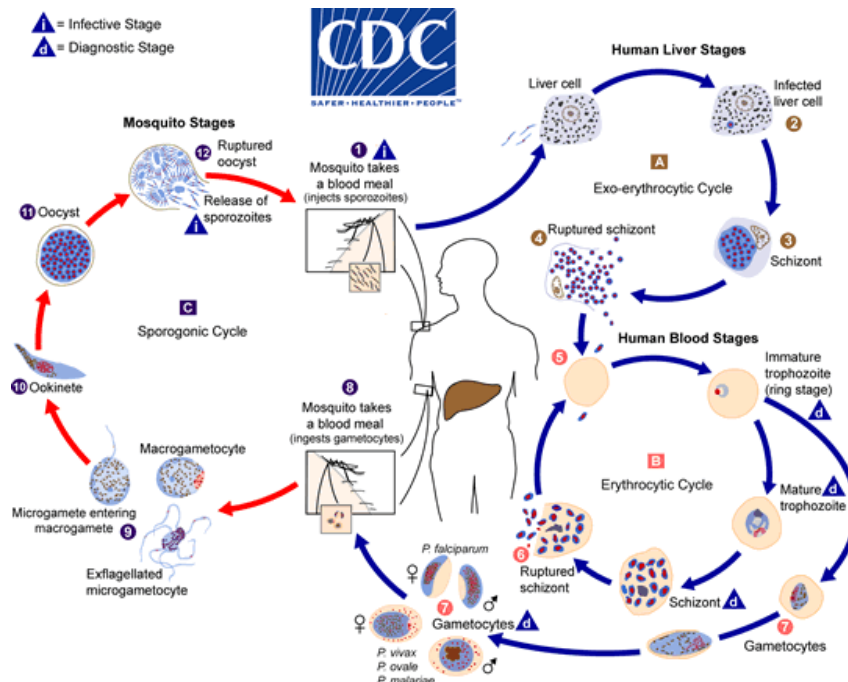


Figura 5 - Ciclo de vida de *Plasmodium* spp. (Imagem adaptada de ⁴⁴)

Mais de 100 espécies de *Plasmodium* podem infectar várias espécies de animais, mas apenas 5 espécies infectam o ser humano em condições naturais: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* e *Plasmodium knowlesi*.⁴²

P. falciparum é o agente etiológico da malária mais severa e é a principal causa de morte por malária em crianças de África. Neste caso, os eritrócitos podem obstruir pequenos vasos sanguíneos e quando ocorre no cérebro, resulta em malária cerebral (MC).⁴⁵ As complicações de malária cerebral incluem inconsciência, convulsões e coma, podendo levar à morte. Cerca de um quarto dos pacientes que sobrevivem à MC sofrem de défices neurológicos e cognitivos, tais como comportamento anormal, epilepsia e funções motoras diminuídas.⁴⁶

Ao longo dos anos compostos de quinina e de artemisinina têm sido usados para o tratamento de malária severa. Contudo, existe um crescente desenvolvimento de resistências e precisam de ser desenvolvidas novas terapêuticas, de preferência terapêuticas que sejam direcionadas ao hospedeiro ou à interação hospedeiro-parasita. Compreender os mecanismos subjacentes à fisiopatologia da MC ajudará a identificar potenciais novos alvos terapêuticos. Uma das principais limitações dos estudos de MC em humanos é que o estudo detalhado da patologia e patogénese cerebral só pode ser realizada pós-morte. Apesar dos modelos animais de MC conseguirem reproduzirem algumas das características, a patologia da doença difere consideravelmente da que ocorre no homem. A MC humana é caracterizada pela captura de glóbulos vermelhos infectados para a microvasculatura cerebral com poucas alterações inflamatórias no cérebro. A MC no modelo animal do rato mostra pouca ou nenhuma captura

dos glóbulos vermelhos infetados, mas com uma proeminente resposta pró-inflamatória de citocinas no cérebro.⁴⁷

Uma das principais dificuldades no controlo da malária reside na ocorrência de resistência aos medicamentos, em parte devido à exposição do parasita a baixas doses terapêuticas. Existem vários fatores que potenciam este problema, como:

