



Universidade Federal
de São João del-Rei

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Caio Cesar Ferreira

**NANOPARTÍCULAS DE MAGHEMITA E SEUS POTENCIAIS EFEITOS
CITOGENOTÓXICOS**

São João del-Rei - MG

2022

Caio Cesar Ferreira

**NANOPARTÍCULAS DE MAGHEMITA E SEUS POTENCIAIS EFEITOS
CITOGENOTÓXICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Dom Bosco, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Fernanda Carlota Nery

Coorientadora: Profa. Vanessa Cristina Stein

São João del-Rei - MG

2022

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F383n Ferreira, Caio Cesar.
Nanopartículas de maghemita e seus potenciais
efeitos cito/genotóxicos / Caio Cesar Ferreira ;
orientadora Fernanda Carlota Nery; coorientadora
Vanessa Cristina Stein. -- São João del-Rei, 2022.
41 p.

Trabalho de Conclusão (Graduação - Biotecnologia)
- Universidade Federal de São João del-Rei, 2022.

1. Allium Test. 2. Nanopartículas de ferro. 3.
Índice mitótico. 4. Anormalidades cromossômicas. 5.
Nanotoxicologia. I. Nery, Fernanda Carlota, orient.
II. Stein, Vanessa Cristina, co-orient. III. Título.

Caio Cesar Ferreira

**NANOPARTÍCULAS DE MAGHEMITA E SEUS POTENCIAIS EFEITOS
CITOGENOTÓXICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Dom Bosco, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

São João del-Rei, 19 de Dezembro de 2022.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Fernanda Carlota Nery - DEPEB/UFSJ

Profa. Dra. Vanessa Cristina Stein - DBI/UFLA

MSc. Camila Moreno Lopes de Andrade - DBI/UFLA

Profa. Dra. Fernanda Carlota Nery

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Câncer	4
3.2. O panorama do câncer no mundo	7
3.3. As nanopartículas no tratamento do câncer	10
3.4. As nanopartículas	10
3.5. Nanotoxicologia	11
3.6. O <i>Allium cepa</i> test como bioensaio	14
4. METODOLOGIA	17
4.1. Obtenção das nanopartículas	17
4.2. <i>Allium test</i>	17
4.3. Análise citotóxica e genotóxica	18
4.4. Análise dos dados	18
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	19
5.1. Índice Mitótico e índice de Anormalidades Cromossômicas	19
5.2. Análises de germinação e crescimento	23
6. CONCLUSÕES	25
7. RECONHECIMENTO	26
8. REFERÊNCIAS	26

RESUMO

O ramo das nanopartículas representa uma ampla oportunidade de pesquisa, devido a seu caráter diminuto, com uma superfície de contato maior para os átomos, gerando um material com características físicas, mecânicas e magnéticas muito peculiares. Embora utilizadas atualmente de diversas formas, um alvo promissor para as pesquisas envolvendo as nanopartículas é seu uso no tratamento do câncer. Entretanto, para que possam ser utilizadas, é necessário, além de garantir que as nanopartículas sejam seguras no organismo, que elas tenham efeito no tecido neoplásico. Além disso, é preciso garantir que as nanopartículas sejam seguras para os organismos no geral, seja na forma de sua utilização ou no seu descarte. Uma forma de medir a segurança delas é a partir da medida da citotoxicidade e da genotoxicidade no ensaio *Allium* test. Esse bioensaio se caracteriza como extremamente acurado, rápido, altamente sensível e de baixo custo. Nesse estudo, as sementes de cebola foram submetidas a quatro concentrações diferentes (10, 30, 60 e 80 µg/mL) em ensaio preliminar e mais outras quatro (20, 35, 50, e 65 µg/mL) de nanopartículas de maghemita (γ -Fe₂O₃) e comparadas ao controle, que foi utilizado água destilada, para avaliar os valores de porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, índice mitótico e de anormalidades cromossômicas. Os resultados foram submetidos à análise de variância e de um teste de Scott-Knott constatando diferença estatística ($p < 0,05$) em ambos os testes e comprovando a ação citotóxica e genotóxica das nanopartículas de forma dose-dependente, tendo os resultados apresentados na dosagem de 30 a 35 µg/mL os que apresentam maior capacidade cito/genotóxica.

Palavras-Chave: Allium Test, nanopartículas de ferro, índice mitótico, anormalidades cromossômicas, nanotoxicologia.

ABSTRACT

The field of nanoparticles represents today a wide research opportunity due to its small character with a larger contact surface for the atoms, originating a material with very peculiar physical, mechanical and magnetic characteristics. Although currently used in many different ways, a promising target for research involving nanoparticles is their use in cancer treatment. However, in order for them to be used, it is necessary, in addition to ensuring that the nanoparticles are safe in the system, that they have an effect on the neoplastic tissue. In the addition, it is necessary to ensure that nanoparticles are safe for organisms in general, whether in the form of their use or disposal. One way to measure their safety is by measuring cytotoxicity and genotoxicity in the *Allium* test. This bioassay is characterized as extremely accurate, fast, highly sensitive and inexpensive. In this study, onion seeds were subjected to four different concentrations (10, 30, 60 and 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$) in a preliminary test and other four (20, 35, 50 and 65 $\mu\text{g}/\text{mL}$) of maghemite nanoparticles ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) and compared to the control, distilled water was used, to evaluate the germination percentage, germination speed index, mitotic index and chromosomal abnormalities. The results were submitted to analysis of variance and a Scott-Knott test, showing statistical difference ($p < 0.05$) in both tests, proving the cytotoxic and genotoxic action of nanoparticles in a dose-dependent manner, with the results presented in the dosage of 30 to 35 $\mu\text{g}/\text{mL}$ those with greater cyto/genotoxic capacity.

Keywords: Allium Test, iron nanoparticles, mitotic index, chromosomal abnormalities, nanotoxicology.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a publicação das estimativas de câncer para 2022 no mundo, espera-se que haja um número total de 1.918.030 de novos casos descobertos e cerca de 609.360 mortes provocadas em ambos os sexos. Os números são elevados mesmo indicando uma queda comparada com os anos anteriores. (SIEGEL et al., 2022). De acordo com os dados fornecidos pelo portal GLOBOCAN da Organização Mundial da Saúde, os números estimados de novos casos em 2020 foram de 19,292,789 com 9,958,133 mortes (GLOBAL CANCER OBSERVATORY, 2022).

Mesmo com o número alarmante de casos e pesquisas modernas nos mecanismos e diagnósticos, o conhecimento da doença em si não é moderno, tendo sido nomeado por Hipócrates (460-370 a. C.) mas com registros manuscritos em papiros egípcios de meados de 1600 a. C. (SUDHAKAR, 2009). Câncer é um termo genérico que se refere a um conjunto de mais de cem doenças que tem como característica em comum o crescimento anormal de células, podendo surgir em qualquer estrutura corporal é composto de células que perderam a habilidade de parar de crescer (ROY; SAIKIA, 2016) denominadas neoplasias.

O câncer é tido como uma doença multifatorial já que pode ser provocado por diversos fatores, entre eles as modificações genéticas e epigenéticas que alteram a expressão e função dos genes que controlam processos da célula como crescimento, sobrevivência e senescência (KUMAR VINAY; ABBAS; ASTER, 2018) por conta de denominados oncogenes (ativos) ou protooncogenes (inativos) (HEISTERKAMP et al., 1982), fatores ambientais de risco como tabagismo, obesidade, alimentos processados, alcoolismo, infecções, em especial por alguns vírus como por exemplo o HPV e exposição a carcinógenos ambientais, como radiações (UV, ionizantes) e alguns compostos químicos (p. ex., asbestos) (FILHO, 2019).

Para que se origine em algum tecido o câncer vai envolver a desregulação de inúmeras vias de sinalização celular que vão comandar processos celulares fundamentais tais quais morte celular, proliferação, diferenciação e migração (SAHA et al., 2010). Essas desregulações permitirão com que as células tumorais adquiram capacidades que são imprescindíveis para o crescimento maligno que são o crescimento

autossuficiente, insensibilidade à sinalização anti-crescimento, evasão da apoptose, replicação ilimitada, metástase e angiogênese (crescimento de novos vasos sanguíneos) (HANAHAN; WEINBERG, 2000).

Com o advento da ciência os tratamentos para o câncer tendem a se modernizar cada vez mais levando em consideração fatores como tamanho do tumor, localização e sobretudo a saúde do paciente, as outras formas de tratamento mais comuns incluem criocirurgia, radioterapia e quimioterapia (BOARD, 2022) que, embora eficientes, apresentam algumas problemáticas tais quais a necessidade de se remover uma parte do tecido saudável ao redor e a inespecificidade dos tratamentos de quimioterapia e radioterapia podendo atacar células saudáveis ao invés das células cancerígenas (BASKAR et al., 2012).

Por conta desses problemas, o estudo dos nanomateriais vem se tornando interessante devido às suas características únicas como aumento da solubilidade do medicamento, estabilidade e especificidade do tumor e biodisponibilidade (CABEZA et al., 2020).

As nanopartículas são materiais minúsculos, biodegradáveis e biocompatíveis, com dimensões na ordem da nona potência negativa, ou seja, 10-1000 nm e, devido ao seu tamanho diminuto, elas apresentam características próprias por conta do aumento na área superficial específica (DE DIOS; DÍAZ-GARCÍA, 2010). Por conta disso, o número de átomos, moléculas ou partículas serão maiores em sua superfície do que no seu interior, criando então um material com características mecânicas, óticas, elétricas e magnéticas peculiares e exclusivas (KHAN; SAEED; KHAN, 2019).

As nanopartículas podem ser utilizadas em diversas fases de progressão da doença como para detecção precoce de tumores criando uma plataforma inteligente para análise simultânea de marcadores associados ao câncer e desenvolvimento de agentes de contraste que melhoram a resolução da área tumoral comparada aos tecidos saudáveis próximos (LOGOTHETIDIS, 2012).

Dentre as classes de nanopartículas, a classe das nanopartículas magnéticas se destaca por sua versatilidade. Tipicamente feita de metais puros como o ferro, cobre e níquel, mas também podendo ser fabricadas com uma mistura de metais e polímeros (ALAGIRI; MUTHAMIZHCHELVAN; PONNUSAMY, 2011), a utilização das mesmas vem se destacando em diversas áreas como a de biossensores (LEE et al., 2009), liberação controlada de medicamentos no tecido tumoral (DOBSON, 2006),

ressonância magnética (LEE; HYEON, 2012) e com outro tipo de tratamento chamado magnetohipertermia.

Um exemplo entre as nanopartículas magnéticas são as nanopartículas de óxido de ferro, comumente de magnetita (Fe_3O_4) ou maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (GUPTA; GUPTA, 2005) que, para serem utilizadas de forma segura no corpo, devem ser recobertas com um revestimento seguro e biocompatível para garantir a sua integridade no ambiente fisiológico. Esse revestimento também pode auxiliar na integração de grupos ligantes funcionais (FRULLANO; MEADE, 2007) e mudanças químicas no revestimento podem garantir a multifuncionalidade das nanopartículas magnéticas (FRULLANO & MEADE, 2007; KUMAR VINAY et al., 2018). Após o revestimento, as nanopartículas podem formar suspensões homogêneas ferrofluidas (BABINCOVÁ et al., 2001; WANG et al., 2001) que, ao entrarem em contato com um campo magnético podem ser guiadas até uma área em particular facilitando processos de drug delivery e de contraste de imagens em ressonâncias (BONNEMAIN, 1998).

Embora estudos promissores teorizam que as nanopartículas de ferro magnéticas podem ser metabolizadas pelo organismo e se tornar reserva de ferro intrínseca do organismo (SANTHOSH; ULRICH, 2013) discussões levantadas por publicações mais recentes tais quais Ansari et al. (2019) mostram potencial caráter destrutivo de material genético das células por conta da ação direta das nanopartículas ou dos radicais de oxigênio no DNA, tais dados inspiram medidas mais cuidadosas para a utilização das mesmas e ao mesmo tempo um campo de estudos maior sobre a utilização delas.

