



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

DOUGLAS FERNANDES DA SILVA SANTANA

**ANÁLISE DO PERFIL DE GLICOSE E MANOSE EM
NEOPLASIAS PROSTÁTICAS UTILIZANDO PONTOS
QUÂNTICOS CONJUGADOS A LECTINA DE SEMENTES
DE *CRATYLIA MOLLIS* 1,4**

Recife
2024

DOUGLAS FERNANDES DA SILVA SANTANA

**ANÁLISE DO PERFIL DE GLICOSE E MANOSE EM
NEOPLASIAS PROSTÁTICAS UTILIZANDO PONTOS
QUÂNTICOS CONJUGADOS A LECTINA DE SEMENTES DE
Cratylia Mollis 1,4**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Marília Cavalcanti
Coriolano

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Tereza
dos Santos Correia.

Recife
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Santana, Douglas Fernandes da Silva.

Análise do perfil de glicose e manose em neoplasias prostáticas utilizando pontos quânticos conjugados a lectina de sementes de *cratylia mollis* 1,4 / Douglas Fernandes da Silva Santana. - Recife, 2024.

53 p. : il.

Orientador(a): Marília Cavalcanti Coriolano

Coorientador(a): Maria Tereza dos Santos Correia

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

1. Cramoll. 2. Pontos quânticos. 3. Glicobiologia. 4. Câncer. 5. Câncer de próstata. I. Coriolano, Marília Cavalcanti. (Orientação). II. Correia, Maria Tereza dos Santos. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

DOUGLAS FERNANDES DA SILVA SANTANA

**ANÁLISE DO PERFIL DE GLICOSE E MANOSE EM NEOPLASIAS
PROSTÁTICAS UTILIZANDO PONTOS QUÂNTICOS CONJUGADOS
A LECTINA DE SEMENTES DE *Cratylia Mollis* 1,4**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Biomedicina da Universidade
Federal de Pernambuco, como
pré-requisito à obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Profa. Dra. Marília Coriolano Cavalcanti
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Bioquímica e Biofísica

Prof. Dr. Paulo Euzébio Cabral Filho
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Biofísica e Radiobiologia

Profa. Dra. Nataly Diniz de Lima Santos
Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Departamento de Morfologia e Fisiologia
Animal

AGRADECIMENTOS

Desde a concepção deste trabalho até a sua devida concretização, em cada página ou fora delas, em cada momento e vivência na minha graduação e vida pessoal, diversas pessoas se fizeram presentes e foram fundamentais para que esse resultado final fosse alcançado. Sendo assim, não poderia negá-las o direito de estarem descritas juntamente às palavras que me ajudaram a tecer.

Agradeço, então, a Deus, que me deu a força e as ferramentas necessárias para tal tarefa. Em seguida, agradeço às Professoras Marília Coriolano e à Tereza Correia, minhas orientadoras que seguraram firme em minhas mãos durante todos esses anos e nunca desistiram de mim. Ao Professor Paulo, e demais colegas de laboratório, Wesley, Natália, Geovanna, João, Renan, Júlio e Suellen, que me ajudaram a desbravar e desvendar os mistérios da biofísica, da nanociência e dos pontos quânticos.

Agradeço também ao Departamento de Bioquímica e de Biofísica, ao BIOPROT e ao NanoBio, por cederem a estrutura necessária para o desenvolvimento do projeto; por me incluírem em seu meio e me acolherem como uma família. Ao CNPq, que forneceu os recursos financeiros necessários para a realização da pesquisa.

Em seguida, gostaria de agradecer a minha família, que comprou todos os sonhos de meu *pequeno eu* que sonhava em ser cientista e não descansou até que assim o fosse. A minha mãe, por sempre me trazer paz com sua mera presença, e ao meu pai, que comprou minhas dores e medos como se fossem dele. Às minhas irmãs, Lívia e à Fernanda, que “aturaram” todos os meus surtos tentando escrever essa presente monografia, me encheram de amor e alimentaram minha confiança de que seria capaz de concluí-lo e à minha falecida avó, que sonhava assistir a este momento - eu consegui, vó!

Agradeço também aos “bioagressores” (Brenda, Ida, Hysla, Júlio, Suellen, Pedro e Kamis), que viveram na pele junto comigo diversas aventuras, tristezas, amores e sofrimentos durante a graduação e que, durante todo esse tempo, foram minha rede de apoio nessa instituição. À Sarah, minha menina aquática, que sempre esteve ao

meu lado, que me entendeu, que me acolheu e que me obrigou a sentar na cadeira e escrever esse trabalho.

Agradeço a Júlia, Bruna, Álvaro e Letícia, por todas as trocas, conversas, saídas nas sextas e todas as voltas para casa nos ônibus lotados. A Lucas, meu eterno monitor de fisiologia e amigo, que parece sempre ter algo bom a dizer e a Rebeca e João, por todo apoio incondicional e piadas autodepreciativas.

Aos meus colegas do estágio (Analu, Gio, Hysla, João, Lucas, Mayza, Pedro, Renaly e Tayzes), que compartilharam, além dos diversos momentos, cafés e pipocas, a mesma sensação de escrever um TCC enquanto cumpre outras mil funções e a todos os meus queridos preceptores do Hospital das Clínicas, que me ensinaram a ser grande e a confiar em meu potencial como profissional.

Agradeço a Esmeralda, amiga guerreira, que compartilha comigo as inseguranças, ansiosos, felicidades e responsabilidades, e à Leca, que, quando mostrei meu lado mais “louco e biruta”, também me mostrou o dela e a Adonias, que me ouviu reclamar muitas e muitas vezes.

Agradeço a Cristiane e a Zé Antônio, professores incríveis que me ajudaram a descobrir qual caminho eu queria seguir.

São tantas pessoas que ainda deveriam estar aqui, que me fizeram quem sou e que me ajudaram a chegar onde cheguei. Portanto, a todos vocês, meus mais sinceros agradecimentos.

“Meu caro, não esqueçamos que as pequenas emoções são os grandes timoneiros de nossas vidas, e que as obedecemos sem saber”.

Vincent Van Gogh, Cartas a Théo.

SANTANA, Douglas Fernandes da Silva. **Análise do perfil de glicose e manose em neoplasias prostáticas utilizando pontos quânticos conjugados a lectina de *cratylia mollis***. 2024. 53. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

RESUMO

O câncer de próstata é uma das formas mais comuns de câncer em homens, sendo a segunda maior causa de mortes por câncer no continente americano. Fatores como idade, etnia, genética, histórico familiar e estilo de vida são considerados de risco. Nos estágios iniciais, a doença pode ser assintomática, mas à medida que avança, surgem sintomas mais graves. O diagnóstico é feito por exames como o toque retal, níveis de antígeno prostático específico (PSA) e, finalmente, pela biópsia. A pesquisa em questão explora o uso de lectinas, proteínas que se ligam a carboidratos específicos, como uma alternativa biotecnológica para o estudo e tratamento do câncer de próstata. Especificamente, foca na lectina Cramoll 1,4, extraída das sementes da planta *Cratylia mollis* (feijão Camaratu), e seu potencial antitumoral e diagnóstico. A conjugação de Cramoll com pontos quânticos (PQs), nanopartículas fluorescentes, é destacada como uma técnica promissora para a marcação de glicose e manose em tecidos prostáticos normais e cancerosos. O objetivo da pesquisa foi analisar a expressão desses carboidratos em tecidos de próstata benignos e malignos usando o bioconjugado PQs-Cramoll. Os PQs de CdTe, estabilizados com ácido mercaptossuccínico, foram preparados e conjugados à lectina por adsorção. A capacidade do bioconjugado em marcar tecidos prostáticos foi avaliada por microscopia de fluorescência. A expressão de resíduos de glicose/manose foi detectada em tecidos de hiperplasia benigna prostática, neoplasia intraprostática e adenocarcinoma prostático. Os resultados mostraram, com base nos espectros de absorção dos PQs e do conjugado PQs-Cramoll, foi identificado um pico máximo de absorção dos PQs em 595,5 nm, com a concentração dos PQs de CdTe-AMS estimada em 4,76 μM e um diâmetro de 3,4 nm e o pico máximo de emissão foi de 628,48 nm para os PQs e de 625,47 nm para o conjugado PQs-Cramoll. Além disso, o bioconjugado PQs-Cramoll foi altamente eficaz e específico na marcação desses resíduos, especialmente em áreas celulares das glândulas dos tecidos analisados. No entanto, não foi observada marcação significativa na região estromal dos tecidos. Além disso, a inibição do bioconjugado com ovoalbumina confirmou a especificidade da ligação da lectina aos carboidratos presentes nos tecidos prostáticos, com uma redução significativa da fluorescência. A pesquisa conclui que a combinação de PQs com Cramoll representa uma ferramenta promissora para o estudo da expressão de glicose/manose em tecidos cancerígenos. Essa técnica pode contribuir para uma melhor compreensão do microambiente neoplásico e tem potencial para futuras aplicações no estudo do câncer de próstata.