- a) a localização intracelular do parasita em hepatócitos e glóbulos vermelhos (GVs),⁴⁵
- b) O ambiente físico do sistema circulatório com forte fluxo sanguíneo e em várias direções, afetando a interação dos medicamentos com GVs alvo;⁴⁵
- c) As características físico-químicas dos medicamentos antimaláricos. A maioria são hidrofílicos e amplamente distribuídos pelos tecidos do corpo após a administração. Assim, ocorre um metabolismo rápido do fármaco no fígado, resultando em semi-vidas curtas, de menos de 1 hora a algumas horas.⁴⁵

Assim, o desenvolvimento de tratamentos mais eficientes para a malária é urgente. Frequentemente, a administração de medicamentos antimaláricos ocorre numa janela terapêutica estreita entre quantidades muito altas que induzem efeitos secundários tóxicos e concentrações locais muito baixas que podem contribuir para o desenvolvimento de resistência.⁴⁸

Atualmente é recomendada a administração de combinações de dois ou mais fármacos, com diferentes mecanismos de ação e/ou diferentes alvos bioquímicos no parasita, para minimizar o desenvolvimento de resistência. Outra estratégia crucial é o desenvolvimento de sistemas de entrega direcionada de medicamentos, capazes de entregar especificamente o composto antimalárico aos GVs infetados. Desta forma aumenta-se a exposição do parasita a doses suficientemente altas para serem letais ao parasita e minimiza-se o risco de desenvolvimento da resistência aos medicamentos.⁴⁸

4.4.2. Vesículas Extracelulares na Malária Cerebral

Durante a infeção por malária, as quantidades de VEs no plasma aumentam em pacientes infetados em comparação com indivíduos saudáveis, com as maiores concentrações de VEs a serem observadas em doentes com malária grave.⁴⁸

Foi demonstrado que as VEs derivadas dos GVs infetados podem ser internalizadas por outros GVs, monócitos e células endoteliais e transmitir material genético.⁴⁸

Os primeiros estudos focaram-se nas MVs de células do hospedeiro. Estas MVs foram associadas à malária devido ao seu papel na patogénese cerebral, visto que elevados níveis de

MVs derivadas do endotélio estavam presentes em pacientes com malária cerebral. Os níveis de MVs no plasma de pacientes com malária cerebral encontram-se associados aos níveis elevados de TNF no plasma.⁴⁹

O papel das MVs na malária foi, posteriormente, testado usando modelos de ratos com doença severa. Ratos *knock-out* para o transportador de cassetes de ligação ao ATP (ABCA1), que têm menor capacidade de produção de MVs, foram protegidos da MC. Em ratos do grupo controle, as MVs das plaquetas, monócitos e células endoteliais do hospedeiro, foram libertadas durante a infecção, mas no grupo *knock-out* para ABCA1 a libertação foi significativamente reduzida. Em particular, houve redução de marcadores inflamatórios como TNF sérico e ocorreu sequestro de plaquetas e leucócitos no cérebro. Estes resultados corroboraram a associação das MVs com a citoaderência parasitária e o seu papel provável na doença severa, particularmente na MC.⁴⁶ Além disso, MVs endoteliais induzidas por TNF, produzidas *in vitro*, quando injetadas por via intravenosa em ratos não infetados, foram capazes de desencadear hemorragias cerebrais semelhantes às existentes na MC.⁴⁹

A importância da ABCA1 na patogenicidade da malária relacionado com as MVs foi posteriormente apoiada por um estudo de campo de pacientes humanos infetados com *Plasmodium falciparum*, onde os níveis de MVs nos casos de malária severa e malária não complicada foram associados aos haplotipos do promotor ABCA1. Foi reportado que a libertação de MVs era superior durante a infecção, que os níveis de MVs se relacionavam positivamente com a gravidade da doença, e que haplotipos do promotor ABCA1 foram associados à suscetibilidade para a doença severa.⁴⁶

Durante a malária, são produzidas MVs de diversas origens, tanto em pacientes como em modelos de ratos. As MVs de plaquetas podem aumentar a adesividade das células endoteliais para eritrócitos parasitários, principalmente pela transferência de antígenos plaquetários, CD36, para a superfície do endotélio cerebral.⁴⁹

