



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Maria Inês Abreu Ferreira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “The role of magnetic nanoparticles in cancer nanotheranostics” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, da Dra. Rosa Cartaxo, da Doutora Marília Rocha e da Professora Doutora Carla Sofia Pinheiro Vitorino apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Maria Inês Abreu Ferreira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “The role of magnetic nanoparticles in cancer nanotheranostics” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, da Dra. Rosa Cartaxo, da Doutora Marília Rocha e da Professora Doutora Carla Sofia Pinheiro Vitorino apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2019

Eu, Maria Inês Abreu Ferreira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014201087, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “The role of magnetic nanoparticles in cancer nanotheranostics” 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 nas Referências bibliográficas, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 10 de julho de 2019.

Maria Inês Abreu Ferreira

Índice

Parte I- Relatório de estágio em Farmácia Comunitária	1
Agradecimentos	2
Lista de Abreviaturas	3
1. Nota Introdutória	4
2. A Farmácia	5
2.1. Contextualização.....	5
2.2. Espaço físico e funcional da farmácia.....	5
2.3. Localização.....	6
2.4. A equipa.....	6
3. Análise SWOT	6
3.1. Pontos Fortes.....	7
3.1.1. Receção e integração na equipa da farmácia.....	7
3.1.2. Plano de estágio estruturado.....	8
3.1.3. Contextualização prévia à realização de tarefas.....	8
3.1.4. Disponibilidade, dedicação e proatividade da equipa.....	8
3.1.5. Elevado sentido de responsabilidade social.....	9
3.1.6. Flexibilidade de horário.....	9
3.1.7. Possibilidade de fazer fins-de-semana.....	9
3.1.8. Medição de parâmetros fisiológicos e bioquímicos.....	10
3.1.9. Preparação de medicamentos manipulados.....	10
3.1.10. Grande afluência de utentes à farmácia.....	10
3.1.11. Formações externas.....	11
3.2. Pontos Fracos.....	11
3.2.1. Dificuldade inicial de associação de nomes comerciais a princípios ativos.....	11
3.2.2. Desconhecimento de várias marcas de produtos.....	12
3.2.3. Insegurança e dificuldade inicial na comunicação com os utentes.....	12
3.3. Oportunidades.....	13
3.3.1. Sistema SIFARMA 2000®.....	13
3.3.2. Funcionalidades e potencialidades da implementação do código QR.....	13
3.3.3. Desenvolvimento de competências de comunicação, aplicação de conhecimentos adquiridos e valorização do farmacêutico.....	14
3.3.4. Formação contínua.....	14

3.4. Ameaças.....	14
3.4.1. Conjuntura económico-social do país.....	14
3.4.2. Falta de medicamentos.....	15
4. Considerações Finais	15
5. Referências bibliográficas	16
ANEXOS.....	17
ANEXO I	17
Caso Prático I.....	17
Caso Prático II.....	18
Parte II- Relatório de estágio em Farmácia Hospitalar	19
Agradecimentos	20
Lista de Abreviaturas.....	21
1. Introdução.....	22
2. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra.....	22
3. Serviços Farmacêuticos do CHUC	23
4. Análise SWOT	24
4.1. Pontos Fortes.....	25
4.1.1. Caderno de Estagiário.....	25
4.1.2. Formação dos Setores dos Serviços Farmacêuticos	25
4.1.3. Organização e distribuição dos períodos de estágio.....	25
4.1.4. Equipas e relação interpessoal.....	26
4.1.5. Receção e integração dos estagiários	26
4.1.6. Dinâmica dos setores e aprendizagem contínua	26
4.1.7. Princípio da dupla-verificação e rastreabilidade.....	26
4.2. Pontos Fracos.....	27
4.2.1. Espaço e meios tecnológicos no Hospital Pediátrico.....	27
4.2.2. Período de estágio atribuído a cada setor/unidade	27
4.3. Oportunidades	27
4.3.1. Familiarização com os medicamentos de uso hospitalar	27
4.3.2. Contacto com a realidade hospitalar	28
4.4. Ameaças.....	28
4.4.1. Existência de stocks nas enfermarias de cada serviço	28
4.4.2. Escassez de vagas para ingresso na carreira de farmacêutico hospitalar.....	28
5. Considerações Finais	29

6. Referências bibliográficas	29
ANEXOS	30
ANEXO 1- Perfil farmacoterapêutico	30
ANEXO 2- Requisição de Medicamentos Hemoderivados	31
ANEXO 3- Modelo I509- Impresso de requisição de estupefacientes	32
Parte III- The role of magnetic nanoparticles in cancer nanotheranostics ..	33
Acknowledgments	34
List of Abbreviations	35
Abstract	37
Resumo	38
1. Introduction	39
2. Magnetic nanoparticles	40
3. Synthesis	42
4. Hybrid MNPs' synthesis	47
5. Physical properties of MNPs	48
6. Characterization of MNPs	50
7. Protection/Stabilization	52
8. Functionalization	53
8.1. Polymer functionalization	54
8.2. Smart polymers and multitheranostic nanosystems	55
8.3. Amphiphilic block copolymer functionalization.....	55
8.4. Micelle incorporation of MNPs	56
8.5. Biomolecule functionalization.....	57
9. Nanotoxicity	58
10. Biophysical mechanism	60
11. Medical Applications	61
12. Future Challenges	66
13. Conclusions	67
14. References	68

Índice de tabelas- Parte I

Tabela 1 - A equipa da Farmácia Cortesão	6
Tabela 2 - Resumo da Análise SWOT	7

Índice de tabelas- Parte II

Tabela 1 - Resumo da Análise SWOT	24
------------------------------------------------	----

Índice de tabelas- Parte III

Table 1 - Superparamagnetism (D_s) and critical (D_c) size thresholds for MNPs.	42
Table 2 - Benefits and limitations of the MNPs synthesis methods.	46
Table 3 - Magnetic nanoparticles tuned for dual imaging and therapeutic applications.	64
Table 4 - List, not exhaustive, of clinical trials involving magnetic nanoparticles in cancer diagnosis and/or treatment.	66

Índice de figuras- Parte III

Figure 1 - Correlation between MNP size and magnetic domain.	41
--------------------------------------------------------------------------	----

Maria Inês Abreu Ferreira

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

Relatório de estágio realizado no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientado pela Dra. Rosa Cartaxo e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Julho 2019



FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

AGRADECIMENTOS

À Dra. Rosa Cartaxo pela oportunidade de estágio e recepção calorosa.
A toda a equipa da Farmácia Cortesão, pelo apoio, orientação e incentivo em todos os momentos do estágio.

Lista de Abreviaturas

- AIM- Autorização de Introdução no Mercado
- ANF- Associação Nacional das Farmácias
- ARS- Administração Regional de Saúde
- BDNP- Base de Dados Nacional de Prescrições
- CCF- Centro de Conferência de Faturas
- CNPM- Código Nacional para a Prescrição de Medicamentos
- DCI-Denominação Comum Internacional
- MICF- Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
- MNSRM- Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
- MSRM- Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
- MVO- Associação Portuguesa de Verificação de Medicamentos
- PEM- Prescrição Eletrónica de Medicamentos
- PTS- Programa de Troca de Seringas
- PVP- Preço de Venda ao Público
- QR- do inglês, *Quick Response*
- SNS- Serviço Nacional de Saúde
- SPMS- Serviços Partilhados do Ministério da Saúde
- SWOT (ou FOFA)- do inglês, *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats* (Forças, Oportunidades, Fraquezas, Ameaças)
- VH-B- Vírus da Hepatite B
- VH-C- Vírus da Hepatite C
- VIH- Vírus da Imunodeficiência Humana

I. Nota Introdutória

Ao longo do meu percurso na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra até esta etapa final da minha formação académica, apercebo-me cada vez mais da importância do setor farmacêutico na resposta às necessidades dos cidadãos e naquele que é o seu fundamental objetivo: estar ao serviço da comunidade. O estágio curricular em Farmácia Comunitária constituiu um forte exemplo desta mesma premissa, uma forte componente prática complementar ao ciclo de aprendizagem, não apenas de consolidação e aplicação dos conhecimentos adquiridos, mas também de desenvolvimento da vertente mais social e humana do exercício profissional, de impacto significativo tanto na recetividade, como na transmissão de informação, comunicação e proximidade ao utente.

A Farmácia Comunitária caracteriza-se pela prestação de cuidados de saúde direcionados para o doente e cidadão em geral. Dada a sua acessibilidade à população, é um setor importante no sistema de saúde, na cedência de medicamentos e respetivo aconselhamento em resposta às necessidades assistenciais dos utentes, com vista a valorizar o uso racional do medicamento, a adesão à terapêutica e adoção de estilos de vida saudáveis(1).

Como profissional de saúde, o farmacêutico assume responsabilidade para com o utente na qualidade da prestação de cuidados e aconselhamento, honrando o respetivo código deontológico e boas práticas farmacêuticas no exercício da sua atividade(2).

Foi com confiança no rigor profissional e responsabilidade social, e, portanto, com elevadas expectativas que solicitei estagiar na Farmácia Cortesão, uma farmácia com uma equipa unida, ativa e sempre disponível para explorar os desafios e atividades inerentes à função do farmacêutico comunitário.

A abordagem e profissionalismo possibilitou uma rápida integração que contribuiu grandemente para o aproveitamento do tempo de estágio e reforçou o desenvolvimento de confiança e proximidade tanto a nível da equipa como na comunicação com os utentes.

O estágio realizado na Farmácia Cortesão decorreu entre os meses de janeiro e abril, sob orientação da Dra. Rosa Cartaxo e permitiu, neste sentido, o contacto com a área profissional, funcionamento interno do estabelecimento e o desenvolvimento da prática farmacêutica numa equipa de excelência que se prima pela responsabilidade profissional.

O presente relatório assume a forma de uma análise segundo o modelo SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), referente ao estágio curricular, na qual se pretende abordar os diversos aspetos positivos e negativos identificados no decorrer do mesmo, em todas as suas vertentes (interna e externa).

2. A Farmácia Cortesão

2.1. Contextualização

A Farmácia Cortesão encontra-se em funcionamento desde do ano de 1904, do qual data o alvará nº 4240 adjudicado pelo Ministério da Saúde. Está atualmente localizada na Rua do Padroeiro, nº 20, na freguesia de São Silvestre, pertencente ao conselho e distrito de Coimbra, sob a Direção Técnica da Dr.^a Rosa Cartaxo.

2.2. Espaço físico e funcional da farmácia

Em prol da prestação do serviço à comunidade, as farmácias comunitárias devem dispor de condições e instalações que permitam assegurar a conservação, segurança e preparação de medicamentos, bem como a acessibilidade, comodidade e privacidade dos utentes e respetivos funcionários. Concordantemente, a farmácia Cortesão reúne uma sala de atendimento ao público, com acesso a um gabinete de atendimento personalizado; uma área de armazenamento; uma área de receção de encomendas; um laboratório para preparação de medicamentos manipulados; instalações sanitárias e um gabinete da Direção Técnica.

A sala de atendimento ao público é atualmente dotada de quatro postos de atendimento, individualmente compostos por um computador com software adequado no qual opera o sistema informático SIFARMA 2000[®], uma unidade de leitura ótica (leitor de código de barras e código QR) e uma impressora fiscal (de emissão de faturas e impressão do verso das receitas manuais). O espaço engloba também uma balança, lineares e gôndolas de exposição de produtos cosméticos, de proteção solar, puericultura e higiene oral; e uma área de exposição “*over the counter*” direcionada para os produtos classificados como medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM).

A sala de atendimento personalizado constitui um espaço mais reservado de atendimento, de medição de parâmetros bioquímicos e fisiológicos (tensão arterial, glicémia capilar, colesterol total) e de prestação de serviços externos (nutrição e podologia).

A receção de encomendas é efetuada, como acima supracitado, em área própria, num posto de trabalho devidamente equipado, dotado de computador, leitor ótico, impressora, impressora de códigos de barras e rótulos, e um posto de conferência de receitas. O posto permite igualmente a elaboração e envio de encomendas, controlo de stocks, prazos de validade, registo de medicamentos manipulados, emissão de rótulos e verificação dos registos dos termohigrómetros.

A área de armazenamento constitui uma área de acesso restrito, no qual são manualmente acondicionados os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) distribuídos

alfabeticamente, por princípio ativo e por forma farmacêutica, em gavetas organizadas. A distribuição obedece à segregação de xaropes MSRM, xaropes MNSRM, soluções de aplicação cutânea, formas sólidas MSRM, pomadas, cremes, pós de aplicação cutânea, granulados, produtos de protocolo, produtos de aplicação oftálmica, produtos de aplicação nasal, auricular, gotas orais, produtos de aplicação vaginal, e produtos de uso veterinário. Adicionalmente contém um frigorífico para produtos que requeiram condições especiais de conservação, a baixas temperaturas.

2.3. Localização

A localização da farmácia, embora constitua uma zona de cariz mais rural, assume uma boa acessibilidade por parte dos utentes, pelo que presta serviço a população proveniente de diversos locais, bastante diversificada em termos de faixa etária. Não obstante, é conjuntamente evidente a presença de utentes de faixa etária mais avançada, uma população local preponderantemente mais idosa que, paralelamente, dada a sua ocupação, revela uma solicitação frequente de produtos de uso veterinário.

2.4. A equipa

A farmácia conta com 5 colaboradores na sua equipa técnica, que asseguram o funcionamento e completa disponibilidade aos utentes num horário ininterrupto que vigora das 9:00 às 20:00 em dias úteis, das 9:00 às 13:00 aos sábados e das 10:00 às 12:30 aos domingos e feriados. Na totalidade a equipa é composta por três farmacêuticos, dois técnicos de farmácia e um auxiliar de limpeza, como sistematizado na tabela que se segue.

Tabela 1: A equipa da Farmácia Cortesão

Equipa	Funções/Grau
Dr. ^a Rosa Cartaxo	Gerência Direção Técnica
Dr. ^a Teresa Nunes	Farmacêutica
Dr. ^a Lúcia Anes	Farmacêutica
Vítor Santos	Técnico de Farmácia
Cátia Silva	Técnica de Farmácia
Sra. Isabel	Auxiliar de limpeza

3. Análise SWOT

A análise SWOT ou FOFA (Forças, Oportunidades, Fraquezas, Ameaças) constitui uma ferramenta de sistematização de aspetos internos do objeto de análise (definidos como Forças

e Fraquezas) e de aspetos externos ao mesmo, do ambiente envolvente (Oportunidades e Ameaças).

À presente análise interna concerne como objeto o estágio curricular realizado na Farmácia Cortesão e a sua relação com a formação académica no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), ao passo que, para análise externa, se considera a área do estágio. Serão mencionados diversos pontos que reúnem simultaneamente aspetos positivos e negativos, que serão abordados posteriormente à sua sistematização.

Tabela 2- Resumo da análise SWOT

3.1. Pontos Fortes	3.2. Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none"> .1. Receção e integração na equipa da farmácia. .2. Plano de estágio estruturado. .3. Contextualização prévia à realização de tarefas. .4. Disponibilidade, dedicação e proatividade da equipa. .5. Elevado sentido de responsabilidade social. .6. Flexibilidade de horário. .7. Possibilidade de fazer fins-de-semana. .8. Medição de parâmetros fisiológicos e bioquímicos. .9. Preparação de medicamentos manipulados. .10. Grande afluência de utentes à farmácia. .11. Formações externas. 	<ul style="list-style-type: none"> .1. Dificuldade inicial de associação de nomes comerciais e princípios ativos. .2. Desconhecimento de várias marcas de produtos. .3. Insegurança e dificuldade inicial de comunicação com os utentes. .4. Grande afluência de utentes à farmácia. .5. Formações externas.
3.3. Oportunidades	3.4. Ameaças
<ul style="list-style-type: none"> .1. Sistema SIFARMA 2000® .2. Potencialidades do código QR .3. Desenvolvimento de competências de comunicação, aplicação dos conhecimentos adquiridos e valorização do farmacêutico 	<ul style="list-style-type: none"> .1. Conjuntura económico-social do país .2. Falta de medicamentos

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Receção e integração na equipa da farmácia:

Posso dizer que desde o primeiro dia de estágio até ao final do mesmo fui sempre bem-recebida na Farmácia Cortesão. O primeiro contacto com a farmácia, contextualização

da mesma, respetivas áreas, funções e apresentação da equipa foi pronta e calorosamente assegurada pela Dr.^a Rosa. Todos os colaboradores apresentaram bastante abertura no diálogo desde o início, deixando-me confortável na colocação de questões e na integração na dinâmica da equipa.

3.1.2. Plano de estágio estruturado

Estando apenas um estagiário presente neste período, a orientação e organização bem como a perceção da dimensão e abrangência de todo o sistema e requisitos de uma farmácia comunitária foi fluida e natural, permitindo-me acompanhar e estar presente em todos os processos do seu funcionamento.

Em linhas gerais, o estágio foi iniciado na arrumação dos produtos recém-rececionados, com vista a promover a familiarização com a disposição dos mesmos, as diversas marcas e características dos produtos. A esta tarefa, seguiu-se a receção de encomenda, aquisição de produtos, preparação de manipulados sob supervisão, observação e realização de medição de parâmetros bioquímicos, conferência de stocks e prazos de validade, observação de atendimento personalizado, organização do receituário e atendimento ao público.

A progressão de tarefas possibilitou a perceção da lógica da sequência de atividades na gestão da farmácia, da otimização da execução das diversas funções e da sua contribuição para uma orgânica de trabalho funcional e fluida.

3.1.3. Contextualização prévia à realização de tarefas

Na atribuição de cada tarefa, foi-me sempre proporcionada uma formação geral dos conceitos e procedimentos necessários à sua execução, bem como uma demonstração da mesma. Este procedimento contribuiu para a transmissão de informação com clareza, que precedeu, em destaque: a receção e envio de encomendas; disposição e conservação dos produtos; utilização do sistema informático e as suas funcionalidades; preparação de medicamentos manipulados e respetivo arquivo; conferência de receituário, processamento da faturação e fecho do mês.

3.1.4. Disponibilidade, dedicação e proatividade da equipa

A equipa apresentou-se sempre disponível e incentivou a exposição de questões, no sentido de promover o esclarecimento, desenvolvimento contínuo e o mais completo possível.

A comunicação e partilha de informação foi bastante positiva ao longo do estágio. Quando surgiam novas situações (que ainda não tivesse tido oportunidade de explorar) eram-

me identificadas e demonstradas no momento, e a recepção de novos produtos, circulares, formações, entre outros, eram sempre comunicadas a todos, o mais prontamente possível.

3.1.5. Elevado sentido de responsabilidade social

Na farmácia Cortesão está notoriamente presente a responsabilidade social, visível pela relação que todos os seus membros mantêm com a comunidade e que supera a consciência social inerente ao próprio exercício da profissão e à área de farmácia comunitária.

Esta componente está patente na iniciativa de adesão da farmácia ao “Programa de Troca de Seringas” (PTS) coordenado pelos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS) que consiste num *kit* de prevenção da transmissão sexual, endovenosa e parentérica do vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), vírus da Hepatite B (VH-B) e vírus da Hepatite C (VH-C); entregue gratuitamente, mediante recolha de seringas usadas, à população toxicod dependente utilizadora de drogas injetáveis.