Palavras-chave: Cramoll. Pontos Quânticos. Glicobiologia. Câncer. Câncer de próstata.

SANTANA, Douglas Fernandes da Silva. **Analysis of the glucose and mannose profile in prostate neoplasms using quantum dots conjugated to lectin from *Cratylia mollis***. 2024. 53. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

ABSTRACT

Prostate cancer is one of the most common forms of cancer in men and the second leading cause of cancer-related deaths in the Americas. Factors such as age, ethnicity, genetics, family history, and lifestyle are considered risk factors. In its early stages, the disease can be asymptomatic, but as it progresses, more severe symptoms emerge. Diagnosis is carried out through exams such as the digital rectal exam, prostate-specific antigen (PSA) levels, and, ultimately, biopsy. The study in question explores the use of lectins, proteins that bind to specific carbohydrates, as a biotechnological alternative for the study and treatment of prostate cancer. Specifically, it focuses on the lectin Cramoll 1,4, extracted from the seeds of the plant *Cratylia mollis* (Camaratu bean), and its antitumor and diagnostic potential. The conjugation of Cramoll with quantum dots (QDs), fluorescent nanoparticles, is highlighted as a promising technique for marking glucose and mannose in normal and cancerous prostate tissues. The study aimed to analyze the expression of these carbohydrates in benign and malignant prostate tissues using the QDs-Cramoll bioconjugate. CdTe QDs, stabilized with mercaptosuccinic acid, were prepared and conjugated to the lectin by adsorption. The bioconjugate's ability to mark prostate tissues was evaluated by fluorescence microscopy. The expression of glucose/mannose residues was detected in benign prostatic hyperplasia tissues, intraprostatic neoplasia, and prostatic adenocarcinoma. The results showed that, based on the absorption spectra of the QDs and the QDs-Cramoll conjugate, a maximum absorption peak of the QDs was identified at 595.5 nm, with the concentration of CdTe-AMS QDs estimated at 4.76 μM and a diameter of 3.4 nm, while the maximum emission peak was 628.48 nm for the QDs and 625.47 nm for the QDs-Cramoll conjugate. Additionally, the QDs-Cramoll bioconjugate was highly effective and specific in marking these residues, especially in cellular areas of the glands in the analyzed tissues. However, no significant marking was observed in the stromal region of the tissues. Furthermore, inhibition of the bioconjugate with ovalbumin confirmed the specificity of the lectin binding to carbohydrates present in prostate tissues, with a significant reduction in fluorescence. The study concludes that the combination of QDs with Cramoll represents a promising tool for studying glucose/mannose expression in cancerous tissues. This technique may contribute to a better understanding of the neoplastic microenvironment and has potential for future applications in prostate cancer research.

Key words: Cramoll. Quantum Dots. Glycobiology. Cancer. Prostate cancer.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Posição anatômica da próstata.....	15
Figura 2 – Mortalidade do câncer de próstata em 2022.....	16
Figura 3 – Progressão do câncer de próstata.....	16
Figura 4 – Divisão das lectinas vegetais de acordo com o número de sítios de ligação a carboidratos.....	21
Figura 5 – Planta (a), vagens (b) e sementes (c) de <i>Cratylia mollis</i>	22
Figura 6 – Esquema da emissão de fluorescência. O ponto preto simboliza o buraco deixado pelo elétron ao ser excitado e passar para a BC.....	25
Figura 7 – QDs com emissão de fluorescência em diferentes regiões do espectro.....	25
Figura 8 – Esquema de conjugação por adsorção de Cramoll com PQs.....	28
Figura 9 – Espectros de absorção dos PQs de CdTe-MAS e do bioconjugado (A) PQs-Cramoll. Os espectros de emissão dos PQs e do PQs-Cramoll bioconjugado estão apresentados na Figura 10.....	33
Figura 10 – Espectros de emissão dos PQs de CdTe-AMS e dos bioconjugados fluorescentes e PQs-Cramoll. Comprimento de onda de excitação = 488 nm.....	34
Figura 11 – Microscopia de fluorescência de neoplasias prostáticas marcadas com PQs-Cramoll. A1 Marcação de Hiperplasia Benigna com PQs-Cramoll (A2 Contraste de fase/ campo limpo). B1 Marcação de Neoplasia Intraprostática com PQs-Cramoll (B2 Contraste de fase/ campo limpo). C1 Marcação de Adenocarcinoma com PQs-Cramoll (C2 Contraste de fase/ campo limpo). Cor vermelho/alaranjado indica fluorescência do bioconjugado. Barra de escala: 50µm.....	36
Figura 12 – Confirmação da especificidade do conjugado (200x) por microscopia de fluorescência. Adenocarcinoma prostático marcado com PQs-Cramoll (A). Adenocarcinoma prostático marcado com PQs-Cramoll inibido por ovoalbumina, após 30 minutos (B). Hiperplasia prostática inibido com PQs-Cramoll, após 30 minutos (C). Contraste de fase de C (D). Hiperplasia prostática inibido com PQs-Cramoll, após 30 minutos (E). Contraste de fase de E (F). Cor vermelho/alaranjado indica fluorescência do bioconjugado.o.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIP	Atrofia Inflamatória Proliferativa
AMS	Ácido Mercaptosuccínico
BC	Banda de Condução
BV	Banda de Valência
Cd	Cádmio
CdTe-AMS	Telureto de Cádmio passivado com Ácido Mercaptosuccínico
Cramoll	Lectina de <i>Cratylia mollis</i>
DRE	Exame Retal Digital
Eg	Band Gap de Energia
HPB	Hiperplasia Prostática Benigna
IARC	Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (do inglês International Agency for Research on Cancer)
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LIKA	Instituto Keizo Asami
NaCl	Cloreto de Sódio
PgTel	Lectina de sarcotesta de <i>Punica granatum</i>
PQs	Pontos Quânticos
PSA	Antígeno Prostático Específico
QDs	Quantum Dots
SteLL	Lectina de folhas de <i>Schinus terebinthifolius</i>
Te	Telúrio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1 O processo cancerígeno prostático.....	14
2.1.1. O câncer de próstata.....	14
2.1.2. Glicosilação aberrante.....	17
2.2 Lectinas e suas aplicações biológicas.....	19
2.3 Lectina das sementes de <i>Cratylia mollis</i>	22
2.4 Pontos quânticos: os nanocristais semicondutores fluorescentes.....	23
2.5 Conjugação de Pontos Quânticos a biomoléculas.....	26
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 Objetivo Geral.....	29
3.2 Objetivos Específicos.....	29
4 METODOLOGIA.....	30
4.1 Obtenção de cramoll.....	30
4.2 Síntese e caracterização dos pqs de cdte-ams.....	30
4.3 Preparação e caracterização do bioconjugado.....	31
4.4 Marcação de tecidos e inibição.....	31
4.5 Obtenção e processamento das imagens.....	32
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
7 CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS.....	39

1 INTRODUÇÃO

O câncer representa um dos principais desafios em termos de saúde global, sendo o de próstata o quarto cancro mais diagnosticado no mundo e se encontra como a segunda principal causa de morte por câncer entre homens no continente americano. Conforme os dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), as estimativas para o Brasil durante o período de três anos (2020-2022) apontam para a ocorrência de aproximadamente 625 mil novos casos anualmente (Lima *et al.*, 2010; Lachance *et al.*, 2024).