Na verdade, um papel efetor das MVs na imunogenicidade é apoiada por (i) MVs conseguem alterar o fenótipo e as funções das células endoteliais; (ii) as MVs são fortes elementos pró-inflamatórios e (iii) as MVs interferem com a ligação das células alvo, reduzindo a sua ativação. Adicionalmente, MVs têm o potencial de participar na apresentação do antígeno, de expressar moléculas MHC, e de amplificar a proliferação das células T. Assim, as MVs podem ser imunomoduladores além dos seus papéis como efetores na imunopatogenicidade.⁵⁰

Estudos recentes demonstraram que as VEs têm a capacidade de incorporar fatores parasitários, colocando-os na circulação sanguínea, ajudando na amplificação da infecção e

consequente resposta imunitária.⁵¹ Em estudos com animais verificou-se que a inibição de VEs, induzida geneticamente ou farmacologicamente, evita o desenvolvimento de MC.⁵²

5. Vesículas Extracelulares e Vacinas

O uso de VEs como vacinas contra agentes patogénicos apresenta grandes vantagens, incluindo a melhoria da distribuição de antígenos, dada a capacidade das VEs circularem nos fluidos corporais e atingirem órgãos, terem condições estáveis para manter a estrutura das proteínas do RNA e do DNA e a ligação e absorção eficientes pelas células apresentadoras de antígeno devido à expressão de moléculas de adesão nas VEs.⁴⁰

Vacinas baseadas em VEs podem ser derivadas de células humanas expostas a agentes patogénicos ou diretamente de agentes patogénicos. VEs derivadas de células apresentadoras de antígenos, em particular células dendríticas pulsadas com agentes patogénicos, parecem ser uma fonte promissora de vacinas de VEs. Antígenos de *Leishmania* transferidos para as VEs derivadas de células dendríticas conferiram proteção contra a infeção, induzindo a proliferação das células T. Além disso, exossomas derivados de células dendríticas previamente pulsados com agentes patogénicos induziram a produção de imunoglobulina protetora em ratos que foram injetados com doses letais de *Streptococcus pneumoniae* ou *Corynebacterium diphtheriae*.⁵³

Vacinas derivadas de VEs de bactérias são outra fonte promissora de vacinas pois permitem estabilidade farmacológica e podem ser obtidas em grande escala e com alto rendimento, adaptando a produção da fermentação bacteriana. Podem ser projetadas para terem o número e tipo de antígeno desejado. Dada a sua natureza particular, são eficientemente internalizadas pelas células T e reconhecidas pelo sistema imune inato. As VEs de bactérias funcionam como adjuvante e não necessitam de aditivos, o que reduz a complexidade da formulação e aumenta a facilidade de produção. As VEs como o exemplo de *Haemophilus influenza*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholera*, *Bordetella pertussis* e outros, mediaram a proteção contra agentes infecciosos em vários modelos de rato, o que indica o seu grande potencial terapêutico.⁵³ De facto, as VEs de bactérias estão a ser estudadas como vacinas, em ensaios clínicos. Acredita-se que oferecem vantagens em relação às vacinas convencionais e que sejam eficazes contra doenças infecciosas como a tuberculose e doenças entéricas, que atualmente carecem de tratamentos eficazes.⁵⁴

Em comparação com outras terapêuticas biológicas, como terapias de células e vírus, as VEs não se conseguem dividir e multiplicar, sugerindo que as VEs são mais seguras. Todavia, existe o risco de isolar concomitantemente agentes patogénicos com VEs, tais como vírus que tenham propriedades físicas semelhantes às VEs. Os vírus podem também ser internalizados em VEs como um meio de disseminação e evasão imunológica.⁵⁴

O desenvolvimento de vacinas contra a malária é de interesse global, mas devido à complexidade do ciclo de vida do *Plasmodium* e à abundância de proteínas de superfície, continua a ser um grande desafio. Apesar de muitos antígenos terem sido avaliados como candidatos para potenciais vacinas antimaláricas, o sucesso foi limitado. A vacina RTS,S, uma vacina aprovada contra a malária, mostrou eficácia limitada. Existe um interesse crescente na utilização de VEs para melhorar a entrega de antígenos, bem como no desenvolvimento de novas tecnologias para a produção de VEs em larga escala.⁴⁶