A iniciativa, de elevado impacto na saúde pública, fundamenta-se na sensibilização para o uso do preservativo e evicção da reutilização de seringas, através da distribuição de material estéril, num *kit* composto por uma seringa esterilizada, dois recipientes, um toalhete desinfetante, uma ampola de água bidestilada e filtro, duas carteiras de ácido cítrico, um preservativo e folheto informativo.

Na sequência da solicitação do *kit* seria efetuada a recolha do material usado para o contentor adequado e a entrega do novo, e prestadas todas as informações necessárias ao utilizador. No decurso do estágio, não me foi solicitado o *kit* de troca de seringas, o que poderá eventualmente ser um bom indicativo de reduzido consumo de drogas injetáveis, dada a vasta divulgação do programa.

3.1.6. Flexibilidade de Horário

A localização próxima da área de residência e a flexibilidade de horário que me foi possibilitada no estágio curricular na Farmácia Cortesão constituiu uma vantagem, em termos do tempo, integração e aproveitamento do estágio.

3.1.7. Possibilidade de fazer fins-de-semana

Os fins-de-semana comportam um período de funcionamento da farmácia mais curto face aos dias úteis, e, por conseguinte, congloba um período de maior afluência à farmácia e muito mais dinâmico. A oportunidade de estar presente num fim-de-semana proporcionou uma aprendizagem que contribuiu para agilizar os procedimentos, mais direcionada para a

organização, gestão de tempo e otimização das tarefas, no sentido de dar cobertura às necessidades exigidas. Adicionalmente, tive a oportunidade de observar com mais detalhe os procedimentos do processamento da faturação e fecho do mês. No geral, tenho esta como uma experiência bastante positiva e estimulante.

3.1.8. Medição de parâmetros fisiológicos e bioquímicos

A prestação de serviços farmacêuticos é efetuada na sala de atendimento personalizado, um local mais reservado para a comunicação com o utente. Inicialmente, foi-me incentivada a observação, após a qual me foi permitida a realização da medição da pressão arterial, glicémia capilar e colesterol total. Considero que tenha sido uma progressão adequada e uma experiência positiva, quer pela interação mais direta e reservada com o utente, como pela oportunidade de comunicação e aconselhamento em função dos parâmetros avaliados.

A comunicação com utente é fulcral e determinante quer na sensibilização para a manutenção do estilo de vida saudável, quer para a adoção de medidas não farmacológicas, quer no incentivo da monitorização regular dos parâmetros ou da importância da exposição da situação na consulta médica. Nestes casos, é necessário transmitir a informação de modo a não sobressaltar o doente e reencaminhar ao médico.

3.1.9. Preparação de medicamentos manipulados

No decurso do estágio, tive a oportunidade de proceder à preparação de dois medicamentos manipulados de uso externo: uma pomada de enxofre a 6% prescrita para um caso de escabiose e uma pomada de ácido salicílico a 10% e propionato de clobetasol a 0,05% prescrita para uma situação de eczema. Esta experiência permitiu a conjugação e enquadramento da formação adquirida ao longo do plano de estudos do MICEF, e constituiu a aplicação prática dos mesmos. Saliento a preparação e preenchimento da ficha do manipulado; a consulta da legislação vigente e cálculo do preço; emissão do rótulo e dispensa do produto.

O cálculo do preço de venda ao público (PVP) obedece às especificações constantes na Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho, com base nas matérias-primas, materiais utilizados honorários de preparação. O cálculo compreende um campo de preenchimento presente na ficha do manipulado, à qual segue anexado o rótulo e a cópia da respetiva receita médica.

3.1.10. Grande afluência de utentes à farmácia

A Farmácia Cortesão regista uma significativa afluência de utentes, com a qual me foi possível contactar ao longo do estágio. Este parâmetro constitui compreensivelmente uma

variável não controlável, que no contexto de integração e aprendizagem inicial, dada a destreza e experiência ainda por desenvolver no contexto do sistema informático e familiarização com o espaço, se refletiu como um ponto menos positivo, pela pressão que naturalmente se exercia no sentido do domínio e otimização das tarefas. Nestes momentos, a disponibilidade da equipa encontrar-se-ia totalmente mobilizada e portanto, tendencialmente comprometida, o que se refletiu em atendimentos mais morosos. Contudo, esta situação surgiu apenas nos primeiros contactos com o atendimento ao público, contribuindo progressivamente para o maior envolvimento e desenvolvimento enquanto estagiária. Deste modo, a elevada afluência de utentes à farmácia, que inicialmente representou um desafio e alguma tensão a superar, gradualmente se refletiu numa postura mais pró-ativa e confiante, que só foi possível devido à formação, acompanhamento e experiência que me foi possibilitada nesta farmácia.

3.1.11. Formações externas

A noção de desenvolvimento pessoal e profissional e responsabilidade de atualização contínua prevalece entre todos os membros da Farmácia Cortesão. Durante o período de estágio, pude constatar a partilha de informação relativa ao surgimento de formações, tendo tido ainda a possibilidade de comparecer às mesmas. Embora não tenham surgido muitas oportunidades e convites para formações externas (das quais tive oportunidade de frequentar três) o estágio curricular foi complementado com formações internas acerca dos produtos disponíveis na farmácia, dirigidas pela própria equipa, que partilhou não apenas a informação que lhe foi transmitida em âmbito de formação, como também uma abordagem crítica, pessoal e derivada da própria experiência profissional. Neste sentido, as formações externas compreendem simultaneamente um ponto forte, dada a sua relevância e importância no conhecimento aprofundado e direcionado dos produtos para o aconselhamento mais personalizado, como um aspeto menos positivo, dado o não tão frequente surgimento de oportunidades no mesmo âmbito. Não obstante, saliento, que para um primeiro contacto com a área de farmácia comunitária, a partilha interna de informação contribuiu grandemente para uma experiência convictamente enriquecedora.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Dificuldade inicial de associação de nomes comerciais a princípios ativos

A vasta diversidade de fármacos disponíveis no mercado e associação de alguns princípios ativos a mais do que um nome comercial, constituiu um outro desafio no decurso do estágio curricular. A capacidade de correlacionar ambas as designações foi encarada como

um processo familiarização gradual, que teve início na arrumação e receção de produtos e mais tardiamente, no diálogo em âmbito de atendimento. Na situação ulterior, alguns utentes que pretendiam aconselhamento, com frequência referiam-se aos seus medicamentos pela designação comercial, que representava maior destaque na embalagem do medicamento. Neste âmbito, considerei esta uma posição de inicial dificuldade acrescida, solucionada pelo desenvolvimento do diálogo na perceção da finalidade terapêutica dos respetivos fármacos, pelo auxílio do sistema informático SIFARMA e pelo acompanhamento da equipa da farmácia.

O conhecimento da correlação de designação comercial e princípio ativo é algo que é adquirido ao longo da experiência profissional. A formação académica no MICF demonstra já alguma preocupação nesse sentido, como pode constatar na disponibilização e resolução de casos clínicos no âmbito do plano curricular, no entanto, não é esperado que seja adquirido na sua plenitude. O conhecimento inerente aos fármacos sim, é explorado com a devida relevância, constituindo as bases para a formação individual e prestação de esclarecimentos perante as questões do utente.

Ao longo da continuidade do estágio, estas dificuldades, ou fraquezas, foram progressivamente atenuadas, no entanto tenho presente a constante necessidade de atualização do conhecimento e contacto com novos produtos.

3.2.2. Desconhecimento de várias marcas de produtos

No seguimento de algumas dificuldades sentidas relativamente à designação dos medicamentos, surge igualmente a vasta disponibilidade de produtos, a concorrência entre marcas e extensas gamas que se apresentam na farmácia, agora relativa a MNSRM e outros produtos de saúde. Uma primeira abordagem e formação permitiu que me fosse possível inteirar parcelarmente dos diferentes produtos e da respetiva disposição, nos momentos de menor afluência da farmácia, no sentido de agilizar a minha orientação para os produtos relevantes para cada situação exposta. No entanto, nem sempre se revelou um processo intuitivo.

À semelhança do ponto explorado anteriormente, é um processo de aprendizagem gradual, dependente da experiência profissional e frequente contacto com os diversos produtos disponíveis na farmácia.

3.2.3. Insegurança e dificuldade inicial na comunicação com os utentes

Como referi anteriormente, foi o presente estágio curricular que me proporcionou o primeiro contacto com o ambiente profissional em farmácia comunitária. Neste mesmo

sentido, à componente prática e dinâmica tanto do espaço, como do desempenho na execução de tarefas, estiveram associados conceitos e procedimentos que complementam e se adicionam à formação académica, sendo um ambiente “novo” que pode ter gerado, no princípio, alguma insegurança. Adicionalmente, como também havia sido mencionado acima, a população que predominantemente acede à farmácia é tendencialmente mais idosa, o que por vezes se poderia refletir na dificuldade de expressão e comunicação, e na perceção, da minha parte, das necessidades do utente. No entanto, o contacto frequente com os utentes, promoveu favoravelmente o meu desenvolvimento, na flexibilidade de discurso e perceção dos utentes.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Sistema SIFARMA 2000®

O sistema informático implementado na Farmácia Cortesão revela elevada aplicabilidade na execução e agilização dos processos em âmbito de farmácia comunitária. A vasta abrangência e funcionalidades que o sistema engloba, permitem, a monitorização, gestão e registo num só sistema, contribuindo para a otimização, organização e gestão na/da farmácia.

3.3.2. Funcionalidades e potencialidades da implementação do código QR

No âmbito da implementação de dispositivos de segurança como medida de evicção de falsificação de medicamentos ou violabilidade das embalagens, no seguimento da Diretiva 2011/62/UE do Parlamento Europeu e do Conselho, a 9 de fevereiro de 2019 entrou em vigor o sistema de verificação composto por um código bidimensional (QR) de identificação único e um dispositivo de prevenção de adulterações que comprove a inviolabilidade da própria embalagem. A diretiva é referente aos medicamentos de uso humano e obedece a um circuito de carregamento de informação para o código, pelos titulares de autorização de introdução no Mercado (AIM), e respetiva verificação e desativação pelos distribuidores por grosso, farmácias e estabelecimentos de saúde públicos e privados. A aplicação desta medida a nível nacional, tem como fundamento a emissão de alertas de potenciais falsificações, monitorizadas pela Associação Portuguesa de Verificação de Medicamentos (MVO Portugal) e INFARMED, I.P. por forma a garantir a qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos e a rastreabilidade de eventuais inconformidades, apresentando-se como uma medida cautelar em prol da saúde pública(5). No entanto, dada a recente entrada em vigor desta medida, decorre no presente um período de adaptação, podendo ainda representar falhas que interfiram no funcionamento e aplicabilidade fluida deste sistema, que devem ser consideradas.

3.3.3. Desenvolvimento de competências de comunicação, aplicação dos conhecimentos adquiridos e valorização do farmacêutico

A componente prática de formação no contexto profissional aliada ao forte contacto com a comunidade que acede à farmácia, potencia e modela progressivamente o desenvolvimento das competências associadas ao desempenho da atividade farmacêutica no âmbito de farmácia de oficina. A adaptabilidade do discurso é fundamental para o esclarecimento do utente/doente, nas suas mais variadas questões, das quais destaco a dificuldade de perceção e origem da diferença de preço entre medicamentos originais e genéricos. Neste contexto, a introdução de ambos os conceitos, informando que possuem a mesma substância ativa, forma farmacêutica, dosagem e indicação terapêutica, e que a divergência de preço assenta essencialmente nos custos de investigação e desenvolvimento inerentes ao próprio desenvolvimento e introdução no mercado de um novo medicamento, permite a perceção do maior esclarecimento e envolvimento do doente na terapêutica instituída e do contributo do farmacêutico para o mesmo.

3.3.4. Formação contínua

A área farmacêutica está, assim como outras áreas profissionais, fortemente associada a inovação e, por conseguinte, requer uma frequente e ativa atualização por parte dos profissionais que a dignificam. Neste sentido, a formação contínua constitui uma parte integrante e imprescindível da atividade farmacêutica, bem como uma forte oportunidade de desenvolvimento profissional. A disponibilidade de formações externas constituem uma oportunidade e um acréscimo à profissão, que saliento ser de elevada importância.

3.4. Ameaças

3.4.1. Conjuntura económico-social do país

A atual situação económica e financeira do país tem-se refletido invariável e indubitavelmente nas farmácias e a quem a estas acede. O poder económico da população tem sofrido alterações, sendo no geral mais reduzido, o que implica e afeta, juntamente com a variabilidade de comparticipação dos medicamentos, negativamente a gestão comercial das farmácias. Por conseguinte, estas alterações induzem a uma maior competitividade, à necessidade de diferenciação, especialização e prestação de serviços de valor acrescentado para o utente/doente e conseqüentemente, estimula, por outro lado, o alargamento das potencialidades e valorização do farmacêutico no âmbito de farmácia comunitária.

3.4.2. Falta de medicamentos

É notória a indisponibilidade de medicamentos a que se assiste, na atividade de dispensa de medicamentos. No relativamente curto período de tempo no qual decorreu o meu estágio, foi frequente observar situações de medicamentos esgotados nos distribuidores. Face as estas circunstâncias, já reportadas no ano passado, foi feita uma recolha de informação mediada pelo INFARMED durante dois dias do mês de maio do presente ano, precisamente no sentido de averiguar mais profundamente as falhas diárias sentidas nas farmácias. Esta situação é externa à farmácia em si, uma vez que as encomendas foram efetuadas, no entanto, dada a indisponibilidade dos produtos requisitados, não foram enviados. É uma situação de extrema importância que afeta principalmente os doentes, nomeadamente doentes com patologias crónicas e tratamento prolongado, aos quais não seria possível dar resposta às necessidades e continuidade terapêutica, bem como não seria possível informar sobre quando o medicamento voltaria a estar disponível.

4. Considerações Finais

A perceção da dimensão, da importância e da abrangência da farmácia comunitária foi conseguida pela realização do estágio curricular na Farmácia Cortesão. O estágio permitiu uma rápida integração na dinâmica e equipa da farmácia, contribuindo para a minha aprendizagem e desenvolvimento progressivo neste primeiro contacto com a farmácia comunitária. A duração do estágio revelou-se adequada e a experiência bastante enriquecedora para a compreensão da estrutura, organização e produtos, e desenvolvimento de competências, reconhecendo sempre a componente dinâmica e de inovação associada à área farmacêutica. Todas as oportunidades e contacto com o meio contribuíram para o desenvolvimento, experiência e melhoria a nível profissional, realçando sempre o princípio da atualização contínua. Neste sentido, vejo o meu estágio curricular em farmácia comunitária como uma mais-valia, uma experiência que tenho como bastante positiva, que forneceu as bases necessárias para a prática profissional enquanto farmacêutica e para a progressão na prestação de cuidados de saúde e aconselhamento à comunidade.

5. Referências bibliográficas

- (1) MARQUES, Cristina - Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF). (2009).
- (2) ORDEM DOS FARMACÊUTICÊUTICOS - Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. (1998) 1–9.
- (3) ACSS/INFARMED - Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. Ministério da Saúde. 3 (2014) 1–23.
- (4) INFARMED - INSTITUTO NACIONAL DA FARMÁCIA E DO MEDICAMENTO - Medicamentos Manipulados, INFARMED e Ministério da Saúde. (2005).
- (5) INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE, I. P. - Circular Informativa N°025/CD/8.I.6. Implementação dispositivos segurança – Diretrizes após 9 de fevereiro de 2019. (2019) 1.

ANEXOS

ANEXO I- Casos Práticos

Caso Prático I

Uma jovem de 20 anos dirigiu-se à farmácia, solicitando antibiótico para a infecção urinária que suspeita ter desenvolvido recentemente. Na ausência de prescrição médica para o devido efeito, o diálogo foi direcionado para a sintomatologia corrente: quando começou a sentir o desconforto, se conseguia descrever o aspeto da urina, se tinha ido ao médico, se já tinha tomado algo antes de se dirigir à farmácia e se tinha conhecimento ou executado medidas não farmacológicas que auxiliassem na presente situação. A jovem disse que a situação era muito recente (situando como o segundo ou terceiro dia que sentia desconforto e que não apresentava hematúria), que não tinha recorrido ao médico, mas tinha utilizado tiras de teste de urina, que lhe indicavam infecção urinária, não querendo desenvolver acerca da determinação. Adicionalmente, revelou que alguém conhecido lhe tinha aconselhado a antibioterapia. Posta a situação, a doente foi primeiramente informada da importância da conservação adequada das tiras de teste de urina ao abrigo da luz e humidade, da verificação da vigência do prazo de validade e dos procedimentos de utilização gerais, de realização do teste preferencialmente com a colheita do fluxo médio da urina da manhã, o mais próximo possível do momento da colheita, mergulhando e removendo a tira e aguardando o resultado por cerca de 2 min. Estes procedimentos contribuem para a correta utilização e obtenção de resultados mais fiáveis.

Tendo executado os procedimentos de acordo com as respetivas instruções, obtido resultados indicativos de infecção urinária e reportando sintomatologia de disúria, necessidade constante de urinar, foi sensibilizada para ter em atenção o aspeto, nomeadamente turvação e odor da urina, para a higiene íntima regular, ingestão frequente de água, uso de roupa interior de algodão, evitando peças de vestuário justas, e foi sensibilizada para a importância de consultar o médico para a determinação do diagnóstico e tratamento adequado, para a mais célere resolução da situação. Foi também informada da impossibilidade de dispensa de antibióticos na farmácia na ausência de prescrição médica, por forma a salvaguardar o seu uso racional e evitar o desenvolvimento de resistências bacterianas.

A jovem prosseguiu, revelando impossibilidade de ir ao hospital e que pretendia algo que pudesse auxiliar de momento a situação, pelo que foi aconselhado um suplemento de extrato de uva-ursina (*Arctostaphylos uva-ursi* L.) e arando vermelho (*Vaccinium macrocarpum* L.). O suplemento contém, respetivamente, arbutósido- um heterósido hidroquinónico que

sofre hidrólise pela flora intestinal e metabolização hepática, e posteriormente liberta um composto ativo (hidroquinona) em meio alcalino, exercendo a sua atividade antimicrobiana como antisséptico urinário- taninos e flavonoides de ação anti-inflamatória e diurética, que estão presentes no extrato de folha de uva-ursina; e proantocianidinas do tipo A presentes no extrato de arando vermelho, que atuam pela inibição da adesão bacteriana às células uroepiteliais. A utilização do suplemento nesta situação recomenda a toma de dois comprimidos após o pequeno-almoço e jantar, que poderá auxiliar, conjuntamente com as medidas não farmacológicas, no alívio do desconforto reportado e, subsequentemente, na prevenção de distúrbios urinários recorrentes. Não obstante, foi demarcada a necessidade de consulta médica, o mais cedo possível.

Caso Prático 2

Uma sra. dirigiu-se à farmácia para solicitar um contraceptivo de emergência para a gata. Na sequência do diálogo, a sra. revelou que desconhecia se a gata estava em período de gestação e que suspeitaria de que se trataria de uma situação recente. Sendo informada da indisponibilidade do produto solicitado, e que a contraceção de emergência presente na farmácia é destinada ao uso humano, foi sensibilizada para consultar e expor a situação junto do médico veterinário, quer para o acompanhamento e/ou eventual interrupção terapêutica da gestação do animal de estimação.