O câncer de próstata é uma doença cuja incidência e mortalidade estão associadas ao envelhecimento, embora a etnia, fatores genéticos, história familiar, dieta e alguns hábitos sejam fatores de risco para o desenvolvimento da malignidade. Ainda, pode ser assintomático nos estágios iniciais, mas pode progredir para sintomas mais graves nos estágios mais avançados da doença. O rastreio é feito por meio do exame retal digital, pelos níveis de antígeno prostático específico e o diagnóstico é feito pela biópsia do tecido combinado com o estudo histológico (Crawford, 2003; Ilic *et al.*, 2013; Rawla, 2019).

Nesse sentido, a utilização de plantas como ferramentas no tratamento de enfermidades é uma prática tão antiga quanto a própria história da humanidade. Exemplificando essa perspectiva, as lectinas, proteínas de origem não imune com pelo menos um domínio não catalítico capaz de reconhecer e ligar-se a carboidratos específicos, são amplamente utilizadas em aplicações biomédicas e vêm sendo exploradas cada vez mais em pesquisas para a compreensão acerca da glicobiologia do câncer, seja no estudo das alterações na expressão de glicoproteínas com fins diagnósticos, quanto devido ao seu potencial antitumoral para fins terapêuticos (Oliveira; Akisue, 2000; Xu *et al.*, 2015).

Cramoll, uma lectina extraída das sementes da planta *Cratylia mollis* Mart. (feijão Camaratu), espécie nativa do nordeste brasileiro e pertencente à família Leguminosae, é notavelmente inibida pelo metil α -D-manosídeo, enquadrando-se na classe de lectinas que se ligam a açúcares como glicose/manose (Lima *et al.*, 1997).

O papel desempenhado pelas lectinas, bem como suas interações nos sistemas biológicos, podem ser esclarecidos através da utilização de sondas fluorescentes. Uma alternativa nesse sentido é a classe de marcadores

luminescentes semicondutores, conhecidos como Pontos Quânticos (PQs) ou também chamados de *Quantum Dots* (QDs). Os pontos quânticos conjugados com lectinas têm a capacidade de servir como nanossondas para avaliar a expressão de carboidratos, o que pode oferecer informações de relevância sobre as modificações na glicosilação associadas ao câncer e à patogenicidade de microrganismos, como para a avaliação dos padrões de glicose e manose em tecidos normais e transformados da mama (Fontes *et al.*, 2012; Cunha *et al.*, 2018; Carvalho *et al.*, 2019).

Sob essa perspectiva, marcadores luminosos como os PQs combinados com as lectinas têm demonstrado ser instrumentos práticos e de grande utilidade para analisar o metabolismo e a manifestação de substâncias em células e tecidos cancerígenos. Isso ocorre com o propósito de contribuir para a compreensão de enfermidades tão impactantes como o câncer. Nesse sentido, através da presente pesquisa, a conjugação da Cramoll com os PQs pode se mostrar uma ferramenta biotecnológica eficaz e específica para avaliar a presença de glicose e manose em tecidos da próstata, tanto os que sofreram transformação benigna quanto malignas.

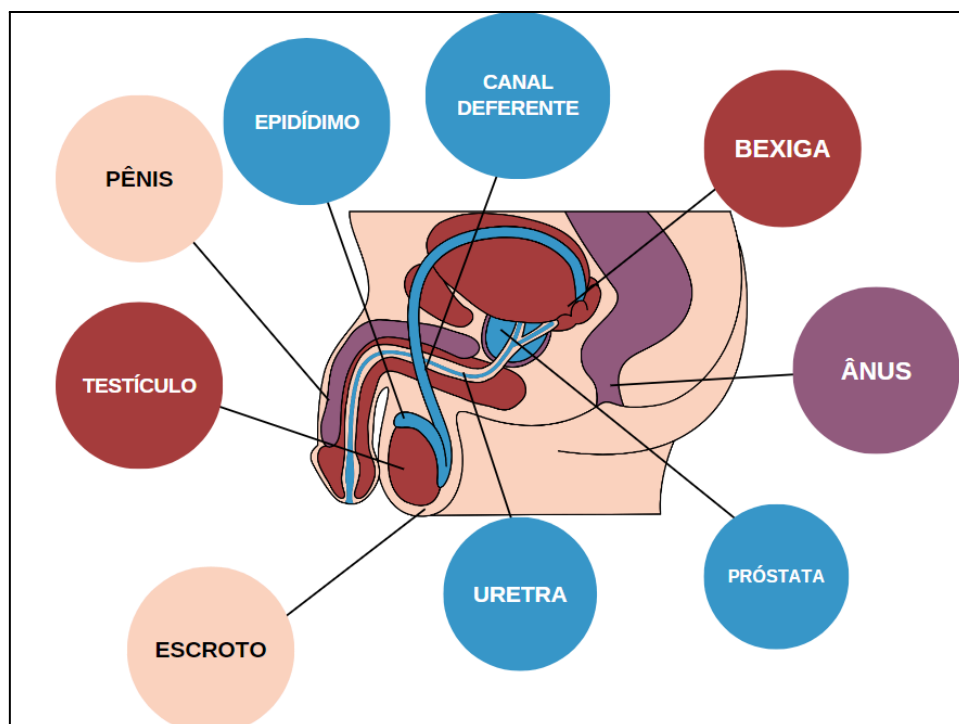
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 O processo cancerígeno prostático

2.1.1 O câncer de próstata

A próstata é uma glândula exclusiva do sistema reprodutor masculino que pesa de 20 a 30g, posicionada na base da bexiga urinária e na frente do reto (figura 1), e é responsável pela produção do fluido prostático, líquido que participa na composição do sêmem, além do antígeno prostático específico (PSA), responsável por solubilizar o esperma. Ela começa a se desenvolver antes do nascimento, fazendo-se presente estruturalmente no feto a partir da décima segunda semana de vida intrauterina e permanece em um estado rudimentar até a adolescência, quando há um desenvolvimento significativo. Essa alteração depende de um sistema regulatório complexo no qual, durante os processos de morfogênese, diferenciação celular, proliferação e produção de substâncias, os andrógenos, especialmente a testosterona, desempenham um papel fundamental. A enzima 5-alfa redutase é responsável por converter a testosterona em diidrotestosterona, o principal hormônio que sinaliza o crescimento da próstata (Carvalho-Salles; Tajara, 1999; Selman, 2011; Baniahmad, 2012;).