Estudos relatam a transferência de moléculas oncogênicas de células tumorais para células normais. Indicam também que a carga oncogênica em VEs tumorais regula as células normais.⁴⁶

Estudos clínicos e pré-clínicos indicam que vacinas baseadas em VEs, como tratamentos antitumorais ou antipatogênicos, são viáveis e bem tolerados, mas ainda não mostram efeitos terapêuticos imunostimuladores consistentes em humanos.⁵⁴

6. Conclusão

As VEs são estruturas membranares derivadas de quase todos os tipos de células. Existem vários tipos de VEs, salientam-se as MVs, os exossomas e os corpos apoptóticos.¹²

Evidências crescentes indicam que as VEs desempenham funções importantes em várias doenças humanas, e uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos pode fornecer novas perspectivas para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas.⁴¹

Moléculas imunomoduladoras presentes nas VEs interagem na resposta aos agentes patogênicos, ativando ou suprimindo as respostas imunológicas e, portanto, o conhecimento desses mecanismos é crucial para o desenvolvimento de vacinas e imunoterapias baseadas na utilização de VEs.⁴¹

O futuro da utilização de VEs depende essencialmente da capacidade de detecção, identificação e isolamento destas estruturas de forma a obter especificidade na sua aplicação, seja no diagnóstico, monitorização da progressão da patologia ou no tratamento.⁵⁵

A possibilidade da utilização das VEs como sistema de distribuição de fármacos ou de outras substâncias como fármacos anti-tumorais, microRNA e agentes anti-inflamatórios é considerada muito promissora na prática clínica.⁵⁵

7. Referências

1. ANDALOUSSI, Samir EL *et al.* - Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*. ISSN 14741776. (2013).
2. GAMEIRO, Gustavo Rosa *et al.* - Precision Medicine: Changing the way we think about healthcare. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*. ISSN 19805322. (2018).
3. NIEL, Guillaume VAN; D'ANGELO, Gisela; RAPOSO, Graça - Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. ISSN 14710080. (2018).
4. WEN, Chuan *et al.* - Biological roles and potential applications of immune cell-derived extracellular vesicles. *Journal of Extracellular Vesicles*. ISSN 20013078. 2017). doi: 10.1080/20013078.2017.1400370.
5. ABELS, Erik R.; BREAKFIELD, Xandra O. - Introduction to Extracellular Vesicles: Biogenesis, RNA Cargo Selection, Content, Release, and Uptake. *Cellular and Molecular Neurobiology*. ISSN 15736830. (2016).
6. AKERS, Johnny C. *et al.* - Biogenesis of extracellular vesicles (EV): Exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *Journal of Neuro-Oncology*. ISSN 15737373. (2013).
7. TRICARICO, Christopher; CLANCY, James; D'SOUZA-SCHOREY, Crislyn - Biology and biogenesis of shed microvesicles. *Small GTPases*. ISSN 21541256. 8:4 (2017) 220–232.
8. MCCONNELL, Russell E. *et al.* - The enterocyte microvillus is a vesicle-generating organelle. *Journal of Cell Biology*. ISSN 00219525. (2009).
9. ABBOTT, Joel D. *et al.* (EDS.) - Apoptotic bodies BT - *Rheumatology and Immunology Therapy*. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, (2004).
10. CAMPANELLA, Claudia *et al.* - On the choice of the extracellular vesicles for therapeutic purposes. *International Journal of Molecular Sciences*. ISSN 14220067. (2019).
11. HARRISON, Paul; GARDINER, Chris; SARGENT, Ian L. - *Extracellular Vesicles in Health and Disease*. 1st Editio ed. New York : [s.n.]
12. STAHL, Philip D.; RAPOSO, Graca - *Extracellular Vesicles: Exosomes and Microvesicles, Integrators of Homeostasis*. *Physiology (Bethesda, Md.)*. ISSN 15489221. (2019).
13. LINDENBERGH, Marthe F. S.; STOORVOGEL, Willem - *Antigen Presentation by*

Extracellular Vesicles from Professional Antigen-Presenting Cells. *Annual Review of Immunology*. ISSN 15453278. (2018).

14. RAPOSO, Graça; STOORVOGEL, Willem - Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *Journal of Cell Biology*. ISSN 00219525. (2013).

15. FAIS, Stefano *et al.* - Evidence-Based Clinical Use of Nanoscale Extracellular Vesicles in Nanomedicine. *ACS Nano*. ISSN 1936086X. (2016).

16. PUHM, Florian; BOILARD, Eric; MACHLUS, Kellie R. - Platelet Extracellular Vesicles. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. ISSN 1079-5642. (2020).

17. MELLING, Genevieve E. *et al.* - The Challenges and Possibilities of Extracellular Vesicles as Therapeutic Vehicles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. ISSN 18733441. (2019).

18. SIMEONE, Pasquale *et al.* - Extracellular vesicles as signaling mediators and disease biomarkers across biological barriers. *International Journal of Molecular Sciences*. ISSN 14220067. (2020).

19. LIN, Erh-Hsuan; LIN, Erh-Hsuan - NON-VIRAL VECTORIZATION OF THERAPEUTIC MOLECULES FOR LUNG CANCER THERAPY Présentée et soutenue publiquement par. (2008).

20. MENG, Wanrong *et al.* - Prospects and challenges of extracellular vesicle-based drug delivery system: considering cell source. *Drug Delivery*. ISSN 15210464. (2020).

21. NOREN HOOTEN, Nicole *et al.* - Association of Extracellular Vesicle Protein Cargo with Race and Clinical Markers of Mortality. *Scientific Reports*. ISSN 20452322. 9:1 (2019) 1–11.

22. PASCUCCI, Luisa *et al.* - Paclitaxel is incorporated by mesenchymal stromal cells and released in exosomes that inhibit in vitro tumor growth: A new approach for drug delivery. *Journal of Controlled Release*. ISSN 18734995. (2014).

23. SAARI, Heikki *et al.* - Microvesicle- and exosome-mediated drug delivery enhances the cytotoxicity of Paclitaxel in autologous prostate cancer cells. *Journal of Controlled Release*. ISSN 18734995. (2015).

24. YANG, Tianzhi *et al.* - Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in Danio Rerio. *Pharmaceutical Research*. ISSN 1573904X. (2015).

25. MORSE, Michael A. *et al.* - A phase I study of dexosome immunotherapy in patients with

- advanced non-small cell lung cancer. *Journal of Translational Medicine*. ISSN 14795876. (2005).
26. ESCUDIER, Bernard *et al.* - Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: Results of the first phase I clinical trial. *Journal of Translational Medicine*. ISSN 14795876. (2005).
27. PARK, Chang Won *et al.* - Double-stranded siRNA targeted to the huntingtin gene does not induce DNA methylation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. ISSN 0006291X. (2004).
28. ZHANG, Bin *et al.* - Immunotherapeutic potential of extracellular vesicles. *Frontiers in Immunology*. ISSN 16643224. (2014).
29. MATHEW, Matthen *et al.* - Extracellular vesicles as biomarkers in cancer immunotherapy. *Cancers*. ISSN 20726694. 12:10 (2020) 1–21.
30. URABE, Fumihiko *et al.* - Extracellular vesicles as biomarkers and therapeutic targets for cancer. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*. ISSN 15221563. (2020).
31. MITRI, Zahi; CONSTANTINE, Tina; O'REGAN, Ruth - The HER2 Receptor in Breast Cancer: Pathophysiology, Clinical Use, and New Advances in Therapy. *Chemotherapy Research and Practice*. ISSN 2090-2107. (2012).
32. NISHIDA-AOKI, Nao *et al.* - Disruption of Circulating Extracellular Vesicles as a Novel Therapeutic Strategy against Cancer Metastasis. *Molecular Therapy*. ISSN 15250024. (2017).
33. KHUSHMAN, Moh'd *et al.* - Exosomal markers (CD63 and CD9) expression pattern using immunohistochemistry in resected malignant and nonmalignant pancreatic specimens. *Em Pancreas*
34. DATTA, Amrita *et al.* - Manumycin A suppresses exosome biogenesis and secretion via targeted inhibition of Ras/Raf/ERK1/2 signaling and hnRNP H1 in castration-resistant prostate cancer cells. *Cancer Letters*. 408 (2017).
35. ESCREVENTE, Cristina *et al.* - Interaction and uptake of exosomes by ovarian cancer cells. *BMC Cancer*. ISSN 14712407. (2011).
36. VASSILEFF, Natasha; CHENG, Lesley; HILL, Andrew F. - Extracellular vesicles - Propagators of neuropathology and sources of potential biomarkers and therapeutics for neurodegenerative diseases. *Journal of Cell Science*. ISSN 14779137. (2020).
37. IZADPANA, Mehrnaz *et al.* - Potential of Extracellular Vesicles in Neurodegenerative Diseases: Diagnostic and Therapeutic Indications. *Journal of Molecular Neuroscience*. ISSN

15591166. (2018).

38. ROTH, Gregory A. *et al.* - Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015. *Journal of the American College of Cardiology*. ISSN 15583597. (2017).

39. ABREU, Ricardo Cerqueira DE *et al.* - Native and bioengineered extracellular vesicles for cardiovascular therapeutics. *Nature Reviews Cardiology*. ISSN 17595010. (2020).

40. SCHOREY, Jeffrey S.; HARDING, Clifford V. - Extracellular vesicles and infectious diseases: New complexity to an old story. *Journal of Clinical Investigation*. ISSN 15588238. (2016).

41. RODRIGUES, Meryl *et al.* - Role of extracellular vesicles in viral and bacterial infections: Pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Theranostics*. ISSN 18387640. (2018).

42. GARCIA, Lynne S. - Malaria. *Clinics in Laboratory Medicine*. ISSN 02722712. (2010).

43. MEIBALAN, Elamaran; MARTI, Matthias - Biology of malaria transmission. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. ISSN 21571422 (2017).

44. PREVENTION, CDC-Centers For Disease Control And - CDC - Malaria - About Malaria - Biology. (2020).

45. TUTEJA, Renu - Malaria - An overview. *FEBS Journal*. ISSN 1742464X. (2007).

46. SAMPAIO, Natalia Guimaraes; CHENG, Lesley; ERIKSSON, Emily M. - The role of extracellular vesicles in malaria biology and pathogenesis. *Malaria Journal*. ISSN 14752875. (2017).

47. NISHANTH, Gopala; SCHLÜTER, Dirk - Blood–Brain Barrier in Cerebral Malaria: Pathogenesis and Therapeutic Intervention. *Trends in Parasitology*. ISSN 14715007 (2019).

48. BORGHETI-CARDOSO, Livia Neves *et al.* - Extracellular vesicles derived from Plasmodium-infected and non-infected red blood cells as targeted drug delivery vehicles. *International Journal of Pharmaceutics*. ISSN 18733476 (2020).

49. DEBS, Sophie *et al.* - Interplay of extracellular vesicles and other players in cerebral malaria pathogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. ISSN 18728006 (2019).

50. SIERRA, Frederic; GRAU, Georges E. R. - The ins and outs of cerebral malaria pathogenesis: Immunopathology, extracellular vesicles, immunometabolism, and trained immunity. *Frontiers in Immunology*. ISSN 16643224. (2019).

51. BABATUNDE, Kehinde Adebayo *et al.* - Role of Extracellular Vesicles in Cellular Cross

Talk in Malaria. *Frontiers in Immunology*. ISSN 16643224. (2020).

52. PENET, Marie France *et al.* - Protection against cerebral malaria by the low-molecular-weight thiol pantethine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. ISSN 10916490. (2008).

53. FUHRMANN, Gregor; NEUER, Anna Lena; HERRMANN, Inge K. - Extracellular vesicles – A promising avenue for the detection and treatment of infectious diseases? *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. ISSN 18733441. (2017).

54. WIKLANDER, Oscar P. B. *et al.* - Advances in therapeutic applications of extracellular vesicles. *Science Translational Medicine*. ISSN 19466242. (2019).

55. SOEKMADJI, Carolina *et al.* - The future of Extracellular Vesicles as Theranostics—an ISEV meeting report. *Em Journal of Extracellular Vesicles*