Por conta da sua versatilidade, as nanopartículas são utilizadas em diversos outros produtos além da área da saúde, podendo ser encontradas nos mais variados locais como cosméticos (MU; SPRANDO, 2010). Logo, por suas diversas aplicações é de se esperar que mais estudos sejam feitos para garantir a segurança da utilização das mesmas já que podem ser danosas aos organismos que fazem uso delas (BUZEA; PACHECO; ROBBIE, 2007). Também ao serem mal descartadas, as nanopartículas vão para o meio ambiente, podendo trazer inúmeros malefícios aos ambientes aquáticos (SCENIHR, 2006), podem alterar a morfologia das plantas e a microbiota ao redor (SHI et al., 2021), e ainda por cima, podem contribuir para a proliferação de diversos tipos de doenças na vida selvagem, sobretudo algumas espécies de neoplasias (GIRAUDEAU et al., 2018).

Para poder averiguar a ação no material genético, pode ser utilizado o “*Allium cepa test*” que consiste em lâminas provenientes das raízes da planta de cebola, submetidas a uma solução do que se deseja observar os efeitos tóxicos. Este método de avaliação é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um teste muito eficiente para análise e monitoramento *in situ* (CABRERA; RODRIGUEZ, 1999). Em 2003, de Oliveira Teixeira et al. (2003). fizeram um teste comparativo entre modelos de *Allium test* e modelos com células de medula óssea de ratos e obtiveram resultados semelhantes comprovando então a eficácia do modelo.

Desde que foi instaurado em 1938 por Levan (LEVAN, 1938) para observar distúrbios no fuso mitótico provocado por colchicina, esse bioensaio permanece sendo barato, rápido e confiável. Estudos realizados por Fiskesjö (1985) consagram o *Allium test* como um teste capaz de avaliar a genotoxicidade de compostos complexos como carcinogênicos, esse bioensaio pode ser utilizado uma vez que estudos comprovam uma sensibilidade de 82% entre o *Allium test* e o teste carcinogênico em roedores (RANK; NIELSEN, 1994) provando ser ainda mais acurado que o teste de Ames (VICENTINI et al., 2008).

2. OBJETIVOS

- Verificar, através do *Allium test*, os potenciais efeitos morfotóxicos, citotóxicos e genotóxicos das nanopartículas de maghemita.
- Verificar possíveis efeitos ecotoxicológicos
- Contribuir para a pesquisa nos tratamentos de câncer.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Câncer

Em 2020, o portal GLOBOCAN da Organização Mundial da Saúde informou que cerca de 9 958 133 de mortes foram causadas pelo câncer, esse número evidencia o caráter da doença, que perdendo apenas para as doenças cardiovasculares, é uma das que mais matam. Embora cada vez mais crescente, o conhecimento da doença não é novo.

A palavra “Câncer” vem do grego *karkinos*, ou caranguejo, nomeada por Hipócrates (460-370 a.C.), devido a massa tumoral com os vasos inchados ao seu redor se assemelhar muito com a forma do crustáceo, mas o conhecimento de tumores é ainda posterior a essa data. Alguns tumores foram encontrados em manuscritos egípcios em meados de 1600 a.C. e sendo indicado apenas tratamento paliativo, portanto, naquela época, o câncer era visto como uma doença terminal (SUDHAKAR, 2009).

Câncer é um termo genérico que se refere a um conjunto de mais de cem doenças que tem como característica em comum o crescimento anormal de células, podendo surgir em qualquer estrutura corporal e composto de células que perderam a habilidade de parar de crescer (ROY; SAIKIA, 2016). Filho (2019) define as neoplasias como “lesão constituída por proliferação celular anormal, descontrolada e autônoma, em geral com perda ou redução de diferenciação, em consequência de alterações em genes ou proteínas que regulam a multiplicação e a diferenciação das células” e os tumores como neoplasias que ocorrem em órgãos sólidos.

As neoplasias podem ser classificadas em duas categorias de acordo com o ponto de vista clínico, evolutivo e de comportamento:

Neoplasia Benigna	Neoplasia Maligna
Formado por células bem diferenciadas (semelhantes às do tecido normal); estrutura típica do tecido de origem.	Formado por células anaplásicas (diferentes das do tecido normal); atípico; falta diferenciação.
Crescimento progressivo; pode regredir; mitoses normais e raras.	Crescimento rápido; mitoses anormais e numerosas.
Massa bem delimitada, expansiva; não invade nem infiltra tecidos adjacentes.	Massa pouco delimitada, localmente invasiva; infiltra tecidos adjacentes.

Tabela 1: Os dois tipos de neoplasia (INCA, 2019).

Embora sejam as modificações genéticas e epigenéticas que alteram a expressão e função dos genes que controlam processos da célula como crescimento, sobrevivência e senescência sejam grandes fatores envolvidos no desenvolvimento de uma neoplasia (KUMAR VINAY; ABBAS; ASTER, 2018) por conta de denominados oncogenes (ativos) ou protooncogenes (inativos) que são genes que estimulam a transformação em

células malignas (HEISTERKAMP et al., 1982), existem fatores ambientais de risco que podem ajudar na formação de tumores, dentre eles:

- Tabagismo, associado sobretudo aos cânceres dos pulmões, da boca, laringe, faringe, esôfago e bexiga;
- Dieta rica em gorduras, especialmente em relação ao carcinoma colorretal;
- Obesidade;
- Alimentos processados. Em 2015, a OMS incluiu carnes processadas entre os produtos sabidamente carcinogênicos;
- Alcoolismo, particularmente quanto aos cânceres da laringe, faringe, esôfago e fígado;
- Infecções, em especial por alguns vírus (p. ex., HPV);
- Exposição a carcinógenos ambientais, como radiações (UV, ionizantes) e alguns compostos químicos (p. ex., asbestos). (FILHO, 2019).

Para que se origine em algum tecido o câncer vai envolver a desregulação de inúmeras vias de sinalização celular que vão comandar processos celulares fundamentais tais quais morte celular, proliferação, diferenciação e migração (SAHA et al., 2010). Essas desregulações permitirão com que as células tumorais adquiram capacidades que são imprescindíveis para o crescimento maligno que são o crescimento autossuficiente, insensibilidade à sinalização anti-crescimento, evasão da apoptose, replicação ilimitada, metástase e angiogênese (crescimento de novos vasos sanguíneos) (HANAHAN; WEINBERG, 2000).

A metástase (do grego *metástis* que significa mudança de lugar) é definida como a formação de um novo tumor a partir do primeiro sem continuidade entre os dois (FILHO, 2019). Devido a essa capacidade de se multiplicar por outros tecidos, a metástase é o que garante o caráter maligno dos tumores (ROBERT, 2013) sendo frequentemente associada a essa classe.

O processo para a formação de um tumor, ou carcinogênese, é caracterizado por três fases distintas:

- Iniciação: Estágio caracterizado desde 1947 por Berenblum e Shubik (BERENBLUM; SHUBIK, 1947) que é caracterizado como alterações

genéticas irreversíveis que predispõe a célula normal a uma célula maligna. Uma célula iniciada é idêntica a uma célula comum do ponto de vista do fenótipo e não é uma célula neoplásica, apenas houve o ponto de partida para se tornar uma (TOSKO, 2003). Em 2005, Santella et al. estabeleceram esse evento como o que desencadeia a carcinogênese.

- **Promoção:** Células iniciadas são expostas a algum agente cancerígeno, esse conceito existe desde que substâncias com baixa atividade carcinogênica foram descobertas (BERENBLUM; SHUBIK, 1947). Esses agentes aumentam a divisão celular em tecidos predispostos e causam mudanças no crescimento celular, podendo danificar o DNA por um processo de oxidação (GUTIÉRREZ & SALSAMENDI, 2001).
- **Progressão:** Nesse estágio, a proliferação celular é descontrolada sendo independente de qualquer estímulo (GUTIÉRREZ & SALSAMENDI, 2001; LUTZ, 2000), essa característica é obtida por meio de mecanismos genéticos e epigenéticos (SHACTER; WEITZMAN, 2002). Nesse estágio, a angiogênese é vital para o desenvolvimento neoplásico (HAWIGHORST et al., 2001).

3.2. O panorama do câncer no mundo

Os dados da Organização Mundial da Saúde de 2020 evidenciam a gravidade da doença. O número total de casos neste ano é mostrado na imagem abaixo

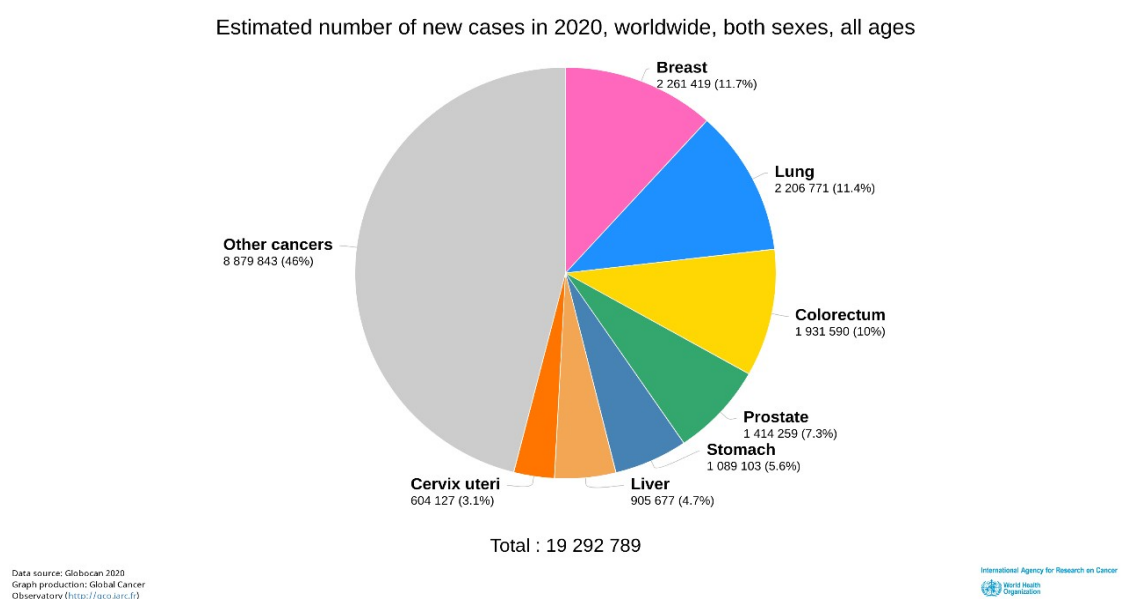


Gráfico 1: Estimativa de novos casos de câncer em 2020 no mundo – GLOBOCAN, 2020.

Se tratando de mortalidade, no mundo, no ano de 2020, os números são esses:

- Pulmão (1 796 144 mortes);
- Colorretal (935 173 mortes);
- Fígado (830 180 mortes);
- Estômago (768 793 mortes);
- Mama (684 996 mortes) (OPAS/OMS, 2020).

No Brasil, os dados abaixo mostram os casos em 2020 comparando a incidência e a mortalidade:

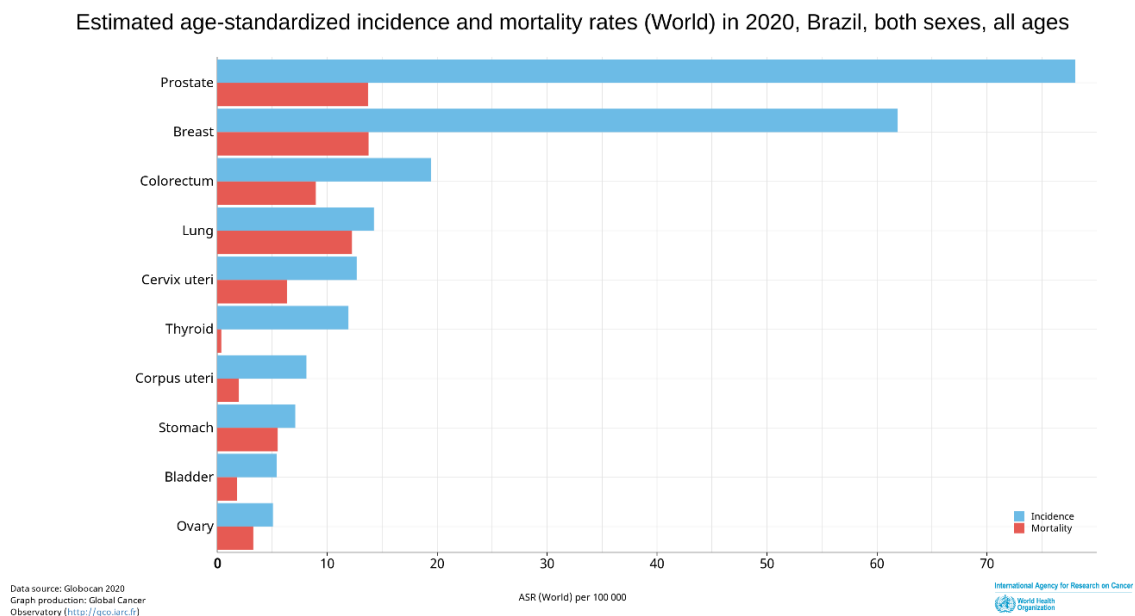


Gráfico 2: Índice de incidência e mortalidade de câncer no Brasil em 2020 – GLOBOCAN, 2020.

Estes dados deixam explícitos que os cânceres de mama, próstata e colorretal são os cânceres de maior incidência no Brasil.

O câncer de mama é um tipo de câncer que cresce muito e ainda configura como o mais diagnosticado do mundo, mesmo dados atuais mostrando uma ligeira queda no número de diagnósticos (SIEGEL et al., 2022). Dentre as principais causas estudadas que podem induzir ao surgimento de tumores de mama, podem ser citadas principalmente fatores ligados à gravidez e aos hormônios (MACMAHON, 1993),

índices antropométricos (VAN DEN BRANDT et al., 2000), frequência de atividades físicas, dieta e exposição a agentes carcinogênicos (VERONESI et al., 2005).

Já o câncer de próstata é considerado um tumor dependente de androgênios tais quais a testosterona e a dihidrotestosterona (GIRLING et al., 2007) e que, em cerca de 80% dos casos, realizar uma terapia de supressão de androgênios pode levar a regressão do tumor (RICE; MALHOTRA; STOYANOVA, 2019) e também, alguns estrogênios também podem estar envolvidos (DI ZAZZO et al., 2018). Além disso, os fatores como o histórico familiar, dieta e outros fatores ambientais são definidos como fatores que levam ao surgimento dessa neoplasia (CORTI et al., 2022).

O câncer colorretal, tem aumentado significativamente em regiões de IDH de médio a alto como na Ásia, Europa Oriental e América do Sul, destacando o Brasil, enquanto em países de altíssimo IDH está se estabilizando (CENTER; JEMAL; WARD, 2009). Uma das explicações para esses fatores é a adoção do estilo de vida e de alimentação desses países como Estados Unidos, Canadá e Austrália rico no consumo de gorduras, alimentos de origem animal e açúcares já que é conhecida na literatura a relação entre alimentos como carnes vermelhas e processadas (BOUVARD et al., 2015; NORAT et al., 2002), consumo de álcool (FEDIRKO et al., 2011), obesidade (RENEHAN et al., 2008) e o sedentarismo (WORLD CANCER RESEARCH FUND; AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH, 2018) e a incidência do câncer colorretal. Além disso credita-se à detecção precoce, melhoria nos cuidados perioperatórios e nos tratamentos de quimioterapia e radioterapia nos países de alto IDH como causa da diminuição dos casos (CENTER et al., 2009; MURPHY et al., 2015).

Em relação ao tratamento, é importante escolher qual será indicado a partir de fatores como o tamanho do tumor, localização e sobretudo a saúde do paciente. As formas de tratamento mais comuns incluem criocirurgia, radioterapia e quimioterapia (BOARD, 2022).

Auxiliada a cirurgia, a quimioterapia é uma das terapias mais comuns no tratamento de cânceres, a terapia moderna e efetiva começou a ser esboçada desde 1919 quando o gás mostarda usado na Primeira Guerra Mundial foi utilizado para as pesquisas, embora indícios de tratamentos mais rudimentares são notificados desde antes do século XVII (PAPAC, 2001). Apenas em 1942 que Louis Goodman e Alfred Gilman, convocados pelo departamento de defesa dos Estado Unidos, analisaram o potencial terapêutico de uma série de toxinas criadas como armas de guerra,

posteriormente tratando um paciente com linfoma não Hodgkin com relativo sucesso (CHABNER; ROBERTS, 2005) iniciando então as pesquisas dos quimioterápicos modernos.

Durante os anos iniciais, a quimioterapia foi composta basicamente de um único antineoplásico, o 5-fluorouracil - 5-FU. Esse medicamento foi utilizado por cerca de 40 anos como terapia padrão para o câncer colorretal e na década de 1980, o ácido folínico – leucovorin, foi adicionado a composição do medicamento agindo como modulador bioquímico, conseqüentemente melhorando a sobrevida dos pacientes (TONON et al., 2007).

Desde então a ciência vem se especializando e pesquisas com diversos antineoplásicos são feitas com o apoio de diversas áreas do conhecimento como, por exemplo, o advento das terapias com anticorpos monoclonais. Os anticorpos são imunoproteínas capazes de reconhecer e ligar-se a antígenos tumorais específicos desencadeando respostas imunológicas, poupando células normais e provocando efeitos menos tóxicos que a quimioterapia tradicional. Essa nova terapia só foi possível devido aos avanços nas técnicas da biologia celular, molecular e biotecnologia (TONON et al., 2007). Desde então inúmeras outras terapias modernas estão sendo desenvolvidas.

Novos alvos terapêuticos também estão sendo pesquisados no momento, como o potenciador do zeste homólogo 2, uma enzima histona-lisina N-metiltransferase codificada pelo gene EZH2, cujo papel na iniciação, progressão, metástase, metabolismo, resistência aos medicamentos e regulação na imunidade abre um enorme caminho em experimentos e estudos clínicos (DUAN; DU; GUO, 2020).

Minetto et al., (2019) descreve o uso de células *Natural Killer* (NK) presentes no sistema imunológico para o ataque de células neoplásicas previamente sensibilizadas com anticorpos monoclonais, tratamento esse comprovadamente eficaz na prevenção da disseminação metastática, porém, questionada na eficácia em destruir tumores sólidos.

3.3. *As nanopartículas no tratamento do câncer*

Uma eficaz ferramenta estudada são os biomateriais e nanopartículas. No câncer, os nanomateriais são de grande interesse já que seu uso como carreador e liberador de medicamentos ou de moléculas fluorescentes e até na utilização de insumos magnéticos apresentam vantagens comparado às outras terapias disponíveis. Vantagens como aumento da solubilidade do medicamento, estabilidade e especificidade do tumor e

biodisponibilidade se destacam, fazendo com que as pesquisas com os nanomateriais tornem-se um campo muito amplo de atuação (CABEZA et al., 2020).

3.4. *As nanopartículas*

As nanopartículas são materiais minúsculos, biodegradáveis e biocompatíveis, com dimensões na ordem da nona potência negativa, ou seja, 10-1000 nm e, devido ao seu tamanho diminuto, elas apresentam características próprias por conta do aumento na área superficial específica (DE DIOS; DÍAZ-GARCÍA, 2010). Por conta disso, o número de átomos, moléculas ou partículas serão maiores em sua superfície do que no seu interior, criando então um material com características mecânicas, óticas, elétricas e magnéticas peculiares e exclusivas (KHAN; SAEED; KHAN, 2019).

Além de seu uso para o tratamento do câncer, as nanopartículas podem ainda ter utilizadas para detecção precoce de tumores criando uma plataforma inteligente para análise simultânea de marcadores associados ao câncer e desenvolvimento de agentes de contraste que melhoram a resolução da área tumoral comparada aos tecidos saudáveis próximos (LOGOTHETIDIS, 2006).

Dentre as classes de nanopartículas, a classe das nanopartículas magnéticas se destaca por sua versatilidade. Tipicamente feita de metais puros como o ferro, cobre e níquel, mas também podendo ser fabricadas com uma mistura de metais e polímeros (ALAGIRI; MUTHAMIZHCHELVAN; PONNUSAMY, 2011), a utilização das mesmas vem se destacando em diversas áreas como a de biossensores (LEE et al., 2009), liberação controlada de medicamentos no tecido tumoral (DOBSON, 2006), ressonância magnética (LEE; HYEON, 2012) e com outro tipo de tratamento chamado magnetohipertermia.

O tratamento por hipertermia leva em consideração estudos do século XIX que provavam que as células tumorais eram impactadas de forma negativa pela febre, posteriormente verificou-se que as células apresentavam comportamento diferente de células normais entre 42°C a 45°C (BARONZIO; HAGER, 2006). As nanopartículas, quando submetidas a um campo magnético alternado, liberam energia térmica, causando um aquecimento no local do tumor e diminuindo o volume de células malignas (KALLUMADIL et al., 2009).

Porém, para serem utilizadas de forma segura no corpo, as nanopartículas têm que ser recobertas com um revestimento seguro e biocompatível para que continue íntegra no ambiente fisiológico. Esse revestimento também pode auxiliar na integração

de grupos ligantes funcionais (FRULLANO; MEADE, 2007) e mudanças químicas no revestimento podem garantir a multifuncionalidade das nanopartículas magnéticas (FRULLANO & MEADE, 2007; KUMAR et al., 2014).

3.5. *Nanotoxicologia*

No Brasil, o debate acerca da regulamentação das nanopartículas é muito recente, exemplo desse fato foi a aprovação do Marco Legal da Nanotecnologia em 19 de fevereiro de 2020 que, embora importante, pois estimula o desenvolvimento em pesquisa, desenvolvimento e capacitação na área (AGÊNCIA SENADO, 2020) , entretanto, não estipulando normas muito efetivas para o descarte dos nanomateriais.

Devido a vasta aplicação e crescente demanda, as nanopartículas estão sujeitas ao aumento do volume de síntese e, conseqüentemente, de descarte sendo necessário que haja uma destinação correta para o descarte de nanomateriais, já que muitos produtos que as contém na composição tem o potencial de criar significativa quantidade de rejeito no meio aquático (POWELL; GRIFFIN; TAI, 2008). Atualmente, o descarte das nanopartículas é englobado no artigo 20 da Lei 12.305 do ano de 2010 (que institui a política nacional de resíduos sólidos (BRASIL, 2010), o que na prática significa que os as nanopartículas, juntamente com os resíduos gerados pela sua síntese, são descartadas da mesma forma que outros resíduos industriais, tendo, portanto, sua reatividade única desconsiderada.

Assim como qualquer outro resíduo sólido e/ou de natureza hospitalar, o descarte inadequado pode ser responsável pelo contato dessas nanopartículas com o meio ambiente e com outros seres vivos, o que pode provocar diversos danos aos organismos. Neste contexto, surge o conceito da Nanotoxicologia, uma área de pesquisa que visa estudar a ação dos nanomateriais nos organismos, utilizando modelos *in vitro* e *in situ* para formular uma melhor resposta (WARHEIT, 2008).

É válido destacar que as nanopartículas não estão presentes apenas em descartes de origem hospitalar ou da área da saúde, por conta da sua versatilidade e recentes pesquisas na área, os nanomateriais podem ser encontrados em quase todos os lugares como em cosméticos e antibactericidas (MU; SPRANDO, 2010).

É sabido que por seu tamanho diminuto e suas características reativas próprias, as nanopartículas têm uma capacidade de penetração em tecidos animais e vegetais

muito maior e eficiente (SAJID et al., 2015) e que por conta disso aumenta-se também a capacidade de oxidação e danos ao material genético das células (RISOM; MØLLER; LOFT, 2005) além de danos ao material genético das mitocôndrias e eventual apoptose (KARLSSON et al., 2009), entretanto, não são os únicos tipos de danos que essas estruturas podem ocasionar.

De acordo com estudos, existem possibilidades pelas quais uma nanopartícula pode se tornar tóxica para tecidos vivos, e essas são:

- Materiais de síntese;
- Tamanho;
- Formato (por exemplo, nanotubos de carbono podem furar as membranas lipídicas das células (JIA et al., 2005)) (KIRCHNER et al., 2005).

Mas não apenas nos organismos que as nanopartículas, descartadas de forma incorreta, podem provocar problemas. Seja pela forma de aerossóis ou pela deposição direta, as nanopartículas podem acabar se acumulando em corpos d'água e no solo, podendo se tornar um risco ecotoxicológico, podem sofrer biotransformação ou ser bioacumuladas na cadeia alimentar (SCENIHR, 2006). Além disso, nanopartículas metálicas podem se desassociar em íons, sendo liberados no meio em formas muito reativas ou na forma de suspensões ou misturas complexas (BYSTRZEJEWSKA-PIOTROWSKA; GOLIMOWSKI; URBAN, 2009).

Quando infiltradas no solo, as nanopartículas interferem na expressão gênica e promovem alterações estruturais podendo variar de acordo com o material, tempo de exposição, forma de contato e condições das plantas (RIZWAN et al., 2021), por conta disso, mais estudos são necessários para que os mecanismos de interferência nos vegetais sejam melhor explicados.

Exemplos disso podem ser vistos em estudos como de Shi et al., 2021 no qual mostra que o crescimento da *Phytolacca americana* L. é afetado pela presença de nanopartículas de óxido de zinco, modificando também a microbiota do solo no qual a planta se encontra e desordenando o equilíbrio ácido-base do microambiente da planta.

Além dos efeitos nas plantas, é necessário avaliar até que ponto as nanopartículas podem estar influenciando o aumento de tumores em espécies selvagens. Embora o câncer em espécies silvestres passe despercebido por conta da baixa de

recursos humanos e financeiros para diagnósticos de doenças e monitoramento consistente, os casos dos mesmos se tornam preocupantes para a conservação das espécies (MCALOOSE; NEWTON, 2009). O aumento de casos pode estar ligado a ação humana já que fatores como poluição visual, liberação de materiais radioativos nos meios e, sobretudo, o acúmulo de microplásticos nos habitats são fatores de risco que podem aumentar a incidência de câncer na vida selvagem (GIRAUDEAU et al., 2018).

Quando acumulada a cadeia alimentar a interação das nanopartículas com o corpo humano pode ocorrer de três formas distintas:

- Pela penetração na pele;
- Pela inalação;
- Pela ingestão.

E o período e volume de contato também podem influenciar a toxicidade das nanopartículas (SUFIAN et al., 2017).

Atualmente, as nanopartículas são altamente utilizadas em dermocosméticos, o principal exemplo é a utilização de óxido de zinco (ZnO) e de dióxido de titânio (TiO₂) em protetores solares devido sua elevada capacidade de refletir radiação UV, entretanto, estudos mostram que a presença desses dois compostos pode provocar alterações morfológicas, disfunção mitocondrial e apoptose em células pulmonares fetais humanas (ZHANG et al., 2011), além do risco de penetração pela corrente sanguínea.

A maior preocupação quando inaladas, é que as nanopartículas podem sofrer um processo chamado de transcitose no trato respiratório, isso quer dizer que a partir dos alvéolos, as nanopartículas podem entrar na corrente sanguínea podendo ocasionar no seu transporte por todo o corpo (OBERDÖRSTER; OBERDÖRSTER; OBERDÖRSTER, 2005), ainda outros potenciais malefícios incluem graves inflamações pulmonares, câncer de pulmão, enfisema, bronquite, asma e até mesmo algumas doenças neurodegenerativas como Alzheimer e Parkinson (BUZEA; PACHECO; ROBBIE, 2007).

Em relação a ingestão de nanopartículas, a forma mais comum de ocorrer é pela incorporação das mesmas nos alimentos em si, nas embalagens dos mesmos ou por conta da contaminação do solo ou da água (LOURO; BORGES; SILVA, 2013) , o que também pode provocar diversos problemas no ambiente. Especificamente em relação ao

ferro, os principais sintomas relacionados a intoxicação do mesmo vão desde o vômito, diarreia, dor abdominal e hemorragia gastrointestinal até falência do fígado (BANNER; TONG, 1986).

Como a utilização de nanomaterias tem aumentado, é necessário que as pesquisas envolvendo o tema acompanhem o progresso também, de forma a assegurar a segurança da utilização das nanopartículas. Para isso é necessário estabelecer testes para saber o impacto delas nos organismos, um destes é o *Allium cepa* test.

3.6. O *Allium cepa* test como bioensaio

O teste consiste em lâminas provenientes das raízes da planta de cebola que foram submetidas a uma solução do que se deseja observar os efeitos tóxicos. Teve seu primeiro ensaio em 1938 por Levan que estabeleceu o primeiro teste rudimentar que analisa basicamente os efeitos das substâncias nos cromossomos da célula (FISKESJÖ, 1988).

Este método de avaliação é validado e padronizado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) e o Geno-Tox da Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (USEPA) como um teste muito eficiente para análise e monitoramento *in situ* (CABRERA; RODRIGUEZ, 1999). O teste é muito utilizado até hoje como método eficaz para avaliar citotoxicidade e genotoxicidade ocasionados por compostos químicos e até mesmo físicos como radiação UV (ÇAVUŞOĞLU et al., 2022; MACAR, 2021; MACAR et al., 2020; ÖZTÜRK; ÇAVUŞOĞLU; YALÇIN, 2020). Portanto é tido como um método sensível para detectar o potencial cito/genotóxico em qualquer tipo de composto seja ele natural, sintético ou químico (PALMIERI et al., 2016).

Uma característica interessante do *Allium test* que o torna tão relevante até hoje é que, caso seja devidamente padronizado, os dados gerados através dele podem ser generalizados para qualquer célula eucariota também (BONCIU et al., 2018). Isso se dá por conta de uma característica chamada universalização do DNA, ou seja, comparando eucariotos vegetais e animais, a estrutura do aparato genético é preservativa em ambas (TAIZ; ZEIGER IAN MAX MØLLER; MURPHY, 2017). Os dados apresentados pelo *Allium test* tem resultados similares com diversos outros modelos tais quais bactérias, algas, peixes e até mesmo células de linfócitos humanos, podendo então ser confiável em testes de citotoxicidade e genotoxicidade (FISKESJÖ, 1985; PESNYA et al., 2022).

Em 2003, Teixeira et al fizeram um teste comparativo entre modelos de *Allium test* e modelos com células de medula óssea de ratos e obtiveram resultados semelhantes assegurando então a sensibilidade do modelo.

Portanto, é seguro afirmar que o bioensaio com *Allium cepa* é extremamente acurado com os seus resultados, além disso é considerado rápido, sensível, de baixo custo e indicado por suas células apresentam cromossomos de número reduzido ($2n = 16$), grandes e com visualização muito fácil da atividade mitótica e dos danos nos cromossomos em qualquer estágio do ciclo celular (FISKESJÖ, 1988; LEME & MARIN-MORALES, 2008). Esses danos observados são classificados como genotóxicos por conta das anormalidades cromossômicas (FISKESJÖ, 1985; LEME & MARIN-MORALES, 2009).

3.7. Agentes genotóxicos e citotóxicos

Enquanto os agentes citotóxicos são definidos como agentes com propriedades danosas às células, os agentes genotóxicos são chamados assim por sua capacidade de interagir com as moléculas do DNA alterando sua forma ou função. Quando essas alterações são transmitidas a futuras gerações, elas são chamadas de mutações. Embora sendo a origem da variabilidade genética e indispensável para que haja a vida no planeta Terra (SILVA; ERDTMANN; HENRIQUES, 2003), a mutação genética pode ser muito prejudicial para organismos pluricelulares já que desequilibra a fisiologia do organismo no qual acontece (LOURO; BORGES; SILVA, 2013).

Os sinais de genotoxicidade e mutagenicidade podem ser observados por alterações no crescimento radicular e índice mitótico (OWOLARAFE et al., 2020) e as seguintes aberrações cromossômicas:

- Aderência cromossômica: Quando uma alteração estrutural ou no número de cromossomos ocasiona a perda das características regulares de condensação como, por exemplo, um aumento da concentração dos cromossomos. (LEME & MARIN-MORALES, 2009; FERNANDES et al., 2009).
- Pontes cromossômicas: Surgem como consequência da aderência cromossômica, os cromossomos tendem a permanecer juntos, porém, se forem separados, ocorre a quebra (MARCANO et al., 2004).
- C-Metáfase: Quando essa alteração ocorre, nenhuma placa equatorial é formada, fazendo com que a divisão seja interrompida e os cromossomos são

espalhados pela célula condensados e com centrômero definido (FISKESJÖ, 1985; (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009).

- Perdas cromossômicas: O cromossomo tende a permanecer disperso no citoplasma devido a uma ligação mal feita no fuso mitótico (SHAMINA; DOROGOVA; SERIUKOVA, 2003). Esses cromossomos soltos são divididos de forma aleatória entre as células que estão sendo formadas, gerando células com alterações no número de cromossomos (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009). Essas alterações são observadas majoritariamente na metáfase, anáfase e telófase (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007).
- Mitose Multipolar: Ocorre quando dois centrossomos se dividem duas vezes durante o ciclo (Fernandes et al., 2007; Maluf & Riegel, 2009), por conta dessa divisão desigual, forma-se células polinucleadas (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009).
- Micronúcleos: Pequena massa nuclear separada do núcleo principal, envolta por membrana que pode ocorrer derivada das pontes cromossômicas (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

4. Metodologia

4.1. Obtenção das nanopartículas

Neste trabalho foi avaliada a ação de nanopartículas de maghemita recobertas por citrato fornecidas pela professora Mariana Campos da Universidade Federal de São João del-Re. Utilizando um fluido magnético sintetizado no Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, sob supervisão da professora Dra. Emília Celma de Oliveira Lima seguindo o determinado protocolo: primeiro mistura-se soluções aquosas de cloreto férrico e cloreto ferroso na proporção 2:1 em solução aquosa de NaOH sob agitação vigorosa formando então nanopartículas de magnetita. Para que as nanopartículas de magnetita sejam oxidadas a maghemita é utilizado oxigênio medicinal sob aquecimento de 95 °C por cinco horas seguido de adição de solução aquosa de citrato de sódio a 5% sucedido de agitação, sonicação, concentração em célula de ultrafiltração e esterilização por filtração em membrana de 0,22 µm, então o pH é ajustado para 7,2 – 7,4.

O fluido magnético é então submetido a um teste de absorção atômica para medir a concentração de ferro total e um teste de difração de raio-x no difratômetro de raio x Shimadzu XRD 6000 para estimar o diâmetro médio das nanopartículas obtendo um valor de 8 nm. A partir desses dados, será estimada a concentração de nanopartículas.

4.2. *Allium test*

Para a análise em células de *Allium cepa* foram utilizadas sementes de cebola obtidas comercialmente. As sementes foram germinadas embebidas em diferentes concentrações de nanopartículas de maghemita: 10, 30, 60 e 80 $\mu\text{g/mL}$ em pré-teste realizado em outro laboratório da UFSJ e 0, 20, 35, 50 e 65 $\mu\text{g/mL}$ neste projeto. Foram distribuídas 25 sementes por placas de petri contendo papel filtro embebido com 2 mL de nanopartículas ou 2 mL do controle (água destilada) correspondendo a três vezes o peso do papel filtro.

As placas de petri foram fechadas, lacradas com papel filme e incubadas em BOD, a 25 °C por sete dias (BRASIL, 2009).



Imagem 1: Placas de petri contendo as sementes para germinação.

As radículas provenientes dessa germinação foram todas medidas no final dos sete dias.

4.3. *Análise citotóxica e genotóxica*

As lâminas foram confeccionadas como descreve Guerra & Souza (2002).