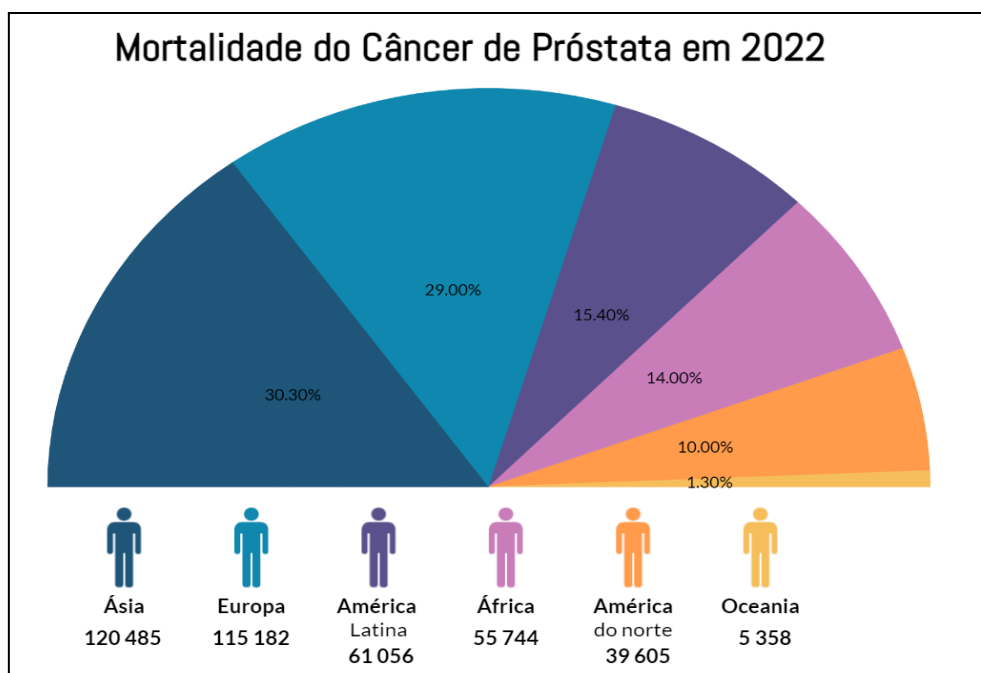
A próstata é encapsulada por uma fina camada de tecido fibroelástico, composto por tecido denso não modelado. Essa cápsula origina septos que subdividem a próstata em cinco lobos: um anterior, um posterior, um medial e dois laterais, que não são perceptíveis em um adulto. Cada lobo acomoda de 30 a 50 glândulas tubuloalveolares ramificadas que envolvem uma porção da uretra (a uretra prostática), compostas por epitélio cubóide ou pseudoestratificado cilíndrico. Ela também pode ser classificado quanto à zonas: a zona central, que compreende a cerca de 25% do volume da glândula, a zona de transição corresponde a 5%, sendo o local de desenvolvimento de hiperplasia prostática benigna (HPB), e a zona periférica, que compreende a cerca de 70% da glândula, sendo a zona com maior incidência de carcinomas (Mcneal, 1981; Mcneal, 1990; Kumar; Majumder, 1995; Junqueira; Carneiro, 2013; Alves, 2018; Martins *et al.*, 2021).

Figura 1 - Posição anatômica da próstata.

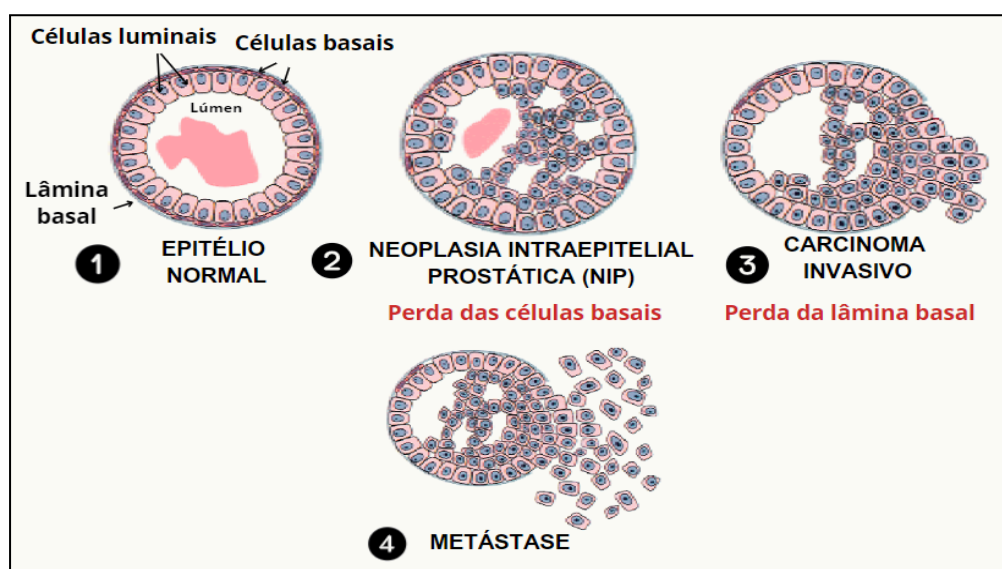
Fonte: o autor

O câncer de próstata está entre os mais comumente diagnosticados em órgãos sólidos, e é uma das principais causas de morte entre os homens no mundo (figura 2). No Brasil, segundo o INCA, a estimativa é de 71.730 novos casos de câncer de próstata por ano até 2025. A etiologia associada a essa doença maligna é variada, envolvendo fatores ambientais, influências genéticas, influências hormonais e causas ligadas ao estilo de vida, como consumo de alto teor de gordura (Isaacs; De Marzo; Nelson, 2002; Durmus; Baur; Hamm, 2014; Singhal *et al.*, 2024).

Nos estágios iniciais, quando confinado à cápsula prostática, o câncer de próstata pode ser assintomático, tendo como sintomas a dificuldade para urinar, aumento da frequência urinária e noctúria. Com o avanço da doença, a retenção urinária também pode se fazer presente como traço da patologia, além da invasão das vesículas seminais e, em seguida, pela metástase (figura 3), principalmente ao osso. Apesar da neoplasia intraepitelial prostática ser encontrada em homens na faixa dos vinte anos e ser comum naqueles dentro da faixa etária dos cinquenta anos, o câncer de próstata clinicamente detectável geralmente não se manifesta até os 60 ou 70 anos de idade (Abate-Shen, 2000; Rawla, 2019).

Figura 2 - Mortalidade do câncer de próstata em 2022.

Fonte: adaptado do the international agency for research on cancer (IARC), 2022.

Figura 3 - Progressão do câncer de próstata.

Fonte: adaptado de ABATE-SHEN, 2000

A glândula prostática pode ser afetada por diversas patologias, entre as mais comuns encontra-se a prostatite e a hiperplasia benigna prostática (HBP). Sendo a HBP caracterizada pelo aumento do número de células epiteliais e do estroma, consequentemente ocorre o aumento do volume da próstata (Chughtai *et al.*, 2016; Thiruchelvam, 2014). Durante a carcinogênese, o estroma pode ser preenchido por

fibroblastos associados ao carcinoma (FACs) e há um aumento da deposição de matriz extracelular. A primeira lesão precursora do câncer de próstata é a atrofia inflamatória proliferativa (AIP), que tem como característica focos de epitélio glandular proliferativo com o aspecto morfológico de atrofia simples ou Hiperplasia Pós-Atrófica (PAH), ocorrendo em associação à inflamação (Marzo *et al.*, 2006).

Conceitualmente, o câncer de próstata se origina a partir das células luminais das glândulas prostáticas, embora há dados também sugerindo que o câncer prostático surge a partir das células basais das glândulas (Yu *et al.*, 2012). Um possível precursor do carcinoma prostático é a neoplasia intraepitelial prostática (NIP). NIP envolve o desenvolvimento anormal das células epiteliais que revestem as glândulas da próstata (Swanson *et al.*, 2018). O baixo grau de NIP é caracterizado pelo aumento populacional de células epiteliais, espaçamento irregular e os núcleos hipercromáticos e pleomórficos. Em alto grau os núcleos das células apresentam um maior nível de hipercromatismo e pleomorfismo (Taneja *et al.*, 2013). A presença de NIP sugere um aumento do risco de adenocarcinoma, mas pode levar até dez anos para que essa neoplasia se forme.

