

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA E EVOLUÇÃO
BIOTECNOLOGIA

DANIEL TAKESHI OKITA

VIABILIDADE DOS GÉIS A BASE DE QUITOSANA COMO ADJUVANTES NO
TRATAMENTO TÓPICO DO CÂNCER UROTELIAL DE BEXIGA COM
IMUNOTERÁPICO: REVISÃO DA LITERATURA

SÃO CARLOS -SP

2024

DANIEL TAKESHI OKITA

VIABILIDADE DOS GÉIS A BASE DE QUITOSANA COMO ADJUVANTES NO
TRATAMENTO TÓPICO DO CÂNCER UROTELIAL DE BEXIGA COM
IMUNOTERÁPICO: REVISÃO DA LITERATURA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Genética e Evolução da Universidade
Federal de São Carlos, para obtenção do
título de bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Dr. Ricardo Carneiro Borra

SÃO CARLOS -SP

2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, que sempre me deram apoio e condições para chegar até aqui.

Agradeço também ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Carneiro Borra, por me auxiliar no desenvolvimento do trabalho.

Aos meus amigos que me motivaram, pelo apoio, troca de ideia e pelos momentos bons que passamos juntos.

“Que seu remédio seja seu alimento, e que seu alimento seja seu remédio.”

Hipócrates

RESUMO

Apesar dos recentes avanços nas áreas de prevenção e tratamento, o câncer urotelial de bexiga permanece desafiador, ocupando posições significativas no ranking mundial de neoplasias secundárias. Modalidades terapêuticas convencionais, como quimioterapia, radioterapia e imunoterapia, embora amplamente utilizadas, muitas vezes mostram limitações em sua eficácia. Por isso há uma necessidade no desenvolvimento de novas terapias localizadas para aumentar a eficiência e reduzir os efeitos adversos dos tratamentos. O gel de quitosana surge como uma possibilidade como um adjuvante promissor, explorando suas propriedades muco adesivas, capacidade de promover a permeabilidade na bexiga, funcionar como Drug delivery, permitir um tratamento localizado e reduzir efeitos sistêmicos. Este trabalho propõe uma revisão de literatura do tipo narrativa com o objetivo de determinar o potencial do gel a base de quitosana como um adjuvante no tratamento tópico do câncer urotelial de bexiga. A busca literária abrangeu os bancos de dados Pubmed, ScienceDirect e Scielo utilizando palavras-chaves Chitosan, Properties of chitosan, treatment of bladder cancer, antitumor activity of chitosan, chitosan gel in bladder cancer. Os critérios para a escolha dos artigos foram os artigos publicados a partir de 2000, e ter em seu título ou resumo termos explícitos de “gel de quitosana” ou experimentos envolvendo o gel de quitosana como um adjuvante no tratamento da bexiga. Foi possível observar que o gel de quitosana possui um potencial significativo como um adjuvante no tratamento de câncer de bexiga, suas propriedades e eficácia demonstradas nos artigos ressaltam a sua promissora aplicação terapêutica e a possibilidade de desenvolvimento de novas terapias localizadas.

Descritores: Quitosana; adjuvante; antitumoral.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Classificação do carcinoma urotelial de bexiga	13
Figura 2 - Ilustração das camadas de células da bexiga	16
Figura 3 - Imagem da superfície do interior da bexiga	16
Figura 4 - Interação das células T e células tumorais	18
Figura 5 - Interação das células T e as células apresentadoras de antígenos	19
Figura 6 - Comparação das estruturas químicas da celulose, quitina e quitosana	21
Figura 7 - Representação esquemática das estruturas polimórficas da quitina	22
Figura 8 - Processo de conversão de quitina em quitosana	23
Figura 9 - Marcação por imunofluorescência do urotélio	32
Figura 10 - Demonstração de dois tratamentos no câncer de bexiga	34
Figura 11 - Imagens dos géis de diferentes pesos moleculares	36
Figura 12 - Imagem dos géis	38
Figura 13 - Ilustração do experimento	39
Figura 14 - Imagem do sistema de gel quitosana/ β -glicerofosfato/THP e gel quitosana/ β -glicerofosfato-Fe ₃ O ₄ /THP	40
Figura 15 - Liberação in vivo e permeação ex vivo de Gem-HCl	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Áreas de estudos da quitosana	28
Tabela 2 – Artigos selecionados para realização do estudo	30
Tabela 3 – Tipos de sistemas de géis de quitosana	35

LISTA DE SIGLAS

APC - Células apresentadoras de antígenos
Au - Ouro
BCG - *Bacillus Calmette-Guerin*
CH-HCl - Cloreto de quitosana
CD4 - Células T citotóxicas
CD8 - Células T auxiliares
CTLA-4 – Antígeno 4 de linfócitos T citotóxicos
GAG - Glicosaminoglicanas
Gem-HCl - Cloridrato de Gemcitabine
INCA - Instituto Nacional de Câncer
KOH – Hidróxido de potássio
MHC-I – Complexo de histocompatibilidade classe I
NaOH – Hidróxido de sódio
NPs – Nanopartículas
NK – Células Natural Killers
PD-1 - Proteína de morte celular programado-1
PD-L1 - Proteína de ligação de morte celular programado-1
PD-L2 - Proteína de ligação de morte celular programado-2
PEO - Óxido de polietileno
PH – Potencial Hidrogeniônico
PVA - Álcool polivinílico
T regs - Células T reguladoras
THP - Pirarubicina
RTU-B - Ressecção transuretral da bexiga
TH1 – Células T auxiliares tipo 1

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1.	CÂNCER	12
2.2.	CÂNCER DE BEXIGA	12
2.3.	RESPOSTA IMUNE ANTI TUMORAL DO CÂNCER DE BEXIGA	15
2.4.	ADJUVANTES	19
2.5.	QUITOSANA E SUAS PROPRIEDADES	20
2.6.	GEL DE QUITOSANA	24
2.7.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
3.	OBJETIVO	27
3.1.	OBJETIVO GERAL	27
3.2.	OBJETIVO ESPECÍFICO	27
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1.	LEVANTAMENTO DE DADOS	28
4.2.	ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS	29
4.3.	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS	29
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
5.1.	SISTEMAS DE GÉIS DE QUITOSANA	34
6.	CONCLUSÃO	44
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1. INTRODUÇÃO

A complexidade das neoplasias, caracterizada pela proliferação desordenada de células, representa uma ameaça considerável devido à sua propensão ao crescimento descontrolado e à capacidade de invasão de tecidos locais, muitas vezes atingindo o ápice na metástase para órgãos distantes (DOBRUCH; OSZCZUDŁOWSKI, 2021; HASEGAWA et al., 2001; QI; XU, 2006). A distinção entre neoplasias benignas, de crescimento lento e confinadas localmente, e aquelas malignas, caracterizadas por crescimento rápido e disseminação, destaca a heterogeneidade dessas doenças (CRABB; DOUGLAS, 2018; DOBRUCH; OSZCZUDŁOWSKI, 2021; HASEGAWA et al., 2001; QI; XU, 2006)

O carcinoma urotelial de bexiga, figurando entre as neoplasias mais prevalentes globalmente, emerge como uma das principais causas de mortalidade por câncer (DOBRUCH; OSZCZUDŁOWSKI, 2021; ZHANG et al., 2013). Comumente apresentando-se de forma superficial, o tratamento desses tumores enfrenta desafios significativos, contribuindo para a complexidade e a elevada taxa de mortalidade associada, os sintomas, incluindo a hematúria, frequentemente confundida com infecções do trato urinário, variam conforme o estágio tumoral, demandando uma abordagem abrangente em sua gestão (CRABB; DOUGLAS, 2018; DOBRUCH; OSZCZUDŁOWSKI, 2021; QI; XU, 2006; VIPULKUMAR DADHANIA; BOGDAN CZERNIAK; CHARLES C GUO, 2015; ZHANG et al., 2013).

No cenário terapêutico, os adjuvantes desempenham um papel crucial, potencializando a resposta imunológica a antígenos e permitindo reações vigorosas com doses mínimas de antígeno (AWATE; BABIUK; MUTWIRI, 2013; COX; COULTER, 1997; GUPTA; SIBER, 1995). As substâncias comumente utilizadas incluem sais, lipídeos, emulsões, polímeros, entre outros (AWATE; BABIUK; MUTWIRI, 2013; COX; COULTER, 1997; GUPTA; SIBER, 1995). O desenvolvimento de adjuvantes enfrenta desafios notáveis, exigindo uma menor toxicidade e a garantia de biodegradabilidade, acessibilidade e eficácia (AWATE; BABIUK; MUTWIRI, 2013; COX; COULTER, 1997; GUPTA; SIBER, 1995)

Nesse contexto desafiador, a quitosana emerge como uma substância adjuvante promissora, oferecendo características notáveis de biocompatibilidade, biodegradabilidade e disponibilidade (ERMAN; VERANIČ, 2018; PAVINATTO et al., 2007; PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022; SHAKYA; NANDAKUMAR, 2013;

YOUNES et al., 2016). Além de suas propriedades imuno terapêuticas e imunoestimulantes, a quitosana revela atividade antitumoral, sua capacidade muco adesiva sugere uma aplicação eficaz via mucosa, intensificando as respostas imunológicas(ERMAN; VERANIČ, 2018; YU et al., 2023). Estudos indicam, ainda, que a quitosana pode induzir a descamação do urotélio, aumentando a permeabilidade vesical e facilitando a penetração de fármacos no local de aplicação (SHAKYA e NANDAKUMAR, 2013, PAVINATTO *et al.* 2007; ERMAN A. and VERANIC P. ;2018).

Na indústria farmacêutica os hidrogéis são amplamente utilizados em pesquisas de liberação de fármaco controlado, respondendo a estímulos como temperatura e pH (AZEVEDO et al., 2007; THIRUPATHI et al., 2022). A quitosana, por suas propriedades, tem atraído atenção dos pesquisadores em criar um sistema de liberação de fármacos utilizando o biopolímero em forma de gel em aplicações biológicas (AZEVEDO et al, 2007, THIRUPATHI *et al.*, 2022, Zhang *et al.* 2018).

Assim, realizou-se uma revisão bibliográfica para investigar a viabilidade dos géis a base de quitosana como potencial adjuvante em terapias imuno terapêuticas para o tratamento do câncer urotelial de bexiga, avaliando a sua eficácia e potencial sinergia com outros tratamentos na supressão do crescimento tumoral, explorando suas propriedades para contribuir no tratamento dessas neoplasias.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. CÂNCER

Uma das principais características do câncer é a capacidade de proliferação não controlada das células, diferente das células saudáveis que são reguladas, as cancerígenas crescem e se dividem de uma maneira descontrolada, o que pode ocasionar a invasão dos tecidos adjacentes até órgãos a distância (BABA; CATOI, 2007; FEITELSON et al., 2015)

As neoplasias, de acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), é uma neoplasia que ocorre pelo crescimento anormal de células, estas podem ocorrer em qualquer célula do corpo sendo elas divididas entre neoplasias primárias e secundárias. Uma neoplasia primária apresenta um crescimento geralmente lento e organizado e sem a invasão de tecidos adjacentes, permanecendo no local de origem, enquanto uma neoplasia secundária apresenta um crescimento acelerado e desordenado e a capacidade de invadir tecidos adjacentes e a distância do local de origem (metástase), por migração via corrente sanguínea ou linfática (BABA; CATOI, 2007; COOPER, 2000).

As neoplasias malignas são classificadas em três grupos, os carcinomas que são as neoplasias mais comuns entre todos os tipos, originam de células epiteliais e glandulares, os sarcomas que são de origem de tecidos de origem mesenquimais tais como músculos, ossos e cartilagens, e as leucemias e linfomas que são de origem das células blásticas da medula óssea e células do sistema imune (BABA; CATOI, 2007; COOPER, 2000)

A neoplasia secundárias não está ligada à apenas uma causa, mas a diversos fatores que podem influenciar sua formação, na maioria dos casos a causa são os fatores externos que estão presentes no ambiente, hábitos de vida, exposição a agentes cancerígenos; mas também é influenciada por fatores internos como os hormônios, mutações genéticas, reações imunológicas e também o envelhecimento que o torna mais propenso o desenvolvimento de neoplasias secundárias devido as células ficarem mais vulneráveis e somados ao fator tempo de exposição das células de pessoas mais velhas aos diversos fatores ambientais (BABA; CATOI, 2007; SMOLENSKY; RATHORE; CEKANOVA, 2016).