Maria Inês Abreu Ferreira

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar

Relatório de estágio realizado no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientado pela Doutora Marília João Rocha e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Julho 2019



FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Doutora Marília João Rocha, pela dedicação em todos os momentos e pela oportunidade de estágio.

À minha família pelo apoio constante e incondicional que sempre foi determinante no meu percurso e sem o qual não seria possível, os meus sinceros agradecimentos.

Lista de Abreviaturas

C.E.- Comissão de Ética

CFT- Comissão de Farmácia e Terapêutica

CHUC- Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

CQSD- Comissão de Qualidade e Segurança do Doente

CT- Comissão Técnica

DNA- ácido desoxirribonucleico

GCL-PPCIRA - Grupo de Coordenação local

HUC- Hospitais da Universidade de Coimbra

HG- Hospital Geral

HP- Hospital Pediátrico

HSC- Hospital Sobral Cid

LLA- Leucemia Linfoblástica Aguda

MBB- Maternidade Bissaya Barreto

MDM- Maternidade Daniel de Matos

SF- Serviços Farmacêuticos

SGIM- Sistema de Gestão Integrada do Medicamento

SNS- Serviço Nacional de Saúde

SWOT (ou FOFA)- *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats* (Forças, Oportunidades, Fraquezas; Ameaças)

UMIV- Unidade de Misturas Intravenosas

UPC- Unidade de Preparação de Citotóxicos

I. Introdução

A Farmácia Hospitalar constitui uma área profissional da carreira farmacêutica regulamentada por diploma governamental e definida por Decreto-Lei (DL nº 44 2014, de 22 de fevereiro de 1962) essencialmente como o conjunto de atividades farmacêuticas exercidas através dos serviços farmacêuticos, em organismos hospitalares ou serviços a eles ligados, direcionados para a colaboração em funções de assistência dos mesmos e para a promoção de ações de investigação científica e ensino associados à sua atividade (1 ;2).

Neste contexto, os Serviços Farmacêuticos Hospitalares dizem respeito a departamentos de autonomia técnica e científica que incluem equipas de profissionais direcionadas para os cuidados de saúde, que asseguram a qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos e a terapêutica medicamentosa dos doentes abrangidos pelo respetivo organismo, operando sob direção de um farmacêutico hospitalar nomeado pelo conselho de administração do Hospital.

As competências associadas à atividade farmacêutica em ambiente hospitalar englobam, de forma geral, as secções de: Gestão, Aprovisionamento; Distribuição; Farmacotecnia; Informação de Medicamentos; Cuidados Farmacêuticos; Ambulatório e Ensaio Clínicos; às quais se adicionam as capacidades inerentes às atividades farmacêuticas supracitadas(3).

Os Serviços Farmacêuticos encontram-se também representados, no respetivo organismo, na Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT), e operam em coordenação com os serviços clínicos e enfermagem, evidenciando uma área de suporte e uma estrutura de elevada importância na prestação de cuidados de saúde no âmbito hospitalar.

Durante a realização do estágio curricular nesta área profissional, pude constatar a dinâmica do espaço e funcionários do CHUC e Hospital Pediátrico na interação e integração em equipas multidisciplinares, e contactar com diversas áreas do domínio da Farmácia Hospitalar, que abordarei posteriormente, no decurso do desenvolvimento do presente relatório de estágio e respetiva análise SWOT.

2. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

O meu estágio em Farmácia Hospitalar decorreu nos Serviços Farmacêuticos (SF) do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), E.P.E. O Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra resulta da fusão, promovida pelo Ministério da Saúde e publicada em Diário da República no Decreto-Lei nº30/2011, dos Hospitais da Universidade de Coimbra E.P.E., integrando a Unidade de Saúde de Coimbra-norte e a Maternidade Dr. Daniel de Matos (MDM); do Centro Hospitalar de Coimbra, E.P.E., englobando a Unidade de Saúde de Coimbra-sul- o Hospital Geral (HG), a Maternidade Bissaya Barreto (MBB) e o Hospital

Pediátrico (HP); e do Centro Hospitalar Psiquiátrico de Coimbra, constituído pelo Hospital Sobral Cid (HSC).

Os SF integram a Área de Suporte à Prestação de Cuidados, inserida nos Serviços de Apoio Geral do CHUC, sob a Direção Técnica assegurada pelo Dr. José António Lopes Feio.

A fusão das Unidades de Saúde visa, neste sentido, a prestação de cuidados de saúde diferenciados e de elevada qualidade “num contexto de formação, ensino, investigação, conhecimento científico e inovação, constituindo-se como uma referência nacional e internacional em áreas consideradas como polos de excelência.”(4).

O meu estágio em Farmácia Hospitalar foi desenvolvido nos meses de maio e junho, nos quais tive oportunidade de contactar com a dinâmica do Hospital Pediátrico nos setores de distribuição e farmacotecnia, e dos HUC nas secções de Radiofarmácia, Unidade de Misturas Intravenosas (UMIV)/Manipulados, Unidade de Preparação de Citotóxicos (UPC) e Ambulatório de Oncologia, completando a duração total de 2 meses.

3. Serviços Farmacêuticos do CHUC

Os Serviços Farmacêuticos do CHUC englobam uma extensa equipa de profissionais de saúde, na qual interatuam, de entre os quais, farmacêuticos e técnicos superiores de diagnóstico de terapêutica na disponibilização dos medicamentos necessários aos diversos serviços do hospital. A integração desta vasta equipa multidisciplinar evidencia a colaboração entre os profissionais e organização do serviço, como sendo pontos fulcrais do funcionamento do mesmo.

Dada a vasta abrangência de atividades e competências atribuídas aos farmacêuticos no meio hospitalar, os SF encontram-se subdivididos por diferentes setores e unidades, como evidenciados nos tópicos que se seguem:

1. Unidade de Gestão e Aprovisionamento, ao qual compete a gestão de aquisição de medicamentos em função das necessidades e recursos do hospital; e de Receção e Armazenamento, na receção e armazenamento dos medicamentos de acordo com os requisitos de conservação;
2. Comissões técnicas- Comissão de Farmácia e Terapêutica CFT; Controlo de Proteção Radiológica; Grupo de Coordenação local GCL-PPCIRA Comissão de Controlo de Infecção; Comissão de Qualidade e Segurança do Doente CQSD; Comissão de Ética C.E. para a saúde;
3. Unidade de Distribuição dos medicamentos para os respetivos serviços, segundo a distribuição individual em dose unitária, distribuição tradicional;

4. Farmacotecnia, destinada à produção de medicamentos para terapêutica personalizada do doente;
 - i) Radiofarmácia, na produção de fármacos contendo radioisótopos.
 - ii) Unidade de Preparações Intravenosas (UMIV) e manipulados, na preparação, em áreas segregadas, de preparações estéreis, não-estéreis internas e externas.
 - iii) Unidade de Preparação de Citotóxicos (UPC).
5. Unidade de Ensaio Clínicos;
6. Informação de Medicamentos, direcionada para a avaliação de literatura científica, seleção e elaboração de informação técnica sobre medicamentos e respetivos protocolos de utilização;
7. Ambulatório, na disponibilização de medicação ao doente em regime de ambulatório;
8. Cuidados Farmacêuticos, direcionados para a monitorização farmacoterapêutica orientada e qualidade do tratamento farmacológico;
9. Auditoria interna- destinada à verificação e avaliação periódica das funções e atividades desenvolvidas nos diversos setores e unidades dos Serviços Farmacêuticos, com vista a promover a minimização do risco e ocorrência de erro.

O estágio permitiu o conhecimento e acompanhamento do funcionamento de uma seleção de entre os setores e unidades supramencionados, pelo que o presente relatório assume a forma de uma análise segundo o modelo SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) ou FOFA (Forças, Oportunidades, Fraquezas, Ameaças), referente ao estágio curricular, na qual se pretende abordar os diversos aspetos positivos e negativos identificados no decorrer do mesmo, em todas as suas vertentes (interna e externa).

4. Análise SWOT

TABELA I - Resumo da análise SWOT

	PONTOS FORTES	PONTOS FRACOS
ANÁLISE INTERNA	1. Caderno de Estagiário	1. Espaço e meios tecnológicos no HP.
	2. Formação dos setores dos SF	2. Período de estágio atribuído a cada setor/unidade dos SF
	3. Organização e distribuição do percurso de estágio	
	4. Equipas e relação interpessoal	
	5. Receção e integração dos estagiários	

	6. Dinâmica dos setores/unidades e aprendizagem contínua	
	7. Princípio de dupla-verificação e rastreabilidade de procedimentos	
ANÁLISE EXTERNA	OPORTUNIDADES	AMEAÇAS
	1. Familiarização com os medicamentos dispensados em meio hospitalar	1. Existência de stocks não controlados nas enfermarias de cada serviço
	2. Contacto com a realidade hospitalar	2. Escassez de vagas para ingresso na carreira de Farmacêutico Hospitalar.

4.1. Pontos Fortes

4.1.1. Caderno de Estagiário

A atribuição de um Caderno de Estagiário demarca a preocupação e ligação do CHUC ao ensino e a organização para a coordenação e elaboração de um percurso de estágio proveitoso para os estagiários. Adicionalmente, o carácter interativo do documento, auxilia, a meu ver, no estímulo, direcionamento e orientação dos estagiários no meio hospitalar, no conhecimento do circuito e processos que nele estão envolvidos em consonância com a atividade farmacêutica. O registo das atividades e observações assume um carácter bidirecional, com abertura para melhoria contínua e, portanto, assume bastante valor.

4.1.2. Formação dos setores dos Serviços Farmacêuticos

O estágio foi acompanhado por 5 formações decorridas nas primeiras semanas, com vista à exploração dos temas “Distribuição”; “Gestão e Aprovisionamento”; “SGIM”; “Ensaio Clínicos” e “Farmacotecnia”. As formações foram integradas no plano de estágio e contribuíram para uma contextualização dos diversos setores, uma visão geral dos pontos mais relevantes a abordar e que se integram nos requisitos de funcionamento do setor. Considero, deste modo, que se inclua fortemente nos pontos positivos do estágio em Farmácia Hospitalar, como parte na receção e integração dos estagiários na organização dos Serviços Farmacêuticos.

4.1.3. Organização e distribuição dos períodos de estágio

Dada a presença de cerca de 8 alunos em período simultâneo de estágio, tornou-se indispensavelmente importante a divisão, atribuição e alternância dos estagiários nos diferentes setores e unidades, a qual na minha experiência se revelou bastante ordenada e da

qual considero ter obtido uma experiência sequencial e favorável à aprendizagem e compreensão do circuito e organização dos setores.

4.1.4. Equipas e relação interpessoal

Todas as equipas com as quais tive oportunidade de contactar demonstraram uma participação e preocupação ativa na integração e partilha de conhecimentos, motivando-me também na participação e execução de tarefas. Como parte de uma equipa multidisciplinar, foi evidente a importância da cooperação entre profissionais, baseada numa boa e eficaz comunicação entre os demais.

4.1.5. Receção e integração dos estagiários

A postura de todos os profissionais com quem interagi no decurso do estágio em muito contribuíram para uma receção e integração positivas, o que demonstra a presença da forte preocupação para o ensino.

4.1.6. Dinâmica dos setores e aprendizagem contínua

No meu estágio tive a oportunidade de começar no hospital pediátrico. Um ambiente que engloba essencialmente um menor número de doentes e, portanto, assume um ritmo mais calmo nos setores de distribuição e farmácia. Nestes setores, foi possível desenvolver uma participação ativa a vários níveis, dos quais saliento a participação no preenchimento de perfis farmacoterapêuticos (ANEXO 1), o atendimento de requisições de medicamentos hemoderivados (ANEXO 2) e de medicamentos psicotrópicos (ANEXO 3). Deste modo, permitiu a integração mais gradual, e bastante favorável, na minha perspectiva. Após este início, o estágio teve continuidade nos HUC, como inicialmente mencionado, com permanência semanal em cada unidade, nos quais o ritmo e dinâmica requeridos amplificaram, estimulando também, da parte que me compete, uma adaptabilidade e prontidão mais desenvolvidas. Considero que foi uma progressão estimulante a nível de aprendizagem e adaptabilidade ao ritmo profissional na área hospitalar.

4.1.7. Princípio de dupla-verificação e rastreabilidade

Como medida de segurança, gestão e minimização de riscos, é indispensável a implementação de práticas seguras em qualquer meio profissional. Neste caso em concreto, na área hospitalar e nos SF, a comunicação e confirmação da informação em todos os procedimentos da prática profissional são de extrema importância, os quais tive oportunidade de presenciar, bem como o princípio assente na dupla-verificação e implementação da

rastreabilidade informática de todos os processos. É uma medida importante, que revela transparência e rigor da organização dos SF.

4.2. Pontos Fracos

4.2.1. Espaço e meios tecnológicos no Hospital Pediátrico

Surgiram algumas incompatibilidades no decurso do estágio curricular, nomeadamente no Hospital Pediátrico. Foi pedida a elaboração de tarefas e trabalhos durante o tempo de estágio que requeriam a utilização de computador e acesso às bases de dados e sistemas informáticos do hospital, no entanto as únicas salas disponíveis para o efeito encontravam-se com acesso restrito e não permitido a estagiários, o que impossibilitou a execução dos mesmos no local. Outras tarefas também solicitadas em formato digital, dada a condição, foram realizadas recorrendo ao uso de outros meios, externos ao Hospital. Contudo, o mesmo já não se aplica ao estágio decorrido nos HUC, no qual os meios necessários à realização de tarefas se encontraram disponíveis.

4.2.2. Período de estágio atribuído a cada setor/unidade

O presente estágio em Farmácia Hospitalar encontra-se delimitado por um período de 2 meses. Por esta mesma razão, o período atribuído a cada setor/unidade, para que o estagiário tenha a possibilidade de se integrar em várias áreas, é restrito e relativamente curto para um desenvolvimento mais aprofundado e de maior destreza. É, no entanto, compreensível a mesma distribuição, dado o tempo ao qual o estágio se encontra circunscrito. Deste modo, considero que foi uma experiência abrangente e enriquecedora para uma primeira abordagem mais geral da área hospitalar.

4.3. Oportunidades

4.3.1. Familiarização com os medicamentos de uso hospitalar

A formação de base do farmacêutico é naturalmente conferida em grande extensão no decurso do plano de estudos teórico do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Não obstante, o contacto com a prática farmacêutica em ambiente profissional permite a aplicação dos conhecimentos adquiridos e complementa e acrescenta-se a estes, permitindo o contacto com novos medicamentos que surgem no mercado, recomendações terapêuticas e procedimentos para inclusão na terapêutica do doente. O estágio permitiu assim, contactar com medicamentos dispensados em regime de ambulatório no HP (são exemplos a somatropina- com indicação em casos de perturbação do crescimento por défice de hormona do crescimento e triptorrelina- análogo da hormona libertadora de gonadotropina com

indicação em casos de puberdade precoce) citotóxicos e protocolos de quimioterapia na UPC e HP (são exemplos vincristina- citotóxico que interfere com a tubulina; metotrexato- antimetabolito antagonista do ácido fólico, que interfere na síntese de DNA; pegaspargase- citotóxico que interfere com a síntese proteica e divisão celular; utilizados em casos de Leucemia Linfoblástica Aguda- LLA; azacitidina- com indicação no tratamento da síndrome mielodisplásica, entre outros); radiofármacos (dos quais se salientam, pela predominância, os fármacos carregados com radioisótopo de tecnécio ^{99m}Tc , como o tecnécio ^{99m}Tc sestamibi- com indicação para a cintigrafia da paratiroide; tecnécio ^{99m}Tc ácido oxidrónico- com indicação para cintigrafia óssea; tecnécio ^{99m}Tc exametazima- utilizado na marcação de leucócitos).

4.3.2. Contacto com a realidade hospitalar

O presente estágio curricular permitiu o meu primeiro contacto com o ambiente profissional da farmácia hospitalar, contribuindo grandemente para a elucidação das funções que o farmacêutico desempenha e do funcionamento e organização do meio no qual se insere.

4.4. Ameaças

4.4.1. Existência de stocks nas enfermarias de cada serviço

A presença de stock de medicamentos nas enfermarias representa acessibilidade a fármacos pelos demais profissionais, com reduzida intervenção do farmacêutico hospitalar, representando uma dificuldade acrescida no controlo dos medicamentos e materiais. Não obstante, é compreensível que na dinâmica hospitalar e na prestação de cuidados de saúde constitui uma necessidade de extrema relevância que oferece resposta às circunstâncias nas quais é requerido o acesso a medicamentos urgentes.

4.4.2. Escassez de vagas para ingresso na carreira de farmacêutico hospitalar

Atualmente tem sido reportada a escassez de profissionais da área farmacêutica nos hospitais do Serviço Nacional de Saúde- SNS. No entanto, e dada a situação socioeconómica do país, encontra-se dependente da abertura de concursos para farmacêuticos, que não tem respondido a todas as necessidades nacionais. Deste modo, a contratação de profissionais é também escassa e determinante no funcionamento das farmácias hospitalares, motivo pelo qual constitui uma ameaça.

5. Considerações Finais

Numa abordagem geral, o estágio curricular em Farmácia Hospitalar contribuiu para uma experiência enriquecedora, para o conhecimento e proximidade num primeiro contacto profissional com o meio e funcionamento hospitalar, na qualidade de farmacêutico. A duração do estágio revelou-se adequada para uma abordagem geral dos diversos setores nos quais o farmacêutico intervém. No entanto, para uma noção mais abrangente e alargada que permita o desenvolvimento de experiência e destreza, o período de estágio é bastante curto, dada a permanência na maioria dos setores mencionados ter sido delimitada a uma semana.

Não obstante, todo o percurso de estágio no CHUC foi uma mais-valia, que evidenciou a constante necessidade de valorização do farmacêutico e a determinação da equipa para evolução dos Serviços Farmacêuticos, para a informatização do circuito do medicamento e centralização de produção de medicamentos. De entre os setores e respetivas unidades que tive oportunidade de integrar, gostei particularmente do contacto com a área de Radiofarmácia, uma área menos explorada, que me despertou interesse e na qual o farmacêutico desempenha um papel ativo na preparação de radiofármacos.


A farmácia hospitalar é, na minha perspetiva, uma das áreas de elevado interesse e intervenção farmacêutica, que me proporcionou novas competências e a perceção da realidade profissional, que considero úteis no futuro, no percurso que se segue, na qualidade de farmacêutica.

6. Referências bibliográficas

- (1) BROU, Maria Helena Lamas *et al.* - **Manual da Farmácia Hospitalar**. (2005) 1-69. ISBN 972-8425-63-5.
- (2) Decreto-Lei n.º 44 204, de 2 de Fevereiro de 1962, **Regulamento geral da Farmácia Hospitalar**. (1962-02-02) [Consult. 10 jan. 2019]. Disponível em: www.infarmed.pt/documents/15786/1068150/decreto_lei_44204-1962.pdf%0A%0A
- (3) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - Competências Farmacêuticas em Farmácia Hospitalar. Versão 2.ii.16 (2016) 1-3.
- (4) FERNANDO DE JESUS REGATEIRO - Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE, [Consult. 12 mai. 2019]. Disponível em: <https://www.sns.gov.pt/entidades-de-saude/centro-hospitalar-e-universitario-de-coimbra-epe/>

ANEXO 2- Requisição de Medicamentos Hemoderivados

Número de série 2061227 VIA FARMÁCIA



MINISTÉRIO DA SAÚDE

MEDICAMENTOS HEMODERIVADOS
REQUISICÃO/DISTRIBUIÇÃO/ADMINISTRAÇÃO
(Arquivar pelos Serviços Farmacêuticos¹⁾)

HOSPITAL _____

SERVIÇO _____

<p>Médico _____ <small>(Nome legível)</small></p> <p>N.º Mec. ou Vinheta _____</p> <p>Assinatura _____</p> <p style="text-align: right;">Data ____/____/____</p>	<p>Identificação do doente <small>(nome, n.º de identificação civil, n.º do processo, n.º de utente do SNS)</small></p> <p style="text-align: right;">QUADRO A</p> <p style="font-size: small;"><i>Apor etiqueta autocolante, citógrafo ou outro. Enviar tantos autocolantes, com identificação do doente, quantas as unidades requisitadas.</i></p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

REQUISICÃO/JUSTIFICAÇÃO CLÍNICA (a preencher pelo médico)

<p>Hemoderivado _____ <small>(Nome, forma farmacêutica, via de administração)</small></p> <p>Dose/Frequência _____ Duração do tratamento _____</p> <p>Diagnóstico/Justificação Clínica _____</p>	QUADRO B
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------

REGISTO DE DISTRIBUIÇÃO N.º _____ / _____ (a preencher pelos Serviços Farmacêuticos)

Hemoderivado/dose	Quantidade	Lote	Lab. origem/Fornecedor	N.º Cert. INFARMED

Enviado ____/____/____ Farmacêutico _____ N.º Mec. _____

(¹) Excecionalmente, o plasma fresco congelado inativado poderá ser distribuído e ter registo e arquivo nos Serviços de Imuno-Hemoterapia.

Recebido ____/____/____ Serviço requisitante (Assinatura) _____ N.º Mec. _____

I. Instruções relativas à documentação:

A requisição, constituída por **2 vias (VIA FARMÁCIA e VIA SERVIÇO)**, é enviada aos Serviços Farmacêuticos após preenchimento dos Quadros A e B pelo serviço requisitante. O Quadro C é preenchido pelos Serviços Farmacêuticos.

VIA SERVIÇO – A preencher pelo serviço requisitante e arquivar no processo clínico do doente.

VIA FARMÁCIA – Permanece em arquivo nos Serviços Farmacêuticos. Excecionalmente, a distribuição e registo do plasma fresco congelado inativado, bem como o arquivo da via farmácia, poderá ser feito pelos Serviços de Imuno-Hemoterapia.

II. Instruções relativas ao produto medicamentoso:

a) Cada unidade medicamentosa fornecida será etiquetada pelos Serviços Farmacêuticos com as respetivas condições de conservação e identificação do doente e do serviço requisitante;

b) Os produtos não administrados no prazo de 24 horas e atendendo às condições de conservação do rótulo serão obrigatoriamente devolvidos aos Serviços Farmacêuticos. No Quadro D será lavrada a devolução, datada e assinada (n.º mecanográfico).

Modelo n.º 1804 (Exclusivo da INCM, S. A.) **INCM**

Despacho n.º 1051/2000 (2.ª série), dos Ministérios da Defesa Nacional e da Saúde, publicado no Diário da República, 2.ª série, n.º 251, de 30 de outubro de 2000.

ANEXO 3- Modelo 1509- Impresso de requisição de estupefacientes

REQUISIÇÃO DE SUBSTÂNCIAS E SUAS PREPARAÇÕES COMPREENDIDAS NAS TABELAS I, II E III, COM EXCEÇÃO DA IIIA, ANEXAS AO DECRETO-LEI N.º 15/93, DE 22 DE JANEIRO, COM RECTIFICAÇÃO DE 20 DE FEVEREIRO

N.º _____ Anexo X

Serviços Farmacêuticos do _____

SERVICO SALÁ Código _____

Medicamento (DCI)	Forma farmacêutica	Dosagem	Código

Nome do doente	Cama/ processo	Quantidade pedida ou prescrita	Estabelecimento que administra o medicamento		Quantidade fornecida	Observações
			Rueta	Data		
Total					Total	

Assinatura legível do director do serviço ou legal substituto	Assinatura legível do director dos serviços farmacêuticos ou legal substituto	Entregue por (ass. legível)
_____	_____	_____
Data ____/____/____ N.º Mec. _____	Data ____/____/____ N.º Mec. _____	Data ____/____/____ N.º Mec. _____
		Recetibo por (ass. legível)

		Data ____/____/____ N.º Mec. _____

Modelo n.º 1509 (Extrato de PDM, S. A.)

Maria Inês Abreu Ferreira

The Role of Magnetic Nanoparticles in Cancer Nanotheranostics

Monografia realizada no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências
Farmacêuticas, orientado pela Professora Doutora Carla Sofia Pinheiro Vitorino e
apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Julho 2019



FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

AKNOWLEDGMENTS

I would like to thank Professor Carla Vitorino for all the disponibility, valuable comments, suggestions and shared knowledge that contributed largely to this monograph.

To my family, I would like to express my most sincere gratitude for the presence and encouragement at all times. You were the pillar in all my academic accomplishments, without you I could never have reached this level of success.

To my friends and everyone that played a role in my academic accomplishments, a special thanks.

Thank you all for your unwavering support.

List of abbreviations

CT- Computed tomography

Dc- Critical diameter threshold

DLS- Dynamic light scattering

Ds- Superparamagnetism diameter threshold

FT-IR- Fourier transform-infrared spectroscopy

Hc- Coercivity

HR-TEM- High-resolution transmission electron microscopy

IONP- Iron oxide nanoparticle

IONF- Iron oxide nanoflowers

MNP- Magnetic nanoparticle

MRI- Magnetic resonance imaging

Mr- Remnant magnetisation

Ms- Magnetization saturation

NIR- Near infrared

NPs- Nanoparticles

PAI- Photoacoustic imaging

PDT- Photodynamic therapy

PET- Positron emission tomography

PTT- photothermal therapy

ROS- Reactive oxygen species

SDM- Single-magnetic-domain

SERS- Surface enhanced Raman spectroscopy

SPECT- Single photon emission computed tomography

SQUID-VSM- Superconducting quantum interference device-vibrating sample magnetometer

siRNA- small interfering RNA

Tc- Curie temperature

T_N- Neel temperature

US- Ultrasound

USPIO- Ultrasmall superparamagnetic iron oxide

XRD- X-ray diffraction

Abstract

Innovation, investigation and technological development are in constant progress in science, in particular in the oncological field. The search for new concepts and strategies for improving cancer diagnosis, treatment and better outcomes constitutes a necessary and continuous process, aiming at acquiring more specificity, efficiency, safety and better quality of life of the patients throughout the treatment. Current cancer therapies reflect this trend. It has been reported a significant evolution throughout the years, with favourable outcomes. However, the procedures involve therapeutic failures and several risks for the patient, and therefore, other options, including safer and more efficient methods are required. Nanotechnology arises as an appealing option, offering a wide armamentarium of nanosized systems with potential to incorporate both diagnosis and therapeutic features, envisioning real-time monitoring of cancer treatment. Within the nanotechnology field, magnetic nanosystems stand out as complex and promising nanoparticles with magnetic properties that enable the use of these constructs for magnetic resonance imaging and thermal therapy purposes. Additionally, they can be tailored for increased specificity and reduced toxicity, and functionalized with contrast, targeting and therapeutic agents, revealing great potential for the development of multifunctional platforms for application in cancer nanotheranostics. In this monograph, the characterization, synthesis and role of magnetic nanoparticles as potential cancer nanotheranostic agents will be addressed.

Keywords

Cancer; Therapy; Diagnosis; Magnetic Nanoparticles; Theranostics; Nanotheranostics.

Resumo

A inovação, investigação e desenvolvimento tecnológico encontram-se em progresso constante na ciência, em particular no campo oncológico. A procura de novas abordagens e estratégias para a melhoria dos resultados, diagnóstico e tratamento do cancro constituem um processo necessário e contínuo, que visa adquirir maior especificidade, eficácia, segurança e qualidade de vida dos doentes ao longo do tratamento. As abordagens terapêuticas atuais para o cancro refletem esta tendência, tendo sido reportada uma evolução significativa ao longo dos anos, com resultados favoráveis. No entanto, os procedimentos englobam falhas terapêuticas e vários riscos para o doente e, portanto, outras opções, incluindo métodos mais seguros e eficazes são necessários. A nanotecnologia surge como uma opção atrativa, proporcionando um vasto arsenal de sistemas à escala nanométrica, com potencial para incorporar ambas as componentes de diagnóstico e terapêutica, idealizando a monitorização do tratamento do cancro em tempo real. Dentro do campo da nanotecnologia, os nanossistemas magnéticos destacam-se como nanopartículas complexas e promissoras com propriedades magnéticas, que possibilitam a sua utilização para efeitos de imagiologia por ressonância magnética e para tratamento com recurso a terapia térmica. Adicionalmente, podem ser modificados para apresentar maior especificidade, reduzida toxicidade e funcionalizadas com agentes de contraste, vetorização e de atividade terapêutica, revelando elevado potencial no desenvolvimento de plataformas multifuncionais de aplicação na nanoteranóstica. Nesta monografia, serão abordados a caracterização, métodos de síntese e o papel das nanopartículas magnéticas como potenciais agentes de nanoteranóstica no cancro.

Palavras-chave

Cancro; Terapia; Diagnóstico; Nanopartículas Magnéticas; Teranóstica; Nanoteranóstica.

I. Introduction

Cancer diagnosis and treatment have improved over the last years, leading to increasing population survival rates. Conventional strategies including surgery, radiotherapy, chemotherapy and immunotherapy have found success in cancer treatment. However, limitations such as post-surgery relapses and therapy inherent adverse effects have raised great concerns. Chemotherapy has been implemented in monotherapy with concomitant drug administration of corticosteroids, antibiotics, antimetabolites, topoisomerase inhibitors and alkylating agents or in combination with radiotherapy (RT), yet these procedures and the chemotherapeutic drug administration are known to cause side effects such as nausea, hair loss, infertility, osteoporosis, lesions in the gastrointestinal tract, cardiac diseases, among others (1). Immunotherapy emerged as an immune system modulation strategy that enabled the development of an immune response to neoplastic cells by the administration of tumour antigens, cytokines, and antibodies against the immune-inhibitory pathways activated by cancer cells. Nevertheless, immunocompromised patients are not eligible and some strategies exhibit either poor efficacy, benefit restricted to a small group of patients and low response rates, or immune-related deleterious effects (2). Another promising strategy comprises the use of small interfering RNAs (siRNAs). Based on the recognition of complementary mRNA, the siRNA induces mRNA degradation and down-regulation of genes involved in tumour cell proliferation, inhibiting gene expression. These molecules are negatively charged, thus the capability to move across cell membranes is compromised and given the high susceptibility to degradation by blood enzymes such as nucleases, its activity is limited when systemically administrated (3).

Despite the technological research and development, cancer remains a major global impacting disease, with one-quarter of the estimated incidence in 2012 attributed to Europe alone (which comprised 9% of the total population) and 3.91 million new cases in Europe, in 2018 (4). As a conglomeration of multifactorial neoplastic diseases associated with high mortality rates, it demands the continuous development of novel therapeutic strategies to overcome the limitations associated to the conventional therapies. This gave rise to the research and development of safer and more effective detection and intervention approaches in nanotechnology (1; 5).

In response to these requirements, nanotheranostics has emerged as a promising field, using the nanotechnology in the development of integrated diagnostic and therapeutic systems for biomedical application.

Magnetic nanoparticles constitute recent multifunctional platforms (with both imaging and therapeutic functions) in the nanotheranostic field (6). The specific physical properties of these nanosystems enable their use as imaging probes for cancer diagnosis and as drug delivery systems, which represent an appealing approach to monitor the real-time therapeutic response, useful for targeted therapeutic regimes and personalised medicine.

2. Magnetic nanoparticles

Magnetism is a physical property exhibited- in various extents- by all particles with mass and electrical charges (7-8). The movement of these particles, namely protons, electrons and ions, generate a magnetic field. The magnetic effect in nanoparticles (NPs) is therefore dependent on the interaction between electrons and their orbital and spin motions, and their magnetic susceptibility is determined by the variation of NPs magnetization (as the sum of all atomic/molecular moments per volume units) in function of an applied magnetic field.

In the presence of a magnetic field, the magnetic forces of the particle electrons will be affected, and depending on the particle structure, electron spin and motion, amongst other factors, NPs will demonstrate rather different behaviours. Materials can present diamagnetic, paramagnetic, ferromagnetic, antiferromagnetic, ferrimagnetic or superparamagnetic properties. A diamagnetic material responds to a magnetic field by developing a negative magnetization, in which there is a partial alignment of the magnetic moments in the opposite direction of the externally applied field. Under the same circumstances, a paramagnetic material develops a positive magnetization due to unpaired electrons in partially filled orbitals and partial alignment of the magnetic moments in the field direction. However, once the magnetic field is removed, both diamagnetic and paramagnetic materials have no interaction between the atomic moments and consequently, the magnetization is null. In contrast, ferromagnetic materials present strong interactions between atomic moments, with a parallel spin alignment in the presence or absence of an external magnetic field, when below the Currie's temperature (T_C). Thus, ferromagnetic properties are also temperature dependent, and enable spontaneous magnetization. Under the same conditions, antiferromagnetic materials obey to an antiparallel spin alignment, whilst under Neel's temperature (T_N). Both exhibit an isotropic spin exchange interaction, with no predetermined ideal orientation. Similarly to anti-ferromagnetism and ferromagnetism, ferrimagnetism exhibits an antiparallel spin alignment, under T_C . However, the magnetic ordering occurs in crystal structures, e.g. in

ionic compounds, therefore the spin moments do not cancel each other, and the spin orientation follows a crystallographic axis, according to the crystal anisotropy (9).

The stability of the magnetization within the material relies on the size and orientation of the magnetic domains, in which the spin collinearity and rotation is uniform. Thus, a multi-domain ferro/ferrimagnetic particle with nonuniform magnetization can be reduced to a size in which it becomes an oriented single-magnetic-domain particle (SDM) with elevated resistance to a demagnetizing field and opposing spin rotation. This phenomenon is represented by an elevation of the coercivity. Under a critical diameter, the SDM suffers a spin reversal due to thermal fluctuations that culminate in a particle of zero coercivity and with no retained memory of the applied field once removed. These particles exhibit zero coercivity and zero hysteresis, thus have superparamagnetic properties (10).

In the superparamagnetic state, MNPs exhibit high (continuously changing) magnetic moments without remnant magnetization, culminating in a temperature dependent rapid response to an externally applied magnetic field. Thus, for biomedical applications (such as magnetic resonance imaging- MRI, magnetic hyperthermia, magnetofection, tissue repair, immunoassay, detoxification of biological fluids and cell separation), NPs integrating superparamagnetic agents at room temperature are considered the most preferred ones (10-13).

MNPs can be composed of iron (Fe), cobalt (Co), nickel (Ni), gold (Au), etc, and be presented in molecular ensembles, for example, cobalt-platinum NPs (CoPt); iron-platinum NPs (FePt); manganese, nickel or cobalt-ferrite NPs (e.g. Co-Fe₂O₄); iron-cobalt NPs (FeCo); magnetite (Fe₃O₄) or maghemite (γ -Fe₂O₃) NPs. The magnetic effect varies as a function of the size, type and composition of the particles, as shown in Figure I and Table I (14).

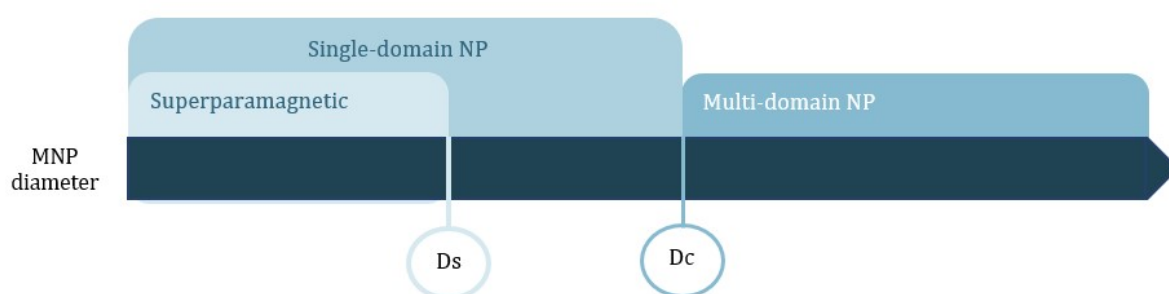


Figure I. Correlation between MNP size and magnetic domain. Key: Ds stands for superparamagnetism diameter threshold and Dc stands for critical diameter threshold.

Table I. Superparamagnetism (D_s) and critical (D_c) size thresholds for MNPs.

Material	D_s (nm)	D_c (nm)
FePt	4	55
FeCo	16	51
Fe ₃ O ₄	25	82
γ -Fe ₂ O ₃	30	90
Co	10	80
CoPt	3	57
Co-Fe ₂ O ₄	10	100
Ni	30	85

Additionally, MNPs may be presented in various constructs: in the form of single-phase particles; core-shell NPs of two phases and polymer coating; multicore NPs or oriented chain arrays (14).

Among the diverse magnetic constructs available for multifunctional purposes in cancer theranostics, MNPs are predominantly structured with a magnetic core, shell and a polymer coating that upholds the targeting and therapeutic moieties (6;15). The rationale behind this selection is based on the potential of the magnetic core, due to its intrinsic properties, to perform as an agent for MRI contrast, hyperthermia therapy and/or controlled drug delivery and based on the functionality of the shell components to protect the core and overcome biocompatibility and immunogenicity limitations. The incorporation of a polymer coating prevents NPs aggregation, and consequently, provides an extended half-life, assists a controlled drug release and, simultaneously, provides functional groups for biomolecule conjugation. On this basis, functionalization agents can be added, such as chemotherapeutic (single or multiple drug therapy) and biotherapeutic agents (such as nucleic acids or proteins), targeting agents, fluorescent and/or photosensitising agents with application in photothermal (PTT) or photodynamic therapy (PDT) and other functional features for cellular trafficking (16).

3. Synthesis

An extensive variety of synthesis methods have been implemented for the development of MNPs, using physical or chemical synthesis approaches. Accordingly, methods such as mechanical attrition, thermal decomposition, hydrothermal synthesis, sol-gel reaction, microemulsion, co-precipitation, sonolysis, electrochemical method and polyol method are some of the most relevant mentioned in the literature (15; 17; 18).

The selected process and protocol for the MNPs synthesis determine their properties, and consequently, their applicability and performance.