A investigação do cancro de próstata se dá, inicialmente, pela pesquisa do antígeno prostático específico (PSA), uma glicoproteína formada pela próstata, e pelo exame retal digital (DRE), embora o diagnóstico definitivo seja realizado por meio da histopatologia de biópsias da próstata. Os níveis de PSA estão frequentemente elevados no câncer de próstata, podendo ser superiores a 4 ng/ml. Todavia, outros fatores também podem elevar essa glicoproteína na corrente sanguínea, como obesidade, prostatite, irritação ou HPB (Hoeks *et al.*, 2011; Adamczyk; Tharmalingam; Rudd, 2012; Pezaro; Woo; Davis, 2014).

2.1.2 Glicosilação aberrante

Os carboidratos, também conhecidos como glicídios, são as macromoléculas orgânicas mais abundantes nos seres vivos e são essenciais para sua sobrevivência. Animais e plantas produzem e utilizam carboidratos para armazenar energia, sob a forma de glicogênio e amido e, quando esses polissacarídeos são hidrolisados, resultam em monossacarídeos, que servem como combustível na respiração celular, gerando adenosina trifosfato (ATP), a principal fonte de energia

para que as células realizem seus processos metabólicos (Nimrichter *et al.*, 2004; Zachara *et al.*, 2006; Sharon, 2008).

Os glicídios desempenham um papel metabólico vital em muitos sistemas biológicos, participando da sinalização e comunicação intracelular, bem como na interação entre a célula e o ambiente extracelular. Eles são essenciais para o desenvolvimento da vida e a manutenção da homeostase, sendo fundamentais em várias funções fisiológicas importantes, como desenvolvimento embrionário, diferenciação, crescimento, reconhecimento célula-célula, sinalização celular, interação com patógenos, resposta imunológica, metástase e fornecimento de rigidez à membrana celular (Zachara *et al.*, 2006; Sharon, 2008; Lima *et al.*, 2010; Varki, 2011; Fontes *et al.*, 2013; Wade, 2013; Adua *et al.*, 2017; Varki, 2017).

Os glicídios desempenham um papel crucial em vários processos para a manutenção da via, e a expressão de diferentes tipos de glicanos em diversos tecidos e estágios de desenvolvimento pode estar associada a várias funções. A glicosilação, que se dá pela ligação covalente de carboidratos a outros carboidratos, proteínas ou lipídeos, utilizando substratos doadores de açúcar específicos, é um dos principais mecanismos regulatórios para a manutenção da homeostasia celular e tecidual. Esta modificação pós-traducional, a mais abundante nos seres vivos, é fundamental para o reconhecimento celular, adesão e proliferação (Sharon; Lis, 2004; Nimrichter *et al.*, 2004; Gabius *et al.*, 2011; Vasconcelos-Dos-Santos *et al.*, 2015).

Dessa forma, os glicanos podem ser classificados em diferentes famílias de glicoconjugados, principalmente com base na forma como se ligam às suas partes não glicosiladas, como glicoproteínas, glicolipídios e proteoglicanos (Ghazarian; Idoni; Oppenheimer, 2011; Pinho; Reis, 2015; Rodriguez *et al.*, 2015).

A glicosilação de proteínas pode ser dividida em três categorias com base na natureza da ligação dos glicanos às estruturas polipeptídicas: N-glicanos, O-glicanos e C-glicanos. A N-glicosilação ocorre tanto no retículo endoplasmático quanto no complexo de Golgi e envolve a adição covalente de um núcleo de oligossacarídeos à cadeia lateral de amida da asparagina, tipicamente na sequência Asn-X-Ser/Thr, onde X pode ser qualquer aminoácido, exceto prolina. Após essa adição, ocorre uma fase de reorganização dos glicídios ligados à proteína, que inclui a remoção de glicose e manose e a adição de novos sacarídeos, conforme a função que a proteína desempenhará (Reis *et al.*, 2010; Potapenko *et al.*, 2010).

A O-glicosilação, por sua vez, acontece no complexo de Golgi e envolve a adição de um carboidrato à hidroxila de uma serina e/ou treonina. Este processo começa com a transferência de uridina difosfato N-acetilgalactosamina para os resíduos de serina ou treonina, catalisada pelas enzimas da família das UDP-N-acetilgalactosaminil transferases. Em seguida, as cadeias de carboidratos são alongadas pela adição de galactose à N-acetilgalactosamina. As mucinas são as principais glicoproteínas com glicanos O-ligados, devido à presença abundante de resíduos de serina e treonina em suas regiões (Potapenko *et al*, 2010; Pinho; Reis, 2015; Varki *et al.*, 2017).

Por fim, os C-glicanos são uma forma rara de glicosilação, caracterizada pela adição de uma α -manopiranosose ao carbono C2 do anel indol do triptofano (Ghazarian; Idoni; Oppenheimer, 2011; Varki *et al.*, 2017). Alterações na glicosilação são de grande importância em processos patológicos, como o câncer, afetando eventos como proliferação celular, angiogênese, invasão e metástase. As principais mudanças na glicosilação incluem a fucosilação, a truncagem de glicanos O-ligados, a sialilação e as ramificações de glicanos N e O ligados (Reis *et al*, 2010; Potapenko *et al*, 2010; Pinho; Reis, 2015; Keser, 2016).

As células cancerígenas frequentemente exibem níveis de glicosilação elevados em comparação com células normais, produzindo estruturas de glicanos que podem ser usadas como marcadores para diagnóstico e tratamento, como o PSA. No entanto, a medição do PSA pode ser imprecisa e resultar em falsos positivos, com sua especificidade podendo ser aprimorada ao analisar as alterações na glicosilação do PSA (Meany *et al.*, 2009; Fontes *et al.*, 2013; Tuccillo *et al.*, 2014; Tang *et al.*, 2015; Nie *et al.*, 2015).

A nível citológico e bioquímico, a glicosilação aberrante é comum nos processos cancerígenos, afetando qualquer tipo de glicoconjugado, como N-glicanos e O-glicanos. No câncer de próstata, observou-se um aumento de glicoconjugados contendo resíduos de glicose/manose, além da expressão do ácido salicílico e do carboidrato do tipo mucina (Hounsell; Young; Davies, 1997; Lima *et al.*, 2010; Adamczyk; Tharmalingam; Rudd, 2012).

2.2 Lectinas e suas aplicações biológicas

Sendo descritas pela primeira vez em 1888 por Peter Hermann Stillmark, as lectinas constituem um grupo heterogêneo de proteínas capazes de reconhecer e ligar-se a diferentes carboidratos, diferenciando-se em relação à aspectos estruturais, como a quantidade e composição de seus aminoácidos. Desde então, são conhecidas por apresentarem pelo menos um domínio não catalítico capaz de ligar-se a um carboidrato específico, denominado domínio de reconhecimento a carboidratos ou CRD (Lima *et al.*, 1997; Teixeira, 2005; Van Damme, 2014; De Schutter; Van Damme, 2015).