Foram coletadas as pontas das raízes da cebola com o auxílio de uma pinça e fixadas em Carnoy 3:1 (três partes de álcool etílico P.A. para uma de ácido acético glacial) por pelo menos 20h.

Após esse processo, o material foi segmentado com o auxílio de uma agulha de insulina e corado com orceína acética. Foram analisados o índice mitótico e o índice de anormalidades com o auxílio de microscópio óptico (GUERRA; SOUZA, 2002). Foram analisadas 1000 células de forma aleatória para cada uma das concentrações testadas.

4.4. Análise dos dados

A partir dessas lâminas foram observados o Índice Mitótico (IM)

$$\mathfrak{I} = \frac{C_{divisão}}{C_{total}} \times 100$$

Onde $C_{divisão}$ corresponde às células em qualquer fase de divisão (telófase, metáfase, prófase, anáfase) e o C_{total} ao total de células contadas (PIRES et al., 2001) e o Índice de Anormalidades Cromossômicas (IA)

$$IA = \frac{C_{anormais}}{C_{divisão}} \times 100$$

Na qual $C_{anormais}$ é o total de células com cromossomos anormais e $C_{divisão}$ é o número de células em processo de divisão, esse é o índice que lida com fragmentos cromossômicos, pontes e atrasos anafásicos e cromossomos soltos (BEZERRA; SILVA OLIVEIRA, 2016). Os resultados foram analisados utilizando o aplicativo SISVAR, o teste estatístico utilizado foi o de Scott-Knott.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos de índice mitótico e anormalidades cromossômicas foram obtidas utilizando sementes com um lote diferente das sementes utilizadas para os resultados de porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e tamanho da radícula.

5.1. Índice Mitótico e índice de Anormalidades Cromossômicas

No pré-teste, com as concentrações de 10, 30, 60 e 80 $\mu\text{g/mL}$, as nanopartículas de maghemita reduziram a divisão celular quanto utilizadas concentrações até 60 $\mu\text{g/mL}$, por outro lado, na maior concentração 80 $\mu\text{g/mL}$, o índice mitótico não difere do controle (Gráfico 3).

Ao analisar os resultados do índice mitótico, pode-se notar que em relação ao controle, ocorre um decaimento à medida que a concentração vai aumentando até chegar na concentração de 30 $\mu\text{g/mL}$, seu menor valor, a partir desse ponto, à medida que a concentração aumenta, o índice mitótico aumenta também. Portanto, por ter capacidade de diminuir o índice mitótico comprovado ($p < 0,05$) entende-se que a as nanopartículas testadas tem uma característica citotóxica, isso é, pode ocasionar uma indução de morte celular e afetando a divisão celular num todo de forma dose-dependente.

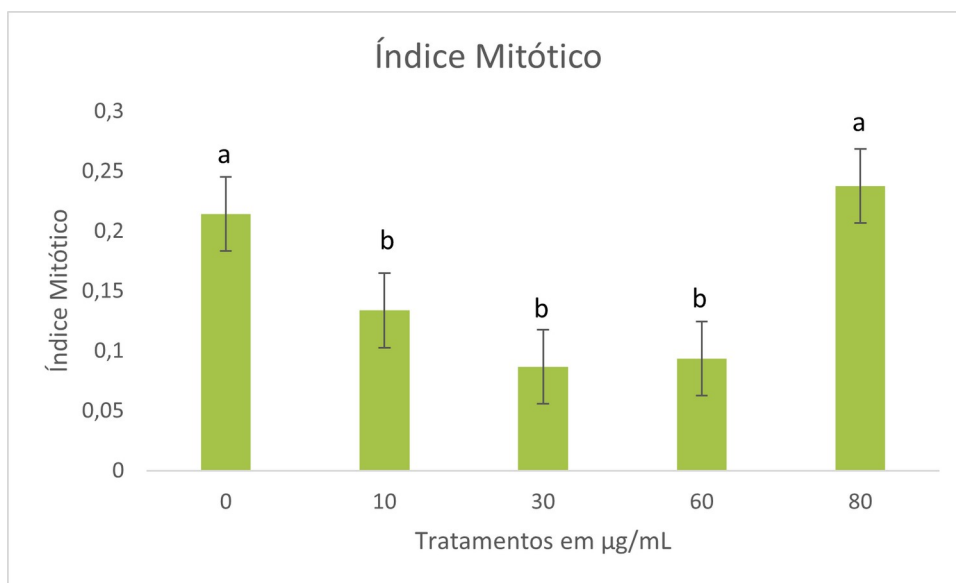


Gráfico 3: Índice mitótico de pontas de raíz de *Allium cepa* L. tratadas com diferentes concentrações de 0, 10, 30, 60 e 80 $\mu\text{g/mL}$, nanopartículas de maghemita.

No experimento foram analisadas concentrações de 20, 35, 50 e 65 $\mu\text{g/mL}$ e pode-se observar que na concentração de 35 $\mu\text{g/mL}$ ocorre uma redução significativa do índice mitótico, já a concentração de 65 $\mu\text{g/mL}$ apresentou a mesma tendência de incrementar o índice de divisões celulares.

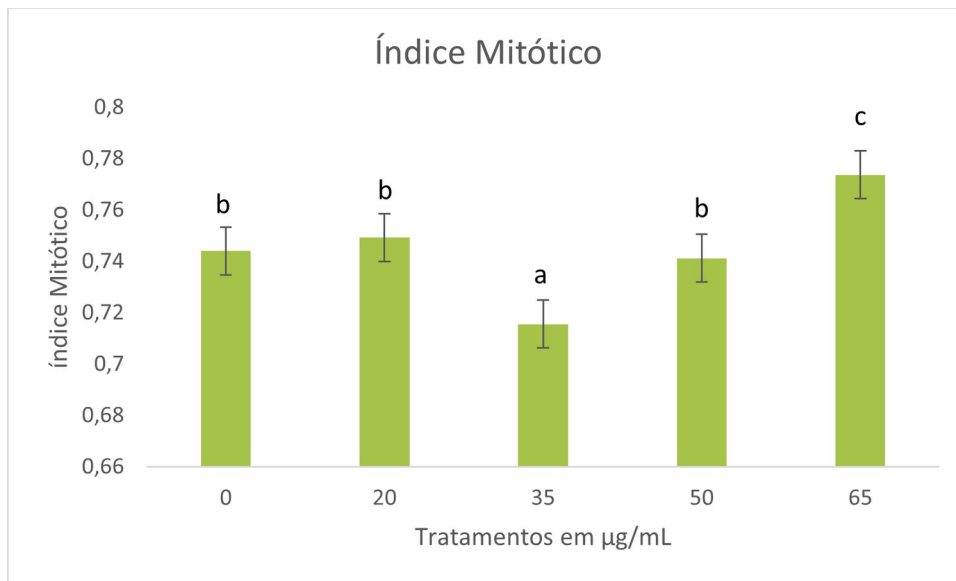


Gráfico 4: Índice mitótico de pontas de raiz de *Allium cepa* L. tratadas com diferentes concentrações de 0, 20, 35, 50 e 65 µg/mL, nanopartículas de maghemita.

Vários medicamentos utilizados para o tratamento de câncer utilizam essa mesma estratégia de citotoxicidade demonstrada na região de 30 a 50 µg/mL (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010), entretanto para tal é necessário avaliar o efeito citotóxico também em tecidos animais, não tumorais, tal qual o estudo realizado por Jordan et al., (2006) que analisa a ação específica de nanopartículas de ferro em tecido tumoral e no tecido saudável ao redor.

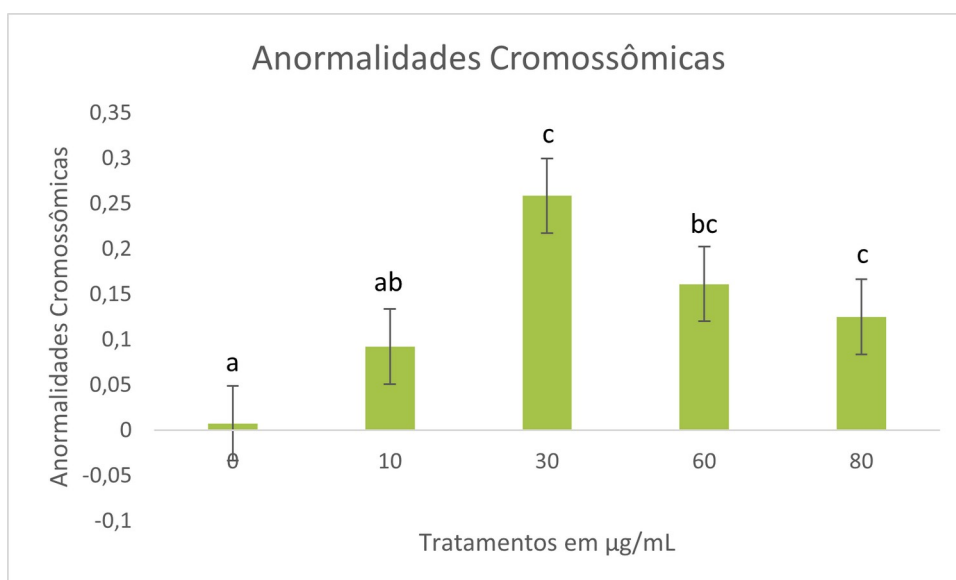


Gráfico 5: Índice de anormalidades cromossômicas de células de *Allium cepa* L. tratadas com diferentes concentrações de 0, 10, 30,60 e 80 µg/mL nanopartículas de maghemita.

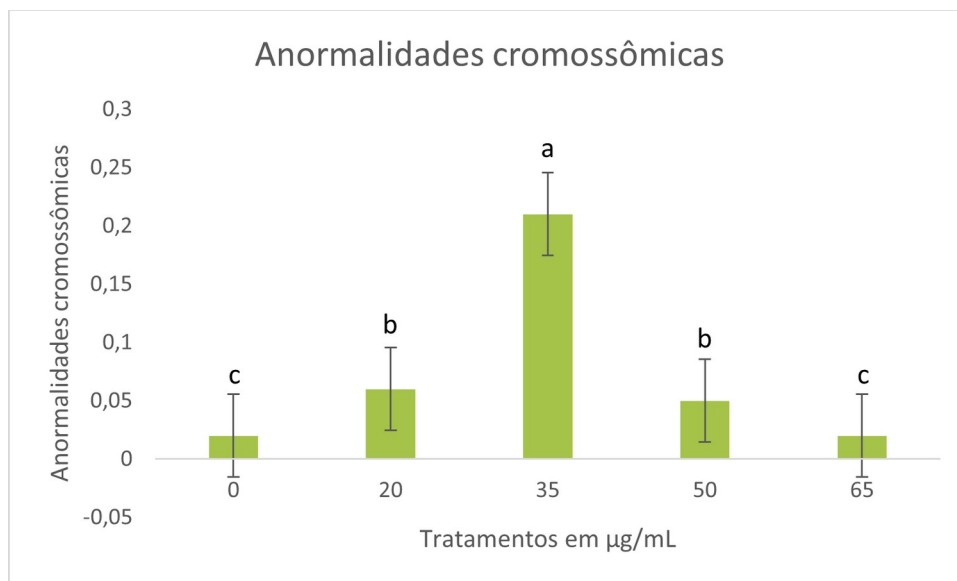


Gráfico 6: Índice de anormalidades cromossômicas de células de *Allium cepa* L. tratadas com diferentes concentrações de 0, 20, 35, 50 e 65 µg/mL nanopartículas de maghemita.

Já em relação às anormalidades cromossômicas, os dados apresentam um relativo aumento à medida que a concentração aumenta também até alcançar a concentração de 30 µg/mL, depois dela, o número de anormalidades observadas começa a cair de novo. Portanto, ao se comparar os tratamentos com o controle é possível observar que a substância pode ser considerada genotóxica, ou seja, ela vai provocar danos no material genético das células levando a mutações e posterior morte celular.

Assim como observado por de Campos et al., (2008), as anormalidades cromossômicas observadas foram pontes anafásicas, fragmentos de cromossomos ou micronúcleos que são indicativos de quebra dos cromossomos por consequência da existência das pontes (SINGH, 2003) e cromossomos pegajosos, estruturas observadas por Babich et al., (1997) que são cromossomos que perderam sua estrutura normal, provavelmente por algum efeito na cromatina ou na organização cromossômica, e passam a ter uma aparência “pegajosa” (GIORGETTI et al., 2020).

Os mecanismos pelos quais isso pode ocorrer são mostrados por Mohammadinejad et al., (2019), podendo incluir a geração de espécies reativas de oxigênio, ou na sigla em inglês, ROS (SANTO et al., 2022). Sabe-se que o ferro é um íon necessário para a manutenção do estado ideal de todas as plantas, entretanto, se submetidas a um meio com excesso de ferro, o balanço redox das células pode ser deslocado de forma que aumente o estado de oxidação aumentando o acúmulo e a produção de ROS, o que leva as células a um estresse oxidativo (BRIAT; LEBRUN, 1999; DE OLIVEIRA JUCOSKI et al., 2013; HELL; STEPHAN, 2003; MØLLER;

JENSEN; HANSSON, 2007). Óxidos metálicos podem ainda gerar íons ou outros compostos solúveis gerando ROS ou, ainda por cima, provocando danos na mitocôndria, danos estes que também levam a apoptose da célula (OU et al., 2016).

Embora as razões pelas quais os átomos metálicos presentes nas nanopartículas interfiram na divisão celular precisam ser mais estudados, sabe-se que sob estresse metálico, os íons de metal interferem no posicionamento correto das regiões organizadoras nucleolares dos cromossomos (BONCIU et al., 2018).

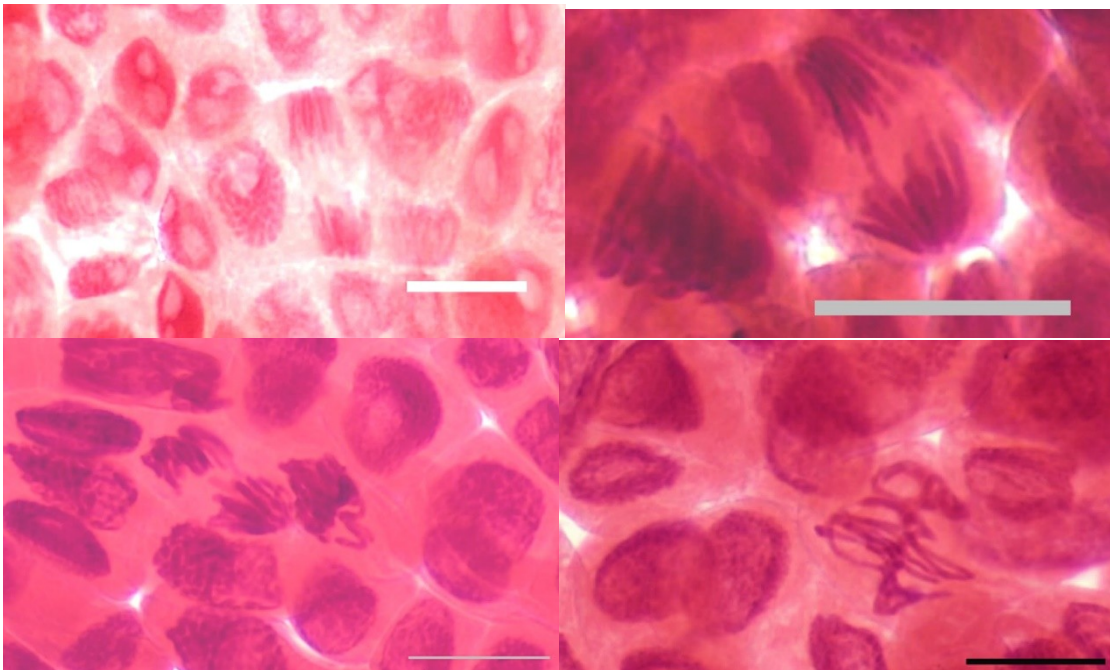


Imagem 2: Fotomicrografias de células meristemáticas de *Allium test*. (1) Células divisão celular. (2) Célula com uma ponte anafásica. (3) Célula com cromossomo solto. (4) Célula com núcleo “pegajoso”.

5.2. Análises de germinação e crescimento

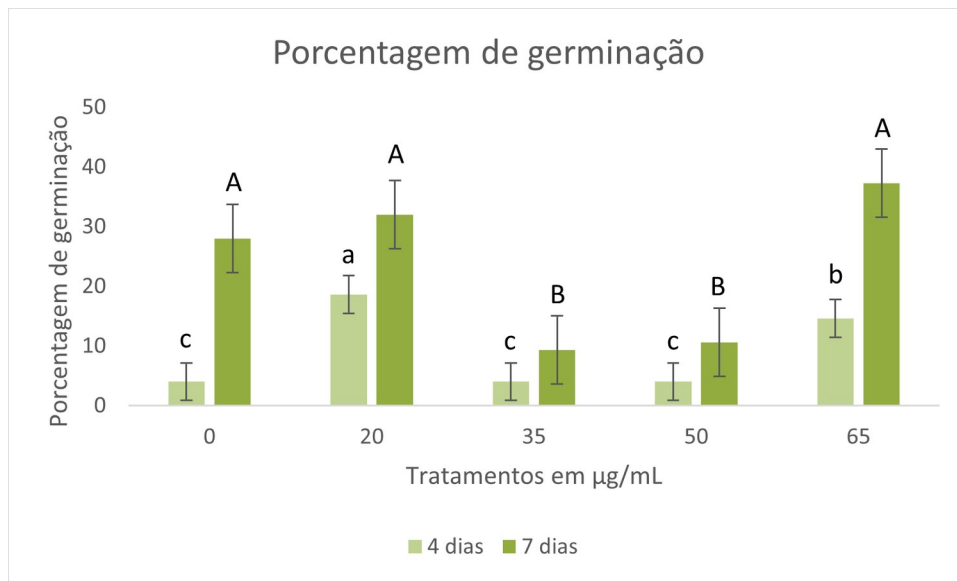


Gráfico 7: Gráfico de porcentagem de germinação em 4 e 7 dias de sementes de *Allium cepa* em diferentes tratamentos de 0, 20, 35, 50 e 65 µg/mL de nanopartículas de maghemita.

Na análise preliminar, pouquíssimas radículas apresentaram sinais visuais de oxidação, entretanto, radículas anormais foram observadas nos tratamentos, exceto no controle.

Outros efeitos observados em algumas germinações foram o envelhecimento preliminar de radículas após o final de sete dias, o endurecimento das mesmas e a diminuição do tamanho do meristema na maioria dos tratamentos.

Em relação a porcentagem de germinação, observa-se um padrão no crescimento em quase todas as concentrações, menos na de 35 e 50 µg/mL que houve um claro decréscimo dos índices.

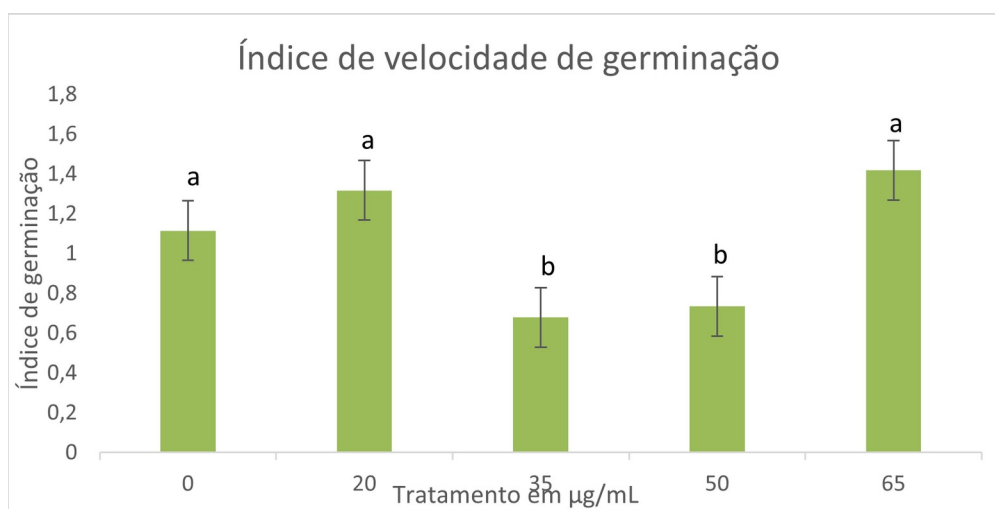


Gráfico 8: Índice de velocidade de germinação de radículas de *Allium cepa* L. tratadas com diferentes concentrações de 0, 20, 35, 50 e 65 µg/mL de nanopartículas de maghemita.

nanopartículas de maghemita.

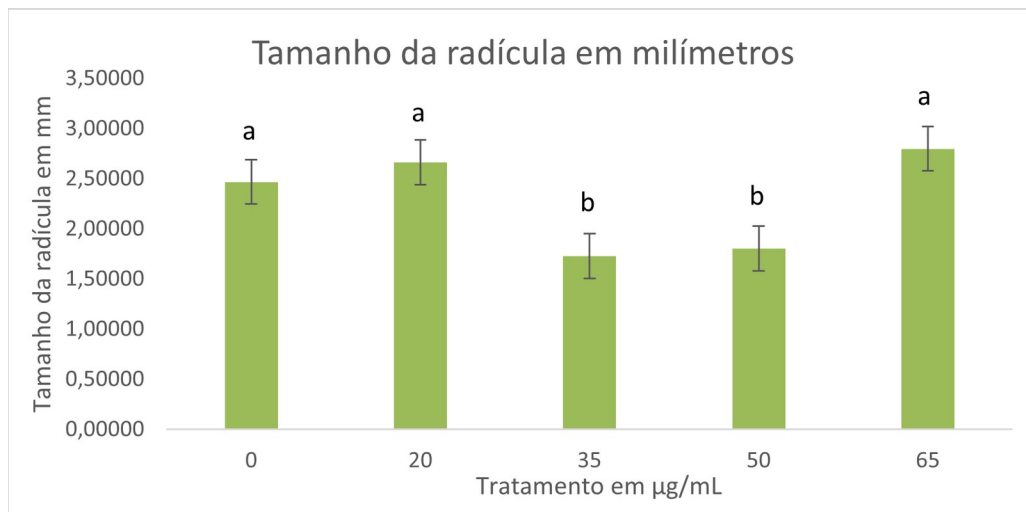


Gráfico 9: Tamanho da radícula de *Allium cepa* L. tratadas com diferentes concentrações de de 0, 20, 35, 50 e 65 µg/mL de nanopartículas de maghemita.

O bioensaio *Allium cepa* test se mostrou um indicador bastante sensível para a detecção da citotoxicidade e a genotoxicidade, assim como observado por Ribeiro et al., (2016) em seu estudo da análise desses efeitos em um biocomposto, é sabido também que os resultados em *Allium* test são similares e comparáveis a testes em células animais (TEDESCO; IV, 2012). Rangunathan & Panneerselvam (2007) validaram o estudo de compostos mutagênicos em *Allium test* ao estudar o comportamento da curcumina nas aberrações cromossômicas, caracterizando-a como substância de potencial efeito antimutagênico.

Os tratamentos de tamanho da radícula e índice de velocidade de germinação mostraram diferença significativa ($p \leq 0,05$) nos tratamentos com nanopartículas. É possível observar um padrão nas concentrações de 35 e 50 µg/mL ocasionando tamanho de radículas menores e um baixo nível de velocidade de germinação.

Uma hipótese provável pelo crescimento é a tendencia natural da raiz a se alongar quando está exposta a um meio em que ela consegue absorver mais nutrientes, justificando o aumento do crescimento celular (TAIZ; ZEIGER IAN MAX MØLLER; MURPHY, 2017). Além desse fator, a já citada ação dos ROS pode justificar a ação

observada (GAPPER; DOLAN, 2006) por mecanismos que precisam de melhor observação, de forma que talvez não ative as defesas naturais da planta (HELL; STEPHAN, 2003) de forma imediata nas concentrações que apresentaram queda dos índices.

Sabe-se, no entanto, que quando ocorre um decréscimo no tamanho da radícula e presença de radículas anormais é sinal de citotoxicidade provocada pelas nanopartículas (KAYGISIZ; CIĞERCI, 2017).

6. CONCLUSÕES

De acordo com os dados mostrados, a nanopartícula de maghemita tem potencial de reduzir a divisão celular e aumentar o número de aberrações cromossômicas, com o seu maior potencial entre 30 a 35 µg/mL, constatando que houve interferência provocada pelas nanopartículas.

Entretanto, a resposta metabólica desencadeada pelas nanopartículas que resultam nos dados observados deve ser melhor esclarecida.

7. RECONHECIMENTO

Agradeço a professora Mariana Campos da Paz do campus Dona Lindu da UFSJ pela síntese da nanopartícula e por gentilmente nos cedê-las para a realização desse projeto.

8. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA SENADO. **Marco Legal da Nanotecnologia é aprovado na CCJ — Senado Notícias**. Disponível em: <<https://www12.senado.leg.br/noticias/materias/2020/02/19/marco-legal-da-nanotecnologia-avanca>>. Acesso em: 14 abr. 2022.

ALAGIRI, M.; MUTHAMIZHCHELVAN, C.; PONNUSAMY, S. Structural and magnetic properties of iron, cobalt and nickel nanoparticles. **Synthetic Metals**, v. 161, n. 15–16, p. 1776–1780, 1 ago. 2011.

ANSARI, M. O. et al. Evaluation of DNA interaction, genotoxicity and oxidative stress induced by iron oxide nanoparticles both in vitro and in vivo: attenuation by thymoquinone. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, 1 dez. 2019.

- BABICH, H.; SEGALL, M. A.; FOX, K. D. The Allium Test: A Simple, Eukaryote Genotoxicity Assay. **The American Biology Teacher**, v. 59, n. 9, p. 580–583, 1 nov. 1997.
- BABINCOVÁ, M.; BABINEC, P.; BERGEMANN, C. High-gradient magnetic capture of ferrofluids: Implications for drug targeting and tumor embolization. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 56, n. 9–10, p. 909–911, 1 out. 2001.
- BANNER, W.; TONG, T. G. Iron Poisoning. **Pediatric Clinics of North America**, v. 33, n. 2, p. 393–409, 1 abr. 1986.
- BARONZIO, G. F.; HAGER, E. D. **Hyperthermia in Cancer Treatment: A Primer**. 1. ed. Nova Iorque: Springer US, 2006.
- BASKAR, R. et al. Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. **International journal of medical sciences**, v. 9, n. 3, p. 193–199, 27 fev. 2012.
- BELLO GUTIÉRREZ, J.; LÓPEZ DE CERAIN SALSAMENDI, A. **Fundamentos de ciencia toxicológica**. Madrid: Díaz de Santos, 2001.
- BERENBLUM, I.; SHUBIK, P. The Role of Croton Oil Applications, Associated with a Single Painting of a Carcinogen, in Tumour Induction of the Mouse's Skin. **British Journal of Cancer**, v. 1, n. 4, p. 379, 1947.
- BEZERRA, C. M.; SILVA OLIVEIRA, M. A. AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE, CITOTOXICIDADE e GENOTOXICIDADE DO INFUSO DE MALVA-SANTA (*Plectranthus barbatus* - LAMIACEAE) SOBRE O CICLO CELULAR DE *Allium cepa*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 13, n. 4, p. 220, 30 dez. 2016.
- BOARD, P. A. T. E. Colon Cancer Treatment (PDQ®). **PDQ Cancer Information Summaries**, n. Md, p. 1–17, 2022.
- BONCIU, E. et al. An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. **Firenze University Press**, v. 71, n. 3, p. 191–209, 3 jul. 2018.
- BONNEMAIN, B. Superparamagnetic agents in magnetic resonance imaging: physicochemical characteristics and clinical applications. A review. **Journal of drug targeting**, v. 6, n. 3, p. 167–174, 1998.
- BOUVARD, V. et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. **The Lancet Oncology**, v. 16, n. 16, p. 1599–1600, dez. 2015.
- BRIAT, J. F.; LEBRUN, M. Plant responses to metal toxicity. **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences - Serie III**, v. 322, n. 1, p. 43–54, 1999.
- BUZEA, C.; PACHECO, I. I.; ROBBIE, K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. **Biointerphases**, v. 2, n. 4, p. MR17–MR71, dez. 2007.
- BYSTRZEJEWSKA-PIOTROWSKA, G.; GOLIMOWSKI, J.; URBAN, P. L. Nanoparticles: Their potential toxicity, waste and environmental management. **Waste Management**, v. 29, n. 9, p. 2587–2595, 1 set. 2009.
- CABEZA, L. et al. Nanoparticles in Colorectal Cancer Therapy: Latest In Vivo Assays, Clinical Trials, and Patents. **AAPS PharmSciTech**, v. 21, n. 5, 1 jul. 2020.

- CABRERA, G. L.; RODRIGUEZ, D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 426, n. 2, p. 211–214, maio 1999.
- CENTER, M. M.; JEMAL, A.; WARD, E. International trends in colorectal cancer incidence rates. **Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology**, v. 18, n. 6, p. 1688–1694, jun. 2009.
- CHABNER, B. A.; ROBERTS, T. G. Chemotherapy and the war on cancer. **Nature Reviews Cancer** 2005 5:1, v. 5, n. 1, p. 65–72, jan. 2005.
- CORTI, M. et al. Endocrine Disruptors and Prostate Cancer. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 3, 1 fev. 2022.
- ÇAVUŞOĞLU, K. et al. Comparative investigation of toxicity induced by UV-A and UV-C radiation using *Allium* test. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 23, p. 33988–33998, 1 maio 2022.
- DE CAMPOS, J. M. S. et al. Mitodepressive and clastogenic effects of aqueous extracts of the lichens *Myelochroa lindmanii* and *Canoparmelia texana* (Lecanorales, Parmeliaceae) on meristematic cells in plant bioassays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 1, p. 141–145, 2008.
- DE DIOS, A. S.; DÍAZ-GARCÍA, M. E. Multifunctional nanoparticles: analytical prospects. **Analytica chimica acta**, v. 666, n. 1–2, p. 1–22, maio 2010.
- DE OLIVEIRA JUCOSKI, G. et al. Impact of iron toxicity on oxidative metabolism in young *Eugenia uniflora* L. plants. **Acta Physiologiae Plantarum** 2013 35:5, v. 35, n. 5, p. 1645–1657, 10 jan. 2013.
- DE OLIVEIRA TEIXEIRA, R. et al. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in in vitro and in vivo assays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 551–555, 2003.
- DI ZAZZO, E. et al. Estrogens and Their Receptors in Prostate Cancer: Therapeutic Implications. **Frontiers in oncology**, v. 8, n. JAN, 18 jan. 2018.
- DOBSON, J. Magnetic nanoparticles for drug delivery. **Drug Development Research**, v. 67, n. 1, p. 55–60, 1 jan. 2006.
- DUAN, R.; DU, W.; GUO, W. EZH2: a novel target for cancer treatment. **Journal of hematology & oncology**, v. 13, n. 1, 28 jul. 2020.
- ELISA PIMENTA VICENTINI, V. et al. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and animal test systems. [s.l.: s.n.].
- FEDIRKO, V. et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. **Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology**, v. 22, n. 9, p. 1958–1972, 2011.
- FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Web of Science**, v. 88, n. 3, p. 252–259, 1 jul. 2007.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent-Trifluralin herbicide. **Web of Science**, v. 72, n. 6, p. 1680–1686, 1 set. 2009.

FILHO, G. B. **Bogliolo Patologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99–112, 1 mar. 1985.

FISKESJÖ, G. The Allium test--an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation research**, v. 197, n. 2, p. 243–260, 1988.

FRULLANO, L.; MEADE, T. J. Multimodal MRI contrast agents. **Journal of biological inorganic chemistry : JBIC : a publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry**, v. 12, n. 7, p. 939–949, set. 2007.

GAPPER, C.; DOLAN, L. Control of plant development by reactive oxygen species. **Plant physiology**, v. 141, n. 2, p. 341–345, 2006.

GIORGETTI, L. et al. Exploring the interaction between polystyrene nanoplastics and *Allium cepa* during germination: Internalization in root cells, induction of toxicity and oxidative stress. **Plant physiology and biochemistry : PPB**, v. 149, p. 170–177, 1 abr. 2020.

GIRAUDEAU, M. et al. Human activities might influence oncogenic processes in wild animal populations. **Nature Ecology & Evolution 2018 2:7**, v. 2, n. 7, p. 1065–1070, 21 maio 2018.

GIRLING, J. S. et al. Pathogenesis of prostate cancer and hormone refractory prostate cancer. **Indian Journal of Urology : IJU : Journal of the Urological Society of India**, v. 23, n. 1, p. 35, 1 jan. 2007.

Global Cancer Observatory. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/>>. Acesso em: 8 ago. 2022.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. DE. **Como observar cromossomos: Animal e Humana**. Ribeirão Preto, SP: Funpec Editora, 2002.

GUPTA, A. K.; GUPTA, M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Biomaterials**, v. 26, n. 18, p. 3995–4021, jun. 2005.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The Hallmarks of Cancer. **Cell**, v. 100, n. 1, p. 57–70, jan. 2000.

HAWIGHORST, T. et al. Thrombospondin-2 plays a protective role in multistep carcinogenesis: a novel host anti-tumor defense mechanism. **The EMBO Journal**, v. 20, n. 11, p. 2631, 6 jun. 2001.

HEISTERKAMP, N. et al. Chromosomal localization of human cellular homologues of two viral oncogenes. **Nature**, v. 299, n. 5885, p. 747–749, 1982.

HELL, R.; STEPHAN, U. W. Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. **Planta**, v. 216, n. 4, p. 541–551, 1 fev. 2003.

INCA, I. N. DE C. J. A. G. DA S. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. . Acesso em: 27 jul. 2022.

JIA, G. et al. Cytotoxicity of Carbon Nanomaterials: Single-Wall Nanotube, Multi-Wall Nanotube, and Fullerene. **Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 5, p. 1378–1383, 1 mar. 2005.

JORDAN, A. et al. The effect of thermotherapy using magnetic nanoparticles on rat malignant glioma. **Journal of neuro-oncology**, v. 78, n. 1, p. 7–14, maio 2006.

KALLUMADIL, M. et al. Suitability of commercial colloids for magnetic hyperthermia. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 10, n. 321, p. 1509–1513, 2009.

KARLSSON, H. L. et al. Size-dependent toxicity of metal oxide particles--a comparison between nano- and micrometer size. **Toxicology letters**, v. 188, n. 2, p. 112–118, 24 jul. 2009.

KIRCHNER, C. et al. Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles. **Nano letters**, v. 5, n. 2, p. 331–338, fev. 2005.

KAYGISIZ, Ş. Y.; CIĞERCI, I. H. Genotoxic evaluation of different sizes of iron oxide nanoparticles and ionic form by SMART, Allium and comet assay. <https://doi.org/10.1177/0748233717722907>, v. 33, n. 10, p. 802–809, 11 set. 2017.

KHAN, I.; SAEED, K.; KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 7, p. 908–931, 1 nov. 2019.

KUMAR, S. et al. Curcumin and 5-Fluorouracil-loaded, folate- and transferrin-decorated polymeric magnetic nanoformulation: a synergistic cancer therapeutic approach, accelerated by magnetic hyperthermia. **International Journal of Nanomedicine**, p. 437, jan. 2014.

KUMAR VINAY; ABBAS, A.; ASTER, J. **Robbins. Patologia Básica**. Filadélfia: Elsevier, 2018.

LEE, H. et al. Rapid detection and profiling of cancer cells in fine-needle aspirates. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 30, p. 12459–12464, 28 jul. 2009.

LEE, N.; HYEON, T. Designed synthesis of uniformly sized iron oxide nanoparticles for efficient magnetic resonance imaging contrast agents. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 7, p. 2575–2589, 12 mar. 2012.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in Allium cepa cells exposed to petroleum polluted water--a case study. **Mutation research**, v. 650, n. 1, p. 80–86, 31 jan. 2008.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 1 jul. 2009.

LEVAN, A. The effect of colchicine on root mitoses in Allium. **Hereditas**, v. 24, n. 4, p. 471–486, 1938.

LOGOTHETIDIS, S. Nanotechnology in Medicine: The Medicine of Tomorrow and Nanomedicine. **Hippokratia**, v. 1, n. 10, p. 7–21, 2006.

LOGOTHETIDIS, S. Nanomedicine: The Medicine of Tomorrow. Em: [s.l: s.n.]. p. 1–26.

LOURO, H.; BORGES, T.; SILVA, M. J. **RUN: Nanomateriais manufacturados : novos desafios para a saúde pública**. Disponível em:

<<https://run.unl.pt/handle/10362/105453>>. Acesso em: 14 abr. 2022.

LUTZ, W. K. A true threshold dose in chemical carcinogenesis cannot be defined for a population, irrespective of the mode of action. **Human & experimental toxicology**, v. 19, n. 10, p. 566–568, 2000.

MACMAHON, B. Reproduction and Cancer of the Breast. **Cancer**, v. 71, n. 10, p. 3185–3188, 15 maio 1993.

MACAR, O. Multiple toxic effects of tetraconazole in *Allium cepa* L. meristematic cells. **Environmental science and pollution research international**, v. 28, n. 8, p. 10092–10099, 1 fev. 2021.

MACAR, T. K. et al. Resveratrol ameliorates the physiological, biochemical, cytogenetic, and anatomical toxicities induced by copper(II) chloride exposure in *Allium cepa* L. **Environmental science and pollution research international**, v. 27, n. 1, p. 657–667, 1 jan. 2020.

MALUF, S. W.; RIEGEL, M. **Citogenética Humana**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2009.

MARCANO, L. et al. Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. **Environmental research**, v. 94, n. 2, p. 221–226, 2004.

MCALOOSE, D.; NEWTON, A. L. Wildlife cancer: a conservation perspective. **Nature Reviews Cancer** 2009 9:7, v. 9, n. 7, p. 517–526, jul. 2009.

MINETTO, P. et al. Harnessing NK Cells for Cancer Treatment. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2836, 6 dez. 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE CIÊNCIA, B.; INSUMOS ESTRATÉGICOS DEPARTAMENTO DE ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA INSUMOS ESTRATÉGICOS, T. Formulário terapêutico nacional 2010: Rename 2010. 2010.

MOHAMMADINEJAD, R. et al. Necrotic, apoptotic and autophagic cell fates triggered by nanoparticles. **Autophagy**, v. 15, n. 1, p. 4, 2 jan. 2019.

MU, L.; SPRANDO, R. L. Application of nanotechnology in cosmetics. **Pharmaceutical research**, v. 27, n. 8, p. 1746–1749, ago. 2010.

MURPHY, C. C. et al. Patterns of Colorectal Cancer Care in the United States: 1990–2010. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 107, n. 10, 1 out. 2015.

MØLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual review of plant biology**, v. 58, p. 459–481, 2007.

NORAT, T. et al. Meat consumption and colorectal cancer risk: dose-response meta-analysis of epidemiological studies. **International journal of cancer**, v. 98, n. 2, p. 241–256, 10 mar. 2002.

OBERDÖRSTER, G.; OBERDÖRSTER, E.; OBERDÖRSTER, J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 7, p. 823–839, jul. 2005.

OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/search/r?keys=folha+informativa+cancer+Brasil>>. Acesso em: 28 jul. 2022.

OU, L. et al. Toxicity of graphene-family nanoparticles: a general review of the origins and mechanisms. **Particle and Fibre Toxicology** 2016 **13:1**, v. 13, n. 1, p. 1–24, 31 out. 2016.

OWOLARAFE, T. A. et al. Investigation of cytotoxicity potential of different extracts of *Ziziphus mauritiana* (Lam) leaf *Allium cepa* model. **Toxicology Reports**, v. 7, p. 816, 1 jan. 2020.

ÖZTÜRK, G.; ÇAVUŞOĞLU, K.; YALÇIN, E. Dose-response analysis of potassium bromate-induced toxicity in *Allium cepa* L. meristematic cells. **Environmental science and pollution research international**, v. 27, n. 34, p. 43312–43321, 1 dez. 2020.

PAPAC, R. J. Origins of cancer therapy. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 74, n. 6, p. 391, 2001.

PALMIERI, M. J. et al. Cytogenotoxic Effects of Spent Pot Liner (SPL) and Its Main Components on Human Leukocytes and Meristematic Cells of *Allium cepa*. **Water, Air, & Soil Pollution** 2016 **227:5**, v. 227, n. 5, p. 1–10, 23 abr. 2016.

PESNYA, D. S. et al. Genotoxicity of Natural Water during the Mass Development of Cyanobacteria Evaluated by the *Allium* Test Method: A Model Experiment with Microcosms. **Toxins**, v. 14, n. 5, p. 359, 1 maio 2022.

PIRES, N. D. M. et al. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1, p. 55–65, 2001.

POWELL, M. C.; GRIFFIN, M. P. A.; TAI, S. Bottom-up risk regulation? How nanotechnology risk knowledge gaps challenge federal and state environmental agencies. **Environmental Management**, v. 42, n. 3, p. 426–443, set. 2008.

RAGUNATHAN, I.; PANNEERSELVAM, N. Antimutagenic potential of curcumin on chromosomal aberrations in *Allium cepa*. **Journal of Zhejiang University. Science. B**, v. 8, n. 7, p. 470, 1 jun. 2007.

RAM J. SINGH. **Plant Cytogenetics**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2003.

RANK, J.; NIELSEN, M. H. Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 312, n. 1, p. 17–24, fev. 1994.

RENEHAN, A. G. et al. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. **Lancet (London, England)**, v. 371, n. 9612, p. 569–578, 2008.

RIBEIRO, T. P. et al. Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Hancornia speciosa* latex in *Allium cepa* root model. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 1, p. 245–249, 22 jan. 2016.

- RICE, M. A.; MALHOTRA, S. V.; STOYANOVA, T. Second-Generation Antiandrogens: From Discovery to Standard of Care in Castration Resistant Prostate Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 9, n. AUG, p. 801, 2019.
- RISOM, L.; MØLLER, P.; LOFT, S. Oxidative stress-induced DNA damage by particulate air pollution. **Mutation research**, v. 592, n. 1–2, p. 119–137, 30 dez. 2005.
- RIZWAN, M. et al. Effects of nanoparticles on trace element uptake and toxicity in plants: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 221, p. 112437, 15 set. 2021.
- ROBERT, J. Biologie de la métastase. **Bulletin du Cancer**, v. 100, n. 4, p. 333–342, 2013.
- ROY, P.; SAIKIA, B. Cancer and cure: A critical analysis. **Indian J Cancer**, v. 2016:53, n. 441–2, 2016.
- SAHA, A. et al. Tumor viruses and cancer biology: Modulating signaling pathways for therapeutic intervention. **Cancer biology & therapy**, v. 10, n. 10, p. 961–978, 15 nov. 2010.
- SAJID, M. et al. Impact of nanoparticles on human and environment: review of toxicity factors, exposures, control strategies, and future prospects. **Environmental science and pollution research international**, v. 22, n. 6, p. 4122–4143, 1 mar. 2015.
- SANTELLA, R. M. et al. DNA adducts, DNA repair genotype/phenotype and cancer risk. **Mutation research**, v. 592, n. 1–2, p. 29–35, 30 dez. 2005.
- SANTHOSH, P. B.; ULRIH, N. P. Multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles: promising tools in cancer theranostics. **Cancer letters**, v. 336, n. 1, p. 8–17, 9 ago. 2013.
- SANTO, D. E. et al. Prospecting toxicity of octocrylene in *Allium cepa* L. and *Eisenia fetida* Sav. **Environmental science and pollution research international**, 2022.
- SCENIHR. SCIENTIFIC COMMITTEE ON EMERGING AND NEWLY IDENTIFIED HEALTH RISKS (SCENIHR) modified Opinion (after public consultation) on The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies. **European Comissions**, 2006.
- SHACTER, E.; WEITZMAN, S. A. Chronic inflammation and cancer - PubMed. **Oncology (Williston Park)**, v. 16, n. 2, fev. 2002.
- SHAMINA, N. V.; DOROGOVA, N. V.; SERIUKOVA, E. G. Dynamics of cytoskeleton microtubules in higher plant meiosis. II. Perinuclear band formation. **Tsitologiya**, v. 45, n. 7, p. 655–660, 2003.
- SHI, Y. et al. Microorganism structure variation in urban soil microenvironment upon ZnO nanoparticles contamination. **Chemosphere**, v. 273, 1 jun. 2021.
- SIEGEL, R. L. et al. Cancer statistics, 2022. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 72, n. 1, p. 7–33, jan. 2022.
- SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética Toxicológica. In: Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003.

- SUFIAN, M. M. et al. Safety issues associated with the use of nanoparticles in human body. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 19, p. 67–72, 1 set. 2017.
- SUDHAKAR, A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. **Journal of cancer science & therapy**, v. 1, n. 2, p. i–iv, 2009.
- TAIZ, L.; ZEIGER IAN MAX MØLLER, E.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2017.
- TEDESCO, S. B.; IV, H. D. L. Bioindicator of Genotoxicity: The Allium cepa Test. **Environmental Contamination**, 29 fev. 2012.
- TONON, L. M.; SECOLI, S. R.; CAPONERO, R. Câncer colorretal: uma revisão da abordagem terapêutica com bevacizumabe. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 2, p. 173–182, 29 jun. 2007.
- TROSKO, J. E. The role of stem cells and gap junctional intercellular communication in carcinogenesis. **Journal of biochemistry and molecular biology**, v. 36, n. 1, p. 43–48, 31 jan. 2003.
- VAN DEN BRANDT, P. A. et al. Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk. **American journal of epidemiology**, v. 152, n. 6, p. 514–527, 15 set. 2000.
- VASCONCELOS ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA, E. et al. Câncer colorretal: uma revisão da abordagem terapêutica com bevacizumabe A review of bevacizumab and its use in colorectal cancer. [s.d.].
- VERONESI, U. et al. Breast cancer. **Lancet (London, England)**, v. 365, n. 9472, p. 1727–1741, 14 maio 2005.
- VICENTINI, V. E. P. et al. A verrhoa carambola L., Syzygium cumini (L.) Skeels e Cissus sicyoides L.: efeitos dos chás de plantas medicinais sobre os sistemas-teste vegetal e animal. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 23, n. 0, p. 593–598, 9 maio 2008.
- WANG, Y. X. J.; HUSSAIN, S. M.; KRESTIN, G. P. Superparamagnetic iron oxide contrast agents: physicochemical characteristics and applications in MR imaging. **European radiology**, v. 11, n. 11, p. 2319–2331, 2001.
- WARHEIT, D. B. How meaningful are the results of nanotoxicity studies in the absence of adequate material characterization? **Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology**, v. 101, n. 2, p. 183–185, fev. 2008.
- WORLD CANCER RESEARCH FUND; AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. **Diet, Nutrition, Physical activity, and Colorectal Cancer. Continuous Update Project Expert Report**. Disponível em: <<https://www.wcrf.org/wp-content/uploads/2021/02/Colorectal-cancer-report.pdf>>. Acesso em: 28 jul. 2022.
- ZHANG, X. Q. et al. ZnO, TiO₂, SiO₂ and Al₂O₃ nanoparticles-induced toxic effects on human fetal lung fibroblasts. **Biomedical and environmental sciences : BES**, v. 24, n. 6, p. 661–669, dez. 2011.