

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 16/09/2020.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**Sophia Miquelle Ceron Gimenez Ribeiro Sartori**

**Transporte de paclitaxel por nanopartículas de ferrita e  
quitosana através da avidéz por cálcio de células de  
câncer prostático**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina, Universidade Estadual Paulista  
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de  
Botucatu, para obtenção do título de  
Mestre em Patologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Ramon Kaneno  
Coorientador(a): Prof (a). Dr (a). Margarida Juri Saeki

**Botucatu  
2019**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**Sophia Miquelle Ceron Gimenez Ribeiro Sartori**

**Transporte de paclitaxel por nanopartículas de ferrita e  
quitosana através da avidéz por cálcio de células de  
câncer prostático**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina, Universidade Estadual Paulista  
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de  
Botucatu, para obtenção do título de  
Mestre em Patologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Ramon Kaneno  
Coorientador(a): Prof (a). Dr (a). Margarida Juri Saeki

**Botucatu  
2019**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Sartori, Sophia Miquelle Ceron Gimenez Ribeiro.

Transporte de paclitaxel por nanopartículas de ferrita e quitosana através da avidéz por cálcio de células de câncer prostático / Sophia Miquelle Ceron Gimenez Ribeiro Sartori. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Ramon Kaneno

Coorientador: Margarida Juri Saeki

Capes: 21100004

1. Próstata - Câncer. 2. Nanopartículas. 3. Paclitaxel. 4. Quitosana. 5. Ferrita (Materiais magnéticos).

Palavras-chave: Biotecnologia; Câncer de próstata; Imunologia; Nanopartículas magnéticas; Paclitaxel.

*Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios do Departamento de Microbiologia e Imunologia e no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista campus de Botucatu.*

*Dedico este trabalho à minha família e a todos que acreditam na Ciência.*

*Primeiramente, agradeço a Deus por me sustentar nos momentos mais difíceis. Agradeço as infinitas possibilidades que me trouxeram até aqui.*

*A meu orientador Dr. Ramon Kaneno, por todos os ensinamentos teóricos, práticos e por todas as discussões científicas, culinárias e de planejamento de móveis (Ramon móveis planejados rsrs), nesses quase 6 anos de convivência. Ainda me lembro do primeiro e-mail que trocamos e naquele momento eu mal sabia que iria me apaixonar pela Imunologia de tumores. Muito obrigada Professor!*

*A minha coorientadora Dra. Margarida Juri Saeki, por todo aprendizado físico-químico, por acreditar no trabalho de uma bióloga e por tantas horas de discussão de artigos e suporte para experimentos em outras instituições. Você foi fundamental para que concluíssemos esse trabalho...e que trabalho! Muito obrigada!*

*A meus pais Sergio Sartori e Sonia (in memorian), por todo o amor e apoio, que mesmo em sua simplicidade de não conseguirem ter feito ensino superior, nunca deixaram de me incentivar a estudar, de ir mais além. Obrigada por tudo, obrigada pela oportunidade de viver!*

*A minha irmã, por ter contribuído para que me tornasse adulta aos 15 anos e por ter me proporcionado corrigir suas tarefas, vivenciando um miniambiente acadêmico, durante tantos anos. Por isso sou grata por tudo que passamos juntas! Obrigada Tha!*

*A meu amor, namorado e acima de tudo amigo Fábio Baggio, o responsável e a base para que eu desenvolvesse esse trabalho. Você me ofereceu muito mais que um ombro amigo quando eu mais precisei, você me deu uma família, um lar. Eu não teria conseguido sem você! Muito obrigada, "italiano" rs*

*A meus sogros, Dirce e Orlando Baggio, minha família também, a compreensão e generosidade de vocês permitiu que eu conquistasse mais essa etapa em minha vida. Muito obrigada por tudo!*

*A meus amigos do laboratório de Imunologia de Tumores: Graziela Romagnoli (Grá), pela sua paciência e por cada ensinamento tanto*

*peçoal quanto profissional e por cada discussão científica. Jamais esquecerei de suas palavras enquanto eu fazia citometria: "Saber o por quê está fazendo algo, te trará independência científica". A Carolina Gorgulho (Carú) pela ajuda e ensinamento científico, pelas conversas no café e até para sair no jornal da cidade rs! Ao Jofer Ramirez (Peruano), por colaboração em experimentos e melhora na didática em ensinar palavras não convencionais a estrangeiros rs. A Raquel Liszbinski (Guria) e a Angélica Amaral (Gé, Moskita), minhas "mimis", por serem afago para os dias difíceis de pesquisa, e por tantas outras histórias lindas vividas nessa Botucatu. A Flavia, Carla e a Bruna (Bruh), pela nossa rotina de laboratório, por me permitir ajudá-las e também ser ajuda em tantos momentos. Obrigado a todos por serem minha família científica!*

*Aos professores, aos colegas e funcionários do Departamento de Microbiologia e Imunologia e também da Química e Bioquímica.*

*A coordenadora do programa de pós-graduação em Patologia/FMB, Dra. Márcia Guimarães por ter me acolhido durante o processo de transferência.*

*A secretária do programa de pós-graduação em Patologia/FMB, Vania Soler por toda paciência e ajuda com os trâmites acadêmicos.*



*"A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê". (Arthur Schopenhauer)*

## ÍNDICE

<i>CAPÍTULO I Revisão</i> .....	12
<b>Funcionalidade diagnóstica e terapêutica de nanopartículas magnéticas contra o câncer</b> .....	13
I. As nanopartículas multifuncionais como veículos para o tratamento do câncer .....	13
II. Potencial de uso de nanopartículas de óxido de ferro na terapia multifuncional.....	19
III. Conclusão .....	26
IV. Referências .....	27
<i>CAPÍTULO II Dissertação</i> .....	34
Lista de abreviaturas .....	35
Resumo .....	36
Abstract .....	37
I. INTRODUÇÃO .....	38
II. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	49
III. MATERIAIS E MÉTODOS .....	52
1. Síntese das nanopartículas de ferrita $Mn_{0,75}Zn_{0,25}Fe_{1,7}O_4$ por co-precipitação .....	52
2. Revestimento polimérico das nanopartículas de ferrita com quitosana .....	52
3. Mimetização das nanopartículas revestidas com hidroxiapatita .....	53

4. Síntese e encapsulamento de paclitaxel nas nanopartículas .....	54
5. Quantificação da porcentagem de massa atômica das ferritas por espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDX) .....	55
6. Caracterização magnética das ferritas por difratometria de raios-X (DRX) .....	55
7. Caracterização resposta magnética das ferritas por biosusceptometria de corrente alternada (BAC) .....	56
8. Quantificação de paclitaxel por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC/MS) .....	57
9. Quantificação de paclitaxel por espectrofotometria UV-Visível .....	58
10. Caracterização dos grupamentos funcionais das nanopartículas por espectroscopia de infravermelhos (FTIR) com transformada de Fourier .....	59
11. Caracterização da carga superficial e ponto isoelétrico das nanopartículas por Zetasizer .....	59
12. Caracterização morfológica e mapeamento dos elementos químicos das nanopartículas .....	60
13. Cultura <i>in vitro</i> da linhagem tumoral de câncer de próstata LNCaP .....	61
14. Determinação da morte celular por citometria de fluxo .....	61
15. Caracterização morfológica da interação das nanopartículas com as células tumorais .....	63
16. Ciclo celular da linhagem tumoral de câncer de próstata LNCaP .....	64
17. Viabilidade celular de pró-osteoblastos MC3T3.....	65
18. Análise Estatística .....	65

IV. RESULTADOS .....	66
1. Porcentagem de massa atômica das ferritas próxima ao nominal .....	66
2. Padrão de difração de ferritas magnéticas monofásicas .....	68
3. Resposta magnética para diferentes proporções de Fe .....	70
4. Eficiência de encapsulamento de paclitaxel .....	71
5. Grupamentos funcionais como verificação das etapas de síntese .....	75
6. Carga elétrica superficial das nanopartículas e seu comportamento em alterações de pH .....	76
7. Morfologia das nanopartículas .....	78
8. Mapeamento e contraste dos elementos químicos .....	81
9. Morte celular mediada pelo endereçamento de paclitaxel em nanopartículas magnéticas .....	83
10. Interação entre o câncer de próstata e nanopartículas magnéticas .....	89
11. O efeito das nanopartículas de ferrita Mn e Zn carregadas com PTX sobre o ciclo celular de LNCaP.....	96
12. Efeito sobre a viabilidade de pró-osteoblastos murinos MC3T3.....	99
V. DISCUSSÃO .....	100
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	111

**CAPÍTULO I**  
*Revisão*

## **Funcionalidade diagnóstica e terapêutica de nanopartículas magnéticas contra o câncer**

**Resumo:** O desenvolvimento de nanopartículas para aplicações clínicas, tanto no diagnóstico quanto no tratamento do câncer envolve estudos visando melhorar a biocompatibilidade, estabilidade química, capacidade de carregamento de drogas, entrega dirigida, sinais de imagem e resposta térmica ou fotodinâmica das nanopartículas. Nesta revisão, abordamos as propriedades físico-químicas, aplicações e terapêutica com nanopartículas, especialmente as magnéticas de óxido de ferro, como um sistema promissor para diagnóstico e tratamento do câncer.

### **I. As nanopartículas multifuncionais como veículos para o diagnóstico e o tratamento do câncer**

Nos últimos anos, as nanopartículas foram desenvolvidas para finalidades relacionadas à administração de medicamentos, tratamentos de câncer e diagnóstico, com estratégias para melhorar a eficácia dos tratamentos em nanoescala através da adição de elementos funcionais, melhorias na segmentação ativa, e agentes de contraste foram incorporados às nanopartículas para criar formulações verdadeiramente multifuncionais (1). Essas partículas foram denominadas teranósticas e representam um ponto culminante de múltiplas estratégias combinadas em uma nanopartícula. A definição tradicional de

theranóstico é que eles combinam o terapêutico (tera) e diagnóstico (nóstico) na mesma formulação (2). A fim de alcançar essa multifuncionalidade, tipicamente quatro aspectos são incluídos: nanopartículas, técnicas de diagnóstico por imagem, direcionamento através de ligante e, abordagem terapêutica.

Assim, propõe-se o uso de nanopartículas multifuncionais para superar as limitações dos tratamentos já existentes contra o câncer. Entre essas limitações, destacamos a ação das cargas superficiais indesejadas nas nanopartículas, a deposição insuficiente de drogas ou até mesmo sua degradação, a dificuldade para encapsular drogas hidrofóbicas (3-10) e ainda, a entrega não específica que colabora para a toxicidade às células saudáveis (11, 12).

Existem duas formas de inserção dessas nanopartículas multifuncionais no microambiente tumoral. A primeira, chamada de segmentação passiva, que consiste na interação com as nanopartículas através das características do próprio microambiente tumoral. A vasculatura tumoral possui arquitetura pobre com uma membrana basal anormal e fissuras entre as células endoteliais, dificultando a entrega de fármacos convencionais que acabam por retornar ao sistema vascular, sendo excretados pelos rins (13). As fissuras entre as células tumorais possuem tamanhos que variam de 200–1000 nm, favorecendo a entrada e acúmulo de nanopartículas (14, 15). Desse modo, a retenção dos fármacos encapsulados em nanopartículas nos tumores é cerca de dez vezes maior que o dos quimioterápicos livres. Esse cenário só é possível devido ao efeito de permeabilidade e retenção (EPR) aprimorado dos tumores (16) e também pelo próprio microambiente tumoral (17-19).

Embora o EPR seja um excelente meio de difusão dos tratamentos para as células cancerígenas, alguns tumores têm distribuições de vasos sanguíneos heterogêneos e componentes estromais que funcionam como barreiras para o fornecimento de drogas (15, 20). Como alternativa a essas barreiras, os tratamentos baseados na utilização de nanopartículas multifuncionais tem como segunda opção de inserção no microambiente tumoral, a segmentação ativa. Ela consiste na capacidade de direcionar ativamente as nanopartículas através da combinação com vários agentes como moléculas sintéticas, ácidos nucleicos, proteínas e peptídeos, incluindo a utilização de polímeros biodegradáveis e biocompatíveis e núcleos magnéticos para promover a entrega direcionada, buscando reduzir a toxicidade às células saudáveis (21-23).

Alguns dos tratamentos baseados em nanopartículas aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA) (24-32) (Tabela 1), revelam não só elementos na tentativa de entrega direcionada, mas também estruturas capazes de se acumular em tumores sólidos por conta do efeito EPR (33, 34), como o Mylotarg<sup>®</sup>, acoplado a anticorpo monoclonal usado para leucemia mielóide aguda mas atualmente não utilizado (27) ou ainda, formulações mais simples como a doxorubicina lipossomal Doxil, um dos primeiros medicamentos aprovados pelo FDA (24). O Abraxane<sup>®</sup>, aprovado em 2005, é o resultado da associação do quimioterápico paclitaxel com nanopartículas de albumina para tratamento do câncer de mama (29), aprovado também em 2013, para câncer de pâncreas (32).



**Table 1: Nanopartículas aprovadas pela FDA (USA) para tratamento de pacientes com câncer**

Nome comercial	Tipo de nanopartícula	Aplicação	Ano de aprovação	Ref.
Doxil®	Formulação de doxorubicina lipossomal	câncer de ovário refratário, sarcoma de Kaposi, câncer de mama refratário	1995	(24)
Feridex®	nanopartículas de ferro superparamagnéticas associadas ao dextrano	Sarcoma de Kaposi HIV-associado	1996	(26)
DaunoXome®	Daunorrubicina lipossomal	Sarcoma de Kaposi, câncer de ovário metastático	1996	(25)
Mylotarg®	Moléculas de ozogamicina gemtuzumab ligadas ao anticorpo monoclonal	Leucemia mielóide aguda	2000	(27)
Zevalin®	anticorpo monoclonal de camundongo IgG1 com	linfoma não-Hodgkin's	2002	(28)

	quelante tiuxetano associado ao isótopo radioativo Ítrio-90			
Abraxane <sup>®</sup>	paclitaxel ligado à albumina	Câncer de mama metastático	2005	(29)
Oncospar <sup>®</sup>	versão modificada da enzima L-asparaginase	leucemia	2006	(30)
Ontak <sup>®</sup>	proteína de fusão denileucina difitox	Linfoma cutâneo de células T	2008	(31)
Abraxane <sup>®</sup>	paclitaxel ligado à albumina	Câncer de pâncreas metastático	2013	(32)

O acúmulo das nanopartículas favorecido pelo próprio estabelecimento do microambiente tumoral e também pelo efeito EPR, aliado as propriedades multifuncionais das nanopartículas, permite ao mesmo tempo a terapêutica e o diagnóstico direcionados as células tumorais (35). Esse cenário, têm sido amplamente explorado nas últimas décadas para diferentes tipos de nanopartículas, incluindo as lipossomais, poliméricas, micelares e principalmente as magnéticas de óxido de ferro (33, 36-44).

### *Nanopartículas lipossomais*

Os lipossomas são de natureza anfifílica, compostos de componentes hidrofóbicos e hidrofílicos, geralmente dispostos em bicamada (45). São úteis como sistemas de distribuição de drogas com propriedades de superfície que podem ser facilmente modificadas (46), permitem o acoplamento de diversos ligantes (47), o tamanho das nanopartículas pode ser controlado (48) e também podem encapsular elementos solúveis em água ou insolúveis no núcleo (49). Apesar dessas vantagens, os lipossomas possuem estabilidade fraca, baixa eficiência de carregamento e perfis de liberação deficientes (50).

### *Nanopartículas poliméricas*

Compreendem as nanoesferas ou nanocápsulas e são compostas a partir de monômeros (51). Os polímeros mais usados para fazer nanopartículas poliméricas são poli (ácido láctico) /poli (ácido láctico-co-glicólico) PLA/PGLA, copolímeros em bloco e o biopolímero quitosana. A quitosana tem sido amplamente utilizada como sistemas de nanopartículas multifuncionais, especialmente para entrega de ácidos nucleicos (52) devido às suas fortes propriedades policatiônicas. O PLA/PLGA é capaz de encapsular drogas hidrofóbicas e hidrofílicas sem degradação (53). A capacidade de adaptação dessas nanopartículas pode ser alcançada por alterações nas proporções de ácido láctico e glicólico na síntese o que confere biocompatibilidade, baixa depuração e a possibilidade de construir estruturas personalizadas. Atualmente, sua maior utilização está mais relacionada ao suporte para outros tipos de nanopartículas multifuncionais (54).

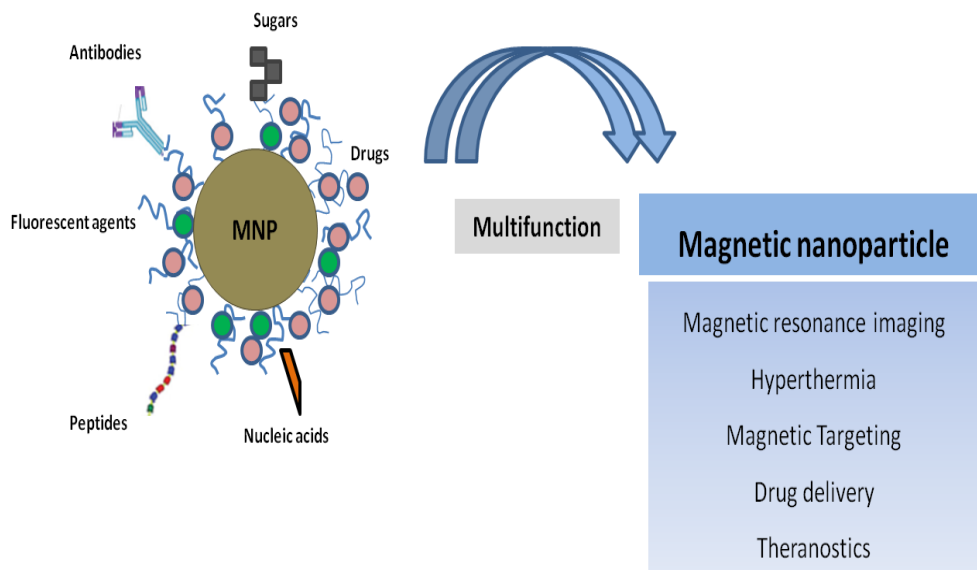
### *Micelas poliméricas*

As nanopartículas micelares são colóides compostos por moléculas anfifílicas com segmentos hidrofóbicos e hidrofílicos (55). Abaixo da concentração micelar crítica (CMC), o polímero permanece como monômero em solução e, acima dessa concentração, formam-se micelas. Seu tamanho varia de 5 à 100 nm de diâmetro, sendo vantajosa como veículos de entrega de drogas, pois quimioterápicos hidrofóbicos e hidrofílicos, podem ser encapsulados durante a automontagem micelar. Dessa forma, o núcleo hidrofóbico pode solubilizar drogas e a região externa hidrofílica proteger as partículas da depuração sistêmica. A adição de ligantes de direcionamento ou agentes de contraste também é possível, já que as micelas interagem e podem ser absorvidas pelas células através do efeito de permeabilidade e retenção (16) aprimorado (56) ou ainda, por endocitose mediada por receptor (57).

## **II. Potencial de uso de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro na terapia multifuncional**

Entre as nanopartículas que atualmente são estudadas em ensaios clínicos, as nanopartículas magnéticas (MNPs) representam um nicho importante de nanomateriais promissores para novas abordagens clínicas contra o câncer (58). As propriedades físico-químicas singulares dessas nanopartículas conferem capacidades multifuncionais como agentes de contraste para geração de imagens de ressonância magnética (diagnóstico), administração de fármacos,

direcionamento de ligantes como moléculas sintéticas, anticorpos, peptídeos, entre outros, com possibilidade da combinação entre terapia e diagnóstico (Teranóstico) (**Figura 1**) (59).



**Figura 1:** Ilustração representativa de nanopartícula magnética multifuncional e suas aplicações. Adaptado de Boubbou, 2018.

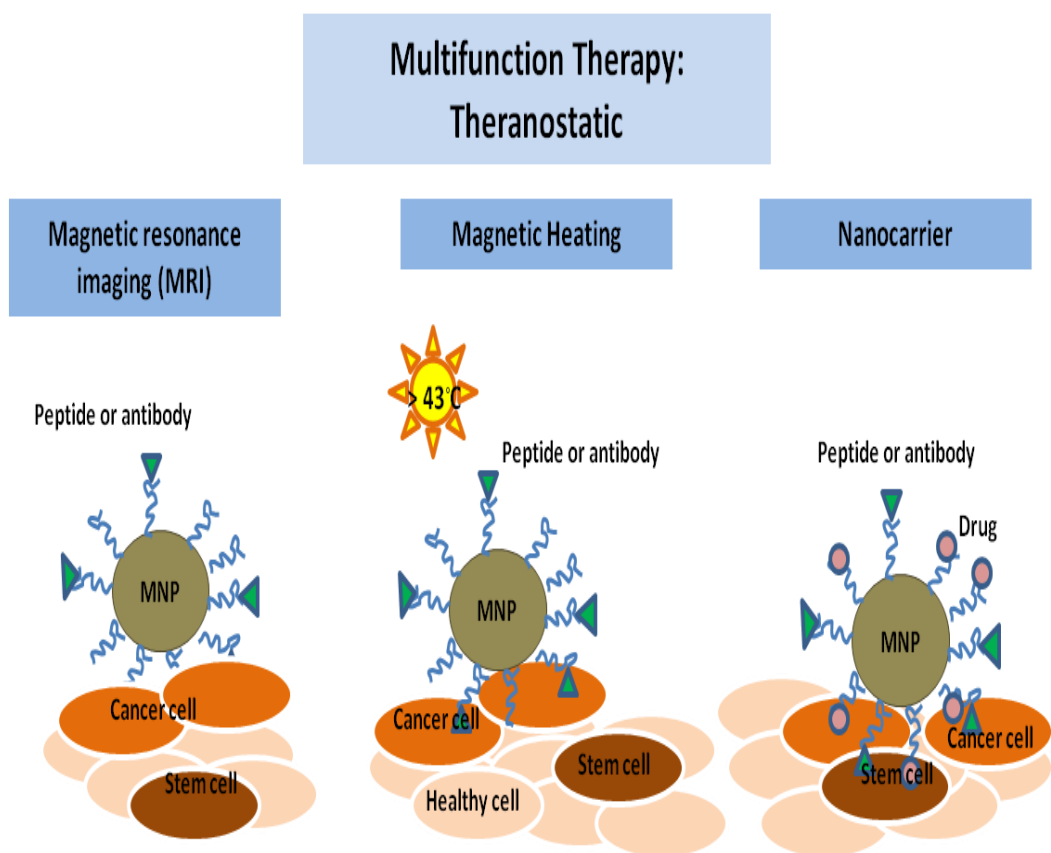
As MNPs podem ser classificadas como metais, ligas ou óxidos, e apresentam elementos magnéticos como ferro, níquel, cobalto e outras combinações. Entre elas, as nanopartículas baseadas em ferro são as mais estudadas e já possuem aprovação pela FDA para uso clínico contra o câncer, devido a sua biocompatibilidade, com uma gama de aplicações devido às suas propriedades magnéticas (**Tabela 2**) (60).

**Tabela 2: Nanopartículas de óxido de ferro aprovadas pela FDA para diagnóstico imaginológico e terapia do câncer**

<b>Nome e formulação</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Ref.</b>
<b>Gastromark<sup>®</sup></b> Suspensão aquosa de nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas revestidas com silicone	Ressonância magnética	(61, 62)
<b>Feridex<sup>®</sup></b> Nanopartículas de ferro superparamagnéticas associadas ao dextrano	Ressonância magnética	(63-65)
<b>Combidx<sup>®</sup></b> Óxido de ferro superparamagnético ultrasmall coberto com dextrano de baixo peso molecular	Ressonância magnética	(66, 67)
<b>Resovist<sup>®</sup></b> Nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas revestidas com carboxil dextrano	Ressonância magnética	(68-70)
<b>Feraheme<sup>®</sup></b> Óxido de ferro superparamagnético não estequiométrico revestido com éter carboximetílico de poliglicose sorbitol	Terapia de reposição de ferro; Ressonância magnética	(71)
<b>NanoTherm<sup>TM</sup></b> Dispersão aquosa de nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas	hipertermia	(72)

As nanopartículas magnéticas de óxido de ferro mais utilizados em aplicações biomédicas são a magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) (73) e a maguemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) (74), por serem materiais facilmente obtidos e compostos unicamente por ferro. Entretanto, pode-se otimizar as propriedades magnéticas, substituindo-se parte dos íons  $\text{Fe}^{2+}$  por outros metais, tais como Mn e Zn, dando origem às nanopartículas magnéticas de ferritas de Mn e Zn (75-77).

Embora as nanopartículas magnéticas não sejam as únicas que combinam a administração de medicamentos e exames de imagem, elas são as mais avançadas nos processos de pesquisa e desenvolvimento como agentes terapêuticos, bem como contraste de ressonância magnética para humanos (78, 79). Essa capacidade permite que elas atuem como nanopartículas multifuncionais em diferentes frentes de tratamento, seja para obtenção de imagens, hipertermia magnética ou ainda como carreadores de fármacos direcionados às células tumorais (**Figura 2**).



**Figura 2:** Ilustração sobre a utilização da Terapia Multifuncional através das nanopartículas magnéticas de óxido de ferro no diagnóstico e tratamento do câncer. Adaptado de Gobbo et.al, 2015.

Para que essas nanopartículas atuem como agentes de contraste, é necessário que uma quantidade suficiente desse agente se acumule na região de interesse, através de segmentação ativa pela utilização de ligantes específicos às células tumorais como peptídeos ou anticorpos. Modalidades de imagem comumente utilizadas incluem ressonância magnética (MRI), tomografia computadorizada



(TC), imagem óptica (fluorescência e bioluminescência) e imagens de radionuclídeos (PET e SPECT) (80). Sob ação de determinado campo magnético de alta frequência, aquecem-se e podem induzir a morte de células cancerígenas por hipertermia (39, 81), (82-85). O tratamento via hipertermia é oferecido atualmente em alguns centros principalmente na Europa, onde os tumores normalmente são aquecidos na faixa de 41–46°C (hipertermia moderada) ou > 46°C (termoablação) por tempo específico, por microondas, ondas de rádio, ultrassom ou ondas infravermelhas (86). As células tumorais geralmente possuem maior sensibilidade ao calor do que as células normais em temperatura na faixa de 43°C (87, 88).

Estudos clínicos para aplicação de MNPs de óxido de ferro na hipertermia magnética em tumores humanos de próstata mostrou-se como uma técnica de aquecimento viável e bem tolerado em pacientes com câncer de próstata recorrente. Recentemente, essas partículas foram usadas na terapia de hipertermia magnética para tratar tumores ósseos metastáticos, sendo capazes de reduzir a lesão e ainda, promover a restauração óssea (89).

De um modo geral, as nanopartículas magnéticas de óxido de ferro estão sujeitas a opsonização e depuração rápida pelo sistema reticuloendotelial (RES), sendo necessário seu revestimento com polímeros, como poli (etilenoglicol) (PEG) (94), a quitosana (95), a dextrana (96) e outros (97). Neste sentido, o polímero quitosana é referência em aplicações biológicas devido a não-toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, além de propriedades antifúngicas e bactericidas (98). Este polímero é de fácil funcionalização, sendo

aplicado comumente em estudos de tecidos ósseos, formando ligações semelhantes as da interação antígeno/anticorpo com diversas drogas, incluindo o fármaco hidrofóbico paclitaxel utilizado na quimioterapia atual (99, 100), (101, 102).

As células tumorais, principalmente aquelas com predominância de metástases ósseas, são mais sensíveis a alterações nos níveis de cálcio, necessitando de maior demanda deste elemento em processos como a proliferação celular (103, 104). Alguns tipos de câncer, como o de próstata tem predominância de metástase frequentes para o tecido ósseo. Desse modo, o estabelecimento de células metastáticas no osso pode estar relacionados à afinidade por cristais de hidroxiapatita (90-93). O estudo realizado por Martins et.al com nanopartículas magnéticas de ferritas de Mn e Zn revelou excelentes resultados quanto a inserção de polímeros biocompatíveis e revestimentos como a hidroxiapatita, não apresentando toxicidade às células do sistema imunológico, como os monócitos, e ao mesmo tempo mostrou efeito citotóxico sobre células humanas de câncer de mama (16) (105-108). Além disso, as ferritas de Mn e Zn mostraram grande capacidade de resposta magnética, favorecendo tratamentos de hipertermia.

Desse modo, não só as nanopartículas magnéticas convencionais, mas também as nanopartículas de ferrita de Mn e Zn, polimerizadas e recobertas com atrativos as células tumorais, como a hidroxiapatita, tornam-se potenciais sistemas multifuncionais capazes de promover o direcionamento de fármacos hidrofóbicos, e também contribuir para o diagnóstico através de suas propriedades magnéticas.

### **III. Conclusão**

A utilização de sistemas baseados em MNP visando a multifuncionalidade dessas partículas para o tratamento de tumores possui grande potencial não só no âmbito de exames de imagem, mas também na entrega de fármacos dirigida através da hipertermia magnética, constituindo tecnologias promissoras no tratamento do câncer. Especificamente para as nanopartículas magnéticas de ferrita de Mn e Zn, recentes nesse processo, mas que acoplam diferentes elementos buscando um tratamento mais direcionado e com menos efeitos tóxicos adjacentes. No entanto, limitações associadas a características físico-químicas, são comumente encontradas nos estudos o que torna muitas vezes difícil a aprovação para uso clínico. Portanto, precisamos de uma melhor compreensão da relevância funcional das nanopartículas magnéticas de óxido de ferro e suas variações na relação com o microambiente tumoral, para diminuir a distância entre o que se pesquisa e o que se aplica, a fim de fornecer uma estratégia terapêutica multifuncional contra o câncer.

#### IV. Referências

1. Cheng Z, Al Zaki A, Hui JZ, Muzykantov VR, Tsourkas A. Multifunctional nanoparticles: cost versus benefit of adding targeting and imaging capabilities. *Science*. 2012;338(6109):903-10. Epub 2012/11/20.
2. Kelkar SS, Reineke TM. Theranostics: combining imaging and therapy. *Bioconjugate chemistry*. 2011;22(10):1879-903. Epub 2011/08/13.
3. Li LT, R.; Li, M.; Kohane, D.S. Self-assembled gemcitabine-gadolinium nanoparticles for magnetic resonance imaging and cancer therapy. *Acta Biomater*. 2016;33:34–9.
4. Rizzo LY, Theek B, Storm G, Kiessling F, Lammers T. Recent progress in nanomedicine: therapeutic, diagnostic and theranostic applications. *Current opinion in biotechnology*. 2013;24(6):1159-66. Epub 2013/04/13.
5. Lee GY, Qian WP, Wang L, Wang YA, Staley CA, Satpathy M, et al. Theranostic nanoparticles with controlled release of gemcitabine for targeted therapy and MRI of pancreatic cancer. *ACS nano*. 2013;7(3):2078-89. Epub 2013/02/14.
6. Tian Q, Hu J, Zhu Y, Zou R, Chen Z, Yang S, et al. Sub-10 nm Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Cu(2-x)S core-shell nanoparticles for dual-modal imaging and photothermal therapy. *Journal of the American Chemical Society*. 2013;135(23):8571-7. Epub 2013/05/22.
7. Bardhan R, Lal S, Joshi A, Halas NJ. Theranostic nanoshells: from probe design to imaging and treatment of cancer. *Accounts of chemical research*. 2011;44(10):936-46. Epub 2011/05/27.
8. Huang P, Rong P, Lin J, Li W, Yan X, Zhang MG, et al. Triphase interface synthesis of plasmonic gold bellflowers as near-infrared light mediated acoustic and thermal theranostics. *Journal of the American Chemical Society*. 2014;136(23):8307-13. Epub 2014/05/21.
9. Kim J, Piao Y, Hyeon T. Multifunctional nanostructured materials for multimodal imaging, and simultaneous imaging and therapy. *Chemical Society reviews*. 2009;38(2):372-90. Epub 2009/01/27.
10. Giljohann DA, Seferos DS, Daniel WL, Massich MD, Patel PC, Mirkin CA. Gold nanoparticles for biology and medicine. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2010;49(19):3280-94. Epub 2010/04/20.
11. Yousefi A EF, Rshimian S, Atyabi F, Dinarvand R. . Preparation and in vitro evaluation of a pegylated nano-liposomal formulation containing docetaxel. . *Sci Pharm* 2009;77:453–64.
12. Sharma R YM, Bhaskar S, Asif M. . Formulation and evaluation of paclitaxel loaded PSA-PEG nanoparticle. . *J App Pharm Sci*. 2011;1:96–8.
13. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70. Epub 2000/01/27.
14. Byrne JD, Betancourt T, Brannon-Peppas L. Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics. *Advanced drug delivery reviews*. 2008;60(15):1615-26. Epub 2008/10/09.
15. Puri A, Loomis K, Smith B, Lee JH, Yavlovich A, Heldman E, et al. Lipid-based nanoparticles as pharmaceutical drug carriers: from concepts to clinic. *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems*. 2009;26(6):523-80. Epub 2009/01/01.

16. Miller MA, Gadde S, Pfirschke C, Engblom C, Sprachman MM, Kohler RH, et al. Predicting therapeutic nanomedicine efficacy using a companion magnetic resonance imaging nanoparticle. *Science translational medicine*. 2015;7(314):314ra183. Epub 2015/11/20.
17. Hare JJ, Lammers T, Ashford MB, Puri S, Storm G, Barry ST. Challenges and strategies in anti-cancer nanomedicine development: An industry perspective. *Advanced drug delivery reviews*. 2017;108:25-38. Epub 2016/05/04.
18. Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer research*. 1986;46(12 Pt 1):6387-92. Epub 1986/12/01.
19. ea MM. Encapsulation of paclitaxel into a bio-nanocomposite. A study combining inelastic neutron scattering to thermal analysis and infrared spectroscopy. *EPJ Web Conf* 2015;83.
20. Perez-Herrero E, Fernandez-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik eV*. 2015;93:52-79. Epub 2015/03/31.
21. Barraud L, Merle P, Soma E, Lefrancois L, Guerret S, Chevallier M, et al. Increase of doxorubicin sensitivity by doxorubicin-loading into nanoparticles for hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo. *Journal of hepatology*. 2005;42(5):736-43. Epub 2005/04/14.
22. Han HD, Mangala LS, Lee JW, Shahzad MM, Kim HS, Shen D, et al. Targeted gene silencing using RGD-labeled chitosan nanoparticles. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2010;16(15):3910-22. Epub 2010/06/12.
23. Parveen S, Mitra M, Krishnakumar S, Sahoo SK. Enhanced antiproliferative activity of carboplatin-loaded chitosan-alginate nanoparticles in a retinoblastoma cell line. *Acta Biomater*. 2010;6(8):3120-31. Epub 2010/02/13.
24. Northfelt DW, Martin FJ, Working P, Volberding PA, Russell J, Newman M, et al. Doxorubicin encapsulated in liposomes containing surface-bound polyethylene glycol: pharmacokinetics, tumor localization, and safety in patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma. *Journal of clinical pharmacology*. 1996;36(1):55-63. Epub 1996/01/01.
25. Presant CA SM, Kennedy P, Blayney DW, Flanagan B, Lisak J, et al. . Liposomal daunorubicin treatment of HIV-associated Kaposi's sarcoma. . *Lancet*. 1993;341(8855):1242-3.
26. Reimer P, Tombach B. Hepatic MRI with SPIO: detection and characterization of focal liver lesions. *European radiology*. 1998;8(7):1198-204. Epub 1998/09/02.
27. Bross PF, Beitz J, Chen G, Chen XH, Duffy E, Kieffer L, et al. Approval summary: gemtuzumab ozogamicin in relapsed acute myeloid leukemia. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2001;7(6):1490-6. Epub 2001/06/19.
28. Theuer CP, Leigh BR, Multani PS, Allen RS, Liang BC. Radioimmunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma: clinical development of the Zevalin regimen. *Biotechnology annual review*. 2004;10:265-95. Epub 2004/10/27.
29. Gradishar WJ. Albumin-bound paclitaxel: a next-generation taxane. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2006;7(8):1041-53. Epub 2006/05/26.
30. Dinndorf PA, Gootenberg J, Cohen MH, Keegan P, Pazdur R. FDA drug approval

summary: pegaspargase (oncaspar) for the first-line treatment of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). *The oncologist*. 2007;12(8):991-8. Epub 2007/09/04.

31. Lansigan F, Stearns DM, Foss F. Role of denileukin diftitox in the treatment of persistent or recurrent cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer management and research*. 2010;2:53-9. Epub 2010/12/29.

32. Saif MW. U.S. Food and Drug Administration approves paclitaxel protein-bound particles (Abraxane(R)) in combination with gemcitabine as first-line treatment of patients with metastatic pancreatic cancer. *JOP : Journal of the pancreas*. 2013;14(6):686-8. Epub 2013/11/13.

33. Peer D, Karp JM, Hong S, Farokhzad OC, Margalit R, Langer R. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nature nanotechnology*. 2007;2(12):751-60. Epub 2008/07/26.

34. Allen TM, Cullis PR. Drug delivery systems: entering the mainstream. *Science*. 2004;303(5665):1818-22. Epub 2004/03/20.

35. Caravan P, Ellison JJ, McMurry TJ, Lauffer RB. Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications. *Chemical reviews*. 1999;99(9):2293-352. Epub 2001/12/26.

36. Liu G, Zhang G, Hu J, Wang X, Zhu M, Liu S. Hyperbranched Self-Immolative Polymers (hSIPs) for Programmed Payload Delivery and Ultrasensitive Detection. *Journal of the American Chemical Society*. 2015;137(36):11645-55. Epub 2015/09/04.

37. Sanna V, Pala N, Sechi M. Targeted therapy using nanotechnology: focus on cancer. *International journal of nanomedicine*. 2014;9:467-83. Epub 2014/02/18.

38. Doane TL, Burda C. The unique role of nanoparticles in nanomedicine: imaging, drug delivery and therapy. *Chemical Society reviews*. 2012;41(7):2885-911. Epub 2012/01/31.

39. Kim BY, Rutka JT, Chan WC. Nanomedicine. *The New England journal of medicine*. 2010;363(25):2434-43. Epub 2010/12/17.

40. Riehemann K, Schneider SW, Luger TA, Godin B, Ferrari M, Fuchs H. Nanomedicine--challenge and perspectives. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2009;48(5):872-97. Epub 2009/01/15.

41. Zhang L, Gu FX, Chan JM, Wang AZ, Langer RS, Farokhzad OC. Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2008;83(5):761-9. Epub 2007/10/25.

42. Langer R. Polymer-controlled drug delivery systems. *Acc Chem Res*. 1993;26:537-42.

43. Tong R, Chiang HH, Kohane DS. Photoswitchable nanoparticles for in vivo cancer chemotherapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(47):19048-53. Epub 2013/11/06.

44. Cheng L, Wang C, Feng L, Yang K, Liu Z. Functional nanomaterials for phototherapies of cancer. *Chemical reviews*. 2014;114(21):10869-939. Epub 2014/09/27.

45. Malam Y LM, Seifalian AM. Liposomes and nanoparticles: nanosized vehicles for drug delivery in cancer. *Trends Pharmacol Sci*. 2009;30(11).

46. Zhang H, Ma Y, Sun XL. Chemically-selective surface glyco-functionalization of liposomes through Staudinger ligation. *Chem Commun (Camb)*. 2009(21):3032-4. Epub 2009/05/23.

47. Noble GT, Stefanick JF, Ashley JD, Kiziltepe T, Bilgicer B. Ligand-targeted

liposome design: challenges and fundamental considerations. *Trends in biotechnology*. 2014;32(1):32-45. Epub 2013/11/12.

48. Al-Jamal WT, Kostarelos K. Liposomes: from a clinically established drug delivery system to a nanoparticle platform for theranostic nanomedicine. *Accounts of chemical research*. 2011;44(10):1094-104. Epub 2011/08/05.

49. Allen TM, Cullis PR. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications. *Advanced drug delivery reviews*. 2013;65(1):36-48. Epub 2012/10/06.

50. Cole JT, Holland NB. Multifunctional nanoparticles for use in theranostic applications. *Drug delivery and translational research*. 2015;5(3):295-309. Epub 2015/03/20.

51. Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Rudzinski WE. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2001;70(1-2):1-20. Epub 2001/02/13.

52. Agnihotri SA, Mallikarjuna NN, Aminabhavi TM. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2004;100(1):5-28. Epub 2004/10/20.

53. Bala I, Hariharan S, Kumar MN. PLGA nanoparticles in drug delivery: the state of the art. *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems*. 2004;21(5):387-422. Epub 2005/02/22.

54. Gu F, Zhang L, Teply BA, Mann N, Wang A, Radovic-Moreno AF, et al. Precise engineering of targeted nanoparticles by using self-assembled biointegrated block copolymers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(7):2586-91. Epub 2008/02/15.

55. Oerlemans C, Bult W, Bos M, Storm G, Nijsen JF, Hennink WE. Polymeric micelles in anticancer therapy: targeting, imaging and triggered release. *Pharmaceutical research*. 2010;27(12):2569-89. Epub 2010/08/21.

56. Matsumura Y. Preclinical and clinical studies of NK012, an SN-38-incorporating polymeric micelles, which is designed based on EPR effect. *Advanced drug delivery reviews*. 2011;63(3):184-92. Epub 2010/06/22.

57. Sutton D, Nasongkla N, Blanco E, Gao J. Functionalized micellar systems for cancer targeted drug delivery. *Pharmaceutical research*. 2007;24(6):1029-46. Epub 2007/03/27.

58. Sheno MM, Shah NB, Griffin RJ, Vercellotti GM, Bischof JC. Nanoparticle preconditioning for enhanced thermal therapies in cancer. *Nanomedicine (Lond)*. 2011;6(3):545-63. Epub 2011/05/06.

59. Zhu L, Zhou Z, Mao H, Yang L. Magnetic nanoparticles for precision oncology: theranostic magnetic iron oxide nanoparticles for image-guided and targeted cancer therapy. *Nanomedicine (Lond)*. 2017;12(1):73-87. Epub 2016/11/24.

60. Conde J, Dias JT, Grazu V, Moros M, Baptista PV, de la Fuente JM. Revisiting 30 years of biofunctionalization and surface chemistry of inorganic nanoparticles for nanomedicine. *Frontiers in chemistry*. 2014;2:48. Epub 2014/08/01.

61. B B. Superparamagnetic agents in magnetic resonance imaging: physicochemical characteristics and clinical applications. A review. . *J Drug Target* 6(3).

62. Campbell JL AJ, Cowell SF et al. . Quasi-cubic magnetite/silica core-shell nanoparticles as enhanced MRI contrast agents for cancer imaging. . *PloS one*. 2011;6(7).

63. Wen G ZX, Chang RM, Xia Q, Cang P, Zhang Y. Superparamagnetic iron oxide (Feridex)-enhanced MRI in diagnosis of focal hepatic lesions. . *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue*

Bao 2002;22(5).

64. Clement O SN, Cuenod CA, Frija G. Liver imaging with ferumoxides (Feridex): fundamentals, controversies, and practical aspects. *Top Magn Reson Imaging* 1998;9(3).

65. Johnson L PS, Douek M. . Deposition of superparamagnetic iron-oxide nanoparticles in axillary sentinel lymph nodes following subcutaneous injection. *Histopathology*. 2013;62(3).

66. Kernstine KH SW, Mullan BF et al. MRI with Combidex for mediastinal staging in non-small cell lung carcinoma. . *Ann Thorac Surg* 1999;68(3).

67. Harisinghani MG SS, Hahn PF, Weissleder R, Mueller PR. . MR imaging of lymph nodes in patients with primary abdominal and pelvic malignancies using ultrasmall superparamagnetic iron oxide (Combidex). . *Acad Radiol*. 1998;5((Suppl. 1), ).

68. Reimer P BT. Ferucarbotran (Resovist): a new clinically approved RES-specific contrast agent for contrast-enhanced MRI of the liver: properties, clinical development, and applications. . *Eur Radiol* 2003;13(6).

69. Vogl TJ HR, Schwarz W et al. Magnetic resonance imaging of focal liver lesions. Comparison of the superparamagnetic iron oxide resovist versus gadolinium- DTPA in the same patient. *Invest Radiol* 1996;31(11).

70. Reimer P RE, Daldrup HE et al. . Clinical results with Resovist: a Phase 2 clinical trial. . *Radiology* 1995;195(2).

71. Bullivant JP ZS, Willenberg BJ, Kozissnik B, Batich CD, Dobson J. Materials characterization of Feraheme/ ferumoxytol and preliminary evaluation of its potential for magnetic fluid hyperthermia. . *Int J Mol Sci* 2013;14(9).

72. Maier-Hauff K UF, Nestler D et al. . Efficacy and safety of intratumoral thermotherapy using magnetic iron-oxide nanoparticles combined with external beam radiotherapy on patients with recurrent glioblastoma multiforme. . *J Neuro-Oncol*. 2011;103(2).

73. KIM DH, LEE, S. H., IM, K. H., KIM, K. N., KIM, K. M., SHIM, I. B., LEE, M., H. L, Y.K. Surface-modified magnetite nanoparticles for hyperthermia: Preparation, characterization, and cytotoxicity studies. *Current Applied Physics* 2006;6s1.

74. LEE SJ, J.; SHIN, S.; KIM, J.; KIM, J. . Synthesis and characterization of superparamagnetic maghemite nanoparticles prepared by coprecipitation technique. . *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 2004;282.

75. Goldman A. *Modern Ferrite Technology* 2006.

76. Shahbazi-Gahrouei D, Abdolahi M, Zarkesh-Esfahani SH, Laurent S, Sermeus C, Gruettner C. Functionalized magnetic nanoparticles for the detection and quantitative analysis of cell surface antigen. *BioMed research international*. 2013;2013:349408. Epub 2013/03/14.

77. Mazario E, Herrasti P, Morales MP, Menendez N. Synthesis and characterization of CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> ferrite nanoparticles obtained by an electrochemical method. *Nanotechnology*. 2012;23(35):355708. Epub 2012/08/17.

78. Chakraborty M, Jain S, Rani V. *Nanotechnology: emerging tool for diagnostics and therapeutics*. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2011;165(5-6):1178-87. Epub 2011/08/19.

79. Parveen S, Misra R, Sahoo SK. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*. 2012;8(2):147-66. Epub 2011/06/28.

80. McGeough C BA. Diagnostic, prognostic and theranostic genetic biomarkers for



rheumatoid arthritis. *J Clin Cell Immuno*. 2012;6(002).

81. Shinkai M, Yanase M, Honda H, Wakabayashi T, Yoshida J, Kobayashi T. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes: in vitro study. *Japanese journal of cancer research : Gann*. 1996;87(11):1179-83. Epub 1996/11/01.

82. Yoo D, Jeong H, Noh SH, Lee JH, Cheon J. Magnetically triggered dual functional nanoparticles for resistance-free apoptotic hyperthermia. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2013;52(49):13047-51. Epub 2013/11/28.

83. Salunkhe AB, Khot VM, Pawar SH. Magnetic hyperthermia with magnetic nanoparticles: a status review. *Current topics in medicinal chemistry*. 2014;14(5):572-94. Epub 2014/01/22.

84. Jeon MJ, Ahn CH, Kim H, Chung IJ, Jung S, Kim YH, et al. The intratumoral administration of ferucarbotran conjugated with doxorubicin improved therapeutic effect by magnetic hyperthermia combined with pharmacotherapy in a hepatocellular carcinoma model. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*. 2014;33:57. Epub 2014/07/20.

85. Giustini AJ, Petryk AA, Cassim SM, Tate JA, Baker I, Hoopes PJ. Magnetic Nanoparticle Hyperthermia in Cancer Treatment. *Nano LIFE*. 2010;1(1n02). Epub 2010/03/01.

86. Kumar CS, Mohammad F. Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*. 2011;63(9):789-808. Epub 2011/03/31.

87. Chatterjee DK, Diagaradjane P, Krishnan S. Nanoparticle-mediated hyperthermia in cancer therapy. *Therapeutic delivery*. 2011;2(8):1001-14. Epub 2012/04/17.

88. Chu KF, Dupuy DE. Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy. *Nature reviews Cancer*. 2014;14(3):199-208. Epub 2014/02/25.

89. Revia RA, Zhang M. Magnetite nanoparticles for cancer diagnosis, treatment, and treatment monitoring: recent advances. *Mater Today (Kidlington)*. 2016;19(3):157-68. Epub 2016/08/16.

90. Zhang J, Shin MC, Yang VC. Magnetic targeting of novel heparinized iron oxide nanoparticles evaluated in a 9L-glioma mouse model. *Pharmaceutical research*. 2014;31(3):579-92. Epub 2013/09/26.

91. Sanjai C, Kothan S, Gonil P, Saesoo S, Sajomsang W. Chitosan-triphosphate nanoparticles for encapsulation of super-paramagnetic iron oxide as an MRI contrast agent. *Carbohydrate polymers*. 2014;104:231-7. Epub 2014/03/13.

92. Naha PC, Zaki AA, Hecht E, Chorny M, Chhour P, Blankemeyer E, et al. Dextran coated bismuth-iron oxide nanohybrid contrast agents for computed tomography and magnetic resonance imaging. *Journal of materials chemistry B*. 2014;2(46):8239-48. Epub 2014/12/09.

93. Jin R, Lin B, Li D, Ai H. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for MR imaging and therapy: design considerations and clinical applications. *Current opinion in pharmacology*. 2014;18:18-27. Epub 2014/09/01.

94. Wang JJ ZZ, Xiao RZ, Xie T, Zhou GL, Zhan XR, et al. . Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. . *International journal of nanomedicine*. 2011;6.

95. Felt O, Buri P, Gurny R. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery. *Drug development and industrial pharmacy*. 1998;24(11):979-93. Epub 1999/01/07.

96. Lv PP, Wei W, Yue H, Yang TY, Wang LY, Ma GH. Porous quaternized chitosan nanoparticles containing paclitaxel nanocrystals improved therapeutic efficacy in non-

small-cell lung cancer after oral administration. *Biomacromolecules*. 2011;12(12):4230-9. Epub 2011/11/03.

97. Di Martino A, Sittinger M, Risbud MV. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials*. 2005;26(30):5983-90. Epub 2005/05/17.

98. KONG LG, Y.; LU, G.; GONG, Y.; ZHAO, N.; ZHANG, X. A study on the bioactivity of chitosan/nano-hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. . *European Polymer Journal*. 2006;42.

99. Andrade LM GJ GO, Leite MTT, Catarina AM, et al. Nucleoplasmic Calcium Buffering Sensitizes Human Squamous Cell Carcinoma to Anticancer Therapy. . *J Cancer Sci Ther* 2012;4.

100. Rodrigues MA, Gomes DA, Leite MF, Grant W, Zhang L, Lam W, et al. Nucleoplasmic calcium is required for cell proliferation. *The Journal of biological chemistry*. 2007;282(23):17061-8. Epub 2007/04/11.

101. Liao J, Schneider A, Datta NS, McCauley LK. Extracellular calcium as a candidate mediator of prostate cancer skeletal metastasis. *Cancer research*. 2006;66(18):9065-73. Epub 2006/09/20.

102. Kondratskyi A, Yassine M, Kondratska K, Skryma R, Slomianny C, Prevarskaya N. Calcium-permeable ion channels in control of autophagy and cancer. *Frontiers in physiology*. 2013;4:272. Epub 2013/10/10.

103. Bellahcene A, Castronovo V. Increased expression of osteonectin and osteopontin, two bone matrix proteins, in human breast cancer. *The American journal of pathology*. 1995;146(1):95-100. Epub 1995/01/01.

104. Diel IJ, Solomayer EF, Costa SD, Gollan C, Goerner R, Wallwiener D, et al. Reduction in new metastases in breast cancer with adjuvant clodronate treatment. *The New England journal of medicine*. 1998;339(6):357-63. Epub 1998/08/06.

105. Montha W, Maneeprakorn W, Buatong N, Tang IM, Pon-On W. Synthesis of doxorubicin-PLGA loaded chitosan stabilized (Mn, Zn)Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles: Biological activity and pH-responsive drug release. *Materials science & engineering C, Materials for biological applications*. 2016;59:235-40. Epub 2015/12/15.

106. Martins ML, Ignazzi R, Eckert J, Watts B, Kaneno R, Zambuzzi WF, et al. Restricted mobility of specific functional groups reduces anti-cancer drug activity in healthy cells. *Scientific reports*. 2016;6:22478. Epub 2016/03/05.

107. Martins ML, FA CA, Silva RIV, Dos Santos DI, Saeki MJ. . Mechanisms of phase formation along the synthesis of Mn–Zn ferrites by the polymeric precursor method. *Ceramics International* 2014b;40.

108. Martins ML, SM TM, Parra JPRL, Landsgesell S, Smith RI, Bordallo HN. Development and characterization of a new bio-nanocomposite (bio-NCP) for diagnosis and treatment of breast cancer. 2014a;584.