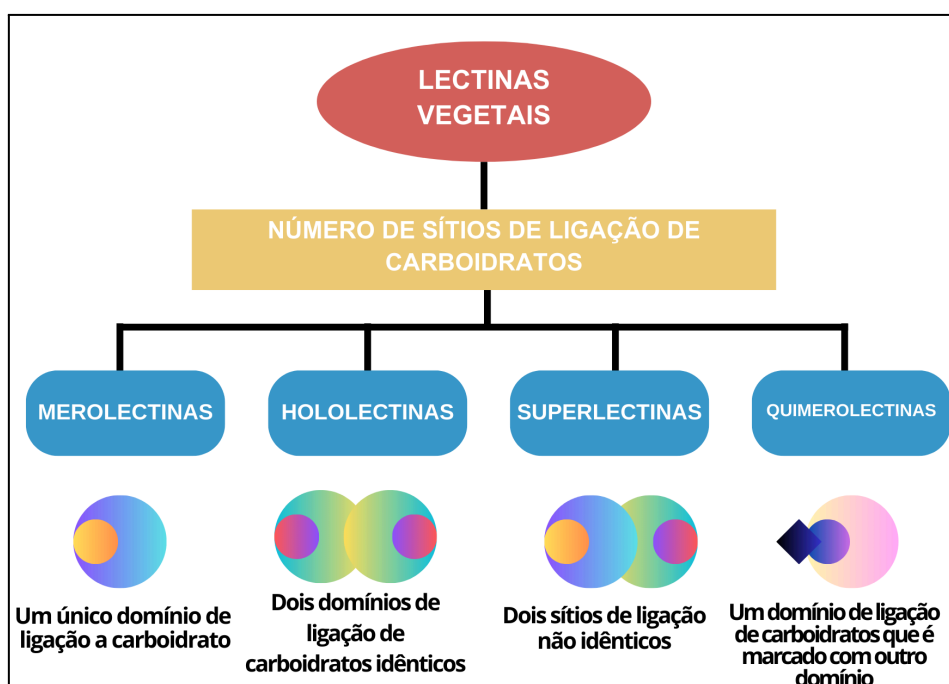
Por interagir com os carboidratos na superfície celular, as lectinas podem ser utilizadas para atividades biológicas, tais como promoção de respostas Th1 e Th17, atividade cicatrizante, atividade antiparasitária e atividade antitumoral, atividade anti-inflamatórias, atividade imunomoduladora em células mononucleares, interferência no crescimento e sobrevivência de bactérias patogênicas, resposta imunomoduladora em esplenócitos e o tratamento de feridas cutâneas em ratos saudáveis e imunocomprometidos (Lima *et al.*, 2010; Coriolano *et al.*, 2012; Araújo *et al.*, 2013; Albuquerque *et al.*, 2014; Coriolano *et al.*, 2014; Moura *et al.*, 2015; Brito *et al.*, 2017; Coelho *et al.*, 2017; Coriolano *et al.*, 2018).

As lectinas podem ser encontradas em plantas, animais, algas e fungos. Nos vegetais, essas proteínas geralmente estão envolvidas no processo de defesa e simbiose com outros organismos (Van Damme; Lannoo; Peumans, 2008; Van Damme, 2022). Na década de 1980, as pesquisas restringiam-se às cascas e raízes; posteriormente, essas proteínas passaram a ser investigadas em outros tecidos vegetais, como folhas e sementes, e a utilização desses, em novas pesquisas, possibilitou a descoberta de novas lectinas com diferentes propriedades (Van Damme *et al.*, 1998; Van Damme, 2014).

As lectinas vegetais podem ser divididas em quatro grupos com base no número de sítios de ligação de carboidratos, são eles: as merolectinas, hololectinas, superlectinas e quimerolectinas (figura 4). As merolectinas são aquelas com um único domínio de ligação a carboidratos, sendo incapazes de precipitar glicoconjugados ou aglutinar células. As hololectinas possuem pelo menos dois domínios de ligação de carboidratos idênticos ou homólogos e se ligam aos mesmos açúcares ou àqueles estruturalmente semelhantes, sendo capazes de aglutinar células e/ou precipitar glicoconjugados (Van Damme *et al.*, 1998; Mishra *et al.*, 2019).

Já as superlectinas, assim como as hololectinas, possuem dois sítios de ligação, no entanto, não idênticos e reconhecem açúcares estruturalmente diferentes. As quimerolectinas, proteínas de fusão, não possuem domínios de carboidratos, todavia, possuem um domínio de ligação de carboidratos que é marcado com outro domínio, que pode ter atividade enzimática ou outra atividade biológica bem definida, operando independentemente do domínio de ligação de carboidratos (Barbieri; Battelli; Stirpe, 1993; Van Damme *et al.*, 1998, Mishra *et al.*, 2019).

Figura 4 - Divisão das lectinas vegetais de acordo com o número de sítios de ligação a carboidratos.



Fonte: o autor.

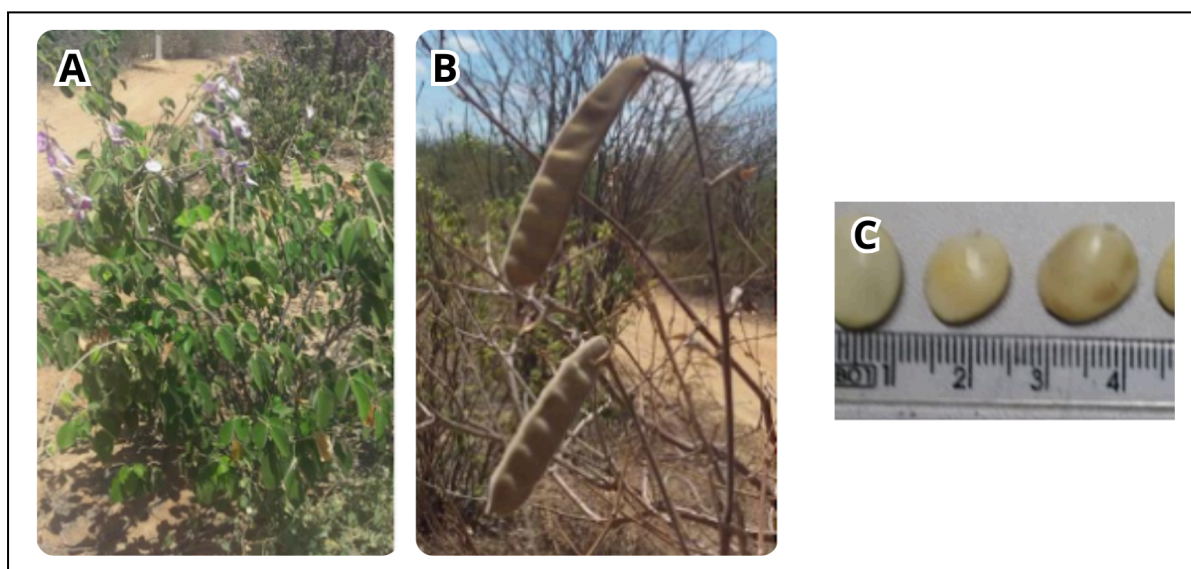
Devido a sua capacidade de ligação específica com carboidratos, as lectinas vêm sendo utilizadas no campo biotecnológico para estudos envolvendo sinalização celular e interações célula-célula ou hospedeiro-patógeno, desenvolvendo novas formas de detecção, tratamento e cura para diferentes doenças que afetam o organismo humano (Van Damme, 2014; Coelho *et al.*, 2017). Como exemplos pode-se citar o uso da lectina de sarcotesta de *Punica granatum* (PgTel) como agente bactericida em *Serratia marcescens* e *Streptococcus mutans*; o uso da lectina de folhas de *Schinus terebinthifolius* (SteLL) como agente antifúngico e o uso

da lectina de sementes de *Cratylia mollis* (Cramoll) para avaliação histoquímica de tecidos (Lima *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2016; Hiremath *et al.*, 2020).

2.3 Lectina das sementes de *Cratylia mollis*

Cratylia mollis Mart, também chamada de feijão camaratu (Figura 5), é uma espécie nativa do nordeste brasileiro pertencente à família Leguminosae. A partir de suas sementes, é possível purificar a lectina Cramoll. Essa lectina possui quatro isoformas, chamadas de Cramoll 1, Cramoll 2, Cramoll 3 e Cramoll 4, que podem ser separadas pelo fracionamento e cromatografia. A Cramoll 1, 2 e 4 possuem especificidade para resíduos de glicose/manose, enquanto a 3 é uma glicoproteína específica para a galactose. A produção de Cramoll 1 recombinante (rCramol) também já foi realizada, utilizando um DNA sintetizado quimicamente que codifica a Cramoll 1, que foi clonado em um vetor de expressão bacteriana de *Escherichia coli*. Todavia, cerca de 90% da lectina foi detectada sob a forma de agregados insolúveis (Paiva; Coelho, 1992; Correia; Coelho, 1995; Varejão *et al.* 2010; Melo *et al.*, 2011; Suarez Carneiro *et al.*, 2021).