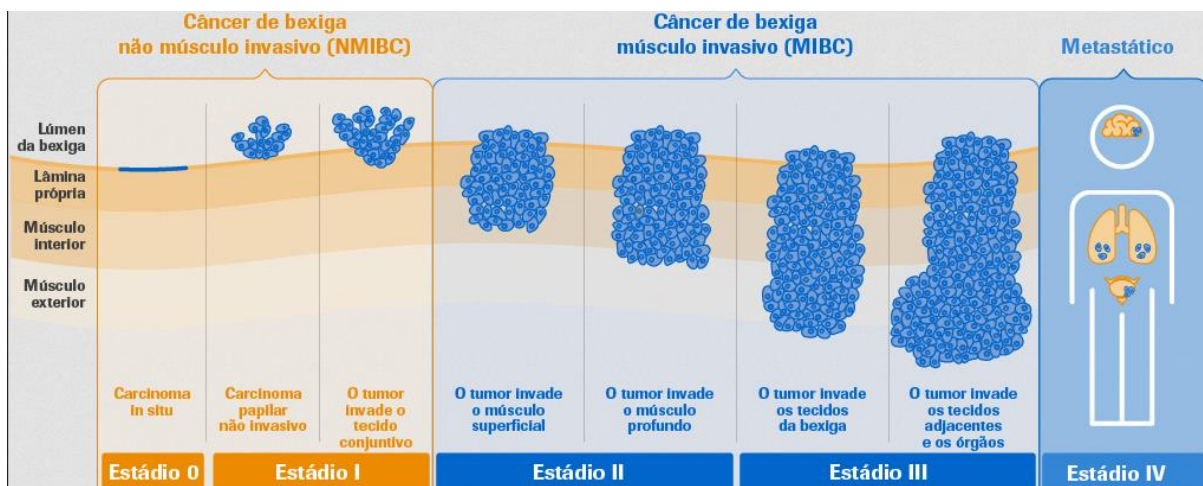
2.2. CÂNCER DE BEXIGA

A bexiga é um órgão flexível, com paredes musculares localizada na região da pélvis, onde a sua principal função é o armazenamento da urina que é produzida pelos rins e transportada até a bexiga através de ureteres (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). A parede da bexiga é composta por diversas camadas de células; sendo o interior do ureter, da uretra, da bexiga e partes dos rins são revestidos por células denominadas células uroteliais, debaixo desta, há um tecido conjuntivo conhecido como lâmina própria, seguida por uma camada de tecido muscular e por fim, por uma de tecido conjuntivo adiposo que separa a bexiga dos órgãos adjacentes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Entre os cânceres existentes, o câncer de bexiga está entre os dez mais recorrentes no mundo e está entre as quinze doenças que mais causam mortes, em que a maioria das neoplasias detectadas são do tipo superficiais (“Instituto Nacional de câncer”, 2022). Normalmente em função dos tratamentos serem compostos por períodos de quimioterapias e/ou imunoterapias após as etapas de Ressecção Transuretral de Bexiga (RTU-B) que é uma operação em que insere um ressectoscópio pela uretra sob anestesia e é feita uma “raspagem” para a remoção do tumor, não necessitando de realização de cortes (DOBRUCH; OSZCZUDŁOWSKI, 2021; TEOH et al., 2020)

Existe uma classificação para os tipos de câncer de bexiga que depende das células de origem onde sofreu a alteração, assim como há uma classificação baseada em cinco estágios de desenvolvimento do câncer de bexiga (Figura 1).

Figura 1 - Classificação do carcinoma urotelial de bexiga



Fonte: Roche farmacêutica. (2022)

O estágio 0 representa a presença de células anormais no tecido de revestimento, neste estágio ela é dividida em duas (carcinoma “in situ” papilífero, onde as células se assemelham às células do tipo papilífero, mas restritas ao tecido de revestimento da bexiga sem invadir e a do tipo carcinoma “in situ” plano, onde as células têm uma aparência mais plana e também limitados ao tecido de revestimento sem invasão) dependendo do padrão de crescimento ser do tipo endofídigo (invasivo) ou exofídigo (não invasivo), no estágio (I) o câncer já se espalhou para o tecido conjuntivo, no estágio (II) o câncer se espalhou para a camada do músculo, no estágio (III) o câncer atingiu as camadas de gordura que cobrem a bexiga, ou se espalhou para os linfonodos presentes na pélvis e no último estágio (IV), o câncer se difundiu para as paredes do abdômen ou pélvis, para os linfonodos e/ou para outras partes do corpo (metástase) (BABA; CATOI, 2007; DOBRUCH; OSZCZUDŁOWSKI, 2021).

Cerca de 70% a 80% das neoplasias de bexiga são superficiais, ou seja, do tipo muscular não invasivo enquanto de 20% a 30% se apresentam do tipo invasivo, onde geralmente a invasão da camada muscular pode indicar uma progressão para metástase. Neste sentido, cerca de 30% a 50% dos cânceres do tipo invasivo progridem para metástases (KOBAYASHI et al., 2015; LIU et al., 2018; VIPULKUMAR DADHANIA; BOGDAN CZERNIAK; CHARLES C GUO, 2015).

Os sintomas e o diagnóstico do câncer dependem do estágio em que se encontra o tumor, a maioria dos casos são diagnosticados pela presença de sangue na urina (hematúria) macroscópica ou microscópica, em conjunto com outros fatores como infecções no trato urinário, dor no ato de urinar e a necessidade frequente de urinar. Dependendo do desenvolvimento do tumor, pode-se haver uma diminuição do volume total da bexiga, o que causa a maior frequência da necessidade de urinar, dores abdominais e lombar em função das metástases (KOBAYASHI et al., 2015; LIU et al., 2018a; VIPULKUMAR DADHANIA; BOGDAN CZERNIAK; CHARLES C GUO, 2015).

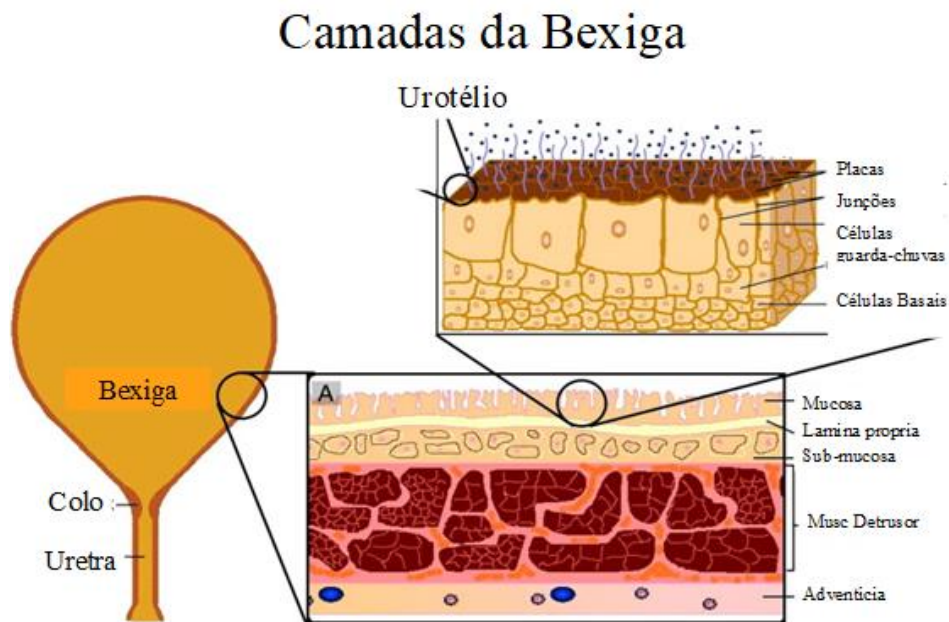
Existem diversos tipos de tratamentos para este tipo de neoplasia que abrange desde cirurgias, quimioterapias, radioterapias e imunoterapias (CRABB; DOUGLAS, 2018; DOBRUCH; OSZCZUDŁOWSKI, 2021). Na maioria dos casos é necessário a combinação de modalidades de tratamentos, os quais são indicadas de acordo com as particularidades do paciente e do padrão de desenvolvimento do tumor (CRABB; DOUGLAS, 2018).

As cirurgias podem ser divididas em três tipos, ressecção transuretral que remove o tumor via uretra, indicada para tumores superficiais, a cistectomia parcial que retira uma parte da bexiga quando o tumor apresenta invasibilidade do tecido muscular em estágios iniciais e a cistectomia radical que é a retirada do órgão e dos gânglios adjacentes quando o tumor invade grande parte da bexiga (CRABB; DOUGLAS, 2018; DOBRUCH; OSZCZUDŁOWSKI, 2021). A radioterapia é uma outra abordagem utilizada nos casos em que os procedimentos cirúrgicos estão contraindicados (CRABB; DOUGLAS, 2018; SMOLENSKY; RATHORE; CEKANOVA, 2016). A quimioterapia é um outro método bastante utilizado em conjunto com as cirurgias para evitar a recidiva ou retardar o crescimento do tumor. Esta técnica utiliza medicamentos capazes de matar as células cancerígenas, onde, geralmente a medicação é via intravenosas ou por um tubo que passa pela uretra e entrega o fármaco diretamente ao órgão (terapia intravesical)(CRABB; DOUGLAS, 2018; DOBRUCH; OSZCZUDŁOWSKI, 2021). Um outro método é a utilização de imunoterapia, que é administrada diretamente na bexiga via terapia intravesical. Um dos tipos mais comuns é a baseada na utilização do *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG), o mesmo usado na imunização para a prevenção da tuberculose (ALHUNAIDI; ZLOTTA, 2019; CRABB; DOUGLAS, 2018; LIU et al., 2019; SMOLENSKY; RATHORE; CEKANOVA, 2016b). Apesar de todas essas modalidades de tratamento, os casos de recidiva e efeitos colaterais tornam prementes a busca por novas abordagens que potencializam a eliminação do tumor, prevenindo a reincidência e diminuindo os efeitos colaterais e metástases (ALHUNAIDI; ZLOTTA, 2019; CRABB; DOUGLAS, 2018; DOBRUCH; OSZCZUDŁOWSKI, 2021; SMOLENSKY; RATHORE; CEKANOVA, 2016b).

2.3. RESPOSTA IMUNE ANTI TUMORAL DO CÂNCER DE BEXIGA

A bexiga é uma estrutura pequena e esférica com o objetivo de armazenar a urina e a sua estrutura possui múltiplas camadas incluindo o urotélio, lâmina própria, músculo detrusor e serosa (BABA; CATOI, 2007; COOPER, 2000). A matriz de proteínas e junções entre as células guarda-chuvas da camada urotelial são as responsáveis pela impermeabilidade da bexiga, que dificulta a absorção de fármacos (ESRA S. SHERMADOU; SAJEDUR RAHMAN; STEPHEN W. LESLIE, 2023)

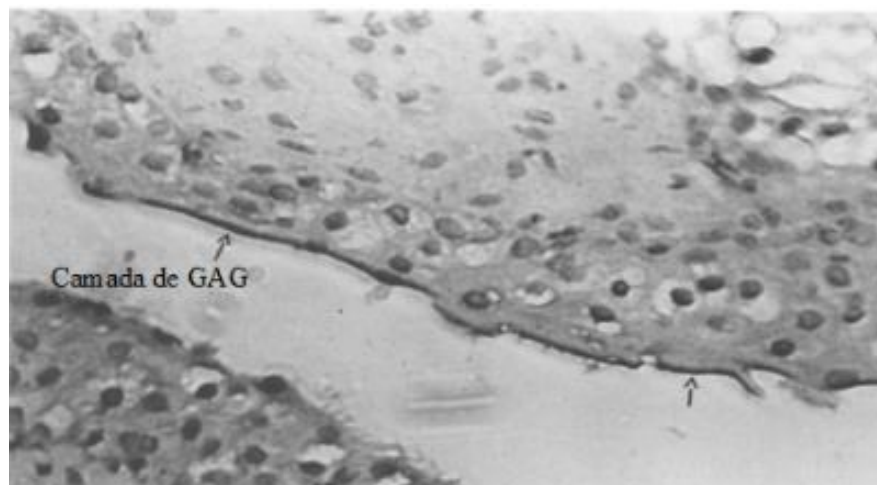
Figura 2 - Ilustração das camadas de células da bexiga



Fonte: Rodrigues. (2017)

Além disso, a superfície do urotélio é recoberta por uma camada gelatinosa de mucina ou glicosaminoglicano (GAG) que são carregadas negativamente e impede que qualquer substância estranha sofra adesão à superfície urotelial como mostra na figura 3, em que a seta aponta para essa camada. (DASS; CHOONG, 2008; ESRA S. SHERMADOU; SAJEDUR RAHMAN; STEPHEN W. LESLIE, 2023; RODRIGUES, [s.d.])

Figura 3 - Imagem da superfície do interior da bexiga



Fonte: Adaptado Parsons CL *et cols.* (1979)

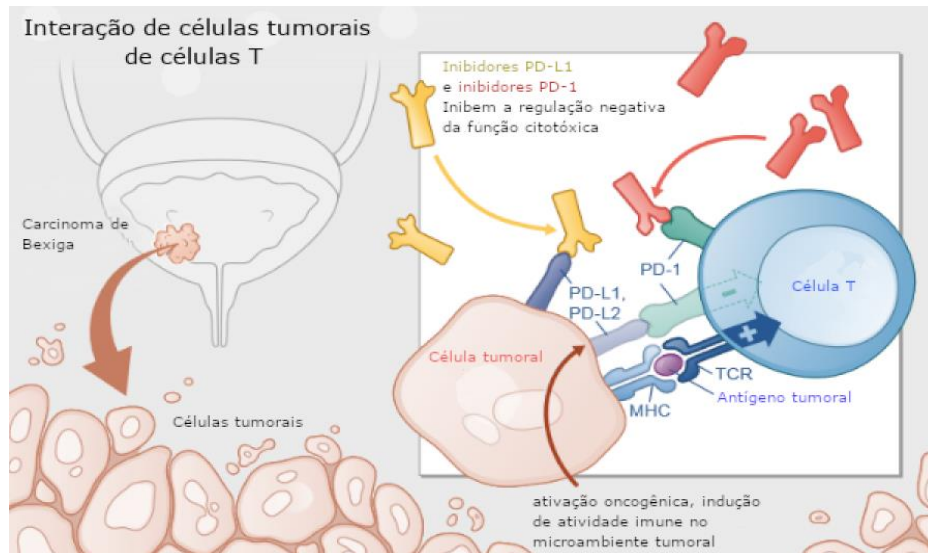
Na bexiga há a presença de células imunológicas como as dendríticas responsáveis por apresentar os antígenos aos linfócitos T e iniciar a resposta imunológica, os neutrófilos que respondem rapidamente a infecções e inflamações, as células T que incluem o CD8 citotóxicas ou CD4 auxiliares e T regs, células B responsáveis pela resposta imune adaptativa, células Natural Killers (NK) que possuem a capacidade de neutralizar as células tumorais e infectadas por vírus, macrófagos que eliminam agentes estranhos e desempenham um papel na regulação da resposta imune (DONIN et al., 2017).

Os antígenos que estão relacionados ao tumor são processados primeiramente pelas células apresentadoras de antígenos (APC), estas por sua vez devem receber sinais secundários suficientes para se ativar através de moléculas co-estimulatórias B7-1 ou B7-2 (DONIN et al., 2017; JOSEPH; ENTING, 2019). Com a sua ativação, as células APC migram para o tecido linfoide para estimular as células T, gerando assim um aumento na expressão das proteínas de superfícies que servem para controlar a resposta imune. As células APC induzem a produção de células citotóxicas CD8+ e células NK que migram para o local do tumor levando a uma resposta antitumoral. No ambiente tumoral, as células T conseguem reconhecer as proteínas anormais expressas pelos receptores MHC-I das células tumorais, estimulando a liberação de perforina e granzima que, ativam as vias apoptóticas das células tumorais (DONIN et al., 2017; JOSEPH; ENTING, 2019)

Porém os tumores possuem diversos mecanismos de evasão que afetam diferentes rotas da resposta antitumoral, sendo estes as secreções parácrinas de mediadores, como a prostaglandina E2, que causam a supressão da ativação das células APC e previne a entrada das células T no local do tumor (DONIN et al., 2017). O processamento e a apresentação dos antígenos podem ser reduzidos pelo próprio tumor, reduzindo a interação de MHC-I com as células T, o recrutamento de células imunomoduladores (células T reguladores, macrófagos, células supressoras de linhagem mieloide) que são capazes de suprimir a resposta imune antitumoral e interações entre ligantes e receptores na superfície de células T, resultando em um sinal de inibição destas células (DONIN et al., 2017). A proteína de morte celular programado-1 (PD-1) é expressa em células T, células T reguladoras, células B, monócitos, NK e células dendríticas. e interagem com a proteína de ligação de morte celular programado-1 (PD-L1) e a proteína de ligação de morte celular programado-2 (PD-L2) (DONIN, *et al.* 2016). A ligação das PD-L1 com a PD-1 inibe a proliferação de

células T, citocinas TH1 e a atividade citotóxica (Figura 4) (DONIN et al., 2017; YOUSEFI et al., 2017).

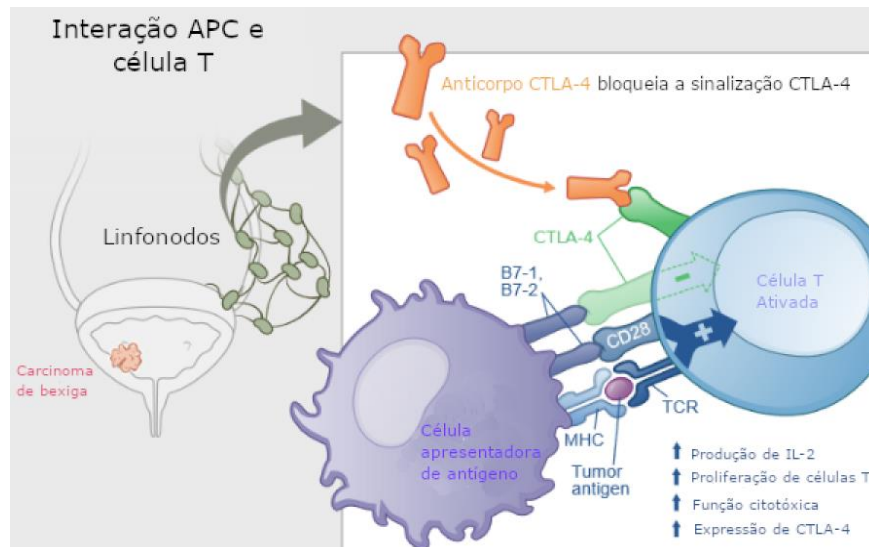
Figura 4 - Interação das células T e células tumorais



. Fonte: Adaptado DONIN, et al. (2016)

O receptor do antígeno 4 do linfócito T citotóxico (CTLA-4) é semelhante em estrutura ao receptor coestimulador CD28, e ela compete com o CD28 na interação com o coestimulador das moléculas de B7-1 e B7-2 nas APCs, assim ao invés de promover a ativação das células T e as suas funções a interação CTLA-4/B7 acabam por inibir a ativação das células T, principalmente nos tecidos linfoides (figura 5) (DONIN et al., 2017; YOUSEFI et al., 2017).

Figura 5 - Interação das células T e as células apresentadoras de antígenos



Adaptado DONIN, et al. (2016)

Enquanto a ativação da CTLA-4 suprime a ativação de células T no tecido linfóide, a atividade da PD-1 fica mais restrita ao ambiente tumoral, restringindo assim a destruição celular mediada pelas células T, conseqüentemente diminuindo a resposta imune (DONIN, *et al.*2016).

2.4. ADJUVANTES

Na área da imunologia, os adjuvantes são muito utilizados para auxiliar o antígeno a desencadear uma resposta imune rápida, intensa e duradoura, utilizando pouca quantidade de antígeno possível (GUPTA; SIBER, 1995). Eles podem agir com uma combinação de vários mecanismos, incluindo a formação de depósitos, induzindo citocinas e recrutamento de células imunológicas, aumentando a captação de antígenos e apresentação deles, criando um ambiente imunocompetente no local da administração (AWATE; BABIUK; MUTWIRI, 2013).

Para um adjuvante ser chamado de ideal, ele precisa proporcionar o mínimo de reações tóxicas no local e sistêmica, ser biodegradável, econômico e de simples fabricação (GUPTA; SIBER, 1995). Eles podem ser agrupados de acordo com seus efeitos, como formação de depósitos no local de administração, os que atuam como carreador ou agindo diretamente como um estimulador do sistema imune (GUPTA; SIBER, 1995).

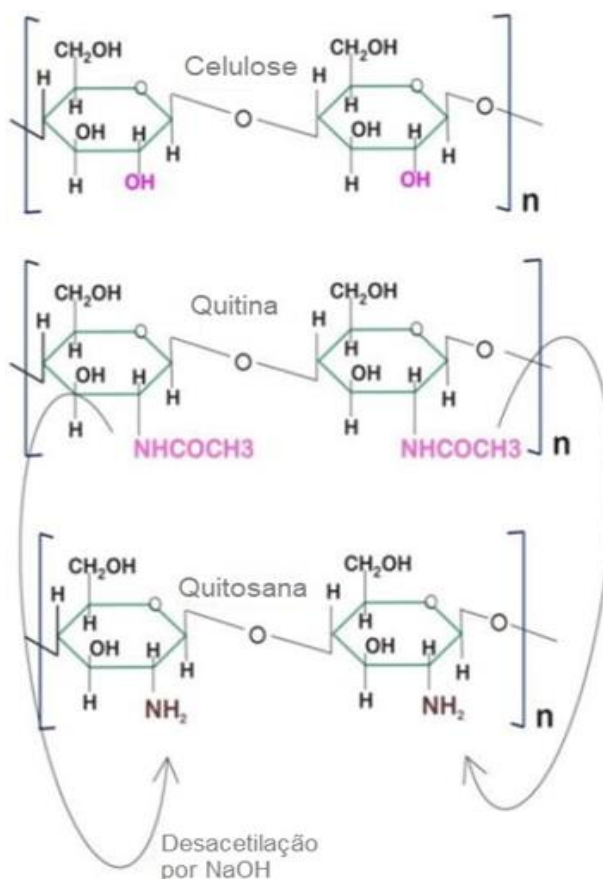
Os adjuvantes mais utilizados atualmente são os baseados em sais de alumínio, hidróxido ou fosfato, fazendo os antígenos unirem-se ionicamente com os sais e formarem uma suspensão, onde os antígenos são liberados gradualmente no organismo (BARTELING, 2002; COX; COULTER, 1997; GUPTA; SIBER, 1995). As vacinas a base de óleo possuem uma alta capacidade de induzir respostas imunes elevadas e duradouras, porém o seu uso frequente pode resultar em reações adversas como formação de cistos e granulomas, o uso de lipossomos também foi usado como adjuvante, porém possuem dificuldades de produção e de incorporação do antígeno dentro deles(COX; COULTER, 1997). Os adjuvantes a base de sais de alumínio possuem reações locais, produção de anticorpos IgE e a incapacidade de estimular a imunidade inata mediada por células (BARTELING, 2002; COX; COULTER, 1997).

2.5. QUITOSANA E SUAS PROPRIEDADES

A quitina, material precursor da quitosana, é um dos polissacarídeos mais abundantes na natureza, sendo um polímero linear composto por unidades de 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopirranose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose unidas por ligações glicosídicas(AZEVEDO et al., 2007). A principal diferença entre a quitina e a quitosana é a constituição dessas ligações químicas, na quitina que predomina as unidades de 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopirranose apresenta insolubilidade em muitos solventes enquanto na quitosana que é predominada por unidades de 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose apresenta solubilidade em soluções aquosas e ácidos orgânicos. (AZEVEDO et al., 2007; CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007; ELIEH-ALI-KOMI; HAMBLIN; DANIEL, 2016; PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022)

A quitina amplamente encontrada na natureza é um dos principais constituintes do exoesqueleto de crustáceos, moluscos e insetos, estando presentes, também, na parede celular de algumas espécies de fungos(PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022; YOUNES; RINAUDO, 2015). A quitina possui uma estrutura química semelhante ao da celulose (Figura 6), mudando apenas alguns grupos funcionais, pois desempenham papéis de proteção e reforço nos organismos (AZEVEDO et al., 2007; CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007; DAI et al., 2011).

Figura 6 - Comparação das estruturas químicas da celulose, quitina e quitosana



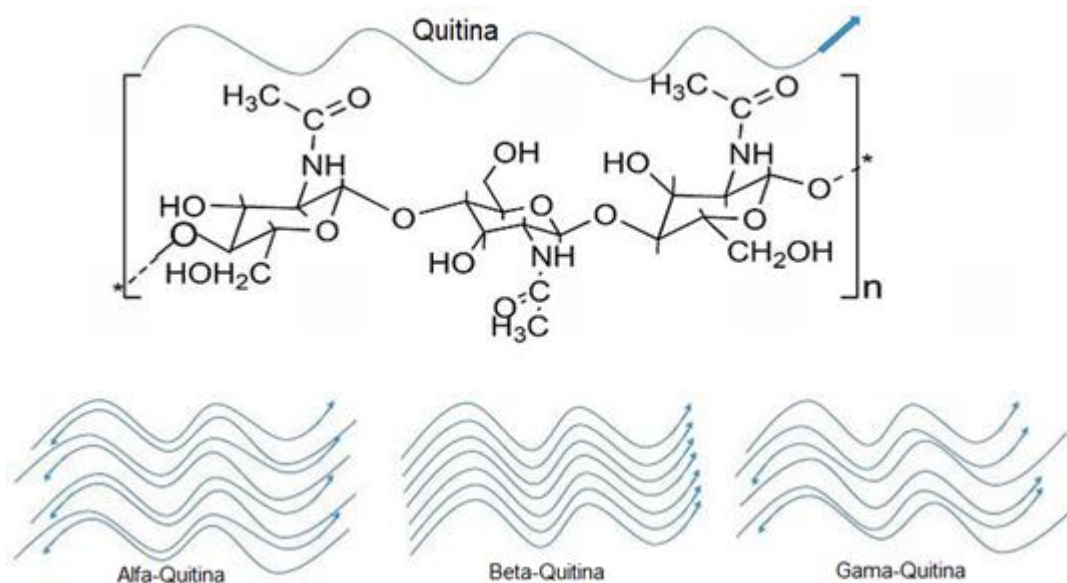
Fonte: Adaptado de Elieh-Ali-Komi & Hamblin. (2016)

As carapaças de crustáceos que são descartadas pelas indústrias de pesca podem ser reutilizadas para a produção de quitosana, assim reduzindo os seus impactos ambientais no local causado pelo seu acúmulo, gerando uma grande importância econômica e ambiental (AZEVEDO et al., 2007; CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007; DAI et al., 2011; PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022)

A quitina possui três formas e que se diferenciam de acordo com o arranjo de suas cadeias. A α é a forma mais encontrada e mais estável, composta por arranjos antiparalelas enquanto as cadeias adjacentes estão na direção oposta, favorecendo ligações de hidrogênio inter e intra cadeias e estabilidade termodinâmica, as formas β , possuem um arranjo de cadeias paralelas e também são mais flexíveis porém menos comuns e por último as formas γ , que possuem cadeias organizadas de uma maneira randômica, geralmente estão associadas a outros componentes biológicos como proteínas, minerais, carboidratos etc. (figura 7) (CAMPANA FILHO; SIGNINI;

CARDOSO, 2007; ELIEH-ALI-KOMI; HAMBLIN; DANIEL, 2016; PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022; ROY et al., 2017; YOUNES; RINAUDO, 2015)

Figura 7 - Representação esquemática das estruturas polimórficas da quitina



Fonte: Adaptado de Roy *et al.* (2017)

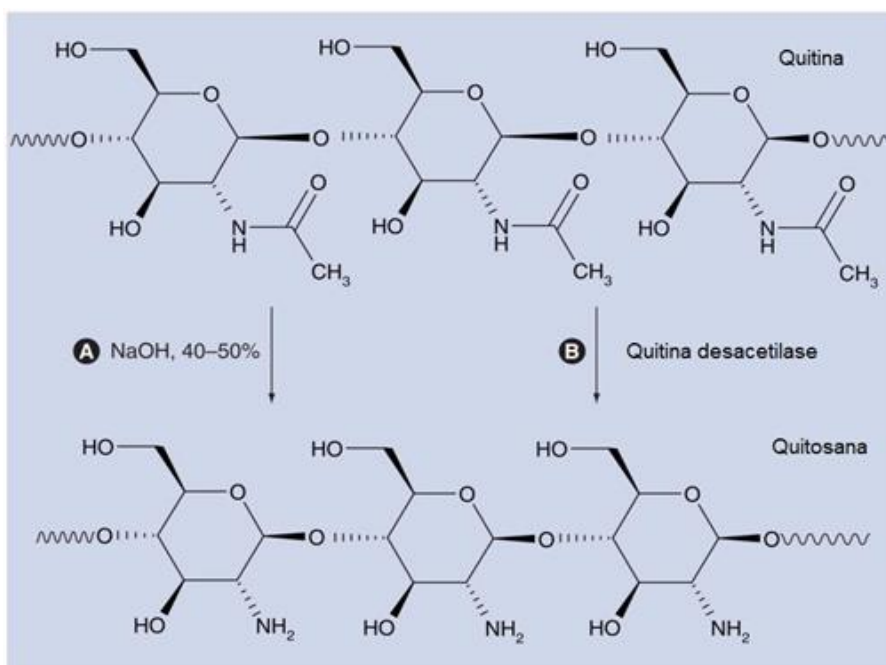
A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina, o processo tradicional é submeter a quitina sob diversos tratamentos como a desmineralização, desproteíntização, o branqueamento ou descoloração e pôr fim a desacetilação para formar a quitosana (AZEVEDO et al., 2007; DAI et al., 2011; ELIEH-ALI-KOMI; HAMBLIN; DANIEL, 2016; PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022). Na desmineralização é utilizado um ácido para retirar o carbonato de cálcio (presentes principalmente nos crustáceos) (ELIEH-ALI-KOMI; HAMBLIN; DANIEL, 2016). Para a etapa de desproteíntização é utilizado bases e ácidos em altas temperaturas para a retirada de proteínas, lipídeos e outros carboidratos, posteriormente é feita a sua neutralização, a descoloração é feita a partir de solventes orgânicos e o branqueamento feito com peróxido de hidrogênio ou hipoclorito de sódio, obtendo assim como produto, a quitina (AZEVEDO et al., 2007; ELIEH-ALI-KOMI; HAMBLIN; DANIEL, 2016; PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022). O processo de desacetilação da quitina envolve a remoção de grupamentos acetil ligados ao grupo amino, expondo os grupos NH_2 . A desacetilação é feito utilizando NaOH ou KOH em uma concentração de 40% a 50% em temperaturas de 100°C . (AZEVEDO et al., 2007;

ELIEH-ALI-KOMI; HAMBLIN; DANIEL, 2016; PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022).

Também é possível adquirir a quitosana a partir de processos enzimáticos (KACZMAREK et al., 2019; PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022). A utilização de enzimas que conseguem fazer a desacetilação ao invés de utilizar processos químicos oferecem a possibilidade de controlar a reação e não degradar a quitosana, a quitina desacetilase hidrolisa as porções N-acetamido para produzir a quitosana, as enzimas mais estudadas são de origem fúngica (KACZMAREK et al., 2019; PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022). Porém a eficiência do processo é baixa, necessitando estudos adicionais para melhorar a reação, podendo no futuro resultar em alternativas já realizadas quimicamente e reduzir os custos de consumo de tempo, energia, soluções gastas na atual produção da quitosana (ELIEH-ALI-KOMI; HAMBLIN; DANIEL, 2016; KACZMAREK et al., 2019).

Na figura 8 podemos observar a conversão da quitina em quitosana pelos processos químico em A e por processo enzimático em B.

Figura 8 - Processo de conversão de quitina em quitosana



Fonte: Adaptado de DAI et al. (2012)

A taxa de desacetilação presente na quitosana é dependente dos seus processos e podem ser controladas pela duração e tempo da reação, temperatura, concentração de NaOH e o peso molecular da quitina (AZEVEDO et al., 2007; CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007; DAI et al., 2011; PELLIS; GUEBITZ;

NYANHONGO, 2022). Os níveis de desacetilação e peso molecular podem alterar as suas propriedades tanto físicas quanto biológicas (PELLIS; GUEBITZ; NYANHONGO, 2022).

A quitosana auxilia na cicatrização de feridas causadas por infecções bacterianas em função da propriedade catiônica antimicrobiana (DAI et al., 2011; FRIEDMAN et al., 2013; LI et al., 2011; UENO; MORI; FUJINAGA, 2001; YOUNES; RINAUDO, 2015). Segundo DAI et al, (2012), existem alguns fatores que também influenciam as suas propriedades antimicrobianas como por exemplo o pH (fatores ambientais), as características da própria molécula como o seu peso molecular, a força iônica, a concentração e o seu formato e de como ela é administrada (gel, solução, biofilme, entre outros). Seus mecanismos de ação não são exatamente conhecidos ainda, mas propõe-se que as moléculas de quitosana carregadas positivamente interagem com as membranas das bactérias carregadas negativamente, levando a uma disjunção de sua membrana e o extravasamento do conteúdo intracelular (DAI et al., 2011; FRIEDMAN et al., 2013; UENO; MORI; FUJINAGA, 2001; YOUNES; RINAUDO, 2015). Quando em menores concentrações as moléculas de quitosana se ligam na membrana causando aglutinação (DAI et al., 2011), as moléculas de baixo peso molecular possivelmente pode penetrar pela membrana celular e se ligar ao DNA e inibir a síntese de RNAm enquanto as moléculas com maior peso interagem com a membrana da célula formando uma camada impermeável que bloqueia as trocas de nutrientes da bactéria (YOUNES; RINAUDO, 2015). A sua eficiência aumenta conforme os valores de pH diminuem aumentando a carga positiva da quitosana (DAI et al., 2011; YOUNES; RINAUDO, 2015). A quitosana também é descrita sendo um polímero que possui uma alta aplicabilidade biológica por suas propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade, conseguir estimular o crescimento dos tecidos, possuir muco adesividade e além de serem usados como vetores de drug delivery (AZEVEDO et al., 2007; FONG; HOEMANN, 2018)

2.6. GEL DE QUITOSANA

Os hidrogéis podem ser definidos como uma rede tridimensional de polímeros, sendo sua característica intrínseca a reticulação, que está presente nesses materiais,

ou seja, a propriedade natural do polímero de formar ligações cruzadas entre suas cadeias moleculares (AHMED, 2015; KUMAR SINGH et al., 2017)

Na indústria farmacêutica os hidrogéis são amplamente aplicados em pesquisas de liberação controlada de drogas, eles respondem a estímulos, por exemplo, pH ou temperatura, assim liberam as substâncias contidas no gel (AHMED, 2015; THIRUPATHI et al., 2022). As possibilidades vêm crescendo devido suas propriedades favoráveis como flexibilidade, durabilidade e permeabilidade (AHMED, 2015; AZEVEDO et al., 2007). A preparação desses hidrogéis podem ser feitas a partir de materiais sintéticos como o óxido de polietileno (PEO) e Álcool poli vinílico (PVA) ou materiais naturais como a quitosana, colágeno, agarose entre outros (AZEVEDO et al., 2007).

Os hidrogéis preparados a partir da quitosana tem se mostrado interessantes, pois a quitosana possui uma estrutura similar ao glicosaminoglicanos (GAG) e é facilmente degradada pela lisozima que estão presentes no corpo humano, abrindo possibilidades para o desenvolvimento de tratamentos de feridas, doenças e aplicações no corpo humano (AZEVEDO et al., 2007).

Existem diversos métodos para a síntese do gel à base de quitosana, incluindo interações físicas que formam estruturas dinâmicas e dependentes do ambiente externo e a reticulação química que forma estrutura permanente e estável (THIRUPATHI et al., 2022). Os géis injetáveis sensíveis à temperatura corporal e pH são as metodologias mais utilizadas em aplicações biológicas (THIRUPATHI et al., 2022; ZHANG et al., 2018). Esse tipo de gel possui a propriedade de gelificação em temperaturas fisiológicas e liquefazer em baixas temperaturas (RUEL-GARIÉPY et al., 2004; SANTANA et al., 2022; THIRUPATHI et al., 2022; ZHANG et al., 2018).

2.7. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Uma revisão bibliográfica é a base de qualquer tipo de pesquisa científica, desta forma ela é indispensável para a delimitação do problema de um projeto de pesquisa e para obter ideias sobre tema, suas lacunas e suas contribuições (CRISTINA ECHER, 2001; “TIPOS DE REVISÃO DE LITERATURA”, 2015).

Uma revisão bibliográfica é classificada em três tipos: a Narrativa, Sistemática e a Integrativa. Uma revisão bibliográfica do tipo narrativa, tem como base apenas alguns artigos ou fontes sobre o tema, ou seja, não é necessário fazer uma busca

exaustiva sobre o assunto (“TIPOS DE REVISÃO DE LITERATURA”, 2015). A seleção dos estudos e a interpretação das informações podem estar sujeitas a subjetividade dos autores, sendo um trabalho adequado para uma fundamentação teórica de artigos, dissertações, teses e trabalhos de conclusão de curso (“TIPOS DE REVISÃO DE LITERATURA”, 2015).

A revisão sistemática é um tipo de investigação científica, testam hipóteses e tem como objetivo avaliar criticamente a metodologia da pesquisa e sintetizar dados de diversos estudos primários e busca responder a uma pergunta de pesquisa claramente formulada. Elas devem ser metódicas, explícitas, e passíveis de reprodução (“TIPOS DE REVISÃO DE LITERATURA”, 2015).

E por último, a revisão integrativa consiste na construção de análise ampla da literatura, contribuindo para discussões sobre métodos e resultados, o propósito inicial é obter um conhecimento profundo sobre o tema baseando-se em estudos anteriores (“TIPOS DE REVISÃO DE LITERATURA”, 2015). Este tipo de revisão utiliza a combinação de dados da literatura empírica e teórica que podem ser direcionados à definição de conceitos, identificação das lacunas do estudo, a revisão da teoria e a análise de métodos sobre o tema (“TIPOS DE REVISÃO DE LITERATURA”, 2015).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

A partir de metodologias de revisão bibliográfica, este trabalho tem como objetivo revisar os trabalhos acerca da viabilidade dos géis a base de quitosana como adjuvantes no tratamento tópico do câncer urotelial de bexiga.

3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

Buscar na literatura sistemas envolvendo o gel de quitosana como um adjuvante no tratamento de câncer de bexiga.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho desenvolvido seguiu preceitos de estudo de revisão, por meio de uma pesquisa bibliográfica do tipo narrativa sobre a viabilidade dos géis a base de quitosana no tratamento tópico do câncer urotelial de bexiga.

4.1. LEVANTAMENTO DE DADOS

Os bancos de dados utilizados foram os Pubmed, Scielo e o ScienceDirect que serviram como instrumentos para a coleta de dados sobre o assunto a partir das palavras chaves em inglês: Quitosana (chitosan), gel de quitosana (chitosan hydrogel), propriedades da quitosana (Properties of chitosan), tratamento de câncer de bexiga (treatment of bladder cancer), gel de quitosana como drug delivery (chitosan gel as drug delivery), atividade antitumoral da quitosana (antitumor activity of chitosan), aplicações da quitosana em câncer urotelial (chitosan applications in urothelial cancer), quitosana bexiga “chitosan bladder”.

Foi possível observar que ao utilizar as palavras chaves “chitosan bladder” no banco de dados da Scielo, não foi possível encontrar artigos relacionados, sendo este banco de dados descartado. Nos outros bancos de dados utilizados (Pubmed e ScienceDirect) foi possível encontrar diversos artigos utilizando palavras chaves citadas anteriormente. Os critérios de seleção priorizaram os artigos a partir dos anos 2000, bem como a presença do termo “gel de quitosana” ou experimentos envolvendo o gel de quitosana como um adjuvante no tratamento da bexiga em seus resumos e títulos.

Durante a busca por artigos sobre o tema foi possível observar a existência de muitos artigos a respeito da quitosana, sendo abordados diversos temas como pode ser visto no quadro a seguir (tabela 1).

Tabela 1 - Áreas de estudos da quitosana

Aplicações da quitosana	
Atividades antimicrobianas	Cicatrização de feridas
Engenharia de tecidos	Drug delivery
Formulações em géis	Aplicações em plantas

Fonte: Elaborado pelo autor. (2023)

4.2. ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Nesta etapa foi realizado uma leitura com maior profundidade analítica com a finalidade de ordenar e sumarizar as informações contidas nos artigos de forma que possibilitem a obtenção de respostas ao tema da monografia. Foram selecionados aproximadamente 60 artigos para leitura desde material de apoio como referência ao tema específico estudado contendo informações sobre a quitosana, sua obtenção, suas propriedades, utilização da quitosana como um adjuvante, formulação em gel a base de quitosana no tratamento do câncer de bexiga.

4.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS

Os artigos analisados da etapa anterior foram discutidos em volta da temática do estudo, sendo selecionado aproximadamente 16 artigos sendo relevantes aqueles que possuem informações sobre a utilização do gel de quitosana como um adjuvante no tratamento do câncer de bexiga.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir encontram-se os resultados obtidos desta pesquisa na tabela abaixo (tabela 2), com o nome dos autores e títulos das publicações dos 16 artigos escolhidos para a realização da discussão.

Tabela 2 - Artigos selecionados para a realização do estudo

Título	Autores/Ano
Chitosan Induces Apoptosis via Caspase-3 Activation in Bladder Tumor Cells	HASEGAWA et al., 200
.A thermosensitive chitosan-based hydrogel for the local delivery of paclitaxel.	RUEL-GARIÉPY et al., 2004
Permeability of pig urinary bladder wall: the effect of chitosan and the role of calcium.	KEREC et al., 2005
The use of chitosan formulation in cancer therapy	DASS; CHOONG, 2008
Rapid differentiation of superficial urothelial cells after chitosan-induced desquamation.	VERANIČ et al., 2009
Intravesical immunotherapy of superficial bladder cancer with chitosan/interleukin-12	ZAHAROFF et al., 2009
A magnetic chitosan hydrogel for sustained and prolonged delivery of Bacillus Calmette–Guérin in the treatment of bladder cancer	ZHANG et al., 2013
Antitumor Efficacy of Bacillus Calmette-Guerin Loaded Cationic Nanoparticles for Intravesical Immunotherapy of Bladder Tumor Induced Rat Model.	ERDOĞAR et al., 2015

Título	Autores/Ano
Design and evaluation of an intravesical delivery system for superficial bladder cancer: preparation of gemcitabine HCl-loaded chitosan–thioglycolic acid nanoparticles and comparison of chitosan/poloxamer gels as carriers	ŞENYIĞIT et al., 2015
Chitosan hydrochloride has no detrimental effect on bladder urothelial cancer cells.	VIŠNJAR et al., 2017
The Use of Polymer Chitosan in Intravesical Treatment of Urinary Bladder Cancer and Infections.	ERMAN; VERANIČ, 2018
Chitosan/ β -glycerophosphate in situ gelling mucoadhesive systems for intravesical delivery of mitomycin-C	KOLAWOLE; LAU; KHUTORYANSKIY, 2019
Improvement of the bladder perfusion curative effect through tight junction protein degradation induced by magnetic temperature-sensitive hydrogels	SUN et al., 2022
Efficacy of instillation of MB49 cells and thermoreversible polymeric gel in urothelial bladder carcinoma immunization	SANTANA et al., 2022
The effect of chitosan hydrogel containing gold nanoparticle complex with paclitaxel on colon cancer cell line.	(ALSADOONI et al., 2023)
The progress of chitosan-based nanoparticles for intravesical bladder cancer treatment.	YU et al., 2023

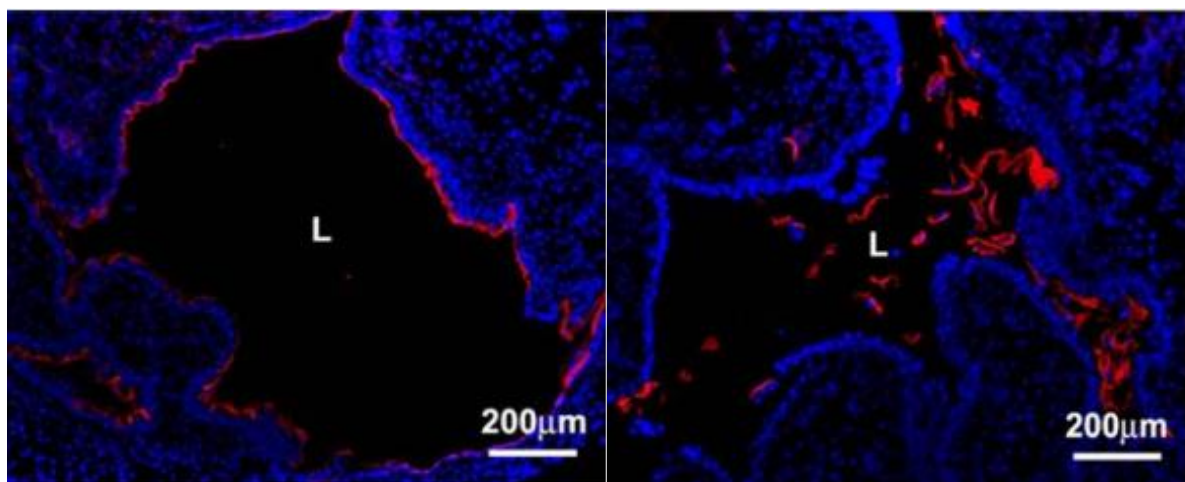
Fonte: Elaborado pelo autor. (2023)

Nos estudos de HASEGAWA et al. (2001), foi feita uma discussão sobre as capacidades da quitosana gerar inibição do crescimento celular em células humanas tumorais de bexiga, verificou-se que a quitosana poderia induzir apoptose celular em cultura de células tumorais ativando a via da Caspases-3, um mediador comum na via apoptótica. Utilizando inibidores da via da Caspases-3, os resultados obtidos mostraram que não houve uma total inibição do apoptose induzido pela quitosana,

sugerindo que pode haver um outro caminho que contribui para o efeito inibitório do crescimento celular.

Em estudos sobre a diferenciação das células uroteliais superficiais após a descamação provocada pela quitosana, Veranic *et al* (2008), demonstraram que a quitosana provoca uma descamação das células superficiais do urotélio, após um tratamento de 20 minutos era possível observar as células guarda-chuvas (marcadas em vermelho por imunofluorescência) no lúmen (L) (figura 9).

Figura 9 - Marcação por imunofluorescência do urotélio



Fonte: Adaptado Veranic *et al.* (2008)

Os autores demonstraram que a quitosana provoca alterações nas estruturas superficiais, afetando as junções e causando a descamação das células uroteliais (VERANIČ *et al.*, 2009; VIŠNJAR *et al.*, 2017; YOUNES *et al.*, 2016). Foi observado que as células descamadas apresentaram sinais de necrose, levando a hipótese que a aplicação da quitosana não provoca apoptose *in vivo*, mas sim a necrose (VERANIČ *et al.*, 2009). Também foi verificado que a quitosana possui uma certa toxicidade no epitélio da bexiga, principalmente quando há o contato deste com uma alta concentração de quitosana (VERANIČ *et al.*, 2009).

Porém esse mecanismo ainda é pouco conhecido, criando suposições de que isto ocorre devido às interações eletrostáticas entre a quitosana e a integrina $\alpha(V)\beta(3)$, essa interação provocaria uma mudança conformacional desta integrina e seu agrupamento, a reorganização das actinas e regulação negativa da claudina 4, causando eventualmente uma ruptura das junções e gerando um aumento na permeabilidade no tecido (PAVINATTO *et al.*, 2007; VERANIČ *et al.*, 2009). Um outro mecanismo discutido é a alta carga positiva da quitosana interagir fortemente com as

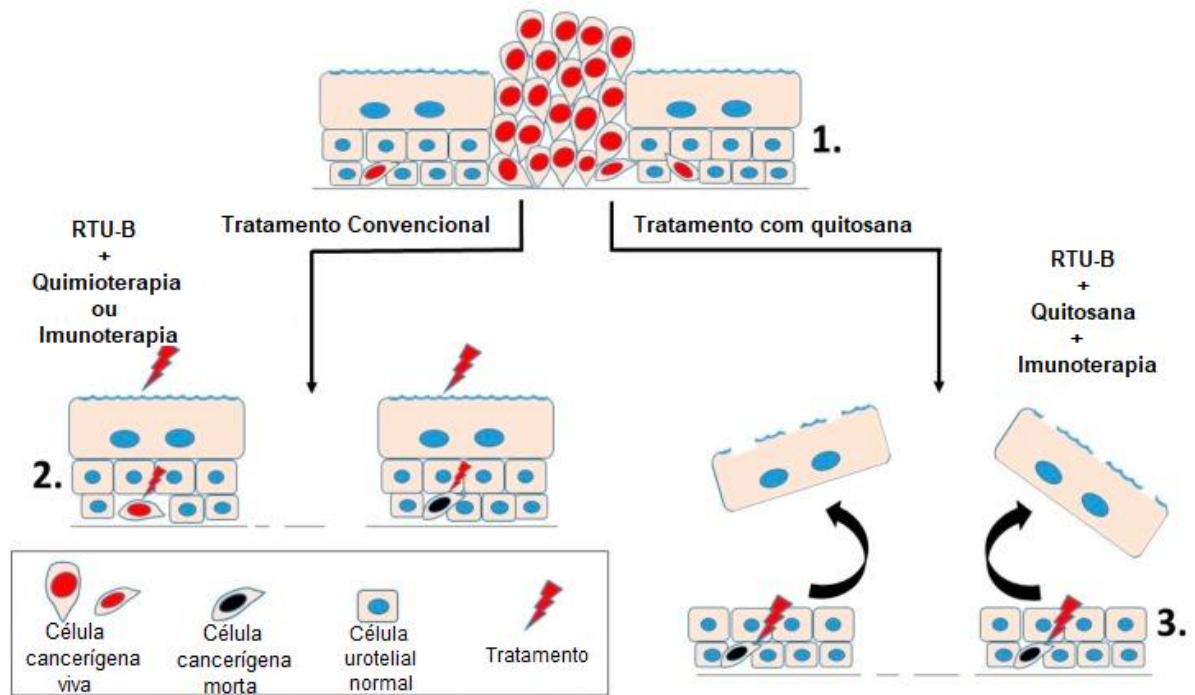
cargas negativas presentes na membrana plasmática, essas interações poderiam fazer com que a quitosana se ligasse aos fosfolípidios na superfície da membrana plasmática e, penetrando mais na bicamada lipídica, as moléculas poderiam interagir, por interações hidrofóbicas, com os ácidos graxos da membrana (VERANIČ et al., 2009). Em outros estudos, foi observado que a quitosana se liga nos grupos glicosaminoglicanos nas regiões da membrana plasmática, podendo surgir rupturas nessa membrana devido a diferença de propriedades viscoelásticas. Quando coberta por uma camada de quitosana, uma ruptura poderia ocorrer devido ao alongamento e contração da membrana plasmática (ERMAN; VERANIČ, 2018; PAVINATTO et al., 2007).

As mesmas evidências foram encontradas pelos autores KEREĆ et al. (2005) sobre a quitosana causar uma descamação no urotélio, e a utilização de íons cálcio no sistema, interfere diretamente na permeabilidade provocada pela quitosana, ou seja, ela possui um efeito inibitório nas interações causadas pela quitosana na bexiga.

Utilizando uma concentração adequada de quitosana somadas ao tempo de aplicação intravesical, a quitosana pode induzir uma descamação das células uroteliais após alguns minutos de tratamento e baixo tempo para a sua regeneração completa. Nenhuma resposta celular inflamatória foi detectada em um período curto, demonstrando que o uso da quitosana foi segura nos animais porque apenas respostas fracas inflamatórias e nenhum dano urotelial permanente foi detectado (ERMAN; VERANIČ, 2018).

Assim sendo possível o desenvolvimento de um método de tratamento utilizando a quitosana como um potente adjuvante para o tratamento de tumores no órgão. Na figura 10 temos um exemplo dessa metodologia, em 1 temos a presença de células cancerígenas na bexiga em forma de tumor no urotélio e algumas células migratórias, em 2 temos o tratamento convencional utilizando a RTU-B para retirada do tumor e posteriormente a aplicação das quimioterapias ou imunoterapias, já em 3 temos o tratamento combinado de RTU-B removendo o tumor, a utilização da quitosana para comprometer a função da barreira e a imunoterapia agindo com mais eficiência destruindo as células cancerígenas. (ERMAN; VERANIČ, 2018).

Figura 10 - Demonstração de dois tratamentos no câncer de bexiga



Fonte: Adaptado Erman A. and Veranič P. (2018)

5.1. SISTEMAS DE GÉIS DE QUITOSANA

A partir do quadro anterior (Quadro 2) foi possível encontrar os artigos relacionados à utilização de géis a base de quitosana como um adjuvante no tratamento do câncer urotelial de bexiga. Os géis injetáveis sensíveis à temperatura corporal e pH são as metodologias mais utilizadas em aplicações biológicas, pois possuem um fácil manuseio, redução da frequência de aplicações e a proteção do medicamento contra mudanças nas condições ambientais (THIRUPATHI et al., 2022).

Na tabela abaixo (tabela 3) é possível observar os autores dos artigos selecionados, assim como o tipo de sistema utilizado e os principais achados em suas pesquisas.

Tabela 3 – Tipos de sistemas de géis de quitosana

Autores	Sistema	Relevância
VIŠNJAR et al., 2017	Cloreto de quitosana (CH-HCl)	<ul style="list-style-type: none"> - Quitosana sozinha não possui efeito sobre o câncer urotelial de bexiga. - Pode ser utilizado como um adjuvante.
KOLAWOLE; LAU; KHUTORYANSKIY, 2019 <i>et al.</i> 2019	Quitosana/ β -glicerofosfato + Mitomicina-C	<ul style="list-style-type: none"> - Peso molecular da quitosana pode influenciar nas propriedades do gel.
ZHANG <i>et al.</i> 2013	Quitosana/ β -glicerofosfato/ Fe_3O_4 + BCG	<ul style="list-style-type: none"> - Utilização de campo magnético para aumentar o tempo de permanência do gel no local; - Redução de efeitos adverso do tratamento.
SUN <i>et al.</i> 2022	Quitosana/ β -glicerofosfato/ Fe_3O_4 + Pirarubicina	<ul style="list-style-type: none"> - Utilização de campo magnético para aumentar o tempo de permanência do gel no local; - Redução de efeitos adverso do tratamento.
ŞENYİĞİT et al., 2015	NPs Quitosana/Ácido tioglicólico + Gemcitabina	<ul style="list-style-type: none"> - Nanopartículas de quitosana carregado com Gem-HCl; - Formulações com a quitosana possuem maior permeação.
SANTANA <i>et al.</i> 2022	Quitosana/Poloxamer 407 + Células tumorais	<ul style="list-style-type: none"> - Metodologia semelhante a vacina;
ALSADOONI et al., 2023	Quitosana/Au-NPs + Paclitaxel	<ul style="list-style-type: none"> - Nps de Au possuem atividades antitumorais.

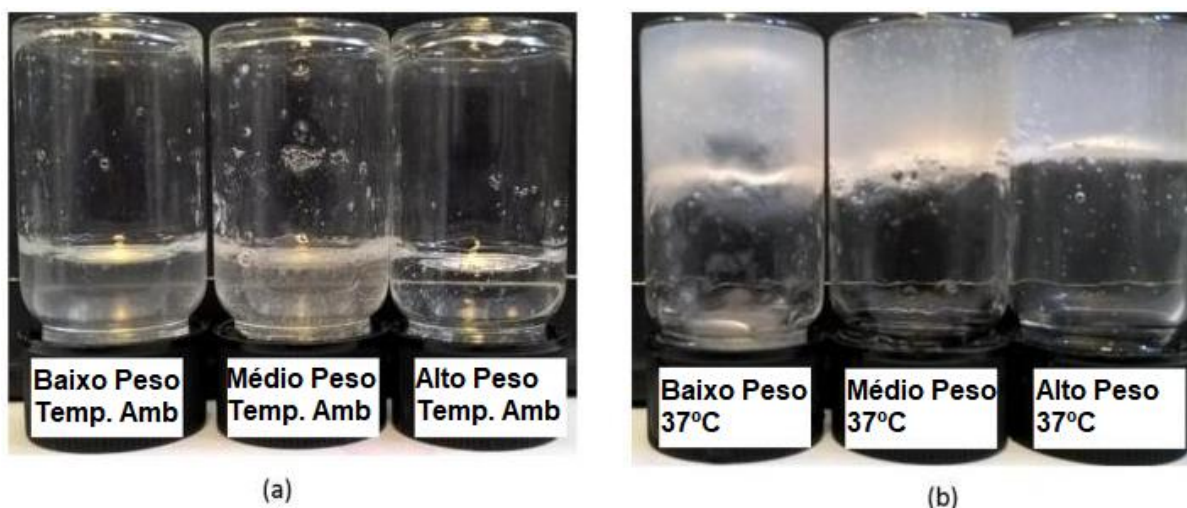
Fonte: Elaborado pelo autor. (2024)

A utilização de cloreto de quitosana (CH-HCl) pelos autores VIŠNJAR et al. (2017) pode ser utilizado como um possível adjuvante no auxílio do tratamento de neoplasias, pois apesar dos tratamentos utilizando 0,05% de Ch-HCl não surtirem

efeitos no câncer urotelial papilar ou invasiva de bexiga, quando otimizado a formulação (tempo de permanência, concentração) ele pode se tornar um ótimo adjuvante, auxiliando na permeabilidade sem causar danos nos tecidos superficiais (VIŠNJAR et al., 2017). Os seus efeitos mostraram uma ruptura das junções estreitas, uma descamação das células uroteliais e a ruptura da barreira impermeável, assim como observados por VERANIC *et al* (2008).

Nos estudos de KOLAWOLE *et al.* (2019), foi explorado a viabilidade do sistema gel de quitosana e β -glicerofosfato em conjunto com o fármaco mitomicina - C, como um potencial no tratamento de tumores de bexiga. A mitomicina - C é um medicamento utilizado como um imunoterápico contra o câncer de bexiga superficial e não invasivo, administrado logo após a cirurgia de ressecção transuretral para a redução de sua recorrência (KOLAWOLE; LAU; KHUTORYANSKIY, 2019). No experimento foram utilizados três sistemas envolvendo diferentes pesos moleculares da quitosana (baixo, médio e alto), na figura 11 é possível observar os géis em temperatura ambiente em sua forma líquida e na imagem ao lado os mesmos géis em temperatura de 37°C, a temperatura próxima do corporal.

Figura 11 - Imagens dos géis de diferentes pesos moleculares



Fonte: Adaptado de Kolawole et al. (2019)

Foi possível observar que o gel composto de quitosana de baixo peso molecular apresentou uma viscosidade mais baixa em temperaturas mais elevadas em relação aos outros dois (médio e alto peso molecular). Os géis de quitosana/ β -glicerofosfato apresentaram um menor tempo de gelificação em relação aos géis de quitosana puro.

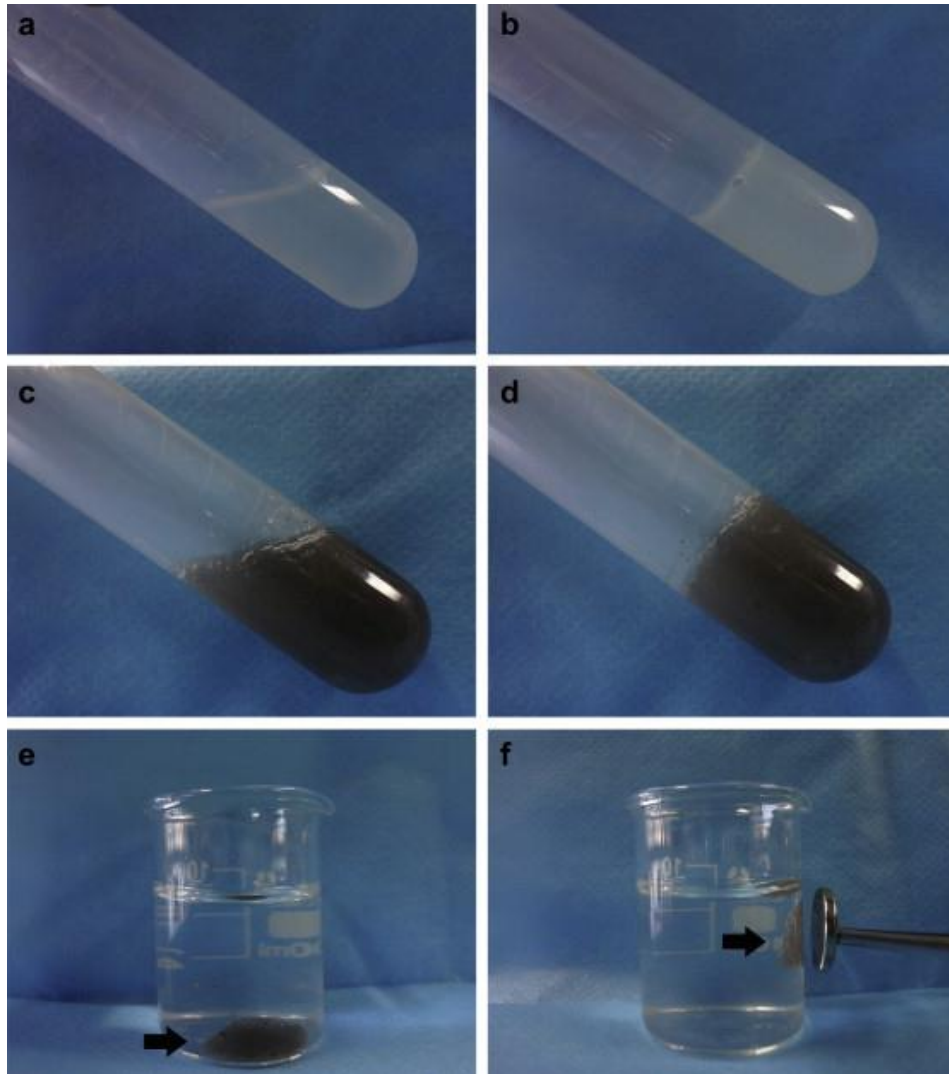
O gel com maior peso molecular de quitosana apresentou uma maior resistência a lavagem por urina, porém a formulação do gel de quitosana em conjunto

com o β -glicerofosfato apresentou uma menor atividade mucoadesiva. O peso molecular também influencia na taxa de liberação do medicamento, pois quanto maior o tamanho das moléculas, menores são os poros presentes no gel e conseqüentemente menor a liberação dos fármacos gerando uma liberação lenta e prolongada, nesse experimento foi possível observar uma liberação por 6 horas (KOLAWOLE; LAU; KHUTORYANSKIY, 2019).

Os autores ZHANG *et al.* (2013), desenvolveram um sistema inovador que adiciona uma nanopartícula magnética (Fe_3O_4) no gel de quitosana/ β -glicerofosfato com imunoterápico Bacillus Calmette-Guerin (BCG), e sob um campo magnético, com a proposta de aumentar o seu tempo de permanência no órgão. A BCG provoca reações inflamatórias na bexiga (ERDOĞAR *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2013). Quando é instilada no local, elas se aderem na parede da bexiga e causam uma resposta imunológica com liberação de citocinas, linfócitos T, e NKs, que são responsáveis pela redução das células tumorais, porém quando comparado a outros tratamentos, a utilização do BCG pode causar efeitos adversos como reações no local de aplicação até sistêmicas graves (ERDOĞAR *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2013).

Na figura 12 é possível observar os géis de quitosana/ β -glicerofosfato solução em (a) e gel em (b), a combinação do gel quitosana/ β -glicerofosfato com as nanopartículas de Fe_3O_4 solução em (c) e gel em (d) e em (e) o sistema gel quitosana/ β -glicerofosfato- Fe_3O_4 afunda na solução salina por conta de sua densidade e em (f) o gel é atraído por um campo magnético.

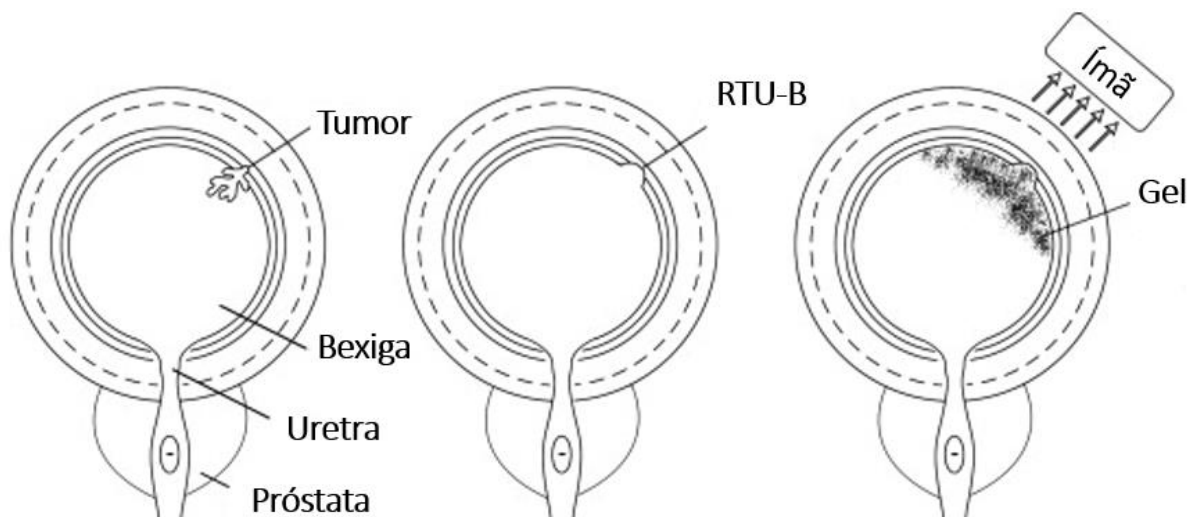
Figura 12 - Imagem dos géis



Fonte: Zhang *et al.* (2013)

E na figura 13 é possível observar uma representação do experimento proposto pelos autores ZHANG *et al.* (2013).

Figura 13 - Ilustração do experimento



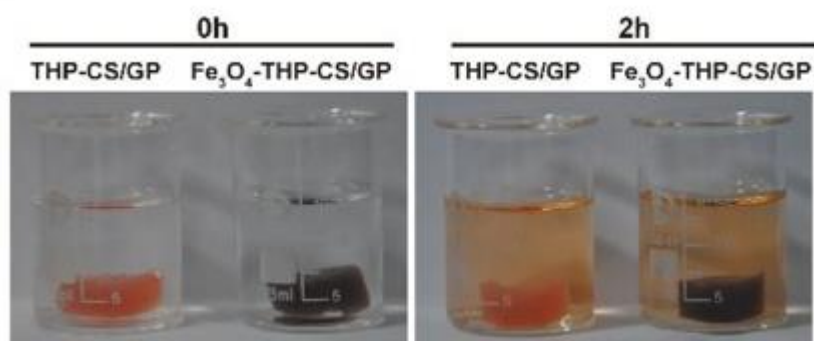
Fonte: Adaptado de Zhang *et al.* (2013)

A adição das nanopartículas magnéticas ou da BCG não interferiram em seu tempo de gelificação, o que indica que são independentes do sistema do gel. Para a avaliação da retenção do gel um grupo de camundongos foi utilizado para a instilação do gel e mantidos sob um campo magnético e de 4 em 4 horas os animais foram eutanasiados até 48 horas após a instilação. Foi observado que mesmo com a excreção e a degradação acelerada do gel, o sistema pode suportar o ambiente hostil da bexiga dos animais por um período de 48 horas podendo proporcionar um veículo de exposição da BCG ao urotélio, mesmo sofrendo diversas lavagens.

Para a determinação da atividade antitumoral os camundongos foram submetidos a um tratamento de indução de tumor por 8 semanas. Na semana 11, foi administrado o tratamento com o gel contendo BCG até a semana 16 e mantidos sob um campo magnético até a semana 20. Depois de 20 semanas os camundongos foram eutanasiados e recolhidas suas bexigas para análises do tumor, presença de citocinas e estudos imuno-histoquímicas. Em seus resultados foi possível avaliar que a liberação contínua da BCG na bexiga presente no gel produziu uma maior redução do tumor e de seus efeitos adversos em relação aos animais tratados apenas com a BCG.

A partir do sistema anterior do gel de quitosana/ β -glicerofosfato/ Fe_3O_4 , os autores SUN *et al.* (2022), desenvolveram o mesmo método utilizando como medicamento a pirarubicina (THP), com perfusões semanais (Figura 14).

Figura 14 - Imagem do sistema de gel quitosana/ β -glicerofosfato/THP e gel quitosana/ β -glicerofosfato- Fe_3O_4 /THP



Fonte: Xiaoliang Sun et al. (2022)

Esse medicamento é um antineoplásico, pertencente à classe das antraciclina, com estrutura e ação semelhante a doxorrubicina, ele se intercala no DNA e interage com as topoisomerasas II, inibindo a replicação e a reparação do DNA e a síntese de RNA e das proteínas (SUN et al., 2022).

Para a avaliação da atividade antitumoral, foi utilizado um procedimento experimental *in vitro* utilizando células T24 e *in vivo* utilizando camundongos. O grupo *in vivo* que recebeu o sistema do gel quitosana/ β -glicerofosfato- Fe_3O_4 /THP apresentaram um menor volume do tumor em relação ao controle enquanto no experimento *in vitro* nos grupos que receberam o tratamento com THP foi observado uma redução na contagem de células em relação ao grupo controle.

ŞENYİĞİT et al., (2015), desenvolveram um sistema de administração intravesical de cloridrato de gemcitabine (Gem-HCl) para o câncer de bexiga superficial. Esse medicamento é um agente quimioterápico que atua inibindo a replicação do DNA de células tumorais, impedindo seu crescimento e disseminação (ŞENYİĞİT et al., 2015). Com o objetivo de aumentar seu tempo de residência e evitar a sua lavagem pela urina, foram preparadas nanopartículas com quitosana tioladas (conjugado de quitosana-ácido tioglicólico) e dispersas em um gel de quitosana ou de poloxamer.

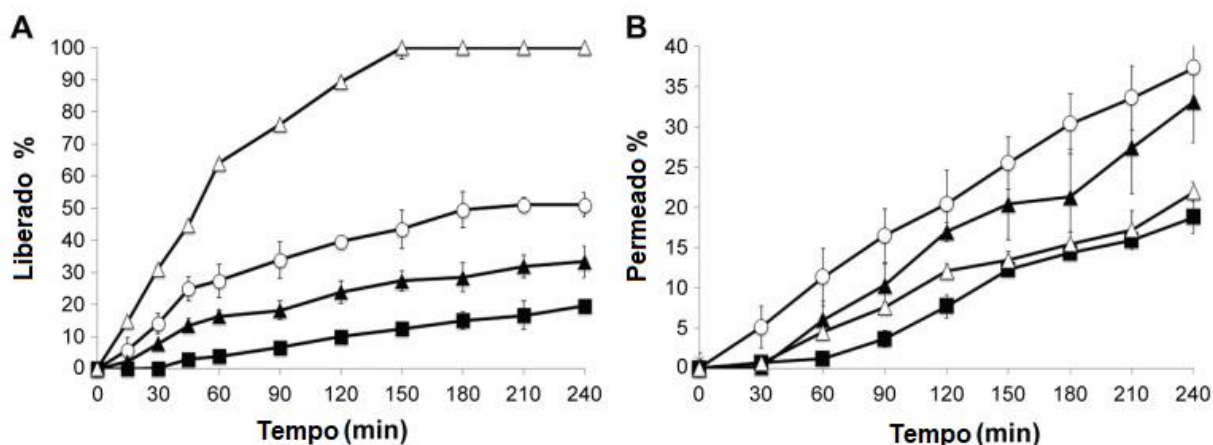
O poloxamer é um composto tensoativo, não tóxico, anfifílico, não iônico composto por dois blocos hidrofílicos de poli- (óxido de etileno) e no meio um hidrofóbico de poli- (óxido de propileno), formando cadeias de triblocos. O sistema formado entre quitosana e poloxamer possui um maior benefício no promotor de absorção de fármacos (ŞENYİĞİT et al., 2015).

Para simular as condições *in vivo* na bexiga, testes de diluição dos géis em urina artificial (solução de tyrode) foi realizado para avaliar as suas propriedades mecânicas, adesivas e reológicas. A viscosidade dos géis de poloxamer eram menores em relação aos géis de quitosana, tendo uma perda significativa em suas viscosidades. As temperaturas de gelificação dos géis de poloxamer foram aumentadas quando diluídas na urina artificial (chegando a aproximadamente 50°C), tornando inviável a sua utilização na presença de urina.

Para a avaliação da liberação *in vitro* foi utilizado tubos de membrana de diálise. Foi possível observar que as nanopartículas de quitosana carregadas com o medicamento apresentaram um padrão de liberação controlada, sendo nas primeiras 4 horas uma liberação de quase 50% do medicamento seguida por uma liberação contínua, além disso, a incorporação das nanopartículas nos géis de quitosana e de poloxamer reduzia essa liberação do fármaco devido à malha do gel.

Para as análises de permeação *ex vivo*, foi utilizado células de difusão do tipo Franz através de mucosa de bexiga bovina recém-excisada. Nesse estudo foi possível observar que a permeação dos grupos de NPs de quitosana carregadas e o gel de quitosana carregada com NPs foram maiores que a solução de Gem-HCl e do gel de poloxamer carregado com NPs, esse resultado pode ser explicado pelo efeito de permeação provocada pela quitosana assim como observados pelos autores Veranic *et al.* (2008) e VIŠNJAR *et al.* (2017).

Na imagem a seguir temos dois gráficos demonstrando a liberação por tempo *in vitro* e a permeação por tempo *ex vivo* de Gem-HCl a partir de solução de Gem-HCl (Δ); NPs de quitosana-TGA (\circ); gel de quitosana carregada com NPs (\blacktriangle) e gel de poloxamer carregado com NPs (\blacksquare).

Figura 15 - Liberação *in vivo* e permeação *ex vivo* de Gem-HCl

Fonte: Adaptado de Zeynep *et al.* (2015)

Nos estudos envolvendo um tratamento imunoterápico intravesical utilizando células MB49 (células de linhagem tumoral de bexiga de murinos, utilizados em pesquisas para investigar o comportamento e as características do câncer de bexiga) e gel termo reversível à base de quitosana de SANTANA *et al.* (2022), com o objetivo de desenvolver uma imunoterapia baseada em células inteiras inativadas, foi observado que nos grupos imunizados com o gel e células MB49.

A abordagem desta metodologia assemelha-se à de uma vacina, em que células tumorais MB49 inativadas são combinadas com o gel. Nesse contexto, o gel desempenha o papel de liberar de maneira gradual os antígenos tumorais contidos nas células MB49 no ambiente.

No experimento, os camundongos foram previamente imunizados com o gel+MB49 e depois de algumas semanas foi induzido tumores em todos os grupos, o grupo que foi previamente imunizado obteve uma menor taxa de aumento do tumor em comparação aos grupos controles. Também foi coletado os esplenócitos dos grupos e cultivados para a realização de análises antitumorais citotóxicas, obtendo resultados positivos para o efeito citotóxico nos esplenócitos coletados nos grupos que receberam o gel+MB49 enquanto nos grupos controle houve uma baixa resposta citotóxica.

Também foi observado que nos grupos imunizados apenas com o gel de quitosana não apresentaram uma resposta antitumoral, podendo ser explicada pelo tipo de resposta imunológica gerada, sem a presença de antígenos tumorais, não específica e não mediada por células.

A utilização do gel de quitosana/nanopartículas de ouro (Au-Nps) e o fármaco paclitáxel foram descritos por ALSADOONI et al., 2023 em células de câncer de cólon. O paclitáxel possui a capacidade de interagir na estabilização dos microtúbulos de actina presente nas estruturas de movimentação dos cromossomos e organelas durante a divisão celular, foram relatados o uso desse medicamento em conjunto com nano suspensão de quitosana no tratamento de tumores superficiais de bexiga (LIU et al., 2018). As NPs de ouro também foram relatadas possuírem a capacidade de produzir espécies reativas de oxigênio, levando ao estresse oxidativo e consequentemente a morte das células humanas tumorais 5637 (linhagem celular derivado de um carcinoma de bexiga humano) (DAEI et al., 2022).

Em síntese, as propriedades intrínsecas da quitosana, sua capacidade de promover descamação controlada, aumentando a sua permeação e as formulações propostas, evidenciam seu potencial como agente terapêutico e veículo inovador como uma estratégia terapêutica. A interseção entre o gel de quitosana, agentes antitumorais e estratégias de liberação controlada estabelece um campo robusto para avanços na terapia do câncer de bexiga, especialmente para tratamentos localizados, reduzindo assim seus efeitos adversos.

6. CONCLUSÃO

A quitosana emerge como uma substância promissora e versátil no contexto do tratamento do câncer urotelial de bexiga. Suas propriedades e sua capacidade de formar géis oferecem uma plataforma terapêutica inovadora. Ao reter o gel na bexiga do paciente por períodos prolongados, a quitosana proporciona uma liberação controlada de agentes terapêuticos, o que não só maximiza a eficácia do tratamento, mas também reduz os efeitos adversos associados às terapias convencionais. Além disso, à medida que a pesquisa médica avança, há uma tendência crescente em abordagens terapêuticas localizadas e personalizadas. Nesse contexto, o gel de quitosana se destaca como uma opção viável, permitindo uma administração direcionada de agentes terapêuticos, minimizando assim os danos aos tecidos saudáveis e otimizando as terapias clínicas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, E. M. **Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review**. **Journal of Advanced Research** Elsevier B.V., , 2015.
- ALHUNAIDI, O.; ZLOTTA, A. R. The use of intravesical BCG in urothelial carcinoma of the bladder. **ecancermedicalscience**, v. 13, 26 fev. 2019.
- ALSADOONI, J. F. K. et al. The effect of chitosan hydrogel containing gold nanoparticle complex with paclitaxel on colon cancer cell line. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 247, 30 ago. 2023.
- AWATE, S.; BABIUK, L. A.; MUTWIRI, G. **Mechanisms of action of adjuvants**. **Frontiers in Immunology**, 2013.
- AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista eletrônica de materiais e processos**, v. 2,3, p. 27–34, 2007.
- BABA, A. I.; CATOI, C. **Tumor Cell Morphology**. [s.l.] The Publishing House of the Romanian Academy, 2007. v. Chapter 3
- BARTELING, S. J. **Development and performance of inactivated vaccines against foot and mouth disease** **Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.** [s.l: s.n.].
- CAMPANA FILHO, S. P.; SIGNINI, R.; CARDOSO, M. B. Propriedades e Aplicações de Quitosana. **Revista Processos Químicos**, v. 1, n. 2, p. 9–20, 2 jul. 2007.
- COOPER, G. M. **The Cell: A Molecular Approach**. 2nd Edition ed. Sunderland (MA): 2000, 2000.
- COX, J. C.; COULTER, A. R. **Adjuvants-a classification and review of their modes of action** **Vaccine**. [s.l: s.n.].
- CRABB, S. J.; DOUGLAS, J. The latest treatment options for bladder cancer. **British Medical Bulletin**, v. 128, n. 1, p. 85–95, 1 dez. 2018.
- CRISTINA ECHER, I. **A revisão de literatura na construção Literature review in a scientific work A REVISÃO DE LITERATURA NA CONSTRUÇÃO DO TRABALHO CIENTÍFICO**. [s.l: s.n.].
- DAEI, S. et al. Anticancer Effects of Gold Nanoparticles by Inducing Apoptosis in Bladder Cancer 5637 Cells. **Biological Trace Element Research**, v. 200, n. 6, p. 2673–2683, 28 jun. 2022.
- DAI, T. et al. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 9, n. 7, p. 857–879, 10 jul. 2011.
- DASS, C. R.; CHOONG, P. The use of chitosan formulations in cancer therapy. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, n. 4, p. 275–279, jun. 2008.
- DOBRUCH, J.; OSZCZUDŁOWSKI, M. Bladder Cancer: Current Challenges and Future Directions. **Medicina**, v. 57, n. 8, p. 749, 24 jul. 2021.
- DONIN, N. M. et al. Immunotherapy for the Treatment of Urothelial Carcinoma. **Journal of Urology**, v. 197, n. 1, p. 14–22, jan. 2017.
- ELIEH-ALI-KOMI, D.; HAMBLIN, M. R.; DANIEL, E.-A.-K. **Chitin and Chitosan: Production and Application of Versatile Biomedical Nanomaterials** **HHS Public Access** **Int J Adv Res (Indore)**. [s.l: s.n.].

- ERDOĞAR, N. et al. Antitumor Efficacy of Bacillus Calmette-Guerin Loaded Cationic Nanoparticles for Intravesical Immunotherapy of Bladder Tumor Induced Rat Model. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 12, p. 10156–10164, 1 dez. 2015.
- ERMAN, A.; VERANIČ, P. The Use of Polymer Chitosan in Intravesical Treatment of Urinary Bladder Cancer and Infections. **Polymers**, v. 10, n. 3, p. 265, 5 mar. 2018.
- ESRA S. SHERMADOU; SAJEDUR RAHMAN; STEPHEN W. LESLIE. **Anatomy, Abdomen and Pelvis: Bladder**. Treasure Island: StatPearls Publishing LLC, 2023.
- FEITELSON, M. A. et al. Sustained proliferation in cancer: Mechanisms and novel therapeutic targets. **Seminars in Cancer Biology**, v. 35, p. S25–S54, dez. 2015.
- FONG, D.; HOEMANN, C. D. Chitosan immunomodulatory properties: perspectives on the impact of structural properties and dosage. **Future Science OA**, v. 4, n. 1, p. FSO225, jan. 2018.
- FRIEDMAN, A. J. et al. Antimicrobial and Anti-Inflammatory Activity of Chitosan–Alginate Nanoparticles: A Targeted Therapy for Cutaneous Pathogens. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 5, p. 1231–1239, maio 2013.
- GUPTA, R. K.; SIBER, G. R. Adjuvants for human vaccines—current status, problems and future prospects. **Vaccine**, v. 13, n. 14, p. 1263–1276, jan. 1995.
- HASEGAWA, M. et al. **Chitosan Induces Apoptosis via Caspase-3 Activation in Bladder Tumor Cells***Jpn. J. Cancer Res.* [s.l: s.n.].
- Instituto Nacional de câncer.**
- JOSEPH, M.; ENTING, D. Immune Responses in Bladder Cancer-Role of Immune Cell Populations, Prognostic Factors and Therapeutic Implications. **Frontiers in Oncology**, v. 9, 20 nov. 2019.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. 9. ed. Rio de Janeiro: 2013, 2013.
- KACZMAREK, M. B. et al. Enzymatic Modifications of Chitin, Chitosan, and Chitooligosaccharides. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, 27 set. 2019.
- KEREC, M. et al. Permeability of pig urinary bladder wall: the effect of chitosan and the role of calcium. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 25, n. 1, p. 113–121, maio 2005.
- KOBAYASHI, T. et al. Modelling bladder cancer in mice: opportunities and challenges. **Nature Reviews Cancer**, v. 15, n. 1, p. 42–54, 23 jan. 2015.
- KOLAWOLE, O. M.; LAU, W. M.; KHUTORYANSKIY, V. V. Chitosan/ β -glycerophosphate in situ gelling mucoadhesive systems for intravesical delivery of mitomycin-C. **International Journal of Pharmaceutics: X**, v. 1, p. 100007, dez. 2019.
- KUMAR SINGH, S. et al. ~ 25 ~ The Pharma Innovation. **Journal**, v. 6, n. 6, p. 25–32, 2017.
- LI, P. et al. A polycationic antimicrobial and biocompatible hydrogel with microbe membrane suctioning ability. **Nature Materials**, v. 10, n. 2, p. 149–156, 12 fev. 2011.

- LIU, H. et al. A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing. **RSC Advances**, v. 8, n. 14, p. 7533–7549, 2018a.
- LIU, Y. et al. Paclitaxel/Chitosan Nanosuspensions Provide Enhanced Intravesical Bladder Cancer Therapy with Sustained and Prolonged Delivery of Paclitaxel. **ACS Applied Bio Materials**, v. 1, n. 6, p. 1992–2001, 17 dez. 2018b.
- LIU, Y. et al. Clinical Spectrum of Complications Induced by Intravesical Immunotherapy of Bacillus Calmette-Guérin for Bladder Cancer. **Journal of Oncology**, v. 2019, p. 1–11, 10 mar. 2019.
- PAVINATTO, F. J. et al. Interaction of Chitosan with Cell Membrane Models at the Air–Water Interface. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 5, p. 1633–1640, 1 maio 2007.
- PELLIS, A.; GUEBITZ, G. M.; NYANHONGO, G. S. Chitosan: Sources, Processing and Modification Techniques. **Gels**, v. 8, n. 7, p. 393, 21 jun. 2022.
- QI, L.; XU, Z. In vivo antitumor activity of chitosan nanoparticles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, n. 16, p. 4243–4245, ago. 2006.
- RODRIGUES, P. Marca-Passo da bexiga. [s.d.].
- ROY, J. C. et al. Solubility of Chitin: Solvents, Solution Behaviors and Their Related Mechanisms. Em: **Solubility of Polysaccharides**. [s.l.] InTech, 2017.
- RUEL-GARIÉPY, E. et al. A thermosensitive chitosan-based hydrogel for the local delivery of paclitaxel. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, n. 1, p. 53–63, jan. 2004.
- SANTANA, J. P. P. et al. Efficacy of instillation of MB49 cells and thermoreversible polymeric gel in urothelial bladder carcinoma immunization. **Laboratory Animal Research**, v. 38, n. 1, p. 11, 5 dez. 2022.
- ŞENYIĞİT, Z. A. et al. Design and evaluation of an intravesical delivery system for superficial bladder cancer: Preparation of gemcitabine HCl-loaded chitosan-thioglycolic acid nanoparticles and comparison of chitosan/poloxamer gels as carriers. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 6493–6507, 14 out. 2015.
- SHAKYA, A. K.; NANDAKUMAR, K. S. Applications of polymeric adjuvants in studying autoimmune responses and vaccination against infectious diseases. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 10, n. 79, p. 20120536, 6 fev. 2013.
- SMOLENSKY, D.; RATHORE, K.; CEKANOVA, M. Molecular targets in urothelial cancer: detection, treatment, and animal models of bladder cancer. **Drug Design, Development and Therapy**, v. Volume 10, p. 3305–3322, out. 2016a.
- SMOLENSKY, D.; RATHORE, K.; CEKANOVA, M. Molecular targets in urothelial cancer: detection, treatment, and animal models of bladder cancer. **Drug Design, Development and Therapy**, v. Volume 10, p. 3305–3322, out. 2016b.
- SUN, X. et al. Improvement of the bladder perfusion curative effect through tight junction protein degradation induced by magnetic temperature-sensitive hydrogels. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, 4 ago. 2022.
- TEOH, J. Y.-C. et al. Global Trends of Bladder Cancer Incidence and Mortality, and Their Associations with Tobacco Use and Gross Domestic Product Per Capita. **European Urology**, v. 78, n. 6, p. 893–906, dez. 2020.

THIRUPATHI, K. et al. Update on Chitosan-Based Hydrogels: Preparation, Characterization, and Its Antimicrobial and Antibiofilm Applications. **Gels**, v. 9, n. 1, p. 35, 30 dez. 2022.

TIPOS DE REVISÃO DE LITERATURA. . [s.l: s.n.]. Disponível em:

<<http://www.ip.usp.br/portal/images/biblioteca/revisao.pdf>>.

UENO, H.; MORI, T.; FUJINAGA, T. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 52, n. 2, p. 105–115, nov. 2001.

VERANIČ, P. et al. Rapid differentiation of superficial urothelial cells after chitosan-induced desquamation. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 131, n. 1, p. 129–139, 17 jan. 2009.

VIPULKUMAR DADHANIA; BOGDAN CZERNIAK; CHARLES C GUO. Adenocarcinoma of the urinary bladder. 2015.

VIŠNJAR, T. et al. Chitosan hydrochloride has no detrimental effect on bladder urothelial cancer cells. **Toxicology in Vitro**, v. 44, p. 403–413, 1 out. 2017.

YOUNES, I. et al. Cytotoxicity of chitosans with different acetylation degrees and molecular weights on bladder carcinoma cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 84, p. 200–207, mar. 2016.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. **Marine Drugs**, v. 13, n. 3, p. 1133–1174, 2 mar. 2015.

YOUSEFI, H. et al. Immunotherapy of cancers comes of age. **Expert Review of Clinical Immunology**, v. 13, n. 10, p. 1001–1015, 3 out. 2017.

YU, C. et al. The Progress of Chitosan-Based Nanoparticles for Intravesical Bladder Cancer Treatment. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, p. 211, 7 jan. 2023.

ZAHAROFF, D. A. et al. Intravesical Immunotherapy of Superficial Bladder Cancer with Chitosan/Interleukin-12. **Cancer Research**, v. 69, n. 15, p. 6192–6199, 1 ago. 2009.

ZHANG, D. et al. A magnetic chitosan hydrogel for sustained and prolonged delivery of Bacillus Calmette–Guérin in the treatment of bladder cancer. **Biomaterials**, v. 34, n. 38, p. 10258–10266, dez. 2013.

ZHANG, W. et al. Injectable and body temperature sensitive hydrogels based on chitosan and hyaluronic acid for pH sensitive drug release. **Carbohydrate Polymers**, v. 186, p. 82–90, abr. 2018.