The physical synthesis strategy recurs mainly to the mechanical attrition method, thermal quenching or pyrolysis. For the implementation of the attrition method, mechanical force is set forth using planetary ball or media mill in order to reduce the starting materials into nanosized particles. The thermal quenching is a strategy which combines a rapid quench process to produce amorphous components and a subsequent thermal treatment for controlled size crystallization. In turn, the pyrolysis approach uses a high pressure organic gas/liquid precursor forced through a cavity, that when burned into ash, originates oxidized magnetic nanoparticles (19). These constitute widely established approaches that are considered viable options in what concerns mass production. However, some disadvantages regarding the homogeneity of size distribution may arise and compromise the MNPs' behaviour.

The chemical synthesis involves a panoply of methods used for MNP production, arising as a recent approach that provides more favourable processes in terms of particle dimension, size distribution range, crystallinity and stability.

The classical approach is attributed to LaMer and Dinegar model (20) of burst nucleation and growth. The model consists of a three-step process that first involves the increasing concentration of monomers in a liquid media, and the burst reaction for the formation of nuclei, followed by the attachment of the monomers to the formed nuclei, originating monodisperse NPs (20-22).

The particles are initially involved in a reduction reaction and collision of ions and atoms in the presence of reducing agents, such as sodium citrate, sodium borohydride, molecular hydrogen, hydrazine, formamide, formaldehyde, polyaniline or ascorbic acid, among others, allowing the formation of nuclei. The selected reductant has an important impact in the final particle, as the stronger the reductant, faster the nucleation reaction. On the other hand, the weaker reductants are responsible for slower reaction conditions, thus enabling a more controllable size and shape of the MNPs. The reaction mixture can be complemented by the addition of stabilizing agents, in order to prevent the particles agglomeration. Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) or PVP, sodium dodecyl benzyl sulfate or SDS, proteins, peptides and gums are some of the stabilizing agents used in this context. Moreover, the applied controlled conditions, including components concentration, ratios, pH of the media, selected surfactants, temperature and pressure, constitute determining factors for the final MNP properties, size and morphology (23).

Co-precipitation is a simple synthesis method for MNP production that has been reportedly used in magnetite or cobalt ferrite NP synthesis. The process uses aqueous ferrous and ferric salt solutions in a 2:1 proportion, in the presence of a base, at an elevated or room temperature, that can be enhanced through the application of high-pressure homogenization during the precipitation process, or under slower reaction conditions (24). These modifications enable a more controllable MNP in terms of size, magnetic properties and crystallinity. Ge and colleagues (25) described the synthesis of paramagnetic iron oxide nanoparticles using the co-precipitation method in an aqueous solution containing ferro and ferric chloride solutions in a 2:1 molar ratio, respectively. The precipitation was induced by vigorous stirring of the mixture in the presence of concentrated ammonia and under nitrogen, from which resulted a black precipitate. In turn, the resulting product was washed with deionized water, dispersed in an aqueous acidic solution (pH 3.0) and oxidized into brown iron oxide nanoparticles (IONP) by air at 90°C (25).

Thermal decomposition is a high-scalable, dilatory synthesis method applied to non-magnetic organometallic precursors in the presence of organic solvents. The organometallic precursors originate pure metal that is posteriorly oxidized at temperatures ranging from 100 to 350°C and oxidative media, and forms metal oxides, e.g. iron oxides. Metal carbonyls or metal acetylacetonates are some of the currently mentioned metal precursors used in thermal decomposition method, and oleic acid or fatty acids are some of the selected surfactants for the mentioned technique (23).

Hydrothermal synthesis comprises a simple and easily up-scalable synthesis method based on the hydrolysis and dehydration of metal salts in an aqueous media under high-temperature and high-pressure conditions, that can be performed in an autoclave equipment (with temperatures above 200°C and pressure above 2000 psi). The reaction conditions enable the production of metal oxide particles (poorly soluble in the high-temperature aqueous media) and the subsequent precipitation of the MNPs. The controllable variables in this procedure involve temperature, concentration and autoclaving time, the latter influencing proportionally the particle size and distribution.

Microemulsion constitutes another synthesis method that has been performed for the MNP production. This oil-in-water (o/w) method requires the use of an aqueous phase (containing the metal salts, pH regulators and possibly coating agents), an oily phase (e.g. hexane) and surfactants as stabilizing agents in the water/oil interface (e.g. sodium dodecyl sulfate- SDS, poly (N-vinyl pyrrolidone)- PVP or bis(2-ethylhexyl) sulfosuccinate- AOT). The reversed microemulsion can be also performed, being this process based on the dispersion of

the nanosized stabilized aqueous phase in the oily phase. This process originates dynamic systems that may coalesce and permit reaction upon mixing, and therefore, provide a controlled nucleation and growth environment (26). The reversed microemulsion can be performed under temperatures within the range of 20-80°C. Notwithstanding, it comprises a dilatory and low scalable process.

Polyol synthesis is applied to metal salts in a polyol media using a reduction reaction. The polyols serve as solvent, reducing agents and stabilizers, and enable the implementation of a synthesis method without high pressure requirements, representing an interesting process, particularly in the production of flower-shaped MNPs. This particularity is due to the reductive ability of polyols to determine the rate of structure formation and growth (27). The polyol mixture can be composed by poly(ethylene glycol) (PEG) and diethylene glycol (DEG) or N-methildiethanolamine (NMDEA), among others, and performed at lower pressure conditions, being the reaction conditions and the selected solvents the variables of this method that can affect the obtained NP characteristics. Curcio and co-workers (28) performed the synthesis of water-soluble iron oxide nanoflowers (IONFs) using polyol synthesis, in which ferro and ferric chloride solutions in a 2:1 molar ratio were dissolved in a liquid mixture of DEG and NMDEA in a 1:1 volume ratio and stirred for 1h. NaOH was used as the base, that was added to a separate polyol mixture of the same composition, mixed with the iron oxide solution and stirred for another 3 hours. The thermal treatment was further performed, under an increasing temperature to 220°C for 50 min, followed by 2.5 h stirring and room temperature cooling. The sediment (the obtained NPs) was subjected to magnetic separation, washing (using ethanol-ethyl acetate in 1:1 volume ratio; a 10% nitric acid treatment at 80°C for 45 min; washing with acetone-diethyl ether solution) and final redispersion in water (28).

Sol-gel reaction is based on the hydrolysis and condensation reactions applied to MNP precursors, such as metal alkoxides and metal salts. This technique relies on the hydroxylation and condensation of the MNP precursors in a solution (sol) and subsequent gellification, under room conditions, which is subsequently subjected to a thermal treatment to promote the formation of the crystalline structure, control of size and shape of the desired MNP (29). Given the different succession of the mentioned phases, this technique operates within a wide temperature range of 20-200°C.

Sonolysis technique comprises sonochemical or ultrasound irradiation applied to metal salts under ambient conditions (that is, low temperatures of 20 to 50°C and low pressure) and short reaction times. This method of synthesis is based on the formation of chemical

structures using the ultrasonic energy that is released with the oscillation and collapse of the formed bubbles, as a result of the expansive and compressive acoustic waves.

Electrochemical reaction is a prolonged medium-scalable synthesis technique that employs an oxidation-reduction reaction of metal salts. It constitutes an appealing and advantageous method, as it provides high-purity and strict size control of the obtained MNPs. Nonetheless, chemical synthesis can include some disadvantages, such as unwanted properties due to the presence of some components e.g. stabilizing agents or solvents (30). The presence of solvent or surfactant residues may compromise the surface functionalization of the MNPs, their biocompatibility and desired features, and may contribute for secondary effects, such as cellular toxicity (31).

Biosynthesis comprises another possible MNP synthesis method, commonly mentioned and applied in the production of magnetic iron oxide nanoparticles (IONPs). In summary, this technique employs a red-ox reaction *in vivo* stemming from microbial enzyme activity and plant phytochemicals. For that, magnetotactic iron reducing bacteria such as *Geobacter metallireducens* or *Magnetospirillum gryphiswaldense* reduce iron salts into NPs, under specific conditions (anaerobic or aerobic, depending on the selected microorganism). However, in what concerns MNP control specifications, such as dimension and shape, further research and investigation is required, as the process is not able to provide a strict control of these specifications.

In resume, the synthesis of magnetic nanoparticles may be carried out through different techniques, each one reporting various benefits and limitations that are summarised in Table 2.

Table 2. Benefits and limitations of the MNP synthesis methods.

MNP synthesis methods	Advantages	Disadvantages	Reference	
Physical	Mechanical attrition	Simple; inexpensive equipment; adequate for scale up;	(32; 33)	
	Thermal quenching	Up-scalable process; favourable composition control.	(34)	
	Pyrolysis	Reduced reaction times; high purity.	High pressure and temperature conditions; gas as adsorbent and carrier; large size distribution; aggregation phenomena.	(33; 35)
Chemical	Nucleation and growth	MNP size control by adjustment of water-surfactant ratio.	Composition control is not well defined; requires separation of nucleation and growth processes, for monodisperse MNPs.	(22; 33; 36)

Co-precipitation	Simple execution; adequate for the synthesis of complex metal oxide NPs; high reproducibility; inexpensive method;	Requires a nanoparticle separation step, for obtaining uniform size distribution; quasi-spherical NPs; risk of oxidation and aggregation phenomena.	(33; 37)
Thermal decomposition	Size control; narrow size distribution; crystallinity; Easy scale-up process.	Dilatory process; uses organic solvents; requires further steps to obtain water-soluble MNPs.	(38)
Hydrothermal	Fine particles; no required organic solvents; no required post-treatment; Environmentally benign.	Long reaction times.	(33)
Microemulsion	Simple method; adequate for <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> applications; controllable size and MNP morphology.	Low scalability; reduced quantity of MNPs synthesised; difficult removal of surfactant.	(39)
Polyol synthesis	Uniform MNPs; size and shape control; simple and reproducible process.	May require high temperature and pressure environment for higher magnetization values.	(40)
Sol-gel	Controlled particle size and shape; production of oxide MNP by gel calcination; adequate for hybrid MNPs.	Requires thermal treatment at elevated temperatures; incomplete removal of matrix components from MNP surface.	(32)
Sonolysis	Short reaction time; low pressure and temperature requirements; adequate for maghemite and magnetite NPs.	Polydispersity and reduced control of the shape of the MNPs.	(41)
Electrochemical	Ambient temperature environment; narrow size distribution; high purity; adequate for maghemite NPs.	Complicated and long process.	(38; 41)
Biosynthesis	High crystallinity; prominent T2 relaxation reduction and contrast.	Reduced control in MNP specifications; mixture of cubic, octahedral and dodecahedral MNPs; low scalability potential.	(34; 38)

4. Hybrid MNPs synthesis

Magnetic nanoparticles exhibit unique and interesting features, due to their intrinsic characteristics and magnetic properties. Nonetheless, the production of hybrid constructs combining ferromagnetic elements, such as iron, nickel and cobalt, with ions, oxygen and other metals, such as noble metals, contributes to the development of new nano-sized structures with tuned properties for multimodal biomedical applications (42-44).

Hybrid MNPs production can be carried out through the above-mentioned chemical synthesis methods. Co-precipitation, sonochemical methods are some examples.

Moreover, other methods share relevance for the production of hybrid MNPs. In particular, chemical reduction and photoreduction will be addressed in the discussion that follows.

The synthesis of hybrid MNPs is widely based on the deposition of noble metal (NM) NPs on the MNP core, the latter essentially represented by metal oxide MNPs, such as titanium oxide or zinc oxide NPs. The process involves an aqueous solution containing the noble metal precursor (e.g. AuCl_4^-), in which the MNPs are dispersed and suffer NM precursor adsorption. Subsequently, the obtained product may follow chemical reduction at mild temperatures (by the addition of reducing agents, such as ascorbic acid or sodium borohydride) or photoreduction (by light irradiation of photons of wavelength above 300 nm) enabling the formation of NM-metal oxide MNPs (30). The photoirradiation sources used depend on the desired hybrid MNP and include high-pressure mercury arc (used for Au-TiO₂ NPs), low-pressure mercury lamp (used for Ag-TiO₂ NPs) and sunlight (used for Pt-TiO₂ NPs).

5. Physical properties of MNPs

Size, shape, optical, electrical, thermal and magnetic properties are major constraints of MNPs suitability (45). These properties constitute important parameters for the nanoparticle system performance *in vivo*.

As above-mentioned, MNPs superparamagnetic behaviour is size dependent and is preferred for biomedical applications. Thus, it is important to tune NPs features within the size range in which this property is preserved. For pharmacokinetic purposes, as nanoparticles below 10 nm are promptly cleared via renal excretion and those ones above 200 nm are rapidly removed from the bloodstream, the ideal dimensions for intravenous administration of a magnetic nanoparticle system are demonstrated to be included within the range of 10-100 nm (15). On the other hand, for the intended physical performance, the increase in the particle dimension within this range leads to higher magnetization saturation and an optimised response to the applied magnetic field. Therefore, a balance on the conjugation of the mentioned parameters is required for the design of a suitable MNP at physiological temperatures and environment (11; 24).

Geometry and structure have also been reported to influence the MNPs properties and performance. The composition and architecture of the nanosystems have a significant impact on the NPs magnetization saturation (M_s) and deformability, and therefore on its suitability for imaging and drug delivery purposes (46).

MNPs exist in several formations, namely spheres, rods, disks, wires, cubes, triangles, polyhedrons, gels, cages, flower-like structures, among others (17; 18; 47). Due to the reduced dimensions, nanoparticles assume a high surface area to volume ratio and express high aspect ratio values. Nonetheless, this parameter depends on the NPs shape.

A high aspect ratio may be considered as a favourable feature for cellular internalization and surface functionalization, as NPs with higher aspect ratio present higher deformability, surface area and prolonged bloodstream circulation periods, when compared to NPs with the same structure yet lower aspect ratio. However, for the MNP shape selection one must have into account that the MNPs surface is often composed by a layer of disordered spins that do not contribute to total Ms, resulting in magnetic saturation depletion, when compared to the respective bulk material.

Magnetic properties have been identified as shape and composition-dependent on MNPs, such as maghemite rods, ferrite cubes, cobalt disks, Ni-Fe wires and Au-MnO flower-shaped nanoparticles (17). The correlation between these two parameters is due to the shape anisotropy influence on the orientation of the particles' magnetic moments. The shape-induced magnetic anisotropy interferes with magnetization reversal due to thermal fluctuations and affects the NPs' heating efficiency (MNPs' thermal properties) (48). On this basis, higher heating capacity and magnetization saturation values have been associated and demonstrated in cubic ferrite MNPs (of lower surface anisotropy) when compared to spherical MNPs of the same size (17; 24; 49).

Optical characteristics are tunable size and geometry-dependent features in MNPs. For biomedical application purposes, these properties represent great relevance in multimodal imaging techniques, namely MRI-optical imaging. Optical properties are significantly present in noble metals, like gold (Au), silver (Ag) and copper (Cu) (50), given the strong resonances stemming from electron transitions in these monovalent metals; thus, this feature plays an important role in the optical contrast enhancement.

In order to combine more efficiently both magnetic and optical characteristics, hybrid noble metal-metal oxide NPs are considerably viable options for theranostic MNPs, e.g. gold-coated or silver-coated iron oxides (18; 30).

Optical properties can also be attained through the incorporation of fluorophores, as demonstrated by Foy *et al.* (51), who have developed nanoparticle systems with a surface conjugated with a near infra-red (NIR) hydrophobic dye of intense fluorescence (e.g. SDB5700 and SDA6825 commercially available dyes) (51).

Electrical or charge properties refer to the surface charge of the obtained MNPs. This feature is a determinant factor for the magnetic nanoparticle performance, for both imaging and drug delivery purposes, as it influences targeting, enhanced imaging and activity potentialities, as well as cellular uptake and intercellular localization (52).

Surface charge is predominantly tuned with MNPs coating (e.g. smart polymer coating) and is measurable by determination of the zeta potential using electrophoretic light scattering (ELS) (25). Due to the surface charge, MNPs are electrophoretically mobile particles that exhibit interactions between their surfaces, molecules and ions, forming an adsorbed double layer of opposite charge ions/molecules, followed by a diffuse layer of particles of both charges. ELS makes use of these properties to determine the potential difference of the particle adsorbed double layer-fluid interface (53). According to Weidner et. al. (54), the prepared pure spinel structured MNPs (not coated superparamagnetic iron oxide NPs) of a 9.6 nm mean size, M_s of 68.2 Am²/kg, H_c inferior to 0.2 kA/m and relative remanence (M_r/M_s) of 0.005 at room temperature, presented a positively charged surface of slightly above +30 mV. The study also involved the analysis of the surface charge influence of three different coatings in the superparamagnetic iron oxide NPs, in which MNPs acquired the components charge when coated with the neutral agent dextran (DEX), the negatively charged carboxymethyl-dextran (CMD), and positively charged diethyldiaminoethyl-dextran (DEAE) (54).

6. Characterization of MNPs

The characterization of the obtained MNPs requires the use of several methods and equipments, in order to determine all the inherent properties of the product and its suitability for the intended biomedical use.

The dispersity, morphology and structure of the MNPs can be determined by high resolution transmission electron microscopy (HR-TEM), energy dispersed spectroscopy (EDS) and powder X-ray diffraction (XRD); and the hydrodynamic size using dynamic light scattering (DLS), also known as photon correlation spectroscopy (PCS) (53). In this process, MNPs are dispersed in solvent and subjected to sonication before equipment software analysis. PCS or DLS use particle Brownian motion to extract the hydrodynamic radius, size distribution and colloidal stability of the MNPs, contributing with additional information and representing significant interest, when performed before and after coating, as well as after an incubation period in an *in vitro* experiment, in which provides information about the MNPs stability both when alone and under biological conditions (55).

Furthermore, the estimation of the magnetic core size of iron oxide MNPs can be performed using the Chantrell method (54; 56). This method enables the determination of the median particle diameter (MPD) and respective standard deviation (SD) of the entire sample volume, calculated from the room temperature magnetization curve, providing more sensitive and reliable results when compared with TEM.

TEM and high-resolution scanning electron microscopy (HR-SEM) imaging enable the analysis of shape, size and distribution of MNPs, providing comparable information with the XRD results. HR-TEM also qualifies to the analysis of the MNPs crystallinity. The high-resolution imaging enables the observation of the growth direction, planes and lattice spacing between the latter, being considered as an alternative method for the analysis of single crystal formation.

Mineralogical analysis using X-ray diffraction requires the dispersion of MNP powder onto a silicon sample holder for further interval degree scan at a determined scan velocity (e.g. 10 to 60° scan of 4s/0,01° for magnetite NPs, or a scan mode of 0,06 °/s within a 20-80° range for nickel ferrite NiFe₂O₄ MNPs) under CuK α applied radiation. The process generates a spectrum comparable with international databases, and the detection of possible presence of impurities.

Colloidal stability and long-term colloidal stability can be evaluated by zeta potential measurements in function of pH.

Functional groups and chemical bonds of the MNPs coating materials can be confirmed using Fourier transform-infrared spectroscopy (FT-IR). FT-IR spectrum provides information of the vibration properties of MNPs, from which the presence of, for example, bands that are assigned to the vibration of ions in the crystal lattices can indicate uniform distribution of the MNPs.

The magnetic properties and performance can be determined by SQUID-VSM magnetometer or vibrating sample magnetometer (VSM) at a determined temperature and applied magnetic field. This equipment provides the sample analysis and generates a magnetic hysteresis curve, from which the magnetic behaviour, saturation magnetization and coercivity of the sample can be inferred (57).

The combination of all the above-mentioned analysis methods is crucial for the MNPs characterization and suitability to the intended use and performance in the physiological conditions and biological media, applied to the nanotheranostics field.

7. Protection/stabilization

Within the MNPs, metallic iron nanoparticles are commonly associated to biotoxicity and chemical instability due to the high oxidation susceptibility and propensity towards aggregation. Surface coating methods with inorganic materials such as gold, silver, silica or Co_3O_4 overcome iron MNPs limitations and enables the protection and stabilization of these nanoparticles (15; 41; 58). Proper protection of the MNPs will ensure the stability of the nanoparticles and avoid both magnetic properties loss (compromised by NP oxidation) and dispersion loss phenomena (compromised by NP aggregation). Among the possible surface coating materials, silica represents one of the most promising constituents, providing a biocompatible, non-toxic, chemically inert coating with a silanol terminus that enables the MNPs' surface attachment of specific ligands through covalent bonds (59). These methods represent high relevance, as they can be tuned to provide functional groups for biomolecule conjugation, enhanced control drug release and an NP extended half-life (16).

Coating materials can be divided in inorganic or organic materials. As previously mentioned, inorganic materials used in MNP coating include noble metals, silica or metal oxides. On the other hand, organic coating materials used to produce MNPs include dextran, starch, poly(ethylene glycol), poly (D,L-lactide), polyethylenimine (PEI), among others. For example, MNPs coated with noble metals such as gold demonstrated effective application as contrast agents in multimodal imaging techniques, such as MRI, ultrasound (US) and computerized tomography (CT). Magnetic iron oxide nanosystems coated with cobalt tetraoxide (Co_3O_4) originated a core-shell hetero-nanocomposite that provided MNP stabilization, a more controllable shell thickness and enhanced magnetic behaviour (41). In turn, magnetic nanosystems of reduced size, sugar-coated and presenting negative surface charge have demonstrated to exhibit biocompatibility and prolonged blood circulation time and half-life (60).

Coating materials provide several effects to MNPs. These include protection, stability, biocompatibility and functional groups for biomolecule attachment, and intend to produce minimum impact on the MNPs magnetic properties, except when providing contrast enhancement. Thus, surface coating is an important step in MNPs design and production (22).

8. Functionalization

The functionalization of MNPs served two main purposes in the past: enhancing biocompatibility and avoiding NP aggregation. However, with the technological development, it tended to evolve towards the use of functional moieties with a broader diversity of functions, in which they address not only interface properties engineering (as wetting and adhesion) but also enhance intracellular trafficking and overcome cell membrane barriers; and photo-functional moieties, serving as photosensitizing agents or fluorescent dyes for imaging purposes (59). Other components, such as chemotherapeutics for single/multi drug therapy and biotherapeutics for siRNA or peptide therapy may be inserted in the MNPs. Briefly, MNPs may employ surface polymer functionalization, smart polymer functionalization, alone or in combination with therapeutic and contrast agents for multitheranostic systems, amphiphilic block copolymer functionalization, micelle incorporation of MNPs and biomolecule functionalization.

For biological application, water dispersed MNPs are preferred, as the biological media is predominantly aqueous. However, conventional water-phase synthesis protocols may lead towards higher size distribution, crystalline anisotropy and MNPs' magnetism, with limited performance and applicability. In order to overcome these limitations and to obtain water dispersible NPs, MNPs synthesised in an organic phase (e.g. thermal decomposition method) must be transferred to an aqueous phase, and the surfactant used replaced for another one with hydrophilicity and biocompatible properties. Ligand exchange, using an excess of hydrophilic ligands, is considered an electable method for this procedure. Munjal and Khare (61) demonstrated the transformation of uniformly sized 9 nm cobalt ferrite NPs synthesised by hydrothermal synthesis in the presence of oleic acid (OA) as surfactant into citric acid coated cobalt ferrite nanoparticles, using a one-step mechanochemical milling ligand exchange technique (61). Oleic acid cobalt ferrite NPs with high hydrophobicity, due to the nature of the coating material, were transformed by citric acid (small chain molecules) surface coating, which endowed highly hydrophilic properties to the synthesised MNPs. Water-soluble citric acid coated MNPs demonstrated stability superior to six months (confirmed by zeta potential measurements), with no agglomeration phenomena. Similarly, Wang and his colleagues (62), performed the one-step ligand exchange reaction by mixing the hydrophobic IONPs powder with the hydrophilic ligand in a 1:10 ratio (50 mg: 500 mg) in 20 mL of polar solvent, and applying 10 min of sonication and posterior stirring. In order to provide the hydrophilic properties and avoid NP agglomeration, small molecules with phenyl rings, MNP bonding sites

and hydrophilic terminals, such as 4-hydroxybenzoic acid, 3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid and gallic acid comprised the selected ligands used in the reaction process. The polar solvents used were ethanol, methanol, tetrahydrofuran, N,N-dimethylformamide, and the precipitation of the hydrophilic MNPs was induced by addition of excess hexane, as antisolvent, and 5 min centrifugation at 5000 rpm. Finally, the ligand exchanged MNPs were repeatedly washed with an ethanol/hexane mixture, to remove excess ligands. This is an interesting method, as it enabled the production of stable hydrophilic MNPs in the used polar solvents, for more than twelve months, using a facile one-step and reduced time-consuming reaction process (62).

8.1. Polymer Functionalization

MNP functionalization may be also achieved using polymer functionalization. This process has demonstrated a positive impact on colloidal stability, pharmacokinetics, biodistribution and biodegradability, and recent interest regarding the stimuli response of smart polymer coated MNPs. Smart polymers comprise polymers that assign specific properties to the MNPs, such as pH-sensitive, electro-sensitive, thermo-sensitive, photo-sensitive response, among others, to endogenous or exogenous stimuli (41).

pH-sensitive polymers are, in general, polyelectrolytes with included weak acidic or basic groups, that change dimensions in response to media pH, by accepting or releasing protons. These smart polymers differ, and their properties depend on the present functional groups (e.g., $-\text{COO}^-$; $-\text{NH}_2$; $-\text{OH}$; $-\text{NH}-$; $-\text{NHCO}-$; $-\text{O}-$). Polymers containing acidic groups, such as polyacrylic acid, tend to expand in basic media; as for polymers containing basic groups, such as $-\text{NH}_2$, the process occurs in acidic pH. Tertiary amines and imidazole groups have been exploited due to their protonation capacity and resultant electrostatic repulsion in function of the media pH, that revealed to be favourable for drug release (63). Cancerous cells are known to have an increased proliferation and metabolic rate, consequently exhibiting lower values of intercellular pH. Accordingly, magnetic nanoparticles can be used to deliver therapeutic drugs, in response to the endogenous stimuli, that is, the slightly acidic pH media (64).

Wang and co-workers (65) performed the synthesis of camptothecin loaded pH-sensitive MNPs containing acetylated β -cyclodextrin. The nanosystem was prepared by emulsification of iron oxide NPs into a previously acetylated β -cyclodextrin-dichloromethane solution containing camptothecin dissolved in anhydrous dimethyl sulfoxide, through sonication. The resulting preparation was further emulsified into a gelatin solution, for dichloromethane evaporation, and the final MNPs collected from the w/o/w after

centrifugation were washed and lyophilized. This method permitted the synthesis of 1:10 ratio core-polymer MNPs containing hydrodynamic size of 234 nm, polydispersity index of 0.164 and zeta potential of -13.8 mV, with pH response at a value of 5.5 with acetal degradation and reversible magnetization. The magnetic saturation values were superior in acidic media (pH=5.5), which suggests that polymer coating reduces MNPs magnetization. Furthermore, the magnetic nanosystem exhibited 75% of drug loading capacity and successful drug release in acidic media within 30 minutes, when compared to the 20-hour drug release in pH 7.4, which represents a promising dual-stimulus responsive platform for therapeutic drug delivery in cancer treatment (65).

8.2. Smart polymers and multitheranostic nanosystems

A fine-tuning step on the use of smart polymers resides in the development of combined multi-theranostic nanosystems. Liu *et al.* (66) describes the synthesis of a digenite (copper sulfide Cu_9S_5) silica-coated nanoparticles covered with iron oxide nanoparticles, PEG modification and doxorubicin payload. These magnetic nanocomposites integrate a chemophotothermal therapy functionality, due to Cu_9S_5 capability to convert NIR light to thermal energy and due to the thermally enhanced drug release upon NIR light incidence of 980 nm, combined with polymer pH-responsive drug release and iron oxide MR imaging applications, representing great interest in MRI assisted and monitored cancer therapy (66).

Electro-sensitive polymers use energy from an electrical field and convert it into mechanical energy that can be observed in the form of shrinking, bending or swelling behaviour (67). Polymers such as chitosan, alginate and poly(dimethylsiloxane) have been used for the preparation of electro-sensitive materials, the latter exhibiting stimuli response by gel bending behaviour in the presence of colloidal silica oxide particles (68). These are essentially electrochemical sensitive polymers, which are pH-sensitive as well, and consequently present some interesting properties for drug delivery systems. However, the functionality of these polymers has been proven in the absence of electrolytes, which cannot warrant the polymer function in physiological environments (69).

8.3. Amphiphilic block copolymer functionalization

Technological development has further evolved towards the amphiphilic block copolymer functionalization of MNPs. This process endows more functional groups to the magnetic NPs, implying a higher interest related to the multifunctionality and biological applicability of the MNPs in cancer nanotheranostics. An example of this approach is the

synthesis process performed by Kim and colleagues (70) who used hydrophobic iron oxide nanocrystals in chloroform, dispersed into an aqueous phase containing cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) stabilizing surfactant, and further coated with silica and surface modified with an amine group and PEG. The CTAB functioned as an organic template for the mesoporous silica coating, which was subsequently removed by reflux heating at pH 1.4 in presence of an acidic ethanol solution. Amine functional groups were added to the obtained mesoporous silica coated IONPs, that were then submitted to a surface modification with PEG, for prevention of non-specific surface protein adsorption.

This method enabled the production of 15 nm core size SPIONs, enlarged to 53 nm after silica coating and with mesopores of 2.6 nm. PEG-modified MNPs presented a hydrodynamic size of 97 nm and no aggregation phenomena (70). These nanoplateforms were further tested for imaging applications by MRI, which demonstrated a darker T2 relaxation signal with the increasing MNP concentration, and drug delivery applications using doxorubicin loaded MNPs (cytotoxic agent) in a human breast cancer cell line (SK-BR-3 cells). The non-cytotoxic behaviour of the nanoparticles that did not contain the chemotherapeutic drug was observed, while the Dox-loaded nanosystem demonstrated a proportional and MNP concentration-dependent increased cytotoxicity. Furthermore, the synthesised magnetic nanoparticles demonstrated successful cellular internalization to the cytoplasm with preservation of the NPs' structure and theranostic potential (70).

8.4. Micelle incorporation of MNPs

Another related approach is the micelle synthesis and MNP incorporation. Poly (ϵ -caprolactone)-b-poly(glycerol monomethacrylate) and poly (ϵ -caprolactone)-b-poly(olygo(ethylene glycol) monomethyl ether methacrylate-co-folic acid) are copolymers that have been used to produce superparamagnetic NP and drug loaded hybrid amphiphilic block copolymer micelles, functionalized with folate moieties. This method was employed in a study performed by Hu and colleagues (71), in which the copolymers were synthesised, subjected to micellization, followed by the insertion of a chemotherapeutic drug (paclitaxel) into the micellar cores and the SPIONs loading into the respective hydrophilic coronas (71). The poly (ϵ -caprolactone) portion comprehends the hydrophobic core that enables the effective drug encapsulation and the poly(glycerol monomethacrylate) polymer portion comprises 1,2-diol moieties with high affinity towards the MNPs surface iron atoms, constituting an interesting system for targeted chemotherapeutic drug, sustained release and MRI imaging contrast.

8.5. Biomolecule functionalization

Biomolecule functionalization is a step forward towards increasing MNP biocompatibility, using biomolecules, such as enzymes, antibodies, biotin, polypeptides, proteins, bovine/human serum albumin and avidin bonded to the MNPs surface. For example, carboxylated silica surface coated MNPs can be covalently bonded to amine groups (through an amide bond), present in the previously mentioned biomolecules. The synthesis of carboxylic and amine functionalized silica coated iron oxide nanoparticles was performed by Jang and colleagues (59). Superparamagnetic IONPs were produced using the co-precipitation technique in the presence of ammonium hydroxide with subsequent heat treatment and washing. Sequentially, 100 mg of the obtained MNPs were dispersed in a 4:1 anhydrous ethanol/de-ionized water mixture with ammonium hydroxide for pH adjustment (pH=9) and 200 μ L of tetraethyl orthosilicate (TEOS) of high purity. The mixture was submitted to sonication and agitation for a 4 h period under inert argon gas and the formed precipitate of silica coated MNPs was washed and stored in an ethanol solution. For the amine immobilization as the MNPs' functional group, 2 mL of the silica coated MNPs were washed and dispersed in toluene and N,N-dimethylformamide (DMF) in a 1:1.5 ratio (8 mL to 12 mL). One millilitre of aminopropyl triethoxysilane (APTES) was then added dropwise using a needle syringe and subsequently stirred at room temperature for 24 h. This process is based on the TEOS and the APTES' triethoxy-silicon group hydrolysis and condensation reaction, to form an inorganic network in the MNPs' surface, endowing these NPs with an amine functional group (72). Finally, the amine functionalized silica coated MNPs were washed and stored in toluene. Furthermore, for carboxylic functionalization, glutaric anhydride was added to the previous product under stirring. Accordingly, the acid anhydride and the MNP's surface amine group reaction forms an amide bond and attributes a free functional carboxyl terminal group to the MNP. The final MNPs- with a carboxylic functional group- were washed and restored in toluene (59).

The application of biomolecule functionalization in MNPs comprises a different strategy for enhancing stability in the diverse conditions of the biological media (e.g. pH and temperature) enabling the design of non-enzymatic biosensors for biomarker detection in cancer diagnosis (60). Platforms of this nature have further application, for example, by conjugation of the Glut antibody with the MNPs in the detection of glucose transporter, protein Glut-1, which have been demonstrated to be significantly involved in glucose transport in cancer cells (60).

9. Nanotoxicity

Due to the diversity of configurations, materials and properties of MNPs, magnetic nanoparticles can be considered as inherently complex systems. Thus, the determination or estimation of the associated cytotoxicity is a difficult process that requires detailed and directed guidance in terms of quality, toxicology and monitoring of MNPs. The exposure to MNPs has been predominantly associated with toxicity effects, such as oxidative stress, mitochondrial and cell cycle impairment, oxidative DNA damage and protein denaturation. Therefore, among the toxicological parameters, it is important to address the carcinogenic potential, genotoxicity, tendency to aggregation, immunotoxicity and reproductive toxicity of each MNP (73).

For example, the formation of reactive oxygen species (ROS) has been associated to IONPs toxicity, thus, one possible approach for its prediction would be the intracellular ROS measurement. The determination of the MNPs effect in cells ROS production can be measured by fluorescence microscopy using a DCFDA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate) fluorescent probe and quantitatively confirmed using flow cytometric analysis. Accordingly, the MNPs loaded with the reduced non-fluorescent form (2',7'-dichlorohydrofluorescein diacetate or H₂DCFDA) enter the macrophages and neutrophil cells and the H₂DCFDA is converted into the fluorescent agent upon acetate group cleavage by intracellular oxidative processes. The intense fluorescent signal is then detected by flow cytometry (74; 75).

Furthermore, ROS overproduction can be the origin of mitochondrial impairment, compromising the mitochondrial membrane potential. 3,3'-Dihexyloxycarbocyanine iodide (DiOC6) green-fluorescent lipophilic staining followed by cytometric flow analysis enables the measurement of the MNP exposure effects on membrane potential, resulting in increased green fluorescence intensity with the increase of membrane potential compromise (76).

Cytotoxicity can be evaluated by Hoechst 33342 and propidium iodide (PI) staining for the confirmation of cell death, as performed by Feng and colleagues (76). In viable cells, Hoechst 33342 stains the chromatin with a blue colour that can be observed in fluorescent microscopic images, while the PI (that results in red stained nuclei) is only permeable to inviable cells, enabling the distinction and confirmation of the MNP induced cytotoxicity, upon different concentrations.

Cell membrane integrity is possible of determination through LDH (lactate dehydrogenase) enzyme assay, based on the correlation of the increasing LDH release with the increase of lysed cells.

Haemolysis determination is a facile method for the evaluation of the haemolytic properties of MNPs. This method can be performed by measuring the spectrophotometric absorbance of the sample at 540 nm based on the haemoglobin level, taking into consideration a positive and a negative control (77).

Annexin V and PI staining constitute an apoptosis discrimination method. This process is based on the annexin affinity to binding to phosphatidylserine (PS). PS is present in the inner portion of the plasma membrane under normal conditions, however, under early apoptosis is translocated to the external leaflet of the cell membrane, serving as a marker for phagocytosis. Under these conditions, is it possible to bind fluorochrome-conjugated annexin V to PS and proceed to the analysis by flow cytometry, while viability dyes such as PI do not stain these apoptotic cells. Thus, annexin V serves as an apoptosis marker when the cell membrane integrity is assured. In late apoptosis, the cell membrane integrity is compromised, therefore, allowing the intercellular binding of annexin V and exhibiting the PI red staining. This method enables the distinction of apoptotic and necrotic cells (78).

MNP induced cell cycle impairment can be evaluated by flow cytometric analysis using propidium iodide. PI is a DNA-binding dye that binds proportionally to the DNA present in the cell, the latter being dependent on the cell cycle phase. Thus, S phase and G2 phase cells present quantitatively more DNA when compared to G1 phase cells and, therefore, exhibit more intense fluorescence. As mentioned above, PI does not cross intact cell membranes. As such, membrane permeability in both cell membrane and nuclear membrane is required, which is induced by detergents such as Triton X-100 in 0.1% and fixation using e.g. alcohol. This method provides the estimation of cell count in each cell cycle phase, using an algorithm to fit Gaussian curves to the obtained results, using the flow cytometry software.

Other tests, including the determination of proteins involved in cell mechanisms (e.g. anti-apoptotic Bcl-2 and pro-apoptotic Bax), cell cycle regulation (e.g. cyclin D) and autophagy markers (e.g. LC3B-II) can be determined by western blot. The formation of autophagosomes can be identified using TEM imaging technique (76).

Regarding DNA damage, genotoxicity analysis can be conducted by single cell electrophoresis Comet assay. Briefly, and adapted from the described method in the protocol of Singh *et al.* (79) and Tice *et al.* (80) cells exposed to varying concentrations of MNPs are stained with a solution of ethidium bromide, subjected to electrophoresis and readily analysed by fluorescence microscopy, in which the increasing migration of the DNA suggests increasing DNA damage (81). Könczöl *et al.* (81) performed this assay using magnetite NPs, having

demonstrated dose-dependent magnetite induced DNA migration and, consequently, DNA damage.

Additionally, body weight, haematology and blood biochemistry monitoring can provide important information regarding *in vivo* toxicity, as an analysis method of MNPs influence in the organism.

10. Biophysical mechanism

The progressive evolution and development of MNPs has raised concerns regarding the nanoplateforms biological behaviour, distribution and clearance in a living organism. The same performance in biological environment is influenced and determined by the NP design and final intrinsic physicochemical properties, as well as by the variation on the media conditions and composition. All these factors challenge the determination of MNP biophysical and chemical mechanism (76).

Note that these nanosystems are mostly administered intravenously, into the bloodstream, in which there is an expected contact with plasma proteins. This initial environment subjects MNPs to possible surface protein adsorption, known as opsonisation, followed by macrophage recognition and uptake, resulting in rapid MNP elimination from the blood circulation. As previously mentioned, this limitation can be minimized through the insertion of coating materials on the MNPs surface.

Particle size, size uniformity and low polydispersity index (considered narrow distribution of MNPs, when PDI is located between 0.1 and 0.25) (23) also play an important role in MNP circulation period, reproducibility and biological distribution, being the uniform, homogenous and reduced size superparamagnetic NP (of above 10 nm), subjected to slower opsonization and clearance processes, and able to evade macrophage phagocytosis (when under 100 nm).

The biodistribution of magnetic nanoparticles in an *in vivo* system can be analysed by transition metal detection using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in a tissue sample. This method enables the detection of reduced metal concentrations, combining Argon gas plasma and a mass spectrometer. The sample is diluted, subjected to digestion of organic solvents with 37% nitric acid, then exposed to the inductive coupling plasma (ICP), therefore ionized and separated by mass/charge ratio, under an applied electric field. These data result in a mass spectrum that displays the intensity of the metal content signal (expressed in mV) in function of the mass/charge ratio, the first being proportional to the element

concentration in the sample. The excess metal in the analysed sample suggests the accumulation of MNPs in the respective organ tissue (82). Feng and colleagues (76) demonstrated the IONP propensity of accumulation in liver and spleen, and in less proportions in the lungs, heart and kidney, in 24-hour tissue samples. A large accumulation in the renal system may suggest rapid clearance. The same analysis was performed at the 24th hour after the MNP injection, using a serum sample that reported practically undetected iron concentration, therefore implying rapid blood clearance. For the clearance and degradation analysis throughout time, the Prussian blue iron staining method was performed in dissected liver and spleen tissue samples of the 6th hour and 2nd week after the MNP injection, in which positively charged (+29.28 mV) PEI-coated MNPs displayed progressively reducing iron staining, while approximately neutral (-0.52 mV) PEGylated MNPs maintained significant staining in both samples. The results suggest that the MNPs surface charge has significant impact on MNP internalization and degradation, with the positively charged NPs revealing more affinity to phospholipid membranes, resulting in significant internalization and degradation, and consequently, in the reduction of iron staining, when compared to the approximately neutral MNPs (83).

Furthermore, in order to analyse the MNPs intracellular distribution in a biological system, TEM imaging combined with energy dispersive x-ray spectroscopy (EDX) can be used. The structural cell details can be observed at the sub-organelle level, providing a viable method for the analysis of MNP intercellular localization in tissue samples (84). Accordingly, the previously mentioned PEI-coated MNPs demonstrated cell membrane accumulation and endocytic internalization in TEM imaging, while PEG-coated MNPs presented only endocytic internalization, and none of the prementioned MNPs were present in the cell nucleus.

1.1. Medical applications

MNPs have demonstrated potentialities for diagnosis and therapeutics. In the diagnosis context, these nanosized ensembles can be designed to perform as contrast agents in MRI, Positron Emission Tomography (PET), CT, Single Photon Emission Tomography (SPECT), Photoacoustic Imaging (PAI), TEM, Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) and optical microscopy. On the other hand, MNPs for therapeutic applications may serve as drug delivery agents, gene delivery agents and/or thermoablation agents tuned for magnetic hyperthermia, Photothermal Therapy (PTT) and/or Photodynamic Therapy (PDT) (60).

Magnetic resonance imaging is a non-invasive diagnostic tool that uses a magnetic field and radio frequency electromagnetic waves to provide high spatial resolution of internal structures of the body. The imaging technique enables the detection of magnetization variations of the hydrogen protons of water molecules, resulting in soft tissue contrast imaging and thus, for contrast enhancement, requires the use of contrast agents that affect the protons magnetic relaxation. Contrast enhancement is promoted by T1 or T2 contrast agents. T1 contrast agents, such as gadolinium, Gd (III), reduce longitudinal relaxation time and generate a brighter signal. As for T2 contrast agents, such as superparamagnetic nanoparticles (e.g. SPIONs) generate local magnetic fields that interfere and reduce the transverse relaxation time, resulting in a darker signal. Spherical nanocomposites combining both contrast agents, dextran-coated SPIONs with Gd ions inserted in the external MNP structure, have been synthesised by co-precipitation with Gd (III) nitrate for dual-modal imaging (17). The Gd-doped system presented a nano-sized platform not only for MRI, but also for hyperthermia therapy as well, making use of the relaxation energy loss in the form of heat to induce cell damage, that is intended to address the tumour tissue (17). Further investigation would be required for the production of a MNP with targeting moieties to direct the nanotheranostic agent and avoid negative interference and damage of healthy body cells and tissues.

CT scan comprises an x-ray-based technique that provides a cross-sectional X-ray imaging construct of the determined area of the body. It is a faster, less expensive method and provides images of tissues, organs and skeletal structure, when compared to MRI.

PET is a highly sensitive molecular imaging that detects the radiation activity of positron emission radioisotopes, such as copper $^{64}\text{Cu}^{2+}$, gallium $^{67/68}\text{Ga}^{3+}$, indium $^{111}\text{In}^{3+}$, fluorine ^{18}F , among others. MNPs designed for PET imaging require the formation of a complex with the selected radioisotope. Thus, macrocyclic chelating agents, such as 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetracetic acid (DOTA) are commonly used, since they tend to originate highly stable complexes, preventing transchelation events (85). The obtained MNP loaded with the active radioisotope undergoes biodistribution in the body, accumulating in the highly chemically active areas/tissues and resulting in a bright signal that is detected by the equipment.

Similar to PET scan, Single Photon Emission Tomography (SPECT) exhibits high molecular sensitivity and reduced spatial resolution. Thus, the combination of either of the prementioned methods with a spatial resolution imaging technique would address and bridge their limitations and provide an anatomic and functional tool for diagnostic purposes.

Photoacoustic Imaging (PAI) is a hybrid imaging modality that combines optical and ultrasound imaging. The ultrasound imaging provides a high spatial resolution and the optical imaging delivers high contrast based on the tissue optical absorption (86). The combination of both imaging techniques offers more information, greater specificity and penetration depth. Furthermore, PAI may provide a non-invasive method for the determination of the temperature distribution in tissues, as a relevant approach for monitoring of photothermal cancer therapies with highly laser light-absorbing contrast agents, such as gold coated MNPs (86).

SERS comprises a vibrational spectroscopy technique of molecular signal amplification, with potential for *in vivo* imaging (87). SERS uses the inelastic light scattering of photons that interact with matter, such as MNPs, to retrieve information about the surface characteristics and components. However, the technique performance is restricted to materials with high SERS properties, such as silver, gold and copper, and requires the preservation of these properties for *in vivo* cancer imaging, which has been reported as limited, when incorporated in theranostic nanoplatfoms (88; 89). Li *et al.* (88) describe the design and synthesis of gold shell-core IONP (nanoflower-shaped NPs) with a rough surface for enhanced light scattering phenomena. The designed MNPs provided multimodal imaging application- SERS sensitivity, precise PA imaging and defined spatial resolution in MRI- and photothermal therapy performance, having expressed significantly elevated temperatures (dose-dependent temperature elevations of around 17 °C and 49 °C) for tumour ablation.

Regarding the therapeutic approaches, hyperthermia corresponds to one of the most explored. For the thermoablation procedure, various techniques have been implemented, such as laser, microwaves and ionizing radiation. However, the induced interference in the genetic material and low therapy selectivity have been identified as important side effects that can lead to healthy cell damage. Thus, the MNP-induced magnetic hyperthermia (MHT) provides an externally controllable local heating directed to a determined region of the body, which reduces the risk of damage of healthy tissues, in comparison to the other techniques mentioned above (11).

PTT is also a thermoablation technique that uses an infrared laser to activate light-absorbing MNPs, resulting in a higher heating capacity per nanosystem, when compared to magnetic hyperthermia. However, the incident infrared light penetration capacity is regarded as the most relevant of the technique limitations. Thus, the combination of both thermal therapies in a single MNP constitutes a beneficial merged therapeutic tool, that not only responds to the externally applied magnetic field, but also to the incident light (28).

A tri-modal therapy can also be integrated in a single nanosystem, by MNP tuning for MHT, PTT and Photodynamic Therapy (PDT). The latter technique involves the incidence of a selective wavelength radiation that will induce the excitation state of a photosensitizer, which will transfer the energy to the surrounding oxygen molecules and originate the production of ROS and consequent cell death. A nanohybrid system composed of a multicore IONPs and a copper sulfide (CuS) shell was produced using the polyol method and described as an optimised nanotheranostics platform with MRI and MHT responsive core, and PTT and PDT responsive shell. The integrated tri-modal thermal therapy nanoplatform conjugates an interesting system of cumulative heating capacity, that can provide a beneficial low dose approach in cancer nanotheranostics (28).

Magnetic nanoparticles can also serve as drug delivery systems, providing an extended surface area for drug loading and an optimised bioavailability, associated to lower drug administration doses and increased tissue selectivity (73). Furthermore, the incorporation of chemotherapeutic agents in these nano-sized platforms can be achieved by previous coating with agents that provide coupling points for conjugation, complexation or encapsulation of the selected drug. The MNPs loading capacity for anti-cancer drugs have been studied, being doxorubicin (DOX) the most widely used chemotherapeutic agent, with described application in various cancers, such as breast, ovarian, lung, thyroid cancer, and others. Doxorubicin exerts the chemotherapeutic function by intercalation in the DNA, disruption of the DNA repairing process mediated by topoisomerase-II and induction of cell damage by production of ROS (90).

Gene delivery is a new therapeutic approach with potential for application in cancer treatment. MNPs conjugated with siRNA molecules are strong candidates for the development of multifunctional nanoplatforms that interfere with the protein translational processes in the cytoplasm and inhibit gene expression in tumour cells. Due to the MNP properties, these nano-sized constructs display imaging and therapeutic applications, representing interesting theranostic agents (91).

To date, an increasing variety of magnetic nanoplatforms optimised for cancer theranostics have been developed and some relevant works are mentioned in Table 3.

Table 3. Magnetic Nanoparticles tuned for dual imaging and therapeutic applications.

MNP system description	Characteristics	Detection methods	Therapeutic Applications	Tumour	Reference
Gold nanorod-capped magnetite core/mesoporous	Mean diameter of 386.6 nm; homogenous size distribution; T ₂ relaxivity coefficient of 393.8 mM ⁻¹ s ⁻¹ ; Dox loading capacity of 30% w/w and positive	MRI; FT-IR and optical imaging	Doxorubicin chemotherapy; PTT	-	(92)

silica shell nanoparticles	therapy effect under 39-42 °C; no reported cytotoxicity <100 µg/ml; Absorption peak at 790 nm.				
Gold shell-core IONP	Mean diameter: 100 nm; hydrodynamic size: 179 nm; T ₂ relaxivity coefficient of 76.2 mM ⁻¹ s ⁻¹	MRI; PAI; SERS	PTT	Breast	(93)
Multicore IONP with CuS shell	Mean core diameter of 25.5 nm; hydrodynamic size: 156 nm; zeta potential: -14.1 mV at pH 7; magnetization: 84 emu/g;	MRI	MHT; PTT; PDT	-	(28)
cRGD-functionalized Doxorubicin-conjugated and ⁶⁴ Cu labelled SPION	Mean core diameter: 10 nm; mean hydrodynamic size of the MNP: 68 nm; T ₂ relaxivity coefficient of 101,9 mM ⁻¹ s ⁻¹ ; ⁶⁴ Cu T _{1/2} : 12,7h; Dox-loading capacity of 5,8% w/w.	PET; MRI	Doxorubicin chemotherapy	Glioblastoma	(94)
Indium-111 labeled Trastuzumab-Doxorubicin Conjugated, and APTES-PEG coated SPION	Mean diameter: 16 nm; magnetization: 52 emu/g; radiolabel efficiency: 97.6%; trastuzumab conjugation capacity: 63.79%;	SPECT; MRI	Tumour suppression. Antibody and chemotherapeutic agents	Breast	(95)
Manganese-doped iron oxide nanoparticles, coated with bovine serum albumin and functionalized with a cyclic Arg-Gly-Asp (cRGD) peptide and cy5 dye-labelled siRNA	Mean core diameter: 15 nm.	MRI	Inhibition of Green fluorescence protein by the siRNA moiety, and interference of receptor-mediated endocytosis via targeting tumour cells overexpressed α _v β ₃ integrin by RGD peptide.	Breast	(96; 97)
Paclitaxel loaded, PEG modified liposome iron oxide MNP	Core size of 7 nm; full nanoplatform size of 168.3 nm; PDI of 0.197; zeta potential of -10.5 mV; paclitaxel entrapment efficiency above 90%.	MRI	Paclitaxel	Breast	(98)
Liposome, ADT loaded iron oxide MNP, encapsulated with PEG	Core size of 7 nm; final size of 211 nm; PDI of 0.19; ADT loading capacity of 49.6%; T ₂ * of 12.85 ms;	MRI; US; NIR	H ₂ S	Liver	(99)
Rituximab loaded liposome, iron oxide MNP, encapsulated with PEG	Superparamagnetic NP-PVA core size average between 7-10 nm; narrow size distribution (PDI 0.1-0.3); 44.6% SPION-PVA encapsulation efficiency; zeta potential of -9.0 mV.	MRI	Rituximab	Brain Lymphoma	(100)

Key: SPION- superparamagnetic iron oxide nanoparticle; MRI- Magnetic resonance imaging; PAI- Photoacoustic imaging; SERS- Surface Enhanced Raman Spectroscopy; APTES- aminopropyl

triethoxysilane; PEG- poly(ethylene glycol); cy5 dye- cyanine dye; cRGD- cyclic arginine-glycine-aspartate peptide; RGD- arginyl-glycyl-aspartic acid; ADT- hydrophobic anethole dithiolethione; US- ultrasound; NIR- Near infrared.

Cancer nanotheranostic field is currently in expansion and the technological evolution requires a continuous development of safer, more specific, sensitive and cost-effective strategies, in order to meet the required efficiency and efficacy for the MNPs' performance (63).

12. Future Challenges

The technological progress regarding synthesis, characterisation, biocompatibility and cytotoxicity of MNPs is evident, revealing positive advances in terms of quality, stability and applicability of these nano-sized platforms for imaging, diagnosis and treatment purposes. Despite the potential benefits of MNPs and their favourable outcomes for biomedical and theranostic applications, some fundamental points still require the researchers' attention(101).

Further research addressing the biophysical mechanism, investigation of the different magnetic-based nanoparticles (besides IONPs), exploration of novel constructs and the establishment of detailed nanotoxicity guidelines are some interesting topics that require focus in the near future. Despite some MNPs have already entered into clinical programs, the focus is predominantly directed to either imaging or therapeutic applications and not focused on magnetic nanotheranostic systems (one example being Feraheme[®]- ferumoxyl- MNPs, that provide magnetic resonance imaging systems with no features or approved indications for cancer treatment, or chemotherapeutic systems with no explored imaging applications), for which additional studies are still demanding, envisioning the translation into the clinical practice (60).

Table 4. List, not exhaustive, of clinical trials involving magnetic nanoparticles in cancer diagnosis and/or treatment.

Clinical trial	Status	MNP	Applications	Tumour	Location
MAGNABLATE I NCT02033447	Completed	IONP for magnetic hyperthermia	Magnetic hyperthermia and MRI	Prostate cancer	University College London Hospital London, United Kingdom
NCT01895829	Active	USPIO nanoparticle-ferumoxyl	MRI	Head and neck cancer	University of Texas MD Anderson Cancer Center Houston, Texas, United States

NCT00675259	Completed	Paclitaxel albumin-stabilized nanoparticle	Chemotherapy	Breast cancer	Ohio State University Comprehensive Cancer Center Columbus, Ohio, United States
NCT00920023	Completed	SPIO nanoparticle	MRI	Pancreatic cancer	Massachusetts General Hospital Boston, Massachusetts, United States
NCT01927887	Completed	USPIO nanoparticle-ferumoxylol	MRI	Thyroid cancer	Massachusetts General Hospital Boston, Massachusetts, United States
NCT01815333	Active	USPIO nanoparticle-ferumoxylol	MRI	Lymph node cancer	University of Texas MD Anderson Cancer Center Houston, Texas, United States

Data retrieved from ClinicalTrials.gov (102) Key: SPIO- superparamagnetic iron oxide; USPIO- ultrasmall superparamagnetic iron oxide; MRI- magnetic resonance imaging.

13. Conclusions

The universe of magnetic nanoparticles has been extensively studied in the past years, and most recently oriented for nanotheranostics application. The reduced size, controllable intrinsic physicochemical properties, externally applied magnetic field response and multi surface functionalization constitute appealing features that make MNPs advantageous nanoscale systems for targeting, imaging and drug delivery, in the theranostic field. The main objectives and concerns in this field rely on the development of nanosystems that conciliate solubility and stability in biological environments, controlled drug release, high sensitivity for diagnosis, low toxicity and reduced side effects. Thus, the development of specific guidance and classification systems is an important step to most efficiently characterize and parametrise MNPs. The increasing investment on research, in European current projects, is a positive and crucial aspect for further technological development in the nanotheranostic field concerning magnetic nanoparticles. Cancer nanotheranostics is a growing area with great potential concerning biomedical applications and open for innovation and development of new strategies to address the diagnosis and therapeutics requirements.

14. References

- (1) CHOWDHURY, M. R. *et al.* - Cancer nanotheranostics: Strategies, promises and impediments. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 84 (2016) 291–304.
- (2) FARKONA, S.; DIAMANDIS, E. P.; BLASUTIG, I. M. - Cancer immunotherapy: The beginning of the end of cancer? *BMC Medicine*. 14:1 (2016) 1–18.
- (3) DJEMAA, S. *et al.* - Formulation and in vitro evaluation of a siRNA delivery nanosystem decorated with gH625 peptide for triple negative breast cancer theranosis. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 131 (2018) 99–108.
- (4) FERLAY, J. *et al.* - Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *European Journal of Cancer*. 103 (2018) 356–387.
- (5) SHI, J. *et al.* - Cancer nanomedicine: progress, challenges and opportunities. *Nature Reviews Cancer*. 17 (2017) 20–37.
- (6) SINGH, A.; SAHOO, S. K. - Magnetic nanoparticles: a novel platform for cancer theranostics. *Drug Discovery Today*. 19:4 (2014) 474–481.
- (7) SKOMSKI, R. - Length Scales in Magnetism. In Buschow K. (eds) *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*. 2nd ed. New York, Pergamon, 2006. ISBN 978-0-0804-3152-9. p. 1–7.
- (8) TIABLIKOV, SV - **Methods in the quantum theory of magnetism**. 1st. ed. New York : Springer US, 2013. ISBN 978-1-4899-7182-1.
- (9) PAPAETHYMIU, G. C. - Nanoparticle magnetism. *Nano Today*. 4:5 (2009) 438–447.
- (10) AKBARZADEH, A.; SAMIEI, M.; DAVARAN, S. - Magnetic nanoparticles: Preparation, physical properties, and applications in biomedicine. *Nanoscale Research Letters*. 7 (2012).
- (11) BAÑOBRE-LÓPEZ, M.; TEIJEIRO, A.; RIVAS, J. - Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment. *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy*. 18:6 (2013) 397–400.
- (12) ROCHA-SANTOS, T. A. P. - Sensors and biosensors based on magnetic nanoparticles. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 62 (2014) 28–36.
- (13) LAURENT, S. *et al.* - Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chemical Reviews*. 108:6 (2008) 2064–2110.
- (14) ANGELAKERIS, M. - Magnetic nanoparticles: A multifunctional vehicle for modern theranostics. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. 1861:6 (2017) 1642–1651.
- (15) KUDR, J. *et al.* - Magnetic Nanoparticles: From Design and Synthesis to Real World

Applications. *Nanomaterials*. 7:9 (2017) 243.

(16) REVIA, R. A.; ZHANG, M. - Magnetite nanoparticles for cancer diagnosis, treatment, and treatment monitoring: Recent advances. *Materials Today*. 19:3 (2016) 157–168.

(17) PALIHAWADANA-ARACHCHIGE, M. *et al.* - Nanostructured Materials- Fabrication to Application: Gd-Doped Superparamagnetic Magnetite Nanoparticles for Potential Cancer Theranostics. In SEEHRA, M. S. (Ed.) - School of Environmental Sciences. Rijeka, Croatia: InTech, 2017. ISBN 978-953-51-3372-8. p. 79–109.

(18) ARIAS, J. L. (ED.) - **Nanotechnology and Drug Delivery, Volume one: Nanoplatfoms in Drug Delivery**. 1st. ed. Bosa Roca, United States : Taylor & Francis Inc, CRC Press Inc, 2014. ISBN 978-1-4665-9947-5.

(19) LIU, J. P. *et al.* (EDS.) - **Nanoscale Magnetic Materials and Applications**. [S.l.] : Springer US, 2009. ISBN 978-0-387-85598-1.

(20) LAMER, V. K.; DINEGAR, R. H. - Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. *Journal of the American Chemical Society*. 72:11 (1950) 4847–4854.

(21) HASANY, S. F. *et al.* - Systematic Review of the Preparation Techniques of Iron Oxide Magnetic Nanoparticles. *Nanoscience and Nanotechnology*. 2:6 (2013) 148–158.

(22) ALI, A. *et al.* - Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnology, science and applications*. 9 (2016) 49–67.

(23) BIEHL, P. *et al.* - Synthesis, characterization, and applications of magnetic nanoparticles featuring polyzwitterionic coatings. *Polymers*. 10:1 (2018).

(24) BOSSMANN, S. H.; WANG, H. (EDS.) - **Magnetic Nanomaterials: Applications in Catalysis and Life Sciences**. 1st. ed. London : The Royal Society of Chemistry, 2017. ISBN 978-1-78262-788-3.

(25) GE, Y. *et al.* - Effect of surface charge and agglomerate degree of magnetic iron oxide nanoparticles on KB cellular uptake in vitro. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 73:2 (2009) 294–301.

(26) MALIK, M. A.; WANI, M. Y.; HASHIM, M. A. - Microemulsion method: A novel route to synthesize organic and inorganic nanomaterials: 1st Nano Update. *Arabian Journal of Chemistry*. 5:4 (2012) 397–417.

(27) LI, Z. *et al.* - Synthesis and characterization of self-assembled three-dimensional flower-like iron(III) oxide–indium(III) oxide binary nanocomposites. *RSC Advances*. 5:48 (2015) 38093–38099.

(28) CURCIO, A. *et al.* - Iron Oxide Nanoflowers @ CuS Hybrids for Cancer Tri-Therapy:

Interplay of Photothermal Therapy, Magnetic Hyperthermia and Photodynamic Therapy. *Theranostics*. 9:5 (2019) 1288–1302.

(29) AGOTEGARAY, M. A.; LASSALLE, V. L. - **Silica-coated Magnetic Nanoparticles: An Insight into Targeted Drug Delivery and Toxicology**. 1st ed. [S.l.] : Springer International Publishing, 2017. ISBN 978-3-319-50158-1.

(30) MOHAPATRA, S.; NGUYEN-TRI, P.; NGUYEN, T. (EDS.) - **Noble Metal-Metal Oxide Hybrid Nanoparticles: Fundamentals and Applications**. [S.l.] : Woodhead Publishing, 2019. ISBN 978-0-12-814134-2.

(31) MAJEWSKI, P.; THIERRY, B. - Functionalized Magnetite Nanoparticles— Synthesis, Properties, and Bioapplications. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*. 32:3 (2007) 203–215.

(32) LUNGE, S. S.; SINGH, S.; SINHA, A. - Magnetic Nanoparticle: Synthesis and Environmental Applications. In *International Conference on Chemical, Civil and Environmental Engineering (CCEE'2014)*. Singapore : [s.n.]

(33) BARH, D.; BLUM, K.; MADIGAN, M. A. (EDS.) - **OMICS: Biomedical Perspectives and Applications**. 1st. ed. Boca Raton : CRC Press, 2016. ISBN 9780429109829.

(34) XIE, J.; CHEN, K.; CHEN, X. - Production, modification and bio-applications of magnetic nanoparticles gestated by magnetotactic bacteria. *Nano Research*. 2:4 (2009) 261–278.

(35) MA, C. *et al.* - Preparation of carbon-encapsulated metal magnetic nanoparticles by an instant pyrolysis method. *New Carbon Materials*. 25:3 (2010) 199–204.

(36) ALLOYEAU, Damien; MOTTET, Christine; RICOLLEAU, Christian (EDS.) - **Nanoalloys: Synthesis, Structure and Properties**. 1st. ed. London : Springer-Verlag London, 2012. ISBN 978-1-4471-4014-6.

(37) WU, S. *et al.* - Fe₃O₄ magnetic nanoparticles synthesis from tailings by ultrasonic chemical co-precipitation. *Materials Letters*. 65:12 (2011) 1882–1884.

(38) TARTAJ, P. *et al.* - The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 36:13 (2003) 182–197.

(39) KHOSROSHAHI, M. E. - **Applications of Biophotonics and Nanobiomaterials in Biomedical Engineering**. 1st. ed. Boca Raton, FL : CRC Press, 2017. ISBN 9781315152202.

(40) HACHANI, R. *et al.* - Polyol synthesis, functionalisation, and biocompatibility studies of superparamagnetic iron oxide nanoparticles as potential MRI contrast agents. *Nanoscale*. 8:6 (2016) 3278–3287.

- (41) WU, W. *et al.* - Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Science and Technology of Advanced Materials*. 16:2 (2015) 023501.
- (42) ALUPEI, L. *et al.* - New hybrid magnetic nanoparticles based on chitosan-maltose derivative for antitumor drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 92 (2016) 561–572.
- (43) BAVIO, M. A.; LISTA, A. G. - Synthesis and characterization of hybrid-magnetic nanoparticles and their application for removal of arsenic from groundwater. *The Scientific World Journal*. 2013 (2013).
- (44) CUSCHIERI, A. *et al.* - Hybrid gold-iron oxide nanoparticles as a multifunctional platform for biomedical application. *Journal of Nanobiotechnology*. 10:1 (2012) 27.
- (45) CORTAJARENA, A. L. *et al.* - Engineering Iron Oxide Nanoparticles for Clinical Settings. *Nanobiomedicine*. 1 (2014) 2.
- (46) AGARWAL, R. *et al.* - Effect of Shape, Size, and Aspect Ratio on Nanoparticle Penetration and Distribution inside Solid Tissues Using 3D Spheroid Models. *Advanced Healthcare Materials*. 4:15 (2015) 2269–2280.
- (47) JAZIREHPOUR, M.; SEYYED EBRAHIMI, S. A. - Effect of aspect ratio on dielectric, magnetic, percolative and microwave absorption properties of magnetite nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*. 638 (2015) 188–196.
- (48) FERRANDO, R. - Magnetism in nanoalloys. *Frontiers of Nanoscience*. 10 (2016) 245–266.
- (49) KOSTOPOULOU, A.; LAPPAS, A. - Colloidal magnetic nanocrystal clusters: variable length-scale interaction mechanisms, synergetic functionalities and technological advantages. *Nanotechnology Reviews*. 4:6 (2015) 595–624.
- (50) KREIBIG, U.; VOLLMER, M. - **Optical Properties of Metal Clusters** Springer Series in Materials Science. . 1st. ed. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 1995
- (51) FOY, S. P. *et al.* - Optical Imaging and Magnetic Field Targeting of Magnetic Nanoparticles in Tumors. *ACS Nano*. 4:9 (2010) 5217–5224.
- (52) FRÖHLICH, E. - The role of surface charge in cellular uptake and cytotoxicity of medical nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*. 7 (2012) 5577–5591.
- (53) BHATTACHARJEE, S. - DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*. (2016).
- (54) WEIDNER, A. *et al.* - Preparation of Core-Shell Hybrid Materials by Producing a Protein Corona Around Magnetic Nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*. 10:1 (2015).

- (55) KHANDHAR, A. P. *et al.* - Tailored magnetic nanoparticles for optimizing magnetic fluid hyperthermia. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. 100 A:3 (2012) 728–737.
- (56) CHANTRELL, R. W.; POPPLEWELL, J.; CHARLES, S. W. - Measurements of particle size distribution parameters in ferrofluids. *IEEE Transactions on Magnetics*. 14:5 (1978) 975–977.
- (57) SIVAKUMAR, P. *et al.* - Synthesis and characterization of nickel ferrite magnetic nanoparticles. *Materials Research Bulletin*. 46:12 (2011) 2208–2211.
- (58) CHIN, S.; SWAMINATHA, I.; RASTON, C. - Superparamagnetic core-shell nanoparticles for biomedical applications. *Em International Conference on Enabling Science and Nanotechnology (ESciNano) (2010)*. Kuala Lumpur, Malaysia : IEEE, 2011
- (59) JANG, J. H.; LIM, H. B. - Characterization and analytical application of surface modified magnetic nanoparticles. *Microchemical Journal*. 94:2 (2010) 148–158.
- (60) VALLABANI, N. V. S.; SINGH, S. - Recent advances and future prospects of iron oxide nanoparticles in biomedicine and diagnostics. *3 Biotech*. 8:6 (2018) 1–23.
- (61) MUNJAL, S.; KHARE, N. - Transforming single domain magnetic CoFe₂O₄ nanoparticles from hydrophobic to hydrophilic by novel mechanochemical ligand exchange. *Journal of Nanoparticle Research*. 19:1 (2017) 18.
- (62) WANG, X.; TILLEY, R. D.; WATKINS, J. J. - Simple ligand exchange reactions enabling excellent dispersibility and stability of magnetic nanoparticles in polar organic, aromatic, and protic solvents. *Langmuir*. 30:6 (2014) 1514–1521.
- (63) YANG, H. Y.; LI, Y.; LEE, D. S. - Multifunctional and Stimuli-Responsive Magnetic Nanoparticle-Based Delivery Systems for Biomedical Applications. *Advanced Therapeutics*. 1:2 (2018) 1-17.
- (64) LUNGU, I. I. *et al.* - pH sensitive core-shell magnetic nanoparticles for targeted drug delivery in cancer therapy. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 57:1 (2016) 23–32.
- (65) WANG, X. *et al.* - A Magnetic and pH-Sensitive Composite Nanoparticle for Drug Delivery. *Journal of Nanomaterials*. 2018 (2018) 1–7.
- (66) LIU, B. *et al.* - Magnetically targeted delivery of DOX loaded Cu₉S₅@mSiO₂@Fe₃O₄-PEG nanocomposites for combined MR imaging and chemo/photothermal synergistic therapy. *Nanoscale*. 8:25 (2016) 12560–12569.
- (67) MEDEIROS, S. F. *et al.* - Stimuli-responsive magnetic particles for biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 403:1–2 (2011) 139–161.

- (68) JAMES, H. P. *et al.* - Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 4:2 (2014) 120–127.
- (69) QIU, Y.; PARK, K. - Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 53:3 (2001) 321–339.
- (70) KIM, J. *et al.* - Multifunctional uniform nanoparticles composed of a magnetite nanocrystal core and a mesoporous silica shell for magnetic resonance and fluorescence imaging and for drug delivery. *Angewandte Chemie - International Edition*. 47:44 (2008) 8438–8441.
- (71) HU, J. *et al.* - Drug-loaded and superparamagnetic iron oxide nanoparticle surface-embedded amphiphilic block copolymer micelles for integrated chemotherapeutic drug delivery and MR imaging. *Langmuir*. 28:4 (2012) 2073–2082.
- (72) DA, Z. L. *et al.* - Synthesis, characterization and thermal properties of inorganic-organic hybrid. *Express Polymer Letters*. 1:10 (2007) 698–703.
- (73) GOBBO, O. L. *et al.* - Magnetic nanoparticles in cancer theranostics. *Theranostics*. 5:11 (2015) 1249–1263.
- (74) KHAN, M. *et al.* - Induction of ROS, mitochondrial damage and autophagy in lung epithelial cancer cells by iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*. 33:5 (2012) 1477–1488.
- (75) ERUSLANOV, E.; KUSMARTSEV, S. - Identification of ROS Using Oxidized DCFDA and Flow-Cytometry. In Armstrong D. (eds) *Advanced Protocols in Oxidative Stress II. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, vol 594. 1st ed. Totowa, NJ : Humana Press, 2010. ISBN 978-1-60761-411-1. p. 57–72.
- (76) FENG, Q. *et al.* - Uptake, distribution, clearance, and toxicity of iron oxide nanoparticles with different sizes and coatings. *Scientific Reports*. 8:1 (2018) 1–13.
- (77) KALIDASAN, V. *et al.* - Bovine Serum Albumin-Conjugated Ferrimagnetic Iron Oxide Nanoparticles to Enhance the Biocompatibility and Magnetic Hyperthermia Performance. *Nano-micro Letters*. 8:1 (2016) 80–93.
- (78) NAYAK, D.; ROTH, T. L.; MCGAVERN, D. B. - Protocol for Apoptosis Assay by Flow Cytometry Using Annexin. 3:2 (2014) 367–402.
- (79) SINGH, N. P. *et al.* - A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell Res*. 185:2 (1988) 184–191.
- (80) TICE, R. R. *et al.* - Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ. Mol. Mutagen*. 35:3 (2000) 206–221.
- (81) KÖNCZÖL, M. *et al.* - Cytotoxicity and Genotoxicity of Size-Fractionated Iron Oxide (Magnetite) in A549 Human Lung Epithelial Cells : Role of ROS, JNK, and NF-κB. *Scanning*

Electron Microscopy. (2011) 1460–1475.

(82) SILVA, H. *et al.* - Triple-modal imaging of stem-cells labeled with multimodal nanoparticles, applied in a stroke model. *World Journal of Stem Cells*. 11:2 (2019) 100–123.

(83) BU, L. *et al.* - Assessment and comparison of magnetic nanoparticles as MRI contrast agents in a rodent model of human hepatocellular carcinoma. *Contrast media & molecular imaging*. 7:4 (2012) 363–72.

(84) KUMAR, S. *et al.* - An efficient and reproducible process for transmission electron microscopy (TEM) of rare cell populations. *Journal of Immunological Methods*. 404 (2014) 87–90.

(85) THOMAS, G. *et al.* - Innovative Magnetic Nanoparticles for PET/MRI Bimodal Imaging. *ACS Omega*. 4:2 (2019) 2637–2648.

(86) BEARD, P. - Biomedical photoacoustic imaging. *Interface focus*. 1:4 (2011) 602–31.

(87) BELYANINA, I. *et al.* - Targeted Magnetic Nanotheranostics of Cancer. *Molecules*. 22:6 (2017) 1–975.

(88) LI, Y. *et al.* - Surface-enhanced Raman nanoparticles for tumor theranostics applications. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 8:3 (2018) 349–359.

(89) KUMAR, G. V. *et al.* - Metal-coated magnetic nanoparticles for surface enhanced Raman scattering studies. *Bulletin of Materials Science*. 34:2 (2011) 207–216.

(90) THORN, C. F. *et al.* - Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenetics and Genomics*. 21:7 (2011) 440–446.

(91) YOO, D. *et al.* - Theranostic magnetic nanoparticles. *Accounts of chemical research*. 44:10 (2011) 863–74.

(92) MA, Ming *et al.* - Au capped magnetic core/mesoporous silica shell nanoparticles for combined photothermo-/chemo-therapy and multimodal imaging. *Biomaterials*. 33:3 (2012) 989–998.

(93) HUANG, J. *et al.* - Rational Design and Synthesis of $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3@Au$ Magnetic Gold Nanoflowers for Efficient Cancer Theranostics. *Advanced Materials*. 27:34 (2015) 5049–5056.

(94) YANG, X. *et al.* - cRGD-functionalized, DOX-conjugated, and ^{64}Cu -labeled superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeted anticancer drug delivery and PET/MR imaging. *Biomaterials*. 32:17 (2011) 4151–4160.

(95) ZOLATA, H.; DAVANI, F. A.; AFARIDEH, H. - Synthesis, characterization and theranostic evaluation of Indium-111 labeled multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Nuclear Medicine and Biology*. 42:2 (2015) 164–170.

(96) LEE, J. H. *et al.* - All-in-One target-cell-specific magnetic nanoparticles for simultaneous

molecular imaging and siRNA delivery. *Angewandte Chemie - International Edition*. 48:23 (2009) 4174–4179.

(97) DANHIER, F.; BRETON, A. L.; PRÉAT, V. - RGD-based strategies to target alpha(v) beta(3) integrin in cancer therapy and diagnosis. *Molecular Pharmaceutics*. 9:11 (2012) 2961–2973.

(98) SILVA, C. O. *et al.* - Current Trends in Cancer Nanotheranostics: Metallic, Polymeric, and Lipid-Based Systems. *Pharmaceutics*. 11:1 (2019) 22.

(99) LIU, Y. *et al.* - Magnetic Nanoliposomes as in Situ Microbubble Bombers for Multimodality Image-Guided Cancer Theranostics. *ACS Nano*. 11:2 (2017) 1509–1519.

(100) SAESOO, S. *et al.* - Characterization of liposome-containing SPIONs conjugated with anti-CD20 developed as a novel theranostic agent for central nervous system lymphoma. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 161 (2018) 497–507.

(101) ZHU, L. *et al.* - Magnetic nanoparticles for precision oncology: Theranostic magnetic iron oxide nanoparticles for image-guided and targeted cancer therapy. *Nanomedicine*. 12:1 (2017) 73–87.

(102) **ClinicalTrials.gov** - [accessed on 9 jul. 2019]. Available in: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Cancer&term=magnetic+nanoparticles&cntry=&state=&city=&dist=>