Figura 5 – Planta (a), vagens (b) e sementes de *Cratylia mollis* (C).



Fonte: adaptado de OLIVEIRA, 2021.

A Cramoll tem sido empregada com sucesso em diversas aplicações biotecnológicas, tais como atividade imunomoduladora através da resposta Th1 através de maior IFN- γ e baixa produção de IL-10, detecção de lipopolissacarídeos

bacterianos através de um biossensor eletroquímico, reepitelização e retração da ferida em queimaduras de segundo grau, detecção de glicoproteínas da dengue em amostras por meio de um biossensor, sendo incorporada em lipossomas para potencializar a atividade antitumoral e integrada a filmes de galactomanana para acelerar o processo de cicatrização. Adicionalmente, essa lectina já foi conjugada com a enzima peroxidase proveniente da raiz forte (*Armoracia rusticana*) para a distinção de tecidos prostáticos por meio de técnicas histoquímicas (Andrade *et al.*, 2004; Lima *et al.*, 2010; Melo *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2012; Avelino *et al.*, 2014; Albuquerque *et al.*, 2017).

Além disso, estudos revelam que as isoformas da lectina de *C. mollis* são capazes de reconhecer as células e estruturas extracelulares de tecidos prostáticos. A Cramoll também foi aplicada, conjugada com os Pontos Quânticos, como uma sonda específica e eficaz para a avaliação dos padrões de glicose e manose em tecidos normais e transformados da mama, incluindo fibroadenoma e carcinoma ductal invasivo (Lima *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2019).

2.4 Pontos quânticos: os nanocristais semicondutores fluorescentes

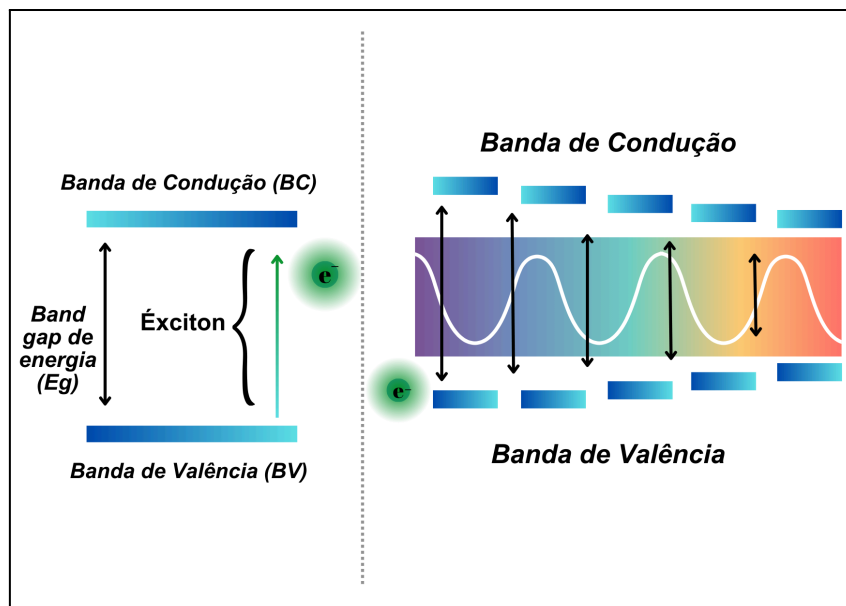
A nanotecnologia, ramo do estudo que compreende a análise e manipulação da matéria em uma nanoescala, ao ser associada com a fotônica, ciência que compreende as características da luz, permitiu a realização de alterações na estrutura de partículas semicondutoras nanométricas a fim de promover novas conformações em suas propriedades ópticas. Os Pontos Quânticos (PQs) ou *Quantum Dots* (QDs) são nanocristais semicondutores fluorescentes que apresentam dimensões que variam de 1 a 10 nm e que possuem diversas propriedades, tais como amplo espectro de absorção e alta estabilidade à luz (Santos; Farias; Fontes, 2008; Xiao *et al.*, 2010; Lu *et al.*, 2011).

Os primeiros experimentos envolvendo PQs datam de 1981, utilizando partículas em matriz de vidro. Com a evolução dos estudos no campo das ciências da vida, esses nanocristais vêm sendo cada vez mais utilizados para aplicações biológicas, como para a marcação de tumores, marcação de receptores de transferrina e para a terapia fototérmica do câncer (Chan; Nie, 1998; Arndt-Jovin *et al.*, 2009; Chu *et al.*, 2012; García De Arquer *et al.*, 2021).

A fluorescência observada nos PQs ocorre em razão da mudança dos elétrons da banda de valência (BV), ocupada por elétrons, para a banda de condução (BC), após serem excitados por um fóton. A BV e a BC são separadas por um band gap de energia (E_g) e, para que essa mudança de bandas ocorra é necessário que a energia absorvida seja de valor igual ou superior à energia do E_g (Chaves, 2006; Ranjbar-Navazi *et al.*, 2019). Ao passar para a BC, o elétron deixa na banda de valência um espaço carregado positivamente, conhecido como éxiton. Quando o elétron excitado decai energeticamente de volta para o buraco na BV, é emitida a fluorescência (figura 6) (Smith; Gao; Nie, 2004; Chaves, 2006).

O material e o tamanho dos PQs vão influenciar no tamanho do E_g . No caso desses nanocristais, essa relação entre elétron e o buraco sofre um efeito chamado de confinamento quântico, onde as três dimensões dos nanocristais são menores que o raio de Bohr. Os pontos quânticos (PQs) apresentam um amplo espectro de absorção, permitindo que sejam excitados por um único comprimento de onda de luz. Além disso, suas emissões são caracterizadas por espectros estreitos e bem definidos, garantindo uma alta precisão espectral. Além disso, essa propriedade permite a manipulação dos espectros de emissão de um PQ a partir do tamanho do nanocristal, onde o tamanho da partícula é inversamente proporcional ao E_g . À medida que o tamanho das partículas é reduzido, observa-se um aumento na largura da banda energia, refletindo os efeitos do confinamento quântico, emitindo fluorescência em uma região distinta do espectro, como ilustrado na Figura 7. Os PQs com uma largura de E_g menor emitem luz em comprimentos de onda mais extensos, deslocando-se para a região vermelha do espectro. Em contrapartida, os PQs com E_g mais elevados geram emissões em comprimentos de onda mais curtos, direcionando-se para a zona azul do espectro. (Smith; Gao; Nie, 2004; Chaves, 2006; Santos; Farias; Fontes, 2008; Filho, 2013).

Figura 6 - Esquema da emissão de fluorescência. O ponto preto simboliza o buraco deixado pelo elétron ao ser excitado e passar para a BC.



Fonte: o autor

Figura 7 - QDs com emissão de fluorescência em diferentes regiões do espectro.



Fonte: Nanobio

Devido a suas propriedades intrínsecas, os PQs vêm sendo amplamente utilizados para diversas aplicações nanotecnológicas e biológicas. Dessas Últimas, temos a produção de imagens baseadas em PQs que têm sido amplamente aplicadas em pesquisas sobre tecidos neoplásicos, uma vez que imagens obtidas com auxílio de sondas fluorescentes fornecem uma visualização específica e mais detalhada em termos de conteúdo molecular quando comparadas as imagens coradas com hematoxilina-eosina (HE) conhecidas como padrão ouro para o exame clínico de biópsias. Nesse contexto, os PQs conjugados às lectinas têm sido usados como nanossondas para a análise de expressão de carboidratos fornecendo

informações valiosas a respeito de alterações da glicosilação relacionados ao câncer, em virtude das possíveis mudanças no glicofenótipo dessas células (Fontes, 2008; Medintz; Mattoussi; Clapp, 2008; Ambekar *et al.*, 2012; Monteiro *et al.*, 2020)

2.5 Conjugação de Pontos Quânticos a biomoléculas

Em 1998, Chan e Nie descreveram a conjugação de pontos quânticos (PQs) de CdSe com as proteínas IgG e transferrina. Eles usaram carbodiimidas para promover a ligação covalente entre os grupos carboxila dos PQs e os grupos amino das proteínas. No mesmo ano, de forma independente, Bruchez e sua equipe utilizaram um tipo semelhante de PQs revestidos com sílica, conjugados à biotina, para marcar filamentos de actina em células 3T3. Ainda hoje, devido às propriedades físico-químicas, especialmente por sua resistência ao fotobranqueamento e seus ativos de superfície, os PQs são conjugados com diversas proteínas ou anticorpos, como as lectinas (Chan; Nie, 1998; Medintz; Mattoussi; Clapp, 2008)

Os bioconjugados unem a função biológica específica de biomoléculas às inovadoras propriedades dos nanocristais semicondutores. A criação desses nanomateriais é viabilizada, em grande parte, por métodos de solubilização, que garantem a estabilidade e funcionalidade das biomoléculas após sua incorporação em nanopartículas (Chan; Nie, 1998; Medintz; Mattoussi; Clapp, 2008; Fontes *et al.*, 2012; Fontes *et al.*, 2013; Foubert *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2019).

Os procedimentos de conjugação envolvem diferentes mecanismos de reação, embora seja necessário considerar alguns fatores, como a preservação da atividade natural da biomolécula e das propriedades ópticas dos PQs, a obtenção de bioconjugados estáveis nas condições de aplicação e a minimização das ligações inespecíficas com sistemas biológicos. Diversas estratégias foram desenvolvidas e aplicadas para acoplar biomoléculas aos pontos quânticos, dependendo dos grupos reativos presentes em sua superfície, e, entre elas, as técnicas mais comuns para a bioconjugação de PQs a moléculas biológicas incluem duas abordagens principais: ligação não covalente e ligação covalente (Jin; Hildebrandt, 2012; Blanco-Canosa *et al.*, 2014; Cabral Filho *et al.*, 2015, Bilan *et al.*, 2015; Cabral Filho *et al.*, 2016).

Na bioconjugação por ligação covalente, uma das estratégias mais comuns para a construção de sondas com pontos quânticos (PQs), é possível controlar com precisão a orientação e a quantidade de biomoléculas conjugadas aos nanocristais. Isso ocorre porque os grupos funcionais presentes na superfície dos PQs estão covalentemente ligados a outras moléculas, formando, por exemplo, ligações entre grupos amina-amina, carboxil-amina ou pontes dissulfeto (Karakoti *et al.*, 2015; Jing *et al.*, 2016)

A escolha dos mediadores para essa conjugação covalente depende dos grupos funcionais dos PQs e das biomoléculas envolvidas. Os principais agentes de acoplamento utilizados para promover a formação de ligações amida são o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) e a N-hidroxisuccinimida (NHS ou Sulfo-NHS). Já a ligação amina-tiol pode ser favorecida pelo sulfo-SMCC (sulfossuccinimidil 4-(N-maleimidometil) ciclohexano-1-carboxilato), e para ligações entre aminas, o glutaraldeído, um composto homobifuncional, pode ser empregado (Hermanson, 2013; Cabral Filho *et al.*, 2015; Karakoti *et al.*, 2015; Jing *et al.*, 2016; Foubert *et al.*, 2016).

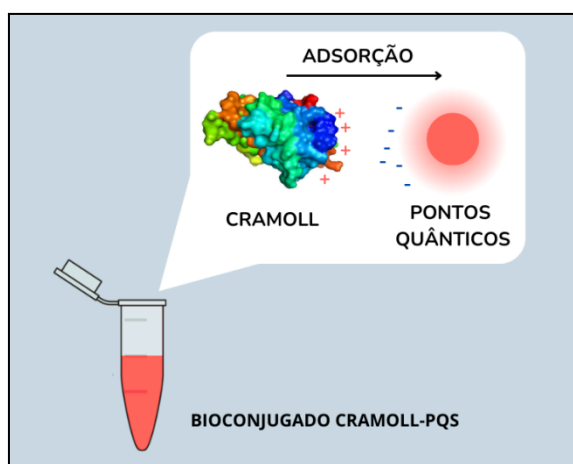
A bioconjugação não covalente, que envolve as interações entre grupos terminais expostos na superfície dos PQs e das biomoléculas, é um processo simples e direto. Esse método dispensa o uso de um agente químico intermediário, ocorrendo apenas através de ligação direta à superfície dos PQs ou por adsorção. As interações diretas podem incluir a associação de moléculas tioladas aos metais da superfície, enquanto a adsorção geralmente envolve interações hidrofóbicas, pontes de hidrogênio e/ou interações eletrostáticas (Diamandis; Christopoulos, 1991; Delehanty *et al.*, 2012)

Por outro lado, a conjugação de alta afinidade entre avidina ou estreptavidina e biotina é uma das interações não covalentes mais fortes, mostrando resistência a esses fatores. Entretanto, devido ao tamanho potencialmente grande da composição final e ao custo dos reagentes, essa estratégia é menos popular (Diamandis; Christopoulos, 1991; Delehanty *et al.*, 2012; Hermanson, 2013; Foubert *et al.*, 2016; Karakoti *et al.*, 2015).

O bioconjugado PQs-lectinas já foram utilizados em diversas aplicações biológicas, como o reconhecimento dos carboidratos presentes em espécies de *Candida*, pesquisa do glicofenótipo do câncer de mama e para a marcação de microdomínios hidrofóbicos em biofilmes bacterianos. Esse bioconjugado atua como

uma molécula única, unindo as características únicas de cada elemento para operar com diversas finalidades. As formas mais comuns para a ligação entre o PQs com biomoléculas são as de ligação covalente e adsorção. A adsorção não depende de nenhum acessório funcional e resulta na ligação não seletiva das moléculas por meio da interação eletrostática de biomoléculas carregadas (figura 8). Esse método é bastante utilizado para conjugação os PQs com as lectinas, como o bioconjugado PQs-Cramoll (Aldeek *et al.*, 2011; Karakoti *et al.*, 2015; Cunha *et al.*, 2018; Arruda *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2020).

Figura 8 - Esquema de conjugação por adsorção de Cramoll com PQs.



Fonte: o autor

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Analisar a expressão de glicose e manose em tecidos prostáticos humanos transformados benigna e malignamente, utilizando PQs conjugados a lectina Cramoll 1,4.

3.2 Objetivos Específicos

- Purificar a lectina das sementes de *C. mollis* (Cramoll) em coluna de cromatografia através de protocolo pré-estabelecido;
- Sintetizar e caracterizar opticamente PQs de CdTe-AMS;
- Obter o bioconjugado PQs-Cramoll;
- Analisar o perfil de expressão de glicose e manose na superfície celular e na matriz extracelular de tecidos de hiperplasia prostática benigna, neoplasia intraprostática e adenocarcinoma prostático.

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção de cramoll

Foram utilizados as sementes secas de *Cratylia mollis* Mart, previamente coletadas na cidade de Ibimirim, no estado de Pernambuco, pelo grupo de pesquisa coordenado pela Professora Doutora Maria Tereza, vinculada ao Laboratório de Bioquímica de Proteínas - BioProt da Universidade Federal de Pernambuco. A partir da maceração das sementes secas, foi possível realizar a obtenção do seu extrato de concentração 10% por volume de solução que ocorreu sob um processo de agitação constante por 16 horas em solução salina de NaCl 0,15 M. Esse extrato foi filtrado e fracionado com sulfato de amônio (0-20% p/v) durante 4 horas. As frações foram centrifugadas a 3600 RPM por 15 minutos, separando o sobrenadante e desprezando o precipitado, seguida pela diálise em membrana semipermeável por 4 horas do sobrenadante.

Para a purificação da Cramoll, a fração obtida após a centrifugação foi submetida à cromatografia de exclusão molecