

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Potencial anti-tumoral de óxidos de terras raras: citotoxicidade e migração celular

Arlindo Sérgio Cunha Júnior
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

ARLINDO SÉRGIO CUNHA JÚNIOR

Potencial anti-tumoral de óxidos de terras raras: citotoxicidade e migração celular

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Anesia A. dos Santos

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

Cunha Júnior, Arlindo Sérgio, 1998-
C972p Potencial anti-tumoral de óxidos de terras raras:
2025 citotoxicidade e migração celular / Arlindo Sérgio Cunha Júnior.
– Viçosa, MG, 2025.
1 dissertação eletrônica (63 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Anésia Aparecida dos Santos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Geral, 2025.

Referências bibliográficas: f. 42-46.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.354>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Agentes antineoplásicos. 2. Câncer - Efeito dos metais de terras-raras. 3. Compostos de metais de terras-raras. 4. Óxidos metálicos. I. Santos, Anésia Aparecida dos, 1969-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural. III. Título.

CDD 22. ed. 571.95441

ARLINDO SÉRGIO CUNHA JÚNIOR

Potencial anti-tumoral de óxidos de terras raras: citotoxicidade e migração celular

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

Arlindo Sérgio Cunha Júnior
Autor

Anesia Aparecida dos Santos
Orientadora

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 26/05/2025 às 18:37:27 e pela orientadora em 25/06/2025 às 21:35:57. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **TYIZ.C208.ETLR** e clique no botão 'Validar documento'.

Dedico a Leandro da Costa Alhadas Cavalcanti, pelo amor e apoio em todos esses momentos e por estar presente ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial a minha mãe Claudete, as minhas irmãs, Claysne e Clailanne, ao meu namorado Leandro e aos amigos que contribuíram para quem eu sou hoje.

À minha orientadora Anésia por todo o apoio durante todo este momento.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 pela concessão da bolsa.

E a todos aqueles que, em diferentes épocas, contribuíram para o avanço do conhecimento e para o desenvolvimento moral da Civilização Ocidental, especialmente os que desafiaram corajosamente a ortodoxia vigente.

“Existem coisas que estão em nosso poder
e outras que estão além do que podemos.
Em nosso poder está a opinião, o objetivo, o desejo, a aversão;
em uma palavra, tudo o que esteja relacionado a nós mesmos.
Além de nosso poder está o corpo, a propriedade, a reputação, o cargo,
enfim, tudo o que não é propriamente nosso”
(Epicteto)

RESUMO

JÚNIOR, Arlindo Sérgio Cunha, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Potencial anti-tumoral de óxidos de terras raras: citotoxicidade e migração celular.** Orientadora: Anesia Aparecida dos Santos.

O câncer é um grupo de doenças caracterizadas pelo crescimento desordenado de células com potencial de invasão e metástase. Estima-se que, globalmente, o número de novos casos de câncer em 2050 aumentará 77% em relação aos 20 milhões estimados em 2022, com crescimento mais acentuado nos países de baixo e médio Índice de Desenvolvimento Humano (IDH). Diante disso, é fundamental que tratamentos mais eficazes sejam desenvolvidos. Entre os fatores que podem diminuir a eficácia quimioterápica estão a resistência a múltiplas drogas (MDR), presente em cerca de 90% dos pacientes, a baixa seletividade e a ineficiente biodistribuição. Tendo isso em vista, este trabalho avaliou a atividade citotóxica de óxidos de terras raras - óxido de itérbio (Yb_2O_3), óxido de neodímio (Nd_2O_3), óxido de érbio (Er_2O_3) e óxido de európio (Eu_2O_3) - por meio de ensaio de MTT em linhagens humanas tumorais e linhagens normais de macaco (BGM e Vero), foram determinados os percentuais de morte celular após 48 h de tratamento, as concentrações inibitórias de 50% das células (IC_{50}) e os índices de seletividade (IS). Os óxidos testados induziram morte celular com valores de IS semelhantes aos de quimioterápicos já em uso, como doxorrubicina e cisplatina, $\text{IS} \sim 1$. Destacam-se os resultados preliminares determinados para Nd_2O_3 na linhagem de câncer de mama, $\text{IS} = 1,88$, e para Yb_2O_3 em linhagens de câncer colorretal, SW480: $\text{IS} = 1,11$; HT-29: $\text{IS} = 1,64$. Já Er_2O_3 e Eu_2O_3 demonstraram maior seletividade para HT-29, IS de 1,52 e 1,66, respectivamente. Ademais, Yb_2O_3 e Nd_2O_3 demonstraram inibição expressiva da migração celular em SW480. Assim, os resultados indicam o potencial desses óxidos de terras raras para o desenvolvimento de formulações inéditas com maior seletividade e aplicabilidade terapêutica.

Palavras-chave: câncer; terras raras; citotoxicidade

ABSTRACT

JÚNIOR, Arlindo Sérgio Cunha, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Antitumor potential of rare earth oxides: cytotoxicity and cell migration.** Adviser: Anesia Aparecida dos Santos.

Cancer comprises a group of diseases characterized by disordered cell growth with the potential for invasion and metastasis. It is estimated that, globally, the number of new cancer cases will increase by 77% in 2050 compared with the 20 million projected for 2022, with the greatest rise occurring in countries of low and medium Human Development Index (HDI). In this context, the development of more effective treatments is essential. Factors that can diminish chemotherapeutic efficacy include multidrug resistance (MDR), present in approximately 90% of patients, low drug selectivity, and inefficient biodistribution. Accordingly, this study evaluated the cytotoxic activity of rare earth oxides - ytterbium oxide (Yb_2O_3), neodymium oxide (Nd_2O_3), erbium oxide (Er_2O_3) and europium oxide (Eu_2O_3) - using the MTT assay in human tumor cell lines and normal monkey cell lines (BGM and Vero). Cell death percentages after 48 h of treatment, the half-maximal inhibitory concentrations (IC_{50}), and selectivity indices (SI) were determined. All tested oxides induced cell death with SI values comparable to those of clinically used chemotherapeutics such as doxorubicin and cisplatin ($\text{SI} \sim 1$). Notably, preliminary results showed that Nd_2O_3 had a selectivity index of 1.88 in a human breast cancer cell line, while Yb_2O_3 showed SI values of 1.11 (SW480) and 1.64 (HT-29) in colorectal cancer lines. Er_2O_3 and Eu_2O_3 demonstrated greater selectivity in HT-29 cells, with SI values of 1.52 and 1.66, respectively. Moreover, Yb_2O_3 and Nd_2O_3 markedly inhibited migration of SW480 cells. Together, these findings highlight the potential of these rare earth oxides for the development of novel formulations with enhanced selectivity and therapeutic applicability.

Keywords: cancer; rare earth; cytotoxicity

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 10 |
| 2. JUSTIFICATIVA..... | 13 |
| 2.1 Baixa seletividade e resistência a múltiplas drogas..... | 13 |
| 2.2 Terras raras..... | 14 |
| 2.2.1 Terras raras para aplicação médica..... | 16 |
| 2.2.1.1 Citotoxicidade..... | 17 |
| 2.2.1.2 Fotodinâmica e teranóstica..... | 19 |
| 2.2.2 Biorretenção de terras raras..... | 23 |
| 3. OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICOS..... | 24 |
| 3.1 Objetivos específicos:..... | 24 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS..... | 25 |
| 4.1 Obtenção das diluições de lantanídeos..... | 25 |
| 4.2 Avaliação da citotoxicidade de compostos com fins quimioterápicos..... | 25 |
| 4.3 Ensaio de migração celular..... | 28 |
| 4.4 Análise estatística..... | 29 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 30 |
| 5.1 Citotoxicidade..... | 30 |
| 5.2 Índice de seletividade..... | 35 |
| 5.3. Ensaio de migração..... | 36 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 40 |
| 7. PERSPECTIVAS FUTURAS..... | 41 |
| REFERÊNCIAS..... | 42 |
| APÊNDICE A - GRÁFICOS DE CITOTOXICIDADE DOS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS PARA LINHAGEM DE CÉLULAS NORMAIS DE RIM DE MACACO (BGM) COM 48 H DE TRATAMENTO..... | 47 |
| APÊNDICE B - GRÁFICOS DE CITOTOXICIDADE DO ÓXIDO DE ITÉRBIO (III) E DO ÓXIDO DE NEODÍMIO (III) PARA A LINHAGEM DE MELANOMA HUMANO (MV3) COM 48 H DE TRATAMENTO..... | 48 |
| APÊNDICE C - GRÁFICOS DE CITOTOXICIDADE DOS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS PARA A LINHAGEM DE CÂNCER COLORRETAL HUMANO (HT-29) COM 48 H DE TRATAMENTO..... | 49 |
| APÊNDICE D - GRÁFICOS DE CITOTOXICIDADE DOS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS PARA A LINHAGEM DE CÂNCER HEPÁTICO HUMANO (HEP G2) COM 48 H DE TRATAMENTO..... | 50 |
| APÊNDICE E - GRÁFICOS DE CITOTOXICIDADE DOS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS PARA A LINHAGEM DE CÂNCER DE MAMA HUMANO (MCF7) COM 48 H DE TRATAMENTO..... | 51 |
| APÊNDICE F - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA OS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS NAS LINHAGENS VERO E BGM..... | 52 |
| APÊNDICE G - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA O ÓXIDO DE ITÉRBIO (III) E O ÓXIDO DE NEODÍMIO (III) NA LINHAGEM DE MELANOMA HUMANO (MV3)..... | 53 |
| APÊNDICE H - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA OS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS NA LINHAGEM DE CÂNCER COLORRETAL | |

| | |
|---|-----------|
| HUMANO (SW480)..... | 54 |
| APÊNDICE I - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA OS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS NA LINHAGEM DE CÂNCER COLORRETAL HUMANO (HT-29)..... | 55 |
| APÊNDICE J - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA OS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS NA LINHAGEM DE CÂNCER HEPÁTICO HUMANO (HEP G2)..... | 56 |
| APÊNDICE K - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA OS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS NA LINHAGEM DE CÂNCER MAMA HUMANO (MCF7)..... | 57 |
| APÊNDICE L - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO) DE SW480 TRATADOS COM IC10 DE ÓXIDO DE ITÉRBIO (III) A PARTIR DA ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6, 12 E 24 H..... | 58 |
| APÊNDICE M - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO) DE SW480 TRATADOS COM ½ IC50 DE ÓXIDO DE ITÉRBIO (III) A PARTIR DA ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6, 12 E 24 H..... | 59 |
| APÊNDICE N - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO) DE SW480 TRATADOS COM IC10 DE ÓXIDO DE NEODÍMIO (III) A PARTIR DA ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6 E 12 H..... | 60 |
| APÊNDICE O - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO) DE SW480 TRATADOS COM ½ IC50 DE ÓXIDO DE NEODÍMIO (III) A PARTIR DA ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6, 12 E 24 H..... | 61 |
| APÊNDICE P - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO) DE SW480 TRATADOS COM CONTROLE (MEIO + PMA) A PARTIR DA ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6, 12 E 24 H..... | 62 |
| APÊNDICE Q - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO) DE SW480 TRATADOS COM CONTROLE (MEIO PURO) A PARTIR DA ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6, 12 E 24 H..... | 63 |

1. INTRODUÇÃO

O câncer é um conjunto de doenças caracterizadas pelo crescimento desordenado de células que podem se manter *in situ* ou vir a tornarem-se metastáticas, ou seja, podem adquirir a capacidade de invadir e colonizar outros órgãos (NCI, 2021), sendo também denominados de tumor maligno (NIH, 2007). O câncer mais incidente no Brasil, segundo estimativa para 2023 feita pelo Instituto Nacional do Câncer, é o câncer de pele não melanoma, com 31,3% dos casos em ambos os sexos (INCA, 2022). Desconsiderando o câncer de pele não melanoma, o câncer de maior incidência em homens no Brasil é o câncer de próstata com 30% de novos casos para 2023 seguido do câncer colorretal com 9,2% dos casos e dos cânceres pulmonares ou traqueais com 7,5% dos casos (INCA, 2022). Já em mulheres, o câncer de mama foi o de maior incidência com 30,1% dos casos para 2023, seguido do câncer colorretal com 9,7% e do câncer de útero com 7% dos casos (INCA, 2022).

Em 2022 foram estimados quase 20 milhões de novos casos de câncer globalmente, sendo o mais incidente o câncer pulmonar, com 12,4% dos casos, seguido pelo mamário com 11,6%, e do colorretal, com 9,6% (GCO, 2022). Segregando os dados por sexo, temos para o feminino, o câncer de mama com 23,8% como o mais incidente, seguido pelo pulmonar com 9,4% e o colorretal com 8,9%. Já para o masculino, temos o câncer pulmonar em primeiro lugar com 15,2%, seguido pelo câncer de próstata, com 14,2%, e o câncer colorretal com 10,4% dos casos. Quanto à mortalidade, dos quase 10 milhões de óbitos, o câncer de pulmão foi o mais mortal, com 18,7% das mortes, seguido pelo câncer colorretal com 9,3% e pelo câncer hepático com 7,8% e o câncer de mama feminino em quarto lugar com 6,8% das mortes por câncer (GCO, 2022). As taxas de mortalidade (0-49 anos) refletem o desenvolvimento socioeconômico dos países, sendo os mais desenvolvidos os com menor índice de casos de morte por 100 mil habitantes com idade padronizada (SUNG *et al.*, 2021).

Mundialmente estima-se que ocorrerão mais de 35 milhões de novos casos de câncer em 2050, um aumento de mais de 77% em relação a 2022 (WHO, 2024). Esse aumento será pronunciado em países que atualmente se enquadram como de

baixo a médio IDH (Índice de Desenvolvimento Humano), 142% e 99% respectivamente (WHO, 2024). O aumento pode ser explicado pelo crescimento e envelhecimento populacional, assim como pelo aumento de fatores de risco (sedentarismo, dieta e obesidade) associados ao desenvolvimento econômico (SUNG *et al.*, 2021; WHO, 2024).

Muitos tumores podem se tornar metastáticos. A metástase ocorre quando as células de uma massa tumoral primária se desprendem, migram e alcançam, pela corrente sanguínea ou pelo sistema linfático, locais distantes onde se aderem e crescem (GUAN, 2015), formando um tumor secundário. As reações bioquímicas referentes a formação deste processo e do microambiente tumoral são potenciais alvos de prevenção e tratamento (GUAN, 2015).

Esses alvos têm sido os receptores de adesão ou proteases envolvidos na migração e invasão tumoral, no entanto, terapias que os visavam não obtiveram diminuição da progressão do tumor, devido a capacidade de utilização de diferentes mecanismos migratórios e invasivos inerentes às células tumorais, que podem ser intercambiados. Modificações da forma e rigidez das membranas celulares permitem que estas células possam interagir com a matriz extracelular e assim migrar pelos tecidos. Essa migração pode ocorrer de modo individual, por movimento ameboide ou por movimento mesenquimal; ou coletivo, em lâminas ou aglomerados (FRIEDL & WOLF, 2003).

O padrão coletivo pode ser responsável pela invasão de tumores altamente diferenciados que, por atuarem em conjunto, protegem as células internas da ação do sistema imune. Além disso, as células podem trocar seu mecanismo migratório ao longo da progressão tumoral. Assim células atuando coletivamente podem vir a se desdiferenciar e se converter em células de tipo mesenquimal, perdendo suas junções célula-célula, o que permite a elas se destacar da massa celular e seguir de forma individual, essas mudanças caracterizam a transição epitélio-mesenquimal (TEM) (FRIEDL & WOLF, 2003).

Considerando a importância da metástase e das transições tanto na resistência do tumor quanto na sobrevivência dos pacientes, pesquisas em tratamentos que visam esses processos são imprescindíveis (KRAMER *et al.*, 2013).

Para isso, um melhor entendimento dos mecanismos e das moléculas envolvidas na migração/ invasão e no desenvolvimento do microambiente tumoral possibilitam que novos alvos com fins terapêuticos sejam estudados (JANIK *et al.*, 2010).

Além de considerar os mecanismos para a metástase, a terapia contra tumores deve levar em conta a resistência a drogas, em especial a resistência a múltiplas drogas (*multidrug resistance* - MDR), essa pode se dar por diferentes mecanismos moleculares, tais como diminuição do influxo da droga, aumento do efluxo da droga, alteração do metabolismo e mutações em mediadores de vias de sinalização, assim como também ativação do sistema de reparo de DNA (YIN *et al.*, 2013).

Da mesma forma, deve-se atentar para as características-chave do microambiente tumoral como sua natureza ácida (em torno de 4,5–6,8) e condições de hipóxia (pO₂ de 24–66 mmHg) (DUAN *et al.*, 2023). Considerando que a MDR é uma das responsáveis pela diminuição da eficiência quimioterápica e indução de recidivas em mais de 90% dos pacientes (BAGULEY, 2010; YIN *et al.*, 2013; EMRAN *et al.*, 2022), inibidores de MDR têm sido desenvolvidos com a ideia de combatê-la, no entanto, eles se mostraram, até o momento, pouco eficazes, altamente tóxicos e afetaram a própria distribuição e eficácia do medicamento (YIN *et al.*, 2013). Com isso, o uso de sistemas de entrega de medicamentos pode prover vantagens para lidar com a MDR (YIN *et al.*, 2013).

Tendo em vista a elevada mortalidade, o diagnóstico precoce e o seu devido tratamento são de grande importância no combate às neoplasias malignas. Os tratamentos mais utilizados costumam ser a cirurgia para ressecção da área ou órgão afetado, a radioterapia e a quimioterapia (INCA, 2022). Assim, devido à elevada taxa de reincidência e a capacidade do tumor de se tornar metastático, é imprescindível que novos medicamentos sejam estudados com o intuito de sobrepujar a MDR e obter elevada eficiência e seletividade.

2. JUSTIFICATIVA

2.1 BAIXA SELETIVIDADE E RESISTÊNCIA A MÚLTIPLAS DROGAS

Parte dos estudos em relação ao tratamento contra o câncer visam o desenvolvimento de novos medicamentos quimioterápicos que apresentam menor toxicidade e maior seletividade, ou seja, que ocasionam a morte das células tumorais em uma taxa maior do que de células normais, minimizando efeitos colaterais ao paciente.

A Doxorrubicina (DOX) e a Cisplatina são quimioterápicos amplamente usados na saúde pública que possuem baixa seletividade (NASCIMENTO *et al.*, 2018). O Sistema Único de Saúde (SUS), por exemplo, faz o uso extensivo do quimioterápico Dacarbazina, entretanto esse fármaco possui uma baixa seletividade ($IS \approx 1$), ou seja, mata as células normais e tumorais em taxas similares (BAÊTA *et al.*, 2019). Esse fármaco atua nas células dificultando a separação da dupla fita de DNA, interrompendo a síntese de proteínas (BAÊTA *et al.*, 2019). Esses compostos são caracterizados com base em seu baixo custo e em sua citotoxicidade, avaliada tanto pelo percentual de células mortas após o tratamento quanto pela IC_{50} , dose necessária para causar a morte de 50% das células tratadas.

Além da baixa seletividade, o uso de quimioterápicos enfrentam outros desafios, como a MDR, no qual as células tornam-se resistentes a variados fármacos e apresentam baixa retenção (WEI *et al.*, 2021). A MDR é responsável pela diminuição da eficiência quimioterápica em mais de 90% dos pacientes (BAGULEY, 2010; YIN *et al.*, 2013; EMRAN *et al.*, 2022). Essa resistência em tumores ocorre comumente por mais de um mecanismo, entre estes, a redução da biodisponibilidade do fármaco, seja por uma captação reduzida ou pelo aumento do efluxo da droga, nesse caso há uma superexpressão de várias proteínas da família de transportadores de cassete de ligação de adenosina trifosfato (tipo ABC), como a P-gp, proteína associada a MDR (MRP), e a proteína de resistência ao câncer de mama (BCRP) ambos contribuindo para a MDR em câncer de mama e cólon (DUAN *et al.*, 2023).

Outros mecanismos responsáveis pela MDR são o sistema de reparo de DNA, que afeta a eficácia de fármacos como cisplatina e DOX, as mutações em alvos do medicamento e mutação em mediadores de apoptose que podem levar ao seu bloqueio e, portanto, a inibição da morte celular (DUAN *et al.*, 2023). A superexpressão da proteína Bcl-2 tem sido relacionada a aquisição de MDR em câncer de cólon, pois ao inibir a apoptose, as células superexpressando bcl-2 demonstraram ser mais tolerantes à cisplatina (DUAN *et al.*, 2023). Características do microambiente tumoral como vasculatura permeável desorganizada podem atuar também na MDR.

Tendo em vista a baixa seletividade destes compostos, é importante que novos esforços sejam feitos com o intuito de descobrir ou desenvolver compostos inovadores visando uma maior seletividade comparada às drogas convencionalmente em uso.

2.2 TERRAS RARAS

Entre os esforços por novos fármacos estão as formulações baseadas em metais, tais como complexos de rutênio, ouro, prata e novos complexos de platina não clássicos (NDAGI *et al.*, 2017); além disso, os elementos terras raras (ETR) também têm sido investigados quanto a sua atividade citotóxica.

Os ETR são um grupo de 17 compostos químicos que, apesar de seu nome, são relativamente abundantes na crosta terrestre (HURST, 2010; HEDRICK, 1997). Neles incluem os lantanídeos (Ln), um grupo de elementos de transição interna que vão do lantânio (La) (Z=57) ao lutécio (Lu) (Z=71), e os elementos escândio (Sc) (Z=21) e ítrio (Y) (Z=39) (IUPAC, 2005). Eles estão presentes em baixas concentrações no corpo humano, tendo sido encontrados no sangue humano em concentrações de $1 \times 10^{-6} \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ (INAGAKI & HARAGUCHI, 2000).

Esses elementos são agrupados juntos devido a sua elevada ocorrência nos minérios, principalmente em bastnasita e monazita (HURST, 2010), e por apresentarem propriedades físico-químicas semelhantes. As suas configurações eletrônicas de orbitais 4f, junto ao tamanho iônico dos átomos confere a eles uma

maior estabilidade térmica quando na forma de óxidos, além disso seus spins de elétrons não emparelhados possibilitam suas propriedades magnéticas típicas (ADACHI & IMANAKA, 1998).

Os ETR, no geral, são bastante reativos com o oxigênio do ambiente atmosférico formando óxidos que são mais estáveis termicamente. Em sua maioria são formados sesquióxidos ((ETR)₂O₃), de estado trivalente (estado de oxidação +3), mas alguns também podem ser encontrados como outros estados de valência (2+, 4+) como o caso do CeO₂ tetravalente (ADACHI & IMANAKA, 1998).

Essa preferência dos ETR pelo estado trivalente é marca dos terras raras, diferentemente das outras séries químicas da tabela periódica que tem estados de oxidação mais variáveis; isto se deve aos orbitais 4f em preenchimento isolados dos lantanídeos (LU *et al.*, 2017). Exceto o elemento atômico La, todos os demais lantanídeos preenchem os orbitais 4f total ou parcialmente. Tal configuração eletrônica, no geral, é descrita como [Xe] 4fⁿ 6s² com exceção de Cério (Ce), [Xe] 4f¹ 5d¹ 6s², gadolínio (Gd), [Xe] 4f⁷ 5d¹ 6s² e o elemento atômico Lu, [Xe] 4f¹⁴ 5d¹ 6s² (LU *et al.*, 2017).

Os orbitais 4f se tornam mais contraídos e, portanto, seus raios atômicos diminuem conforme aumenta-se o número de prótons no núcleo na série dos lantanídeos. O aumento da carga nuclear efetiva torna estes orbitais mais estáveis que os orbitais 5d, em consequência, os 4f ficam blindados pelos orbitais 5s e 5p e se isolam do ambiente químico externo não participando de modo significativo de ligações químicas e mantendo suas propriedades magnéticas e espectrais, em grande parte, independente do ambiente (COTTON, 2006).

Ao formar íons Ln³⁺ (La-Lu), os lantanídeos têm seus elétrons removidos inicialmente dos orbitais 6s e 5d e adquirem configuração [Xe] 4fⁿ (n = 0-14). Todos os Ln³⁺ possuem elétrons desemparelhados e, portanto, são paramagnéticos com exceção de La³⁺ e Lu³⁺ (COTTON, 2006).

Óxidos de terras raras tem diversas aplicações, a maior parte do seu consumo global (59%) é empregado em mercados tradicionais como catalisadores, na fabricação de vidro e na metalurgia, os outros 41% do consumo é voltado para mercados mais novos como a cerâmica, a produção de ligas de bateria e a produção

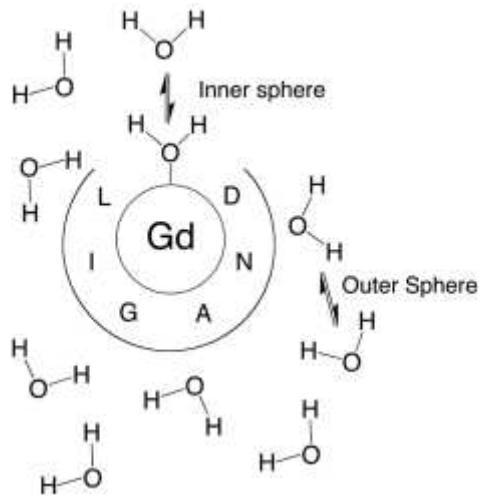
de ímãs permanentes. Os óxidos de lantânio e cério representam 80% dos mercados consolidados; já os mercados emergentes são constituídos principalmente dos óxidos de disprósio, neodímio e praseodímio, respondendo com 85% destes mercados (GOONAN, 2011).

2.2.1 Terras raras para aplicação médica

Tendo em vista suas propriedades físico-químicas, os metais terras raras já fazem parte de tratamentos e diagnósticos em uso, tais como radioimunoterapia e são utilizados como agentes de contraste em imagem de ressonância magnética (*magnetic resonance imaging* - MRI). A imagem de ressonância magnética é uma aplicação médica não invasiva para obtenção de imagens de órgãos e tecidos por meio de agentes de contraste, em sua maioria baseados em gadolínio, que aumentam a taxa de relaxamento dos prótons da água presentes no tecido (BOTTRILL, *et al.*, 2006). Sob o efeito de um campo magnético, os prótons de hidrogênio da água se alinham, um pulso de radiofrequência é emitido os desalinhando, após cessado o pulso estes voltam ao seu estado fundamental liberando energia que é detectada, esse retorno é conhecido como relaxamento (TAHA, *et al.*, 2024; LIU, 2020).

O primeiro agente de contraste para RMI a ser aprovado em 1988 pela FDA (*U.S. Food and Drug Administration*) foi o Ácido gadopentético (Magnevist®), gadolínio (Gd^{3+}) quelado a DTPA (Pentaacetato de dietilenotriamina) (FDA, 2018; LOHRKE, *et al.*, 2016). Esse lantanídeo possui 7 elétrons 4f não-pareados, que conferem seu paramagnetismo comum dentre os terras raras (TEO *et al.*, 2016) e ao ser administrado forma ligação coordenada (na esfera interna) com ao menos uma molécula de água presente no tecido e essa é continuamente trocada por outras moléculas de água circundantes (esfera externa), essas interações com o gadolínio aceleram o relaxamento dos prótons, esse processo é representado na Figura 1 (GHIASSI *et al.*, 2014, WESBEY, *et al.* 1984).

Figura 1 - Esquema da troca de água com o gadolínio quelado



Fonte: GHIASSI *et al.*, 2014

Ligação coordenada na esfera interna (*Inner sphere*) e troca de interações como ligações de hidrogênio das moléculas de água na esfera externa (*Outer Sphere*)

O contraste proporcionado pelo gadolínio é de grande importância para detectar pequenas metástases (CHOURMOUZI *et al.*, 2014), além disso, possui capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (LU *et al.*, 2017), estrutura altamente seletiva da microvasculatura cerebral que regula o movimento de solutos e impede a difusão da maioria das substâncias do sangue para o tecido nervoso, entre as quais substâncias nocivas como patógenos e toxinas. É constituída de células endoteliais capilares, caracterizadas pela ausência de fenestras (poros na membrana) e presença de extensas junções oclusivas, de membrana basal contendo pericitos e terminais de astrócitos que envolve os vasos firmemente (BALLABH *et al.*, 2004; DANEMAN & PRAT, 2015). Essa barreira é um desafio na administração de fármacos ao sistema nervoso central, tornando de grande interesse os compostos capazes de atravessar esta barreira (LARSEN *et al.*, 2014).

2.2.1.1 Citotoxicidade

Alguns óxidos de terras raras estudados, apresentaram indução de citotoxicidade, entre eles, o óxido de neodímio (Nd_2O_3) foi citotóxico para macrófagos alveolares NR8383 de ratos, ativou a sinalização de caspase-3 e de NF- κ B aumentando a síntese de quimiocinas inflamatórias, o que pode ter

ocasionado a morte celular (HUANG *et al.*, 2017). Em outro estudo, Nd_2O_3 também inibiu a viabilidade celular em linhagem de carcinoma hepatocelular humano (Hep G2) e em linhagem de câncer de pulmão (A-549) (AHMAD *et al.*, 2022).

Além dos óxidos de neodímio, o elemento de neodímio também tem sido utilizado como dopagem em certos compostos, incluindo na produção de nanopartículas responsiva a pH, como em um estudo em que hidroxiapatita dopada com Nd apresentou liberação diferenciada de ácido 4-acetilsalicílico em condições simuladas de pH 1,2 (suco gástrico) e pH 7,4 (soro fisiológico). Houve uma liberação maior em pH 7,4, o que é interessante para o tratamento de câncer colorretal, tendo em vista que seu ambiente é mais alcalino (VICTOR *et al.*, 2016).

Óxidos de neodímio também foram testados em linhagem de câncer de mama (MCF7), as células MCF7 foram expostas por 24 h a esses óxidos, que foram sintetizados na forma de nanobastões (*nanorods*). Na sua maior concentração avaliada (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), a viabilidade celular caiu para 49%. No mais, houve um aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) de forma dose-dependente, bem como um aumento da expressão de genes marcadores apoptóticos, tais como p53 e caspase-3, em relação ao controle (WAHAB, *et al.*, 2023).

As EROs são moléculas altamente reativas que se derivam do oxigênio, entre as quais, o ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) podem ser destacados. Essas moléculas em níveis altos podem induzir estresse oxidativo em células de câncer, danificando moléculas fundamentais como DNA, proteínas e lipídios. Conseqüentemente, isso pode levar à ativação de vias de apoptose, o que torna a geração controlada de EROs por nanomateriais interessante como uma estratégia promissora para aplicação terapêutica contra tumores (TRACHOOTHAM *et al.*, 2009).

Em outra linhagem de câncer hepático humano (SMMC-7721), nanopartículas hexaédricas de óxido de Cério (IV) (CeO_2) (20–30 nm) induziram efeito citotóxico ao ativar a via da cinase ativada por mitógeno (*Mitogen-Activated Protein Kinase - MAPK*) e induziram estresse oxidativo como demonstrado pelo aumento da produção de EROs e malondialdeído (MDA) e pela redução da atividade enzimática

de catalase, glutathione peroxidase (GSH-px) e superóxido dismutase (CHENG *et al.*, 2013).

Os terras raras foram ainda avaliados como sistema de entrega para uma liberação controlada de fármaco, noutro estudo foram sintetizadas nanofolhas de óxido de samário (Sm_2O_3) e óxido de gadolínio (Gd_2O_3) capazes de carrear 5-Fluorouracil (fármaco anti-câncer) que foram citotóxicos para Hep G2 e mostraram serem pH-responsivos, liberando o fármaco mais lentamente em pH 7,4, enquanto que a liberação em pH 4,0 foi mais rápida, o que é interessante considerando o ambiente mais ácido do tumor (ZHANG *et al.*, 2015).

No estudo conduzido por CHEN *et al.*, 2005, foi constatado que o óxido de neodímio nanométrico (Nano Nd_2O_3) pode induzir morte celular não por apoptose mas por autofagia, processo no qual a célula captura seu próprio conteúdo em vesículas autofágicas que são por fim degradadas pelos lisossomos (BROKER *et al.*, 2005). Diante disso, indutores de autofagia, como terras raras, abrem a possibilidade para usos no tratamento contra o câncer.

2.2.1.2 Fotodinâmica e teranóstica

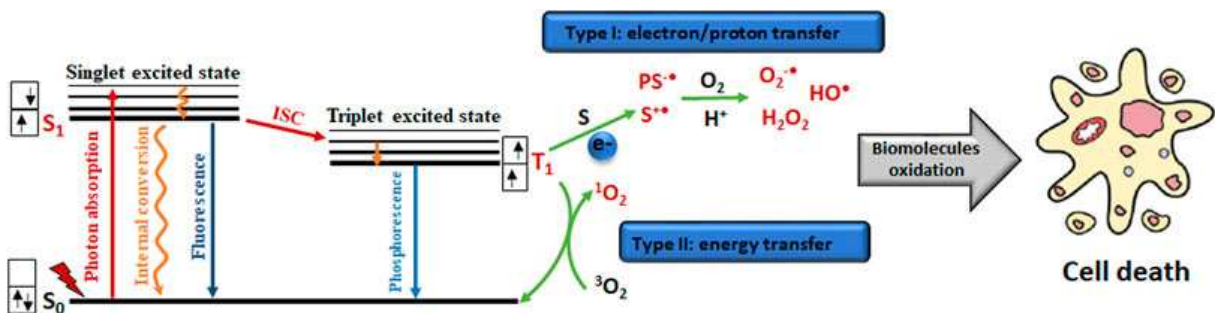
Os ETR têm sido estudados enquanto fotossensibilizadores na terapia fotodinâmica (TFD), tratamento este que tem como base o uso de um fotossensibilizador (*photosensibilizer* - PS) e uma fonte de luz num dado comprimento de onda para o tratamento de câncer e outras doenças. De início, o PS é administrado no paciente por via intraperitoneal, intravenosa ou tópica, a luz é então irradiada no local de interesse e o PS gera danos celulares, a atuação *in situ* é atrativa, possibilitando um tratamento mais seletivo e preciso (REZENDE *et al.*, 2022).

Como mostrado na Figura 2, a atividade citotóxica do PS *in vivo*, ocorre inicialmente com a absorção de um fóton, na qual o PS passa de seu estado fundamental (S_0) para o estado excitado singleto (S_1) de maior energia, de configuração eletrônica instável, após isto, o PS pode retornar ao estado fundamental por conversão interna, na qual dissipa energia na forma de calor ou por fluorescência, emite luz, pode ainda sofrer um cruzamento intersistemas

(*Intersystem Crossing* - ISC), no qual ocorre uma inversão de um spin quando o PS passa para o estado excitado tripleto (T_1) que participa de reações fotoquímicas por dois tipos principais de mecanismos de fotossensibilização, tipo I e tipo II (REZENDE *et al.*, 2022).

No mecanismo tipo I há a transferência de elétrons entre o PS e um determinado substrato, gerando radicais livres que por vias constitutivas levam a produção de EROs, tais como $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 e o radical $\bullet OH$. Por outro lado, no mecanismo tipo II, o PS, por meio de reações fotoquímicas transfere energia para o oxigênio (O_2) presente no ambiente que passa para um estado mais reativo chamado oxigênio singleto (1O_2) que tem a capacidade de oxidar biomoléculas como proteínas e o DNA (REZENDE *et al.*, 2022).

Figura 2 - Esquema representando os dois mecanismos de fotossensibilização atuando na morte celular



Fonte: REZENDE *et al.*, 2022)

Na imagem mostra os mecanismos de fotossensibilização que levam a formação de e de EROs que induzem a morte celular.

Um dos PS atualmente em uso como tratamento é o Photofrin[®] (porfímero sódico), uma mistura de até 8 oligômeros de porfirina formados por ligações éter e éster, indicado contra o câncer esofágico e o câncer endobronquial, que é fotoativado pelo comprimento de onda de 630 ± 3 nm (vermelho) (FDA, 2011).

Por meio desse processo também é possível a formação de imagens, pois ao retornar ao estado fundamental, a luz é emitida (fluorescência), portanto a TFD permite combinar a terapia e o diagnóstico pelo fornecimento de imagens *in vivo* e

em tempo real, campo este chamado de teranóstica (a partir das palavras terapia + diagnóstica) (REZENDE *et al.*, 2022).

Apesar de já serem usados em terapias anti-câncer, a busca por um PS ideal ainda levanta desafios, principalmente, no que se refere a profundidade da penetração de luz nos tecidos. A maioria dos PS aprovados são fotoativados por luz ultravioleta (UV) ou visível, que têm menor penetração no tecido, o que os torna mais indicados para o tratamento de tumores menores e mais superficiais (FANG *et al.*, 2022). Para contornar este desafio, novos PS fotoativados no infravermelho próximo (NIR - *Near Infra-red*) têm sido investigados (O'CONNOR *et al.*, 2009). Somado a isso, a acumulação preferencial em tecido tumoral e o alto rendimento quântico de oxigênio singlete são características interessantes em um PS (O'CONNOR *et al.*, 2009).

A profundidade de penetração em um tecido biológico depende das moléculas presentes no tecido que dispersam e absorvem a luz em uma determinada faixa de comprimento de onda. Moléculas tais como a desoxihemoglobina (HHb) e oxihemoglobina (O₂Hb) absorvem no espectro de luz visível abaixo de 650 nm, enquanto a água absorve acima de 900 nm, sendo assim, resta a janela NIR, faixa do NIR ao espectro de luz visível que vai do comprimento de onda de ~750 nm a ~1400 nm, no qual a luz poderá penetrar mais profundamente sem ser absorvida (WEISSLEDER, 2001). Considerando isso, os terras raras são interessantes como fotossensibilizadores, pois partículas dopadas com eles demonstram uma absorção numa ampla faixa de comprimento de onda: do UV ao infravermelho médio (GAI *et al.*, 2014).

Nesse contexto, nanopartículas de conversão ascendente (*Upconversion nanoparticles* - UCNPs) dopadas com íons terras raras demonstraram serem capazes de absorver luz NIR e convertê-la em luz de maior energia UV-visível, o que caracterizando a conversão ascendente (GUO *et al.*, 2017). Nesse fenômeno, um dos íons dopantes atua como sensibilizador, absorvendo energia do NIR e transferindo-a para o íon ativador, que emite luz UV-visível (REZENDE *et al.*, 2022; CHEN *et al.*, 2014).

Entre os íons de terras raras dopantes, destaca-se o íon itérbio trivalente (Yb^{3+}), que apresentou em testes absorção em ~ 976 nm e emissão em ~ 1040 nm, correspondentes ao NIR (KUMI-BARIMAH *et al.*, 2022). O Yb^{3+} portanto, é um eficiente sensibilizador em sistemas co-dopados, ou seja, absorve eficientemente luz e transfere a energia para outro íon (ativador) e este emite luz em outro comprimento de onda (LI *et al.*, 2024).

O neodímio trivalente (Nd^{3+}) apresentou em testes absorção em ~ 808 e ~ 880 nm e emissão em ~ 880 nm, ~ 1060 nm e ~ 1330 nm, comprimentos de onda correspondentes ao NIR (SERQUEIRA, 2005; LI *et al.*, 2024). Esse íon assim como o Yb^{3+} também atua em UCNPs como sensibilizador. Essas emissões em NIR são as razões pelas quais esse elemento é aplicado em lasers como o laser Nd:YAG, que emite em 1064 nm (SERQUEIRA, 2005).

O érbio trivalente (Er^{3+}) é muito usado com outros terras raras para conversão ascendente. Experimentalmente, Er^{3+} exibe fortes picos de emissão em verde 525–545 nm (verde) e vermelho (~ 660 nm) (SOUSA, 2019). Por isso, esse íon de terra rara costuma ser utilizado como ativador em UCNPs (LI *et al.*, 2024).

O európio trivalente (Eu^{3+}) absorve eficientemente em ~ 394 nm (UV) e em ~ 466 nm (azul), ao ser excitado nesses comprimentos de onda Eu^{3+} emite no pico em ~ 612 nm (vermelho) (TANG *et al.*, 2014). Esse íon junto ao Er^{3+} também costuma ser empregado como ativador para emitir fluorescência UV-visível (LI *et al.*, 2024).

Um exemplo de UCNPs são os fluoretos de ítrio e sódio (NaYF_4) dopados com íons terras raras, que se destacam por sua estabilidade e baixa energia de fônon, o que favorece a conversão ascendente (REZENDE *et al.*, 2022). As dopagens mais eficientes incluem $\text{NaYF}_4:\text{Yb}/\text{Er}$ e $\text{NaYF}_4:\text{Yb}/\text{Tm}$, nas quais o Yb^{3+} atua como sensibilizador, absorvendo NIR, e Er^{3+} ou íon túlio (Tm) atua como ativadores, emitindo luz (REZENDE *et al.*, 2022; CHEN *et al.*, 2014).

Uma investigação foi realizada por ZENG e colaboradores (2015), no qual nanocompostos $\text{NaYF}_4:\text{Yb}/\text{Tm}-\text{TiO}_2$ carregados com DOX foram sintetizados e sob a excitação de um laser (980 nm) esse composto converteu o NIR em luzes UV, EROs foram geradas. Com isso foi demonstrado que ao combinar a quimioterapia com

essa forma de fototerapia utilizando terras raras, houve uma redução da viabilidade celular na linhagem de câncer de mama MCF-7/ADR (MCF7 resistente a DOX) em 53,5% e a taxa de inibição desses aumentou em 90,33%, em comparação com a DOX livre (ZENG *et al.*, 2015).

2.2.2 Biorretenção de terras raras

Com o desenvolvimento de novos usos tecnológicos de terras raras, a retenção destes no meio ambiente e em organismos deve ser considerada em termos de segurança, alguns ensaios foram feitos avaliando sua bioacumulação. Entre eles, um estudo demonstrou uma ampla biodistribuição e potencial bioacumulativo em camundongos CD-1(ICR). Foi constatado um acúmulo significativo nos tecidos do pulmão, fígado, rins, coração e bulbo olfatório de nanopartículas de óxido de itérbio (Yb_2O_3 NPs) dois, 10, 20 e 30 dias após a administração por instilação intratraqueal. Além disso, nos primeiros dois e 30 dias após a exposição, foi observado um aumento em relação ao controle do percentual de linfócitos e neutrófilos na análise citológica do fluido broncoalveolar, assim como um aumento dos níveis de MDA, mas que reduziu-se após 30 dias. Ainda houve uma redução de GSH-px em relação ao controle após ambos os períodos, indicando dano oxidativo (ADEEL *et al.*, 2020).

Em outro estudo, injeções intravenosas em ratos machos (Sprague-Dawley) de duas concentrações diferentes, 0,3 e 1 mg/kg de peso corporal, de óxido de praseodímio (Pr_2O_3), Nd_2O_3 , óxido de ítrio (III) (Y_2O_3) e CeO_2 foram feitas a fim de avaliar a biodistribuição e acúmulo desses compostos. No âmbito do percentual de dose injetada, depois de 21 dias, esses se acumularam mais no fígado, com médias que variaram na menor concentração (0,3) de 14% (ítrio) a 52% (Cério), em comparação com o baço e o pulmão, e o acúmulo nos rins foi menos de 1% para todos os terras raras em ambas as doses. Além disso, os efeitos de dose na retenção em diferentes tecidos não foram significativos em razão da grande variação nos níveis de ETR encontrados nos ratos (JOMAA *et al.*, 2024). Tais estudos são essenciais para avaliar órgãos alvos de terapia e sopesar os benefícios com seus efeitos adversos a curto e a longo prazo.

3. OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICOS

Tendo em vista o crescimento projetado dos cânceres na população, a baixa seletividade e os efeitos colaterais dos tratamentos utilizados pelo sistema de saúde público, assim como também a resistência a múltiplas drogas (MDR) levando as recidivas dos tratamentos atuais, se faz eminente que fármacos melhorados sejam projetados e investigados, com isso, este trabalho teve como objetivo geral testar a citotoxicidade de óxidos de terras raras em diferentes linhagens celulares normais de primatas e tumorais humanas.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Testar a citotoxicidade de óxidos de terras raras: itérbio (Yb_2O_3); neodímio (Nd_2O_3); érbio (Er_2O_3) e európio (Eu_2O_3);

- 1) Obter diluições de: Yb_2O_3 , Nd_2O_3 , Er_2O_3 e Eu_2O_3 ;
- 2) Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* dos óxidos de terras raras em linhagens de câncer humano, obtendo o IC_{50} ;
- 3) Avaliar a atividade citotóxica dos óxidos terras raras em linhagens normais, obtendo o IC_{50} ;
- 4) Obter o IS dos óxidos de terras raras testados neste estudo;
- 5) Avaliar o efeito destes óxidos de terras raras na migração celular de células tumorais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DAS DILUIÇÕES DE LANTANÍDEOS

Diluições de óxido de itérbio (III), óxido de neodímio (III), óxido de érbio (III) e óxido de európio (III) foram feitas no Departamento de Física - Universidade Federal de Viçosa (UFV), as diluições foram realizadas da seguinte forma, os óxidos em pó, adquiridos do Departamento de Física da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) foram pesados (58 mg) e receberam a adição de água deionizada (200 μL), após isso, foram adicionadas gotas de HCl até a dissolução dos óxidos. Os líquidos então foram deixados sobre chapa aquecedora a 90°C , dentro da capela até sua evaporação, após isso foi adicionado 50 ml de água deionizada, em cada óxido, e as soluções foram sonicadas na Cuba de Ultrassom Cristófoli, com frequência ultrassônica de 42 kHz por 180 segundos, e com isso as diluições foram obtidas na concentração de $1,1 \text{ mg} \times \text{mL}^{-1}$. Após isto, as diluições foram acondicionadas de modo a evitar a sua exposição com a luz, tendo em vista o conhecimento acerca da interação desse material com a luz encontrada na literatura.

4.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE COMPOSTOS COM FINS QUIMIOTERÁPICOS

De modo a avaliar a citotoxicidade dos compostos, as linhagens celulares normais, BGM (fibroblasto de rim de macaco verde africano normal) e Vero (epitélio de rim de macaco verde africano normal), ambas cedidas pelo Laboratório de Bioquímica Celular e Bioprodutos (LBB – UFV – MG), e tumorais, MCF7 (adenocarcinoma mamário humano), MV3 (melanoma humano) obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ), Hep G2 (carcinoma hepatocelular humano), SW480 (câncer colorretal humano) e HT-29 (câncer colorretal humano), cedidas pelo LBB foram utilizadas. Todas as linhagens foram cultivadas em garrafas de 25 cm^2 contendo meio de cultura RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute 1640 medium) ou DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) acrescentados de 1% de antibióticos (estreptomicina $0,1 \text{ mg} \times \text{L}^{-1}$, anfotericina $0,025 \mu\text{g} \times \text{L}^{-1}$ e penicilina 100 U/m) (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) e 10% de soro fetal bovino (SFB - GIBCO) e acondicionadas em incubadora (MCO-18AC Panasonic, U.S. Canada) a 37°C com

5% CO₂ e 95% de umidade atmosférica. Esse cultivo foi realizado no Laboratório de Pesquisas Aplicadas ao Câncer (LAPAC) do Departamento de Física - UFV.

Após formação de uma monocamada subconfluente e aderida nas garrafas, essas tiveram seu meio de cultivo removido e então foram lavadas em solução salina tampão fosfatada PBS (Phosphate-Buffered Saline) (2 g x L⁻¹), após isso, administrou-se a solução enzimática de tripsina-EDTA (2,5 g x L⁻¹ - Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA), de modo a soltar as células do substrato da garrafa. As células tiveram sua viabilidade celular avaliada por meio de contagem usando o corante Azul de Tripán na câmara de Neubauer. Após isso, foi realizada a avaliação da citotoxicidade em placas de 96 poços que, após plaqueadas com 1 x 10⁴ células por poço, foram acondicionadas em estufa de cultivo.

Decorridas 24 h para estabilização da cultura em placa, as linhagens SW480, Hep G2 e MV3 foram tratadas com seis concentrações seriadas (400 µg x mL⁻¹, 200 µg x mL⁻¹, 100 µg x mL⁻¹, 50 µg x mL⁻¹, 25 µg x mL⁻¹ e 12,5 µg x mL⁻¹) de Yb₂O₃ e Nd₂O₃. Após experimentos iniciais, as concentrações utilizadas foram modificadas a fim de elevar a confiabilidade dos resultados obtidos. Assim, os experimentos seguintes foram desenhados para as linhagens Vero, BGM e MCF7 com a utilização de sete concentrações seriadas (1000 µg x mL⁻¹, 500 µg x mL⁻¹, 250 µg x mL⁻¹, 125 µg x mL⁻¹, 62,5 µg x mL⁻¹, 31,25 µg x mL⁻¹ e 15,625 µg x mL⁻¹) dos óxidos Yb₂O₃, Nd₂O₃, Er₂O₃ e Eu₂O₃. Além disso, com essas mesmas sete concentrações, foram testados Er₂O₃ e Eu₂O₃ nas linhagens SW480 e Hep G2.

Também foi realizado um protocolo de teste rápido para a linhagem HT-29, a fim de avaliar a citotoxicidade de câncer colorretal para diferentes linhagens, onde somente quatro concentrações (500 µg x mL⁻¹, 250 µg x mL⁻¹, 125 µg x mL⁻¹, 62,5 µg x mL⁻¹) foram utilizadas para o tratamento com os quatro óxidos de terras raras.

Após o tratamento com esses compostos, o conteúdo dos poços foi substituído por solução de MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-brometo de difeniltetrazolio] (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) a 0,5 mg x L⁻³ diluídos em meio de cultivo (1:9), e as placas foram novamente incubadas em estufa de cultivo por três a quatro horas. Após a dissolução dos cristais de formazan pela utilização de dimetilsulfóxido (DMSO) puro, a placa foi lida em leitor de microplacas (SpectraMax

M5, Molecular Devices) a 570 nm. Os valores de absorvância lidos para cada poço possibilitaram o cálculo da viabilidade celular, que é os valores de absorvância do tratamento divididos pelos valores do controle (meio RPMI completo) multiplicando tudo por 100. A viabilidade celular representa a porcentagem de células viáveis (células vivas) (KAMILOGLU *et al.*, 2020). A partir desses valores, foi possível estimar a porcentagem de morte celular (citotoxicidade), calculada como 100 menos a viabilidade celular, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Citotoxicidade} = 100 - \left(\frac{\text{absorvância do tratamento}}{\text{absorvância do controle}} \times 100 \right)$$

Além disso, foram tratados poços sem células com as diluições citadas anteriormente dos óxidos de terra raras com o meio completo nas mesmas condições e número de repetições utilizadas nos tratamentos de modo a avaliar se havia interferência nos dados obtidos pelo espectrofotômetro por fluorescência advinda dos próprios óxidos de terras raras. Os valores de absorvância dos óxidos foram descontados dos valores de absorvância obtidos dos poços com células tratadas de modo a retirar a interferência dos óxidos de terras raras sobre o leitor.

Quatro poços foram usados para cada concentração de composto em todos os experimentos. Cada ensaio foi realizado em triplicata, com exceção de experimentos com a linhagem MCF-7, HT-29 e Hep G2. Para MCF7 foi feita apenas uma placa com Yb₂O₃ e Nd₂O₃ e uma duplicata com Er₂O₃ e Eu₂O₃. Para HT-29, foi feita apenas uma placa, enquanto o ensaio com Hep G2 foi realizado em duplicata.

A concentração inibitória de 50% das células (IC₅₀) foi calculada para cada tratamento por meio de uma regressão não-linear log [Dose] versus Resposta Normalizada (porcentagens células mortas), com as médias de morte celular obtidas e utilizando os programas GraphPad Prism® 8.0.2 e Microsoft Office Excel 2013®.

A partir dos valores da concentração inibitória de 50% das células (IC₅₀) de células normais e cancerosas obtidas para os óxidos, o Índice de Seletividade (IS) foi calculado, segundo a fórmula abaixo:

$$IS = \frac{IC_{50} \text{ da linhagem das células normais}}{IC_{50} \text{ da linhagem das células de câncer}}$$

4.3 ENSAIO DE MIGRAÇÃO CELULAR

O ensaio de cicatrização de feridas (*wound healing assay*) foi realizado para avaliar o efeito dos óxidos de terras raras sobre a capacidade migratória não-direcional das células de câncer colorretal (SW480). Para o desenvolvimento destes experimentos semeou-se $1,6 \times 10^5$ células nos poços de placas de 24 poços. As placas foram mantidas em condições padrão de cultivo celular até atingirem cerca de 80% de confluência. Decorrido esse período realizou-se, em cada poço, uma fenda na monocamada celular por meio da delicada passagem da ponta de uma ponteira de micropipeta. Os poços da placa foram lavados duas vezes com PBS e acrescidos de meio de cultivo RPMI, não adicionado de SFB, juntamente com o tratamento nas respectivas concentrações de IC_{10} (concentração inibitória de 10% das células) e $\frac{1}{2} IC_{50}$, e contendo $100 \mu\text{g} \times \text{L}^{-1}$ de forbol 12-miristato13-acetato (*Phorbol 12-myristate-13-acetate* - PMA) como indutor de migração (WU *et al.*, 2017). Tais concentrações mais baixas dos óxidos foram utilizadas a fim de avaliar o fechamento da ferida sem comprometer a amostra por morte celular. Também houveram poços que receberam uma solução de meio com PMA apenas, sem esses óxidos, e poços que receberam apenas meio de cultivo. As células foram fotografadas com o suporte de um microscópio de luz invertido (Nikon Eclipse TS100) em diferentes tempos após o ferimento (0 h, 6 h, 12 h e 24 horas). A área da lacuna de migração foi medida por meio do programa ImageJ. Em seguida, a porcentagem de fechamento da lacuna foi calculada segundo a equação abaixo, em que A_{T_0} corresponde à área da lacuna no tempo zero (0 h) e A_{T_n} corresponde à área da lacuna no tempo n (6 h, 12 h ou 24 h). Com estes percentuais, gráficos foram realizados no programa GraphPad Prism 8.0.2.

$$\text{Porcentagem de fechamento} = \left(\frac{A_{T0} - A_{Tn}}{A_{T0}} \right) \times 100$$

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas no programa GraphPad Prism 8.0.2. Foi feita uma análise de variância ANOVA ordinary one-way para averiguar se os desvios padrões são significativamente diferentes ($p < 0,05$) e as médias dos tratamentos foram comparadas com o controle através do teste de Dunnett (5% de significância).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CITOTOXICIDADE

Os valores das IC_{50} assim como os valores de R^2 obtidos nas linhagens normais e tumorais, tratadas com os óxidos de terras raras, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores da concentração inibitória de 50% (IC_{50}) ($\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$) e do coeficiente de determinação (R^2) entre parênteses para os óxidos de terras raras em linhagens normais e tumorais

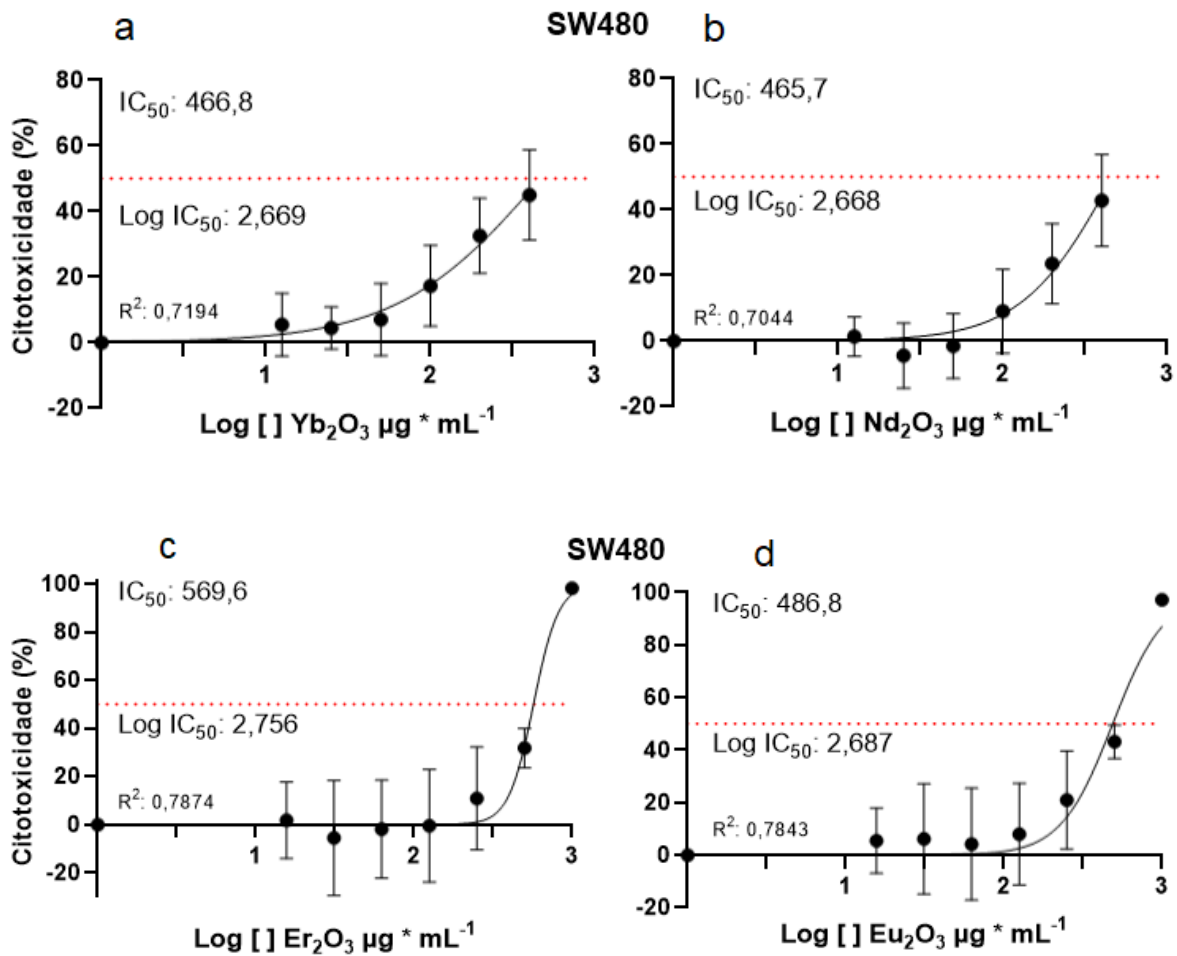
| | | Yb_2O_3 | Nd_2O_3 | Er_2O_3 | Eu_2O_3 |
|--------------------|--------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Linhagens normais | BGM | 358,8 (0,7779) | 342,8 (0,8543) | 523,8 (0,8285) | 443,5 (0,9236) |
| | Vero | 517,2 (0,9269) | 483,5 (0,8570) | 531 (0,9450) | 377,9 (0,8940) |
| Linhagens tumorais | SW480 | 466,8 (0,7194) | 465,7 (0,7044) | 569,6 (0,7874) | 486,8 (0,7843) |
| | HT-29 | 315,6 (0,8070) | 300,2 (0,9515) | 350,0 (0,9130) | 267 (0,9953) |
| | MV3 | 581,4 (0,7044) | 546,4 (0,1842) | | |
| | Hep G2 | 668,5 (0,8821) | 447,5 (0,7114) | 487,5 (0,7863) | 359,4 (0,9115) |
| | MCF7 | 523,1 (0,7288) | 257,4 (0,8059) | 527,8 (0,883) | 425,6 (0,7220) |

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Os dados sugerem que óxidos de terra rara apresentam atividade citotóxica com IC_{50} variando de $257,4 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ de Nd_2O_3 para MCF-7 até máxima de $668,5 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ de Yb_2O_3 para Hep G2.

A fim de facilitar a apresentação dos resultados, apenas alguns gráficos foram incluídos no corpo do texto, os demais para outras linhagens e óxidos testados se encontram dispostos nos Apêndices A, B, C, D e E. Na Figura 3 são exibidos os resultados de citotoxicidade obtidos para carcinoma colorretal (SW480), em gráficos de regressão não linear $\log [\text{dose}]$ vs. resposta normalizada com a porcentagem de células mortas. Este gráfico assim como os outros sugerem uma tendência ao aumento de morte celular com o aumento da concentração.

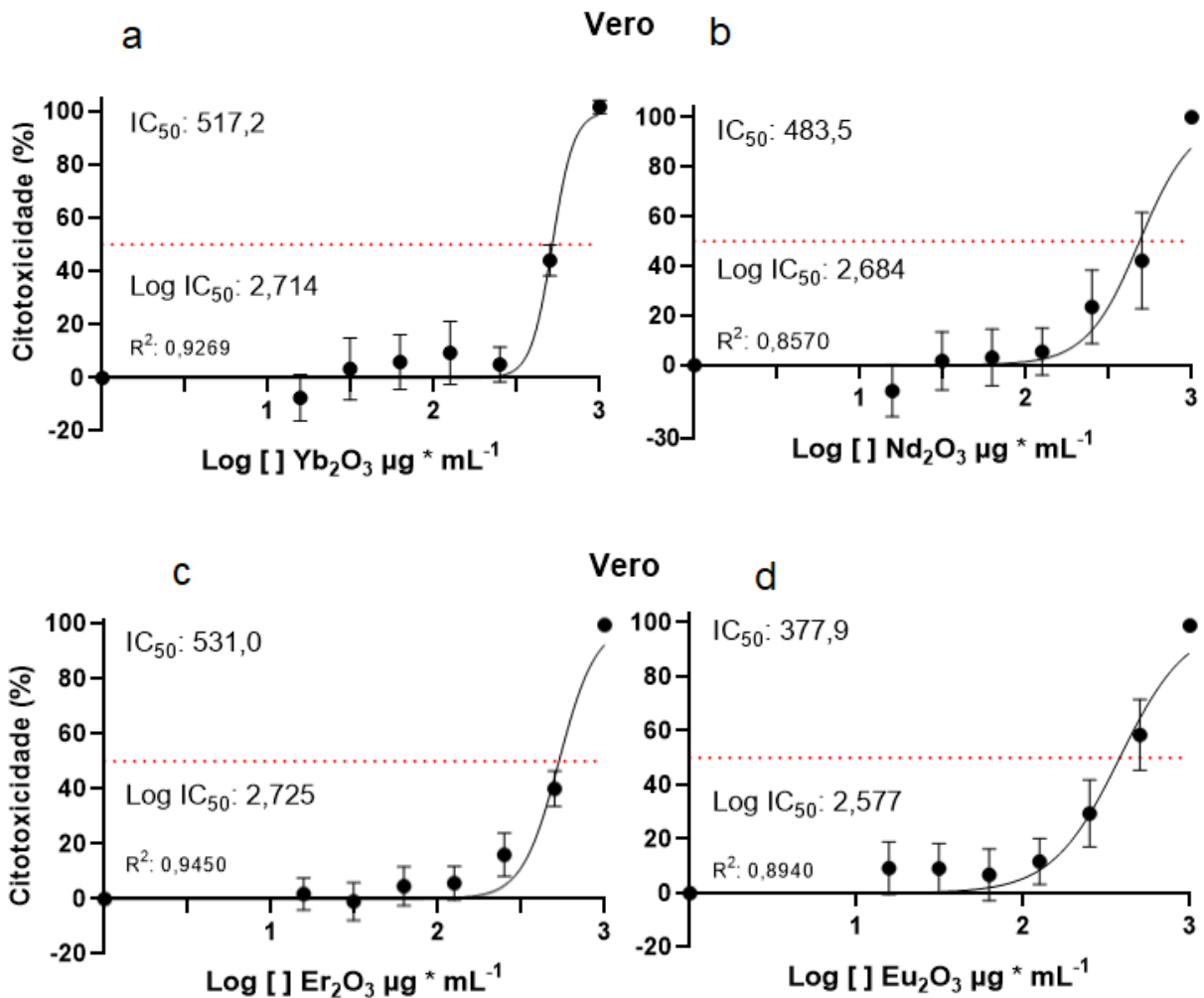
Figura 3 - Citotoxicidade de Yb_2O_3 (a), citotoxicidade de Nd_2O_3 (b), citotoxicidade de Er_2O_3 (c) e citotoxicidade de Eu_2O_3 (d) em SW480 após 48h de tratamento



Plot da regressão não-linear log [Dose] x Resposta Normalizada (porcentagens de células mortas). O valor de R^2 é a confiabilidade do valor de IC_{50} calculado. Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Na Figura 4 são exibidos os resultados de citotoxicidade obtidos para a linhagem normal de rim (Vero), em gráficos de regressão não linear log [dose] vs. resposta normalizada com a porcentagem de células mortas.

Figura 4 - Citotoxicidade de Yb_2O_3 (a), citotoxicidade de Nd_2O_3 (b), citotoxicidade de Er_2O_3 (c) e citotoxicidade de Eu_2O_3 (d) em Vero após 48h de tratamento



Plot da regressão não-linear log [Dose] x Resposta Normalizada (porcentagens de células mortas). O valor de R^2 é a confiabilidade do valor de IC_{50} calculado. Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Observa-se nos gráficos que algumas curvas exibem uma mudança mais súbita da viabilidade para a morte celular, sugerindo uma resposta mais sensível ao aumento da concentração, ao passo que outras apresentam uma inclinação mais gradual, indicando uma resistência relativa ao tratamento. Essas diferenças podem decorrer de variações nos mecanismos de ação do composto ou nos processos de resposta de cada linhagem, cujas células podem apresentar maior capacidade de endocitar dependendo da linhagem (LIU *et al.*, 2023).

Ainda sobre os dados apresentados nos gráficos, alguns dos resultados mostraram uma proliferação em baixas concentrações o que pode indicar uma dose-resposta hormética, definida como um efeito estimulatório em baixas concentrações e um efeito inibitório em concentrações mais altas (MATTSON, 2008).

Na análise da linhagem MV3, o coeficiente de determinação (R^2) do Nd_2O_3 foi de 0,18, indicando uma alta variabilidade dos dados. Ajustes experimentais, como o aumento do número de repetições e replicações, podem promover uma maior confiabilidade dos resultados. Os gráficos referentes aos testes nessa linhagem se encontram no Apêndice B.

As médias dos tratamentos foram comparadas com o controle através do teste de Dunnett (5% de significância) e seus resultados são exibidos em tabelas nos Apêndices F, G, H, I, J e K.

Estudos anteriores demonstraram que o óxido de neodímio (Nd_2O_3) apresenta citotoxicidade para diferentes tipos celulares. Em linhagem de macrófagos alveolares de ratos (NR8383), a exposição ao Nd_2O_3 ativou a sinalização de caspase-3 e NF- κ B, aumentando a síntese de quimiocinas inflamatórias o que pode ter ocasionado à morte celular (HUANG et al., 2017). Já em Hep G2 e na linhagem de câncer de pulmão (A-549), a exposição induziu a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), causou um aumento da fase apoptótica (SubG1) e elevou a expressão de genes pró-apoptóticos, como Bax, Caspase-3 e o gene supressor de tumor p53, ao mesmo tempo em que reduziu a expressão do gene anti-apoptótico bcl-2 (AHMAD et al., 2022). Esses estudos demonstram a importância de investigar as vias de sinalização de morte de celular e de geração de ERO's para entender melhor as variações de citotoxicidade entre as diferentes linhagens celulares humanas.

A inibição da viabilidade celular em NR8383 foi dependente do tempo, sendo ligeiramente maior após 24 h e 48 h do que em 12 h, já para as células Hep G2 e A-549, o estudo foi realizado apenas com tratamentos de 24 h. Em ambos os estudos, a maior concentração utilizada foi de $200 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$, porém, o IC_{50} não foi determinado (HUANG et al., 2017; AHMAD et al., 2022). Diante disso, os

experimentos apresentados neste trabalho utilizaram concentrações mais elevadas com o objetivo de determinar o IC₅₀.

No estudo de HUANG *et al.* (2017), a taxa de inibição obtida para a linhagem NR8383 após 48 h foi de cerca de 6% para 12,5 µg x mL⁻¹, ~18% para 25 µg x mL⁻¹, ~23% para 50 µg x mL⁻¹, ~26% para 100 µg x mL⁻¹ e ~33% para a maior concentração de Nd₂O₃, 200 µg x mL⁻¹. Esta linhagem mostra-se mais sensível a esse composto que a linhagem Hep G2 e Sw480 testadas neste trabalho, cujos percentuais de morte celular alcançaram 25,75% e 23,64 %, respectivamente, na concentração 200 µg x mL⁻¹, inferior aos 33% obtidos por HUANG *et al.* (2017)

Em nosso estudo a taxa de inibição da linhagem HepG2 após 48 h do tratamento com Nd₂O₃ foi 6,88% para 25 µg/mL, 14,92% para 50 µg x mL⁻¹, 19,12% para 100 µg x mL⁻¹, 25,75% para 200 µg x mL⁻¹. Já para AHMAD *et al.* (2022), a taxa de inibição obtida para essa mesma linhagem após 24 h foi 9% para 25 µg x mL⁻¹, 19% para 50 µg x mL⁻¹, 27% para 100 µg x mL⁻¹ e 32% para a maior concentração 200 µg x mL⁻¹. As taxas deste trabalho, portanto, foram similares às de AHMAD *et al.* (2022).

Já os percentuais de morte de SW480 tratados com Nd₂O₃, no nosso trabalho, 9,13% para 100 µg x mL⁻¹ e 23,64% para 200 µg x mL⁻¹, diferiram das taxas encontradas para Hep G2 em AHMAD *et al.*. Sugerindo que a linhagem SW480 é mais resistente a esse óxido do que Hep G2, sendo necessária uma maior dose para levar ao mesmo percentual de morte celular.

Para AHMAD *et al.* (2022), a taxa de inibição obtida para a linhagem A-549 foi 4% para 25 µg x mL⁻¹, 12% para 50 µg x mL⁻¹, 19% para 100 µg x mL⁻¹ e 29% para 200 µg x mL⁻¹, taxas muito similares às obtidas com o mesmo óxido (Nd₂O₃) na linhagem Hep G2 testada no presente trabalho, a exemplo, 19,12% para 100 µg x mL⁻¹. Tal similaridade sugere que esse óxido pode induzir morte celular por mecanismo similar.

Em contraste, a linhagem SW480 testada no presente trabalho apresentou uma menor morte celular sendo 23,64% para 200 µg x mL⁻¹ comparado ao obtido em A-540 para AHMAD *et al.* (2022), sugerindo uma maior resistência dessa linhagem.

Tal óxido, Nd_2O_3 sintetizado na forma de nanobastões, também foi testado em MCF7 por 24 h por WAHAB *et al.*, 2023 que obteve 38% de morte celular para $25 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$, 46% para $50 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$, 51% para $100 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$. Nos experimentos apresentados neste trabalho o percentual de morte celular deste óxido alcançou 50,80 % (MCF7) apenas na dose de $500 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ e 53,06% apenas na dose de $400 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ (Hep G2) o que é um indício de que a citotoxicidade pode ser potencializada a depender da forma como os terras raras são sintetizados, no caso, os nanobastões foram produzidos a partir de nitrato de neodímio e NaOH.

Diferenças na resposta ao tratamento em diferentes linhagens reforçam a importância de testes de compostos em diferentes tipos celulares a fim de avaliar sua eficácia e aplicações terapêuticas. Sendo assim, variações nos mecanismos do MDR de captação e efluxo de drogas nos diferentes tipos celulares podem ser um dos fatores responsáveis pelas diferentes taxas de morte celular encontradas, para averiguar essa conjectura a análise com microscopia confocal pode ser conduzida em estudos futuros.

5.2 ÍNDICE DE SELETIVIDADE

A partir dos valores das IC_{50} foram calculados os valores de IS, os quais são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – IS dos óxidos terras raras dada pela proporção do IC_{50} da linhagem normal/ IC_{50} da linhagem de câncer, os valores em itálicos indicam $\text{IS} \leq 1$

| | Yb_2O_3 | Nd_2O_3 | Er_2O_3 | Eu_2O_3 |
|-------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Vero/SW480 | 1,11 | 1,04 | <i>0,93</i> | <i>0,78</i> |
| BGM/HT-29 | 1,14 | 1,14 | 1,50 | 1,66 |
| Vero/HT-29 | 1,64 | 1,61 | 1,52 | 1,42 |
| BGM/Hep G2 | <i>0,54</i> | <i>0,77</i> | 1,07 | 1,23 |
| Vero/Hep G2 | <i>0,77</i> | 1,08 | 1,09 | 1,05 |
| BGM/MCF7 | <i>0,69</i> | 1,33 | <i>0,99</i> | 1,04 |
| Vero/MCF7 | <i>0,99</i> | 1,88 | 1,01 | <i>0,89</i> |

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Um composto que exibe valor de $IS \leq 1$ não apresenta seletividade, ou seja, induz morte celular em taxas iguais ou menores nas células tumorais que nas células normais, já compostos exibindo $IS > 1$, há seletividade e quanto maior este valor mais seletivo o composto.

Os óxidos de terra rara apresentaram efeito seletivo diferencial para as linhagens estudadas. Yb_2O_3 apresentou seletividade para as linhagens de câncer colorretal, SW480 e HT-29, sendo o mais seletivo para HT-29 comparado aos outros óxidos. Já Nd_2O_3 exibiu seletividade tanto para as linhagens de câncer colorretal quanto para Hep G2 e para MCF7, na qual houve a maior seletividade, $IS = 1,88$. Tanto Er_2O_3 , quanto Eu_2O_3 exibiram seletividade para as mesmas linhagens: HT-29, Hep G2 e MCF7, das quais obtiveram a maior seletividade para HT-29, $IS = 1,52$ e $IS = 1,66$, respectivamente.

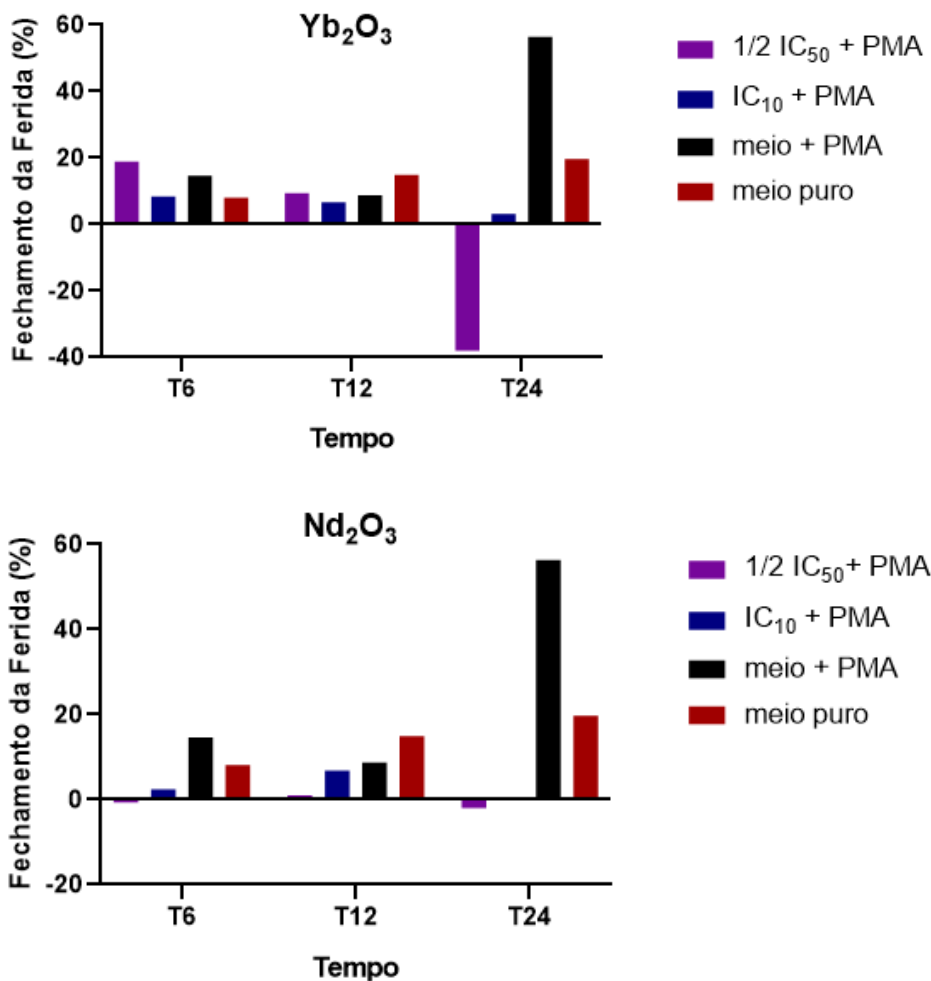
Para um composto ser considerado promissor na utilização em ensaio pré-clínico é indicado que ele possua o $IS \geq 2$ (OLIVEIRA, 2019). Para MCF7, nossos resultados preliminares demonstraram seletividade de Nd_2O_3 com $IS = 1,88$, superior a quimioterápicos em uso como doxorrubicina (DOX) e cisplatina (OLIVEIRA, 2019), enquanto para HT-29 os óxidos exibiram IS em torno de 1,4-1,6. Todos os óxidos testados apresentaram seletividade para HT-29, o que pode sugerir uma menor resistência a esses compostos. Mesmo os óxidos não exibindo $IS \geq 2$ para Vero/SW480, seus valores foram em muito superior ao de quimioterápicos utilizados no tratamento para câncer colorretal: DOX ($IS_{Vero/SW480} = 0,5$) e cisplatina ($IS_{Vero/SW480} = 0,99$) (OLIVEIRA, 2019).

5.3. ENSAIO DE MIGRAÇÃO

Os percentuais de fechamento da ferida (comparado ao tempo 0 h) do Ensaio de Cicatrização da Ferida (Wound Healing Assay) foram representados em gráficos na figura 5, comparando tratamento com Yb_2O_3 e Nd_2O_3 , adicionados de PMA, com o controle de meio puro (RPMI) e com o controle de meio contendo PMA nos três tempos 6 h, 12 h e 24 h, com exceção do tratamento de $IC_{10} Nd_2O_3$, todos os tratamentos e controles tiveram fotografias tiradas após 24h. As fotos dos

tratamentos são apresentadas nos Apêndices L, M, N, O, P e Q. Os resultados obtidos no experimento Fence Assay mostraram que o controle contendo meio com PMA obteve um aumento marcante do fechamento da fenda em 24h, com 56,33 %, enquanto no meio puro o aumento foi de 19,72 % em 24h.

Figura 5 - Fechamento da ferida (%) nos tempos 6, 12 e 24 h para os tratamentos com Yb_2O_3 , IC_{10} e $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$ obtidas para SW480 (gráfico superior), e Nd_2O_3 , IC_{10} e $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$ obtida para SW480 (gráfico inferior), e para os controles, meio + PMA e meio puro

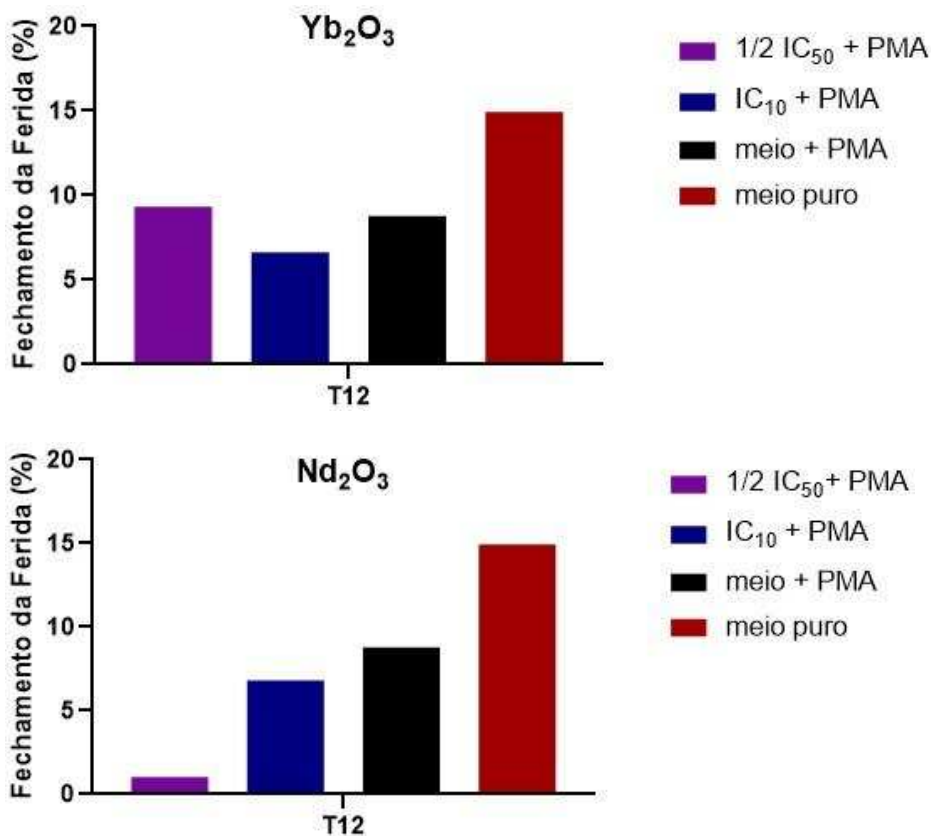


Fechamento da ferida (%) nos tempos 0, 6, 12 e 24 h para os tratamentos com Yb_2O_3 , IC_{10} e $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$ obtidas para SW480 (gráfico superior), e Nd_2O_3 , IC_{10} e $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$ obtida para SW480 (gráfico inferior), ambos os gráficos incluindo os percentuais nos respectivos tempos dos controles, meio + PMA e meio puro, aplicados em poços com a linhagem SW480. Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Na figura 6 podemos ver mais claramente a comparação entre os tratamentos e os controles no tempo de 12 h. No tratamento nesse intervalo com o IC_{10} de Yb_2O_3 e Nd_2O_3 (adicionados de PMA), houve um fechamento da fenda de

6,62 % e 6,81 %, respectivamente, evidenciando um efeito semelhante desses dois óxidos na linhagem de câncer colorretal. Já o controle de PMA com meio nesse mesmo período apresentou um fechamento de 8,79 %, enquanto o controle com meio puro foi de 14,92 %.

Figura 6 - Fechamento da ferida (%) no tempo 12 h para os tratamentos com Yb_2O_3 , IC_{10} e $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$ obtidas para SW480 (gráfico superior), e Nd_2O_3 , IC_{10} e $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$ obtida para SW480 (gráfico inferior), e para os controles, meio + PMA e meio puro



Fechamento da ferida (%) no tempo 12 h para os tratamentos com Yb_2O_3 , IC_{10} e $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$ obtidas para SW480 (gráfico superior), e Nd_2O_3 , IC_{10} e $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$ obtida para SW480 (gráfico inferior), ambos os gráficos incluindo os percentuais nos respectivos tempos dos controles, meio + PMA e meio puro, aplicados em poços com a linhagem SW480. Elaborada pelo próprio autor.

Os resultados de Yb_2O_3 e Nd_2O_3 indicam que estes óxidos de terras raras apresentaram um forte efeito inibidor na migração não direcional em linhagens de câncer colorretal tratadas com PMA (indutor de migração), comparado com o controle com PMA sem os óxidos no qual houve um alto percentual de migração. Tendo em vista o comportamento migratório das células de câncer, sua inibição por

compostos é pertinente ao tratamento contra o câncer e portanto, é interessante que uma investigação mais ampla seja feita com outras linhagens.

Até então, não foram encontrados na literatura estudos demonstrando efeito direto de óxidos de terras raras, como Yb_2O_3 , Nd_2O_3 , Er_2O_3 e Eu_2O_3 , sobre a migração celular na linhagem de câncer SW480, portanto este trabalho se destaca pelo papel inédito na investigação destes compostos como inibidores de migração celular em células de câncer.

No ensaio de cicatrização da ferida realizado por ALI e colaboradores (2024), complexos de terras raras (Er e Eu) testados em linhagem normal de fibroblastos (NIH/3T3) demonstraram estimular a migração celular após 24 horas, enquanto os complexos de terra raras, um contendo o elemento disprósio e o outro contendo o térbio, demonstraram um efeito oposto ao aumentar a área da lacuna no mesmo período. Ainda nesse estudo, os resultados sugerem que o complexo de térbio aumentou a lacuna em 25% após 48 horas. Esses resultados diferiram significativamente do controle negativo. Portanto, é interessante que óxidos de terras raras, os mesmos deste trabalho ou outros, sejam testados em novas linhagens, tanto tumorais quanto normais, a fim de avaliar diferenças de resposta entre diferentes tipos celulares e entre os diferentes óxidos de terras raras.

6. CONCLUSÃO

Por fim, os resultados obtidos indicam que os óxidos de terras raras apresentam efeito citotóxico para as linhagens tumorais humanas testadas. Destes, o óxido Nd_2O_3 exibiu a maior seletividade, com $\text{IS} = 1,88$, para as linhagens Vero/MCF7, e também demonstrou efeito seletivo para as linhagens de câncer colorretal SW480 e HT29. Enquanto Yb_2O_3 exibiu seletividade para a linhagem SW480 próxima de 1; para a linhagem Hep G2 foi encontrada seletividade próxima de 1 com Nd_2O_3 , Er_2O_3 e Eu_2O_3 , ademais todos os terras raras foram seletivos para HT29. Já para MCF7 foi encontrada seletividade com os óxidos Nd_2O_3 , Er_2O_3 e Eu_2O_3 . Além disso, os experimentos de migração não direcional demonstraram que as células de câncer colorretal tratadas com os óxidos Yb_2O_3 e Nd_2O_3 (adicionados de PMA) exibiram alta inibição da migração comparada ao controle contendo indutor de migração. Tendo em vista a importância do comportamento migratório das células de câncer, sua inibição por compostos pode ser relevante para a terapêutica contra o câncer.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente trabalho, em conjunto aos estudos citados, apontam para o potencial dos terras raras na terapia fotodinâmica, notavelmente pela sua absorção em diferentes comprimentos de onda e estabilidade térmica que permite um uso mais direcionado e controlado no tecidos-alvos. Ademais, a TFD possui como vantagem a prevenção de efeitos colaterais em tecidos saudáveis ao incidir luz apenas no tecido ou órgão doente.

Tendo em consideração que neste trabalho as diluições de terras raras foram acondicionadas de modo a se evitar ao máximo sua exposição a luz, é interessante que futuros experimentos explorem como a incidência luminosa, por diferentes períodos de tempo e em diferentes comprimentos de onda, pode afetar o potencial citotóxico dos óxidos aqui estudados. Adicionalmente, a seletividade desses óxidos pode ser aprimorada por meio de formulações combinadas com outros compostos ou nanomateriais e submetidos a testes de citotoxicidade.

Dada a busca por contornar o MDR por meio de nanotecnologia e terapia fotodinâmica e as vantagens dos terras raras neste tipo de abordagem, torna-se atraente que esses sejam explorados em diferentes combinações de modo a considerar a gama de múltiplos mecanismos pelos quais a MDR se desenvolve. Diante disto, experimentos que avaliam o efeito do tratamento de terras raras nas vias de apoptose e nas vias de produção de EROs, sobretudo comparando o efeito entre os diferentes elementos, e possíveis sinergias, podem embasar uma melhor compreensão da indução da morte celular ocasionada pelos terras raras. Assim como auxiliar no desenvolvimento de novas tecnologias e formulações para aplicação na clínica médica. Além disso, o potencial inibitório de migração celular dos óxidos de terras raras pode vir a ser investigado em mais linhagens de câncer a fim de avaliar seu possível efeito mais amplo e a diferença de resposta entre essas linhagens.

Somado a isso, é fundamental que mais replicações dos experimentos preliminares realizados que ainda não foram conduzidos em triplicata sejam realizados, de modo a confirmar ou reavaliar seus resultados obtidos.

REFERÊNCIAS

- ADACHI, Gin-ya; IMANAKA, Nobuhito. **The binary rare earth oxides**. Chemical reviews, v. 98, n. 4, p. 1479-1514, 1998.
- ADEEL, Muhammad *et al.* **Bioaccumulation of ytterbium oxide nanoparticles insinuate oxidative stress, inflammatory, and pathological lesions in ICR mice**. Environmental Science and Pollution Research, v. 27, p. 32944-32953, 2020.
- AHMAD, Javed *et al.* **Neodymium oxide nanostructures and their cytotoxic evaluation in human cancer cells**. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, v. 73, p. 127029, 2022.
- ALI, Wajid *et al.* **Lanthanide complexes facilitate wound healing by promoting fibroblast viability, migration and M2 macrophage polarization**. Dalton Transactions, v. 53, n. 1, p. 65-73, 2024.
- BAÊTA, Jefferson Viktor de Paula Barros. **Síntese e avaliação da atividade antimelanoma in vitro, in silico e in vivo do 2-alil-1, 3-difenil-1, 3-propanodiona**. 2019. Tese (Doutorado em Bioquímica Aplicada) - Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, MG, 2019. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/25684>. Acesso em: 26 de jan. de 2023.
- BAETA, Jefferson Viktor *et al.* **Allyl Dibenzoylmethane Derivative: Antimelanoma Activity and Study of Its Molecular Mechanism of Interaction with DNA**. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 32, n. 7, p. 1491-1497, 2021.
- BAGULEY, Bruce C. **Multidrug resistance in cancer**. Methods in Molecular Biology, v. 596 p. 1-14, 2010.
- BALLABH, praveen, *et al.* **The blood–brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications**. Neurobiology of disease, v. 16, n. 1, p. 1-13, 2004.
- BOTTRILL, Melanie; KWOK, Lilian; LONG, Nicholas J. **Lanthanides in magnetic resonance imaging**. Chemical Society Reviews, v. 35, n. 6, p. 557-571, 2006.
- BROKER, Linda E.; KRUYT, Frank AE; GIACCONE, Giuseppe. **Cell death independent of caspases: a review**. Clinical Cancer Research, v. 11, n. 9, p. 3155-3162, 2005.
- CHEN, Guanying *et al.* **Upconversion nanoparticles: design, nanochemistry, and applications in theranostics**. Chemical reviews, v. 114, n. 10, p. 5161-5214, 2014.
- CHEN, Yong *et al.* **Nano neodymium oxide induces massive vacuolization and autophagic cell death in non-small cell lung cancer NCI-H460 cells**. Biochemical and biophysical research communications, v. 337, n. 1, p. 52-60, 2005.
- CHENG, Guilin *et al.* **Cerium oxide nanoparticles induce cytotoxicity in human hepatoma SMMC-7721 cells via oxidative stress and the activation of MAPK signaling pathways**. Toxicology in Vitro, v. 27, n. 3, p. 1082-1088, 2013.
- CHOURMOUZI, Danai *et al.* **Imaging of brain tumors**. Surgical Oncology Clinics, v. 23, n. 4, p. 629-684, 2014.
- COTTON, Simon. **Lanthanide and actinide chemistry**. 2. ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, 2024. Disponível em: <https://www.wiley.com/en-br/Lanthanide+and+Actinide+Chemistry%2C+2nd+Edition-p-9781118873465>. Acesso em: 01 de fev. de 2025.
- DAMHUS, Ture, *et al.* **NOMENCLATURE OF INORGANIC CHEMISTRY IUPAC Recommendations 2005**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2005. Disponível em: https://publications.iupac.org/books/rbook/Red_Book_2005.pdf. Acesso em: 15 fev. 2025.

DANEMAN, Richard; PRAT, Alexandre. **The blood–brain barrier**. Cold Spring Harbor perspectives in biology, v. 7, n. 1, p. a020412, 2015.

DUAN, Chunyan *et al.* **Overcoming Cancer Multi-drug Resistance (MDR): Reasons, mechanisms, nanotherapeutic solutions, and challenges**. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 162, p. 114643, 2023.

EMRAN, Talha Bin *et al.* **Multidrug resistance in cancer: understanding molecular mechanisms, immunoprevention and therapeutic approaches**. Frontiers in Oncology, v. 12, p. 891652, 2022.

FANG, Fang *et al.* **Near-infrared thermally activated delayed fluorescence nanoparticle: a metal-free photosensitizer for two-photon-activated photodynamic therapy at the cell and small animal levels**. Small, v. 18, n. 6, p. 2106215, 2022.

FDA - U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION**. FDA, 2011. Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/020451s020lbl.pdf. Acesso em: 12 fev. 2025.

FDA - U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION**. FDA, 2018. Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/021037s037s038lbl.pdf. Acesso em: 12 fev. 2025.

FRIEDL, Peter; WOLF, Katarina. **Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms**. Nature reviews cancer, v. 3, n. 5, p. 362-374, 2003.

GAI, Shili *et al.* **Recent progress in rare earth micro/nanocrystals: soft chemical synthesis, luminescent properties, and biomedical applications**. Chemical reviews, v. 114, n. 4, p. 2343-2389, 2014.

GHIASSI, Kamran B.; OLMSTEAD, Marilyn M.; BALCH, Alan L. **Gadolinium-containing endohedral fullerenes: structures and function as magnetic resonance imaging (MRI) agents**. Dalton Transactions, v. 43, n. 20, p. 7346-7358, 2014.

GLOBAL CANCER OBSERVATORY (GCO). **Absolute numbers, Incidence, Both sexes, in 2022**. 2022. Disponível em: https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&sexes=0&types=0. Acesso em: 10 de fev. de 2025.

GLOBAL CANCER OBSERVATORY (GCO). **Absolute numbers, Incidence, Females, in 2022**. 2022. Disponível em: https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&sexes=2&types=0. Acesso em: 10 de fev. de 2025.

GLOBAL CANCER OBSERVATORY (GCO). **Absolute numbers, Incidence, Males, in 2022**. 2022. Disponível em: https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&sexes=1&types=0. Acesso em: 10 de fev. de 2025.

GLOBAL CANCER OBSERVATORY (GCO). **Absolute numbers, Mortality, Both sexes, in 2022**. 2022. Disponível em: https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&sexes=0&types=1. Acesso em: 10 de fev. de 2025.

GOONAN, Thomas G. **Rare earth elements: End use and recyclability**. Reston, VA, USA: US Department of the Interior, US Geological Survey, 2011. Disponível em: <https://pubs.usgs.gov/sir/2011/5094/pdf/sir2011-5094.pdf>. Acesso em: 10 de jan. de 2025.

GUAN, Xiangming. **Cancer metastases: challenges and opportunities**. Acta pharmaceutica sinica B, v. 5, n. 5, p. 402-418, 2015.

GUO, Xingyuan *et al.* **Effect of NaF/RE (RE= Yb, Tm) molar ratio on the morphologies and upconversion properties of NaYbF₄: Tm³⁺ microrods**. Journal of Fluorine Chemistry, v. 200, p. 91-95, 2017.

HEDRICK, James B. **Rare-earth metal prices in the USA ca. 1960 to 1994**. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 250, n. 1-2, p. 471-481, 1997.

HUANG, Li Hua *et al.* **Neodymium oxide induces cytotoxicity and activates NF- κ B and caspase-3 in NR8383 cells**. *Biomedical and Environmental Sciences*, v. 30, n. 1, p. 75-78, 2017.

HURST, Cindy. **China's rare earth elements industry: What can the west learn?**. Institute for the Analysis of Global Security (IAGS), 2010. Disponível em: <http://www.iags.org/rareearth0310hurst.pdf>. Acesso em: 10 de fev. de 2025.

INAGAKI, Kazumi; HARAGUCHI, Hiroki. **Determination of rare earth elements in human blood serum by inductively coupled plasma mass spectrometry after chelating resin preconcentration**. *Analyst*, v. 125, n. 1, p. 191-196, 2000.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Estimativa | 2023: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2022. ISBN 978-65-88517-10-9. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>. Acesso em: 10 de fev. de 2025.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Tratamento do câncer**. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tratamento/>. Acesso em: 5 de fev. de 2024.

JANIK, Marcelina E.; LITYŃSKA, Anna; VERECKEN, Pierre. **Cell migration—the role of integrin glycosylation**. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, v. 1800, n. 6, p. 545-555, 2010.

JOMAA, Malek *et al.* **Toxicokinetics of rare earth element oxides administered intravenously to rats**. *Chemosphere*, v. 349, p. 140895, 2024.

KAMILOGLU, Senem *et al.* **Guidelines for cell viability assays**. *Food Frontiers*, v. 1, n. 3, p. 332-349, 2020.

KRAMER, Nina *et al.* **In vitro cell migration and invasion assays**. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, v. 752, n. 1, p. 10-24, 2013.

KUMI-BARIMAH, E., Chen, Y., Tenwick, R., Al-Murish, M., Sherma, G., & Jha, A. **Effect of Yb³⁺ on the structural and visible to near-infrared wavelength photoluminescence properties in Sm³⁺-Yb³⁺-codoped barium fluorotellurite glasses**. *Materials*, 15(9), 3314, 2022.

LARSEN, Jessica; R. MARTIN, Douglas; E. BYRNE, Mark. **Recent advances in delivery through the blood-brain barrier**. *Current topics in medicinal chemistry*, v. 14, n. 9, p. 1148-1160, 2014.

LI, H., Liu, H., Wong, K. L., & All, A.. **Lanthanide-doped upconversion nanoparticles as nanoprobes for bioimaging**. *Biomaterials science*, 2024.

LIU, L. *et al.* **Single-cell diagnosis of cancer drug resistance through the differential endocytosis of nanoparticles between drug-resistant and drug-sensitive cancer cells**. *ACS nano*, 17(19), 2023.

LIU, Thomas T. **MRI in systems medicine**. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, v. 12, n. 1, p. e1463, 2020.

LOHRKE, Jessica *et al.* **25 years of contrast-enhanced MRI: developments, current challenges and future perspectives**. *Advances in therapy*, v. 33, p. 1-28, 2016.

LU, Victor M.; MCDONALD, Kerrie L.; TOWNLEY, Helen E. **Realizing the therapeutic potential of rare earth elements in designing nanoparticles to target and treat glioblastoma**. *Nanomedicine*, v. 12, n. 19, p. 2389-2401, 2017.

MATTSON, Mark P. **Hormesis defined**. *Ageing research reviews*, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2008.

NASCIMENTO, Fernanda R. *et al.* **New antineoplastic agent based on a dibenzoylmethane derivative: Cytotoxic effect and direct interaction with DNA**. *Biophysical Chemistry*, v. 239, p. 1-6, 2018.

NCI - NATIONAL CANCER INSTITUTE. **What is cancer?** 2021. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. Acesso em: 05 de fev. de 2025.

NDAGI, Umar; MHLONGO, Ndumiso; SOLIMAN, Mahmoud E. **Metal complexes in cancer therapy—an update from drug design perspective**. Drug design, development and therapy, p. 599-616, 2017.

NIH - NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **Understanding cancer**. National Library of Medicine, Curriculum Supplement Series, 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20362/>. Acesso em: 10 de fev. de 2025.

O'CONNOR, Aisling E.; GALLAGHER, William M.; BYRNE, Annette T. **Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: preclinical and clinical advances in photodynamic therapy**. Photochemistry and photobiology, v. 85, n. 5, p. 1053-1074, 2009.

OLIVEIRA, Mariá Aparecida Braga Rocha. **Avaliação da atividade antitumoral in vitro do derivado de dibenzoilmetano, 1-[(4'-iso-propil) fenil]-2-propano-3-fenil-1, 3-propanodiona (IP2-DBM), em linhagens de melanoma, glioma e adenocarcinoma do colorretal**. 2019. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e estrutural) – Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2019. Disponível em: <https://locus.ufv.br/items/d3f2d8d6-4642-4466-b42d-47452a730bcd>. Acesso em: 26 de jan. de 2023.

REZENDE, Thaís KL *et al.* **Upconversion rare Earths nanomaterials applied to photodynamic therapy and bioimaging**. Frontiers in Chemistry, v. 10, p. 1035449, 2022.

SERQUEIRA, E. O.. **Caracterização e estudo das propriedades ópticas de íons de Neodímio em uma matriz vítrea à base de óxidos**. 2005. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 2005. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/15660>. Acesso em: 26 de jan. de 2023.

SOUSA, J. F. D. **Luminescência e transferência de energia Er³⁺ → Dy³⁺ em vidros fluorogermanatos**. 2019. Dissertação (Mestrado em Física) - Instituto de Física, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas, 2019. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/5625/1/Luminesc%C3%Aancia%20e%20transfer%C3%Aancia%20de%20energia%20Er3%2B%20E2%86%92Dy3%2B%20em%20vidros%20fluorogermanatos.pdf>. Acesso em: 26 de jan. de 2023.

SUNG, Hyuna *et al.* **Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries**. CA: a cancer journal for clinicians, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

TAHA, D. M. *et al.* **Review article about Magnetic Resonance Imaging (MRI)**. European Journal of Theoretical and Applied Sciences, v. 2, n. 5, p. 530–535, 2024.

TANG, A., *et al.* **Synthesis and luminescent properties of novel red emitting phosphor InNbO₄: Eu³⁺ for white light emitting diodes**. Optoelectronics and Advanced Materials-Rapid Communications, pp. 15-17, 2014.

TEO, Ruijie D.; TERMINI, John; GRAY, Harry B. **Lanthanides: applications in cancer diagnosis and therapy: miniperspective**. Journal of medicinal chemistry, v. 59, n. 13, p. 6012-6024, 2016.

TRACHOOTHAM, D., *et al.* **Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach?**. Nature reviews Drug discovery, 8(7), 579-591, 2009.

VICTOR, Sunita Prem *et al.* **Neodymium doped hydroxyapatite theranostic nanoplatfoms for colon specific drug delivery applications**. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 145, p. 539-547, 2016.

WAHAB, Rizwan *et al.* **A cytological efficiency evaluation study of rare earth and carbon based material against breast cancer cells**. Journal of King Saud University-Science, v. 35, n. 8, p. 102869, 2023.

WEI, Guoqing *et al.* **Recent progress in nanomedicine for enhanced cancer chemotherapy**. Theranostics, v. 11, n. 13, p. 6370, 2021.

WEISSLEDER, Ralph. **A clearer vision for in vivo imaging**. Nature biotechnology, v. 19, n. 4, p. 316-317, 2001.

WESBEY, G. E. *et al.* **Effect of gadolinium-DTPA on the magnetic relaxation times of normal and infarcted myocardium**. Radiology, v. 153, n. 1, p. 165-169, 1984.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Cancer Burden growing, Amidst Mounting Need for Services**. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>. Acesso em: 10 de fev. de 2025.

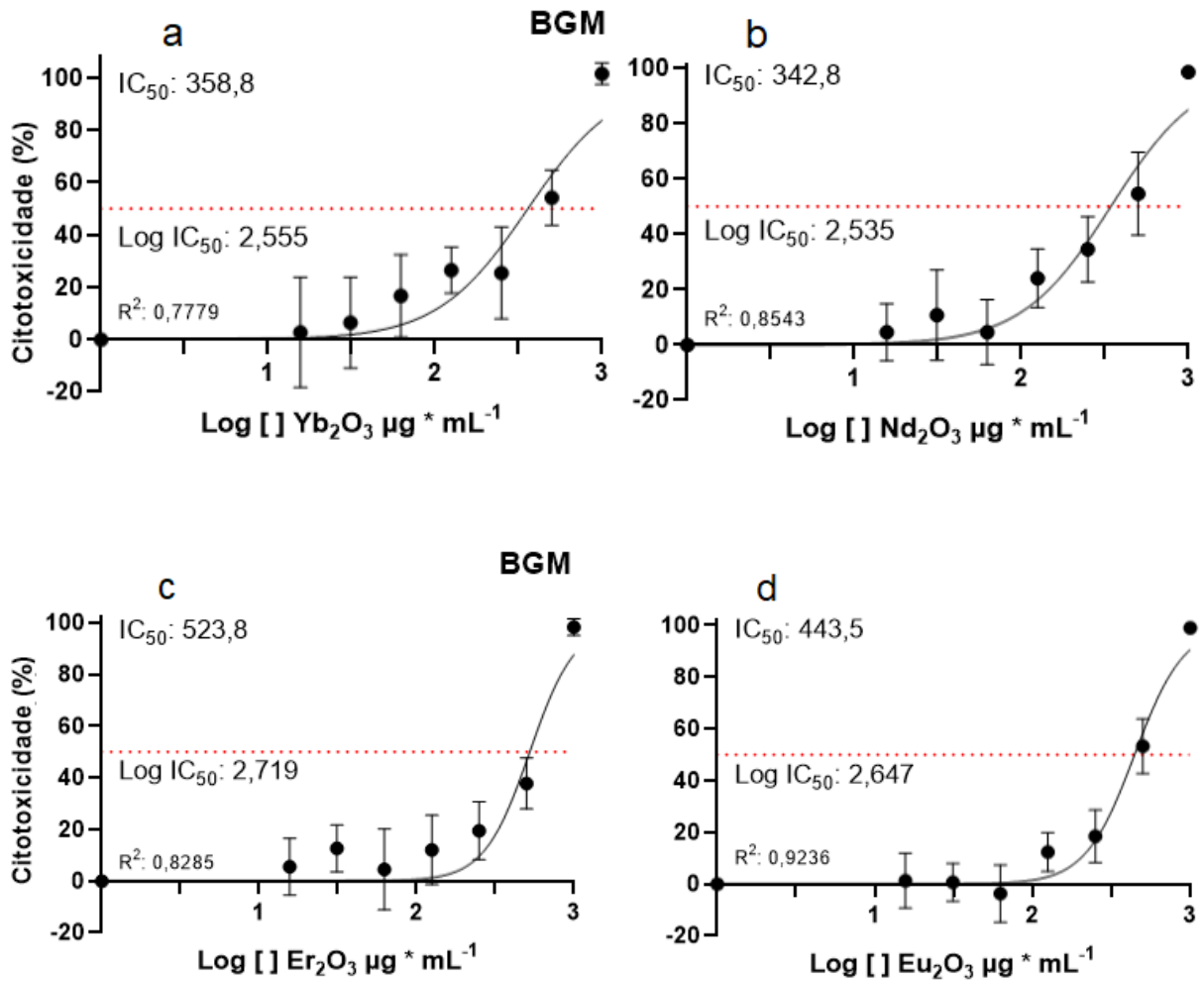
WU, Weiqiang *et al.* **Caffeic acid phenethyl ester (cape) mediated decrease in metastasis of colon cancer cells: an in vitro and in vivo study**. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, v. 14, n. 5, p. 63-71, 2017.

YIN, Qi *et al.* **Reversal of multidrug resistance by stimuli-responsive drug delivery systems for therapy of tumor**. Advanced drug delivery reviews, v. 65, n. 13-14, p. 1699-1715, 2013.

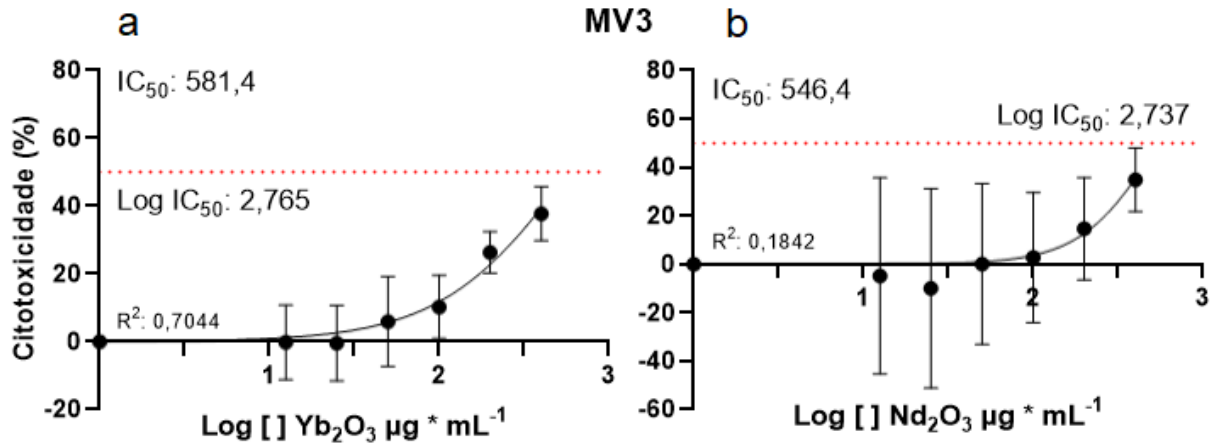
ZENG, Leyong *et al.* **Doxorubicin-loaded NaYF₄: Yb/Tm-TiO₂ inorganic photosensitizers for NIR-triggered photodynamic therapy and enhanced chemotherapy in drug-resistant breast cancers**. Biomaterials, v. 57, p. 93-106, 2015.

ZHANG, Xinyu *et al.* **Controlled Synthesis of Ultrathin Lanthanide Oxide Nanosheets and Their Promising pH-Controlled Anticancer Drug Delivery**. Chemistry—A European Journal, v. 21, n. 34, p. 11954-11960, 2015.

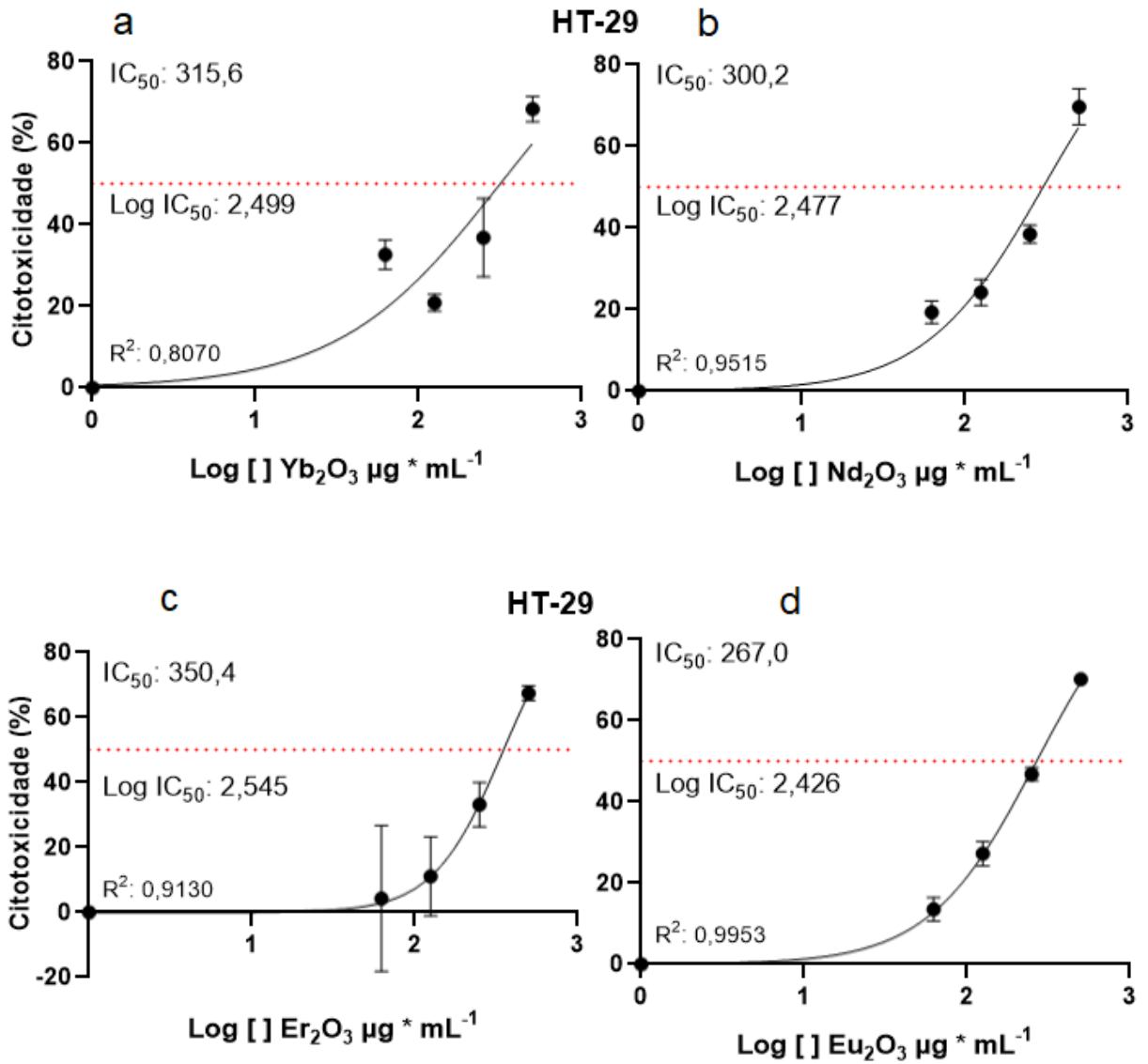
APÊNDICE A - GRÁFICOS DE CITOTOXICIDADE DOS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS PARA LINHAGEM DE CÉLULAS NORMAIS DE RIM DE MACACO (BGM) COM 48 H DE TRATAMENTO



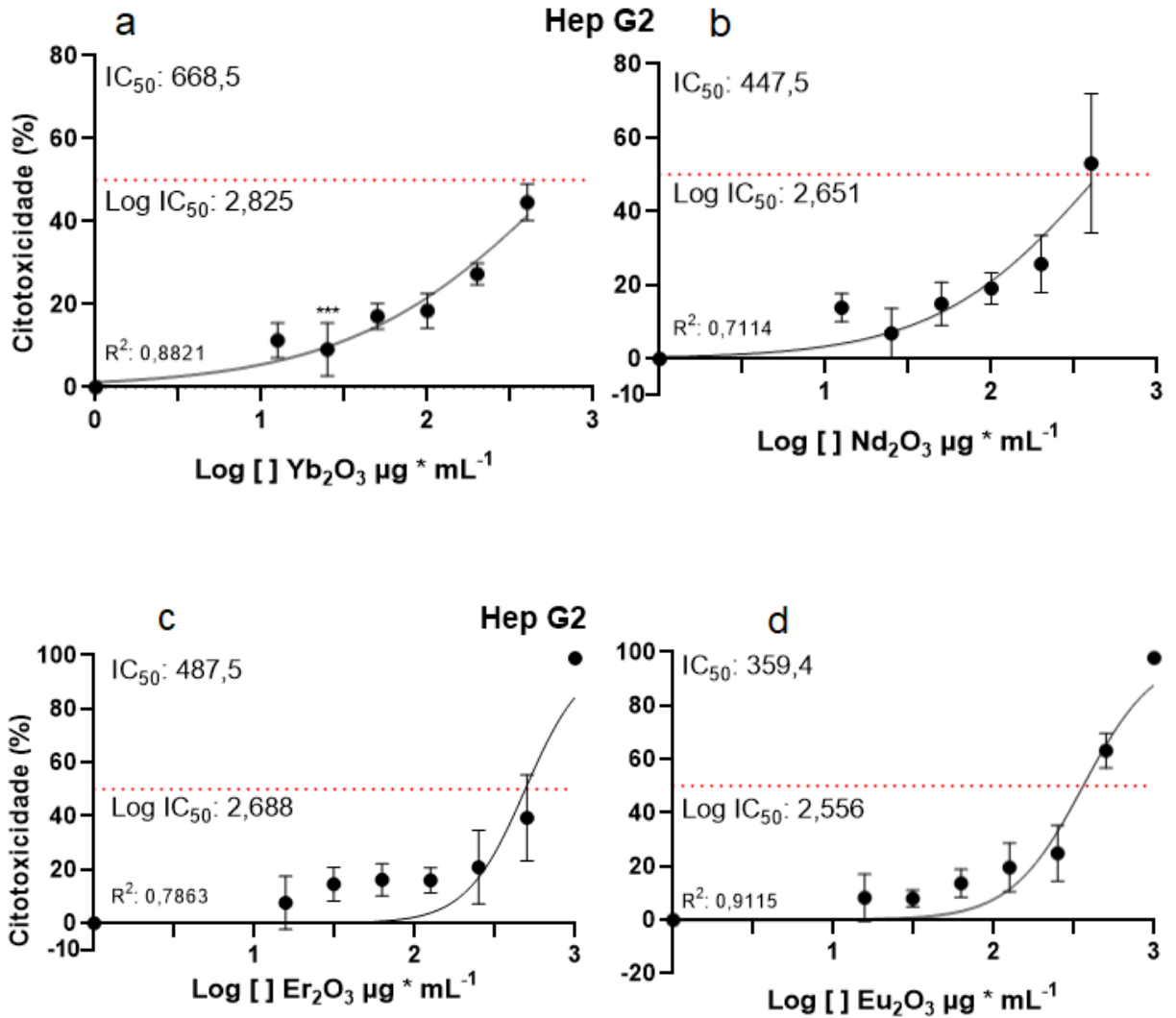
APÊNDICE B - GRÁFICOS DE CITOTOXICIDADE DO ÓXIDO DE ITÉRBIO (III) E DO ÓXIDO DE NEODÍMIO (III) PARA A LINHAGEM DE MELANOMA HUMANO (MV3) COM 48 H DE TRATAMENTO



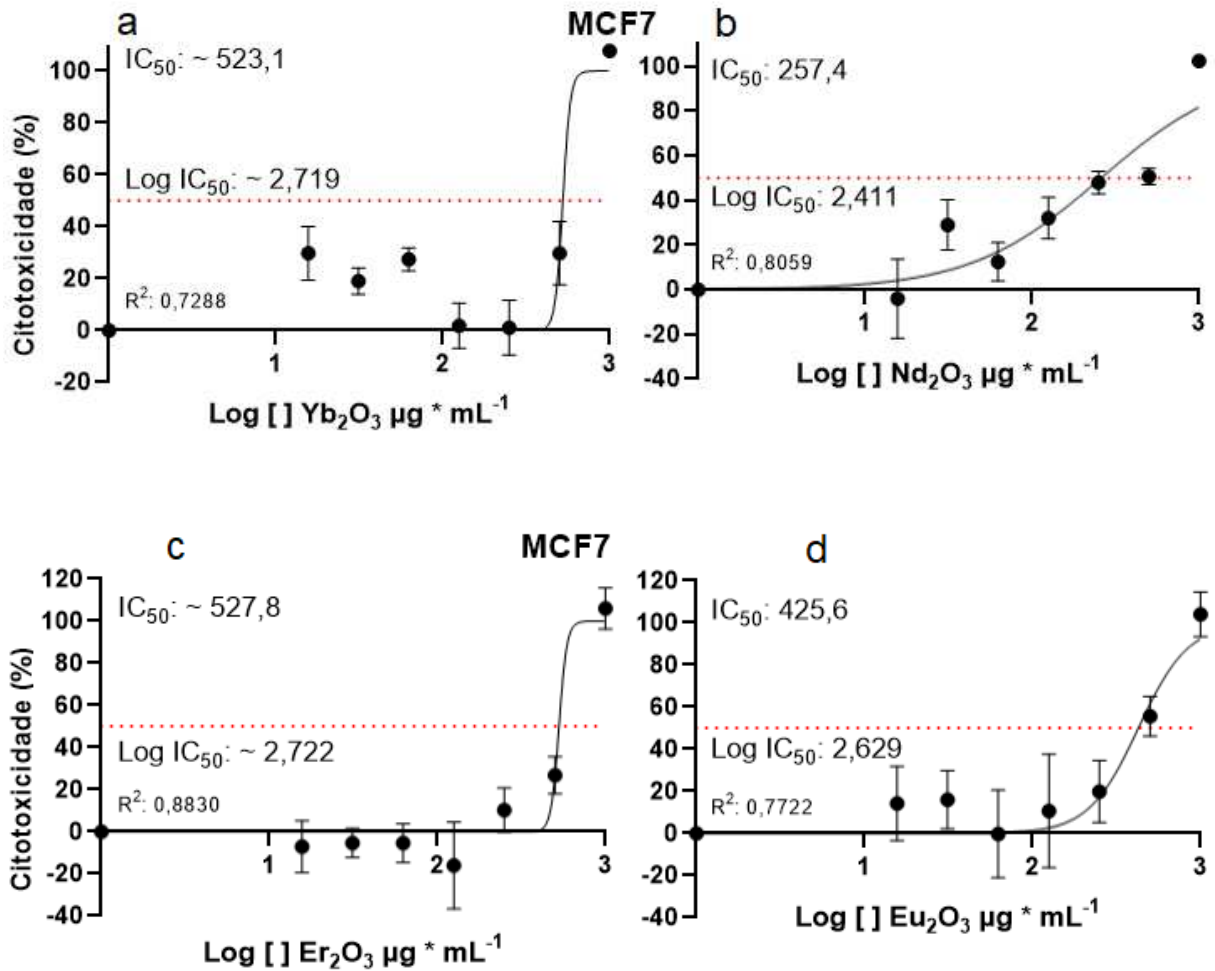
APÊNDICE C - GRÁFICOS DE CITOTOXICIDADE DOS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS PARA A LINHAGEM DE CÂNCER COLORRETAL HUMANO (HT-29) COM 48 H DE TRATAMENTO



APÊNDICE D - GRÁFICOS DE CITOTOXICIDADE DOS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS PARA A LINHAGEM DE CÂNCER HEPÁTICO HUMANO (HEP G2) COM 48 H DE TRATAMENTO



APÊNDICE E - GRÁFICOS DE CITOTOXICIDADE DOS QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS PARA A LINHAGEM DE CÂNCER DE MAMA HUMANO (MCF7) COM 48 H DE TRATAMENTO



APÊNDICE F - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA OS
QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS NAS LINHAGENS VERO E BGM

| Óxido de terra rara | Concentração do tratamento ($\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$) | Vero | | BGM | |
|--------------------------------|--|------------------|--------|------------------|--------|
| | | p-valor ajustado | resumo | p-valor ajustado | resumo |
| Yb ₂ O ₃ | 15,625 | 0,1478 | ns | 0,9969 | ns |
| | 31,25 | 0,8462 | ns | 0,7714 | ns |
| | 62,5 | 0,3278 | ns | 0,0203 | * |
| | 125 | 0,034 | * | <0,0001 | **** |
| | 250 | 0,5059 | ns | 0,0001 | *** |
| | 500 | <0,0001 | **** | <0,0001 | **** |
| | 1000 | <0,0001 | **** | <0,0001 | **** |
| Nd ₂ O ₃ | 15,625 | 0,1684 | ns | 0,8721 | ns |
| | 31,25 | 0,9994 | ns | 0,1198 | ns |
| | 62,5 | 0,9839 | ns | 0,8359 | ns |
| | 125 | 0,7614 | ns | <0,0001 | **** |
| | 250 | <0,0001 | **** | <0,0001 | **** |
| | 500 | <0,0001 | **** | <0,0001 | **** |
| | 1000 | <0,0001 | **** | <0,0001 | **** |
| Er ₂ O ₃ | 15,625 | 0,9555 | ns | 0,6582 | ns |
| | 31,25 | 0,9994 | ns | 0,0265 | * |
| | 62,5 | 0,2518 | ns | 0,8166 | ns |
| | 125 | 0,1051 | ns | 0,0321 | * |
| | 250 | <0,0001 | **** | 0,0001 | *** |
| | 500 | <0,0001 | **** | <0,0001 | **** |
| | 1000 | <0,0001 | **** | <0,0001 | **** |
| Eu ₂ O ₃ | 15,625 | 0,0799 | ns | 0,9979 | ns |
| | 31,25 | 0,0846 | ns | 0,9997 | ns |
| | 62,5 | 0,3899 | ns | 0,8195 | ns |
| | 125 | 0,0136 | * | 0,0031 | ** |
| | 250 | <0,0001 | **** | <0,0001 | **** |
| | 500 | <0,0001 | **** | <0,0001 | **** |
| | 1000 | <0,0001 | **** | <0,0001 | **** |

APÊNDICE G - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA O ÓXIDO DE ITÉRBIO (III) E O ÓXIDO DE NEODÍMIO (III) NA LINHAGEM DE MELANOMA HUMANO (MV3)

| Óxido de terra rara | Concentração do tratamento ($\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$) | p-valor ajustado | resumo |
|-------------------------|--|------------------|--------|
| Yb_2O_3 | 12,5 | >0,9999 | ns |
| | 25 | 0,9999 | ns |
| | 50 | 0,4424 | ns |
| | 100 | 0,0452 | * |
| | 200 | <0,0001 | **** |
| | 400 | <0,0001 | **** |
| Nd_2O_3 | 12,5 | 0,9973 | ns |
| | 25 | 0,9048 | ns |
| | 50 | >0,9999 | ns |
| | 100 | 0,9996 | ns |
| | 200 | 0,6416 | ns |
| | 400 | 0,0198 | * |

APÊNDICE H - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA OS
QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS NA LINHAGEM DE CÂNCER
COLORRETAL HUMANO (SW480)

| Óxido de terra rara | Concentração do tratamento ($\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$) | p-valor ajustado | resumo |
|--------------------------------|--|------------------|--------|
| Yb ₂ O ₃ | 12,5 | 0,5898 | ns |
| | 25 | 0,7634 | ns |
| | 50 | 0,3575 | ns |
| | 100 | 0,0008 | *** |
| | 200 | <0,0001 | **** |
| | 400 | <0,0001 | **** |
| Nd ₂ O ₃ | 12,5 | 0,9995 | ns |
| | 25 | 0,8163 | ns |
| | 50 | 0,9995 | ns |
| | 100 | 0,1463 | ns |
| | 200 | <0,0001 | **** |
| | 400 | <0,0001 | **** |
| Er ₂ O ₃ | 15,625 | 0,9996 | ns |
| | 31,25 | 0,9474 | ns |
| | 62,5 | 0,9996 | ns |
| | 125 | >0,9999 | ns |
| | 250 | 0,4646 | ns |
| | 500 | 0,0001 | *** |
| | 1000 | <0,0001 | **** |
| | | | |
| Eu ₂ O ₃ | 15,625 | 0,9052 | ns |
| | 31,25 | 0,8447 | ns |
| | 62,5 | 0,9735 | ns |
| | 125 | 0,6494 | ns |
| | 250 | 0,006 | ** |
| | 500 | <0,0001 | **** |
| | 1000 | <0,0001 | **** |

APÊNDICE I - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA OS
 QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS NA LINHAGEM DE CÂNCER
 COLORRETAL HUMANO (HT-29)

| Óxido de terra rara | Concentração do tratamento ($\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$) | p-valor ajustado | resumo |
|--------------------------------|--|------------------|--------|
| Yb ₂ O ₃ | 62,5 | <0,0001 | **** |
| | 125 | <0,0001 | **** |
| | 250 | <0,0001 | **** |
| | 500 | <0,0001 | **** |
| Nd ₂ O ₃ | 62,5 | <0,0001 | **** |
| | 125 | <0,0001 | **** |
| | 250 | <0,0001 | **** |
| | 500 | <0,0001 | **** |
| Er ₂ O ₃ | 62,5 | 0,9555 | ns |
| | 125 | 0,3068 | ns |
| | 250 | 0,0007 | *** |
| | 500 | <0,0001 | **** |
| Eu ₂ O ₃ | 62,5 | <0,0001 | **** |
| | 125 | <0,0001 | **** |
| | 250 | <0,0001 | **** |
| | 500 | <0,0001 | **** |

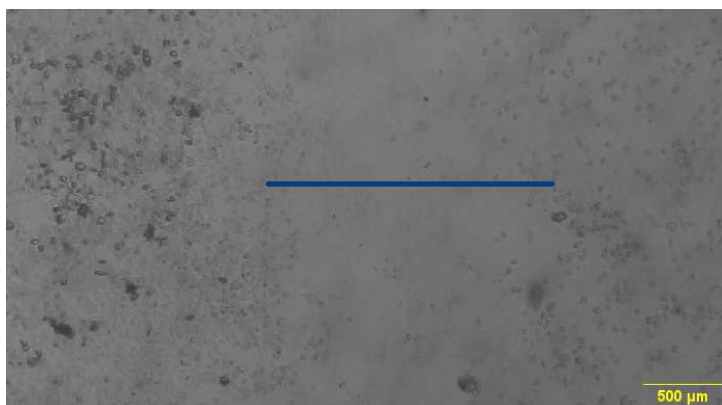
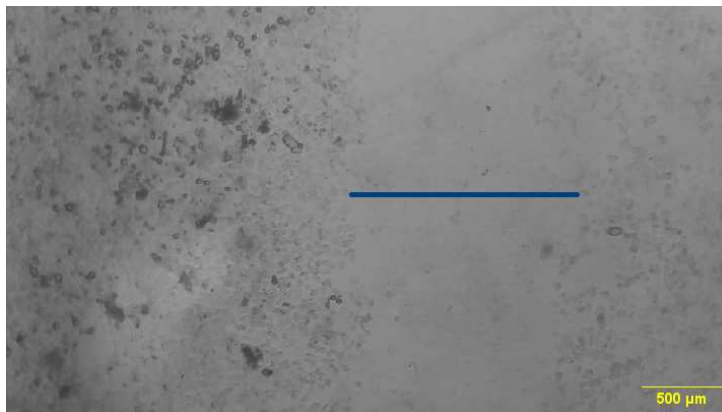
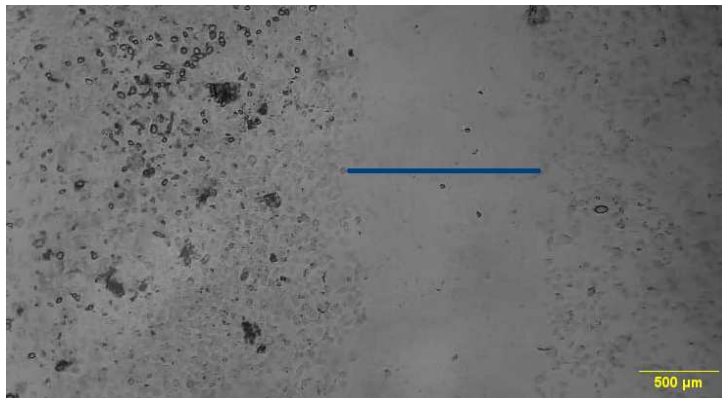
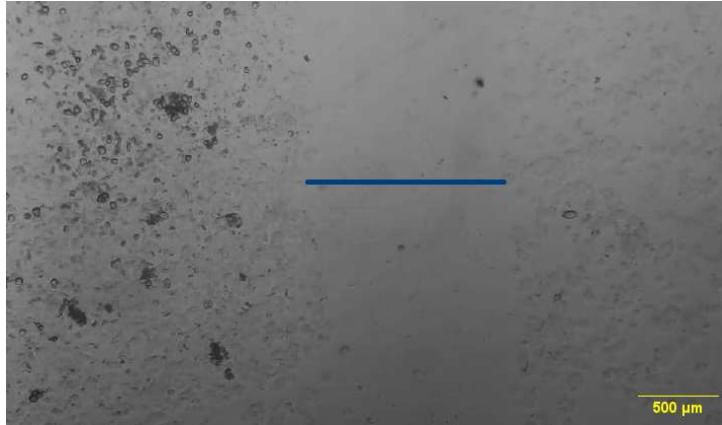
APÊNDICE J - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA OS
QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS NA LINHAGEM DE CÂNCER HEPÁTICO
HUMANO (HEP G2)

| Óxido de terra rara | Concentração do tratamento ($\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$) | p-valor ajustado | resumo |
|--------------------------------|--|------------------|--------|
| Yb ₂ O ₃ | 12,5 | <0,0001 | **** |
| | 25 | 0,0002 | *** |
| | 50 | <0,0001 | **** |
| | 100 | <0,0001 | **** |
| | 200 | <0,0001 | **** |
| | 400 | <0,0001 | **** |
| Nd ₂ O ₃ | 12,5 | 0,0208 | * |
| | 25 | 0,486 | ns |
| | 50 | 0,0116 | * |
| | 100 | 0,0005 | *** |
| | 200 | <0,0001 | **** |
| | 400 | <0,0001 | **** |
| Er ₂ O ₃ | 15,625 | 0,3802 | ns |
| | 31,25 | 0,0112 | * |
| | 62,5 | 0,0037 | ** |
| | 125 | 0,0044 | ** |
| | 250 | 0,0001 | *** |
| | 500 | <0,0001 | **** |
| | 1000 | <0,0001 | **** |
| Eu ₂ O ₃ | 15,625 | 0,1473 | ns |
| | 31,25 | 0,1389 | ns |
| | 62,5 | 0,0008 | *** |
| | 125 | <0,0001 | **** |
| | 250 | <0,0001 | **** |
| | 500 | <0,0001 | **** |
| | 1000 | <0,0001 | **** |

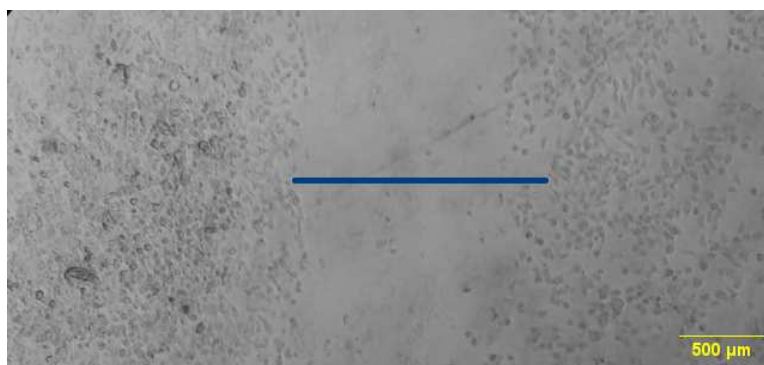
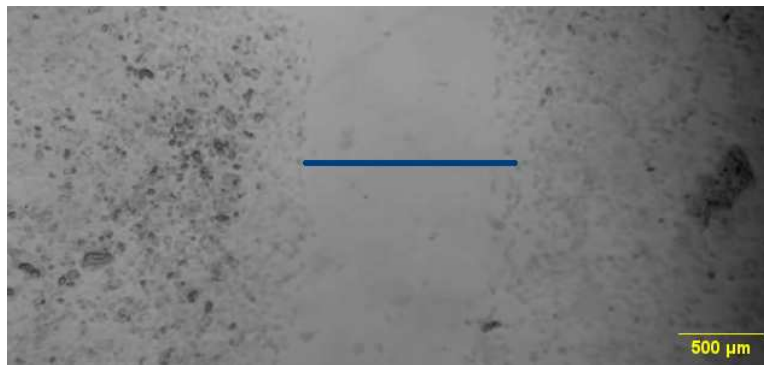
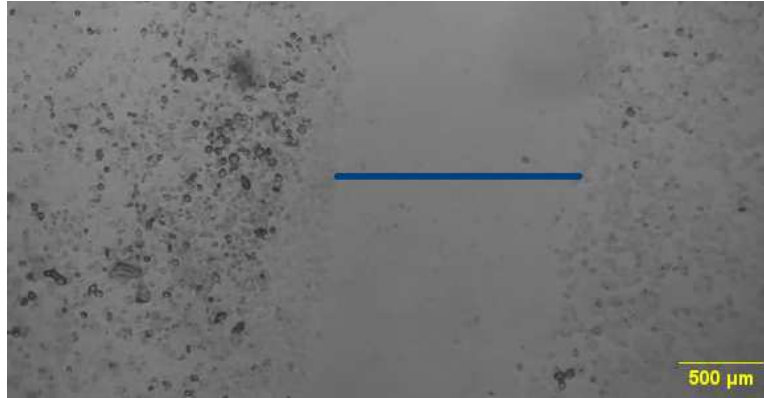
APÊNDICE K - TABELA DOS VALORES DO TESTE DE DUNNETT PARA OS
 QUATRO ÓXIDOS DE TERRAS RARAS NA LINHAGEM DE CÂNCER MAMA
 HUMANO (MCF7)

| Óxido de terra rara | Concentração do tratamento ($\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$) | p-valor ajustado | resumo |
|--------------------------------|--|------------------|--------|
| Yb ₂ O ₃ | 15,625 | 0,0001 | *** |
| | 31,25 | 0,0119 | * |
| | 62,5 | 0,0003 | *** |
| | 125 | 0,9995 | ns |
| | 250 | 0,9997 | ns |
| | 500 | 0,0001 | *** |
| | 1000 | <0,0001 | **** |
| Nd ₂ O ₃ | 15,625 | 0,9826 | ns |
| | 31,25 | 0,0008 | *** |
| | 62,5 | 0,2522 | ns |
| | 125 | 0,0003 | *** |
| | 250 | <0,0001 | **** |
| | 500 | <0,0001 | **** |
| | 1000 | <0,0001 | **** |
| Er ₂ O ₃ | 15,625 | 0,6959 | ns |
| | 31,25 | 0,8893 | ns |
| | 62,5 | 0,8929 | ns |
| | 125 | 0,0337 | * |
| | 250 | 0,2995 | ns |
| | 500 | <0,0001 | **** |
| | 1000 | <0,0001 | **** |
| Eu ₂ O ₃ | 15,625 | 0,3731 | ns |
| | 31,25 | 0,2645 | ns |
| | 62,5 | >0,9999 | ns |
| | 125 | 0,6384 | ns |
| | 250 | 0,0849 | ns |
| | 500 | <0,0001 | **** |
| | 1000 | <0,0001 | **** |

APÊNDICE L - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO)
DE SW480 TRATADOS COM IC10 DE ÓXIDO DE ITÉRBIO (III) A PARTIR DA
ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6, 12 E 24 H.



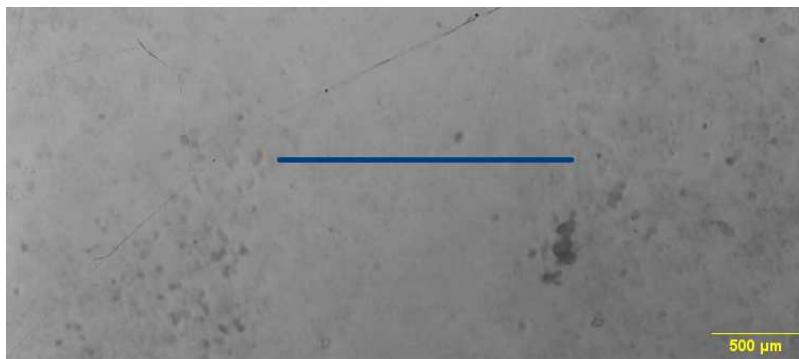
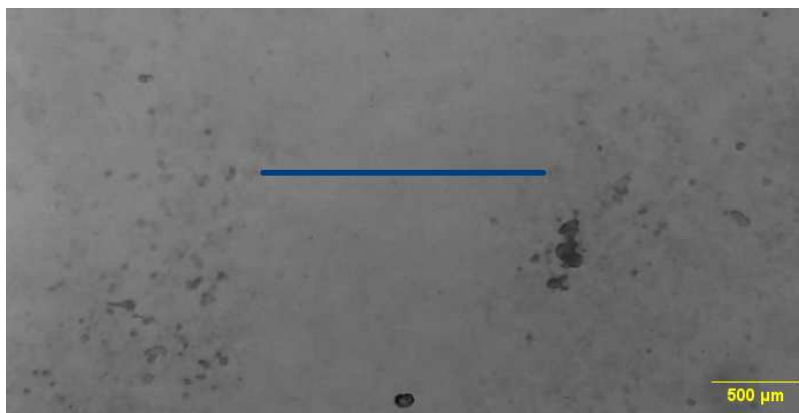
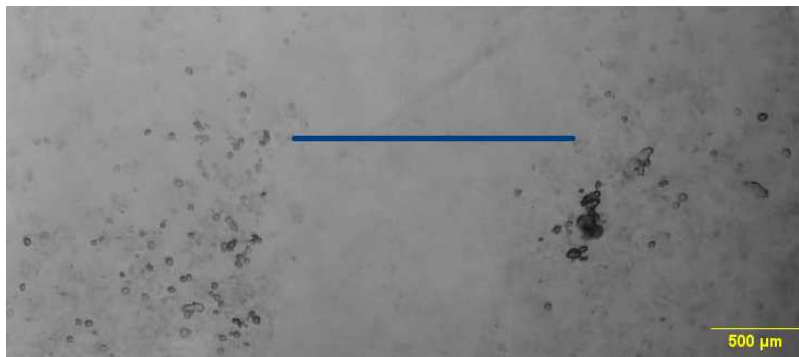
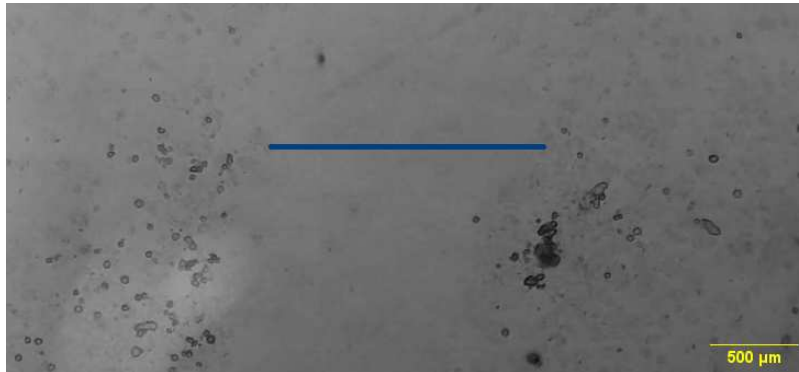
APÊNDICE M - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO)
DE SW480 TRATADOS COM $\frac{1}{2}$ IC50 DE ÓXIDO DE ITÉRBIO (III) A PARTIR DA
ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6, 12 E 24 H.



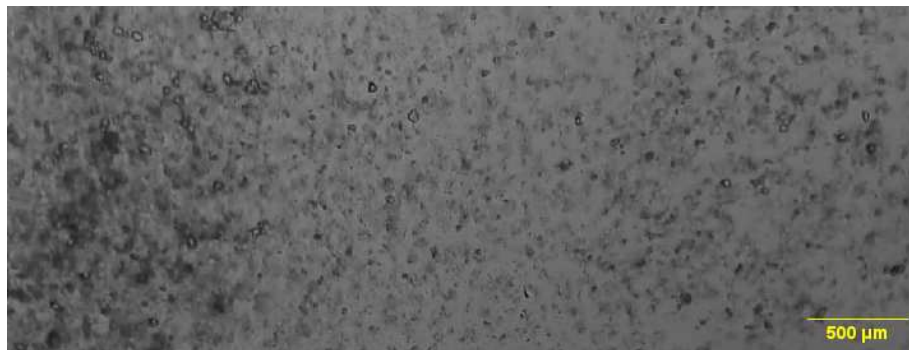
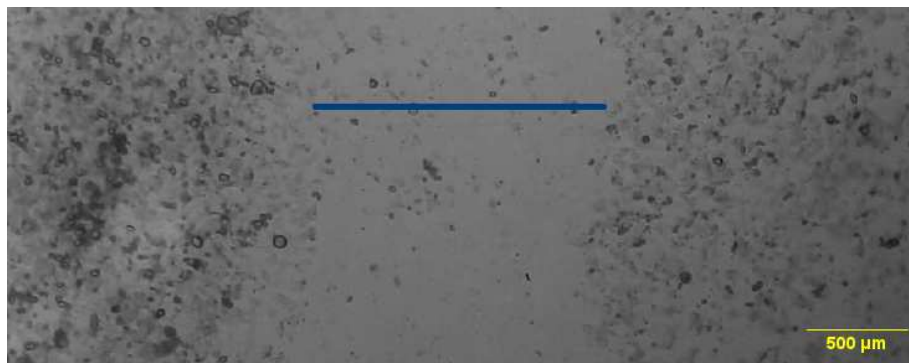
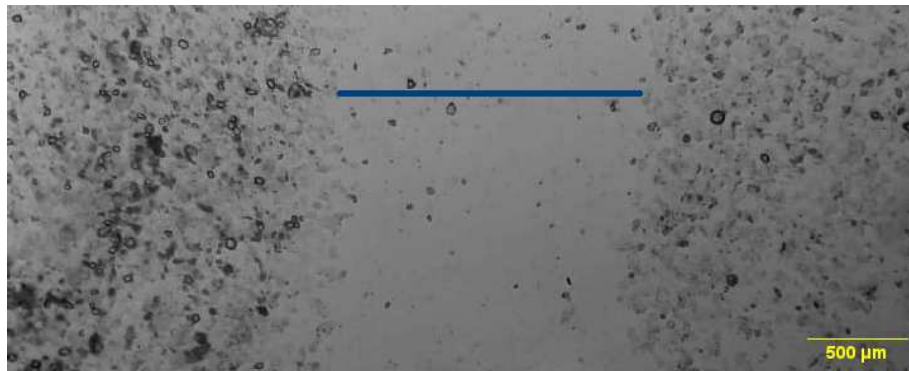
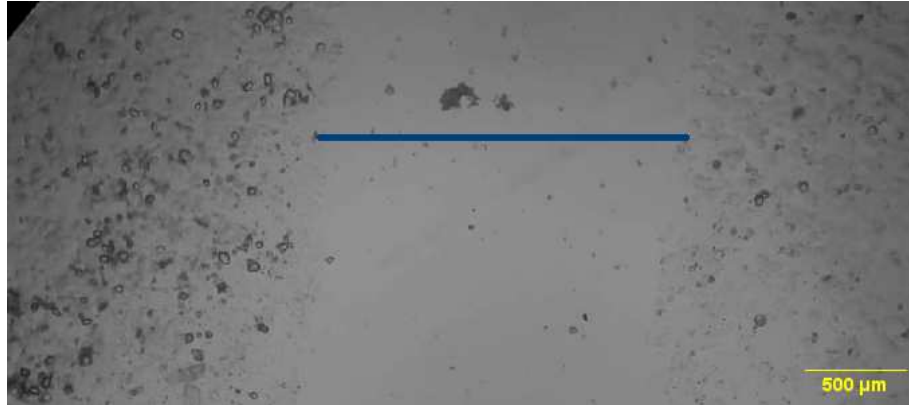
APÊNDICE N - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO)
DE SW480 TRATADOS COM IC10 DE ÓXIDO DE NEODÍMIO (III) A PARTIR DA
ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6 E 12 H.



APÊNDICE O - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO)
DE SW480 TRATADOS COM $\frac{1}{2}$ IC50 DE ÓXIDO DE NEODÍMIO (III) A PARTIR DA
ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6, 12 E 24 H.



APÊNDICE P - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO)
DE SW480 TRATADOS COM CONTROLE (MEIO + PMA) A PARTIR DA
ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6, 12 E 24 H.



APÊNDICE Q - FOTOS DA FENDA (INDICADA PELO TRAÇO EM AZUL ESCURO)
DE SW480 TRATADOS COM CONTROLE (MEIO PURO) A PARTIR DA
ESQUERDA SUPERIOR NOS TEMPOS 0, 6, 12 E 24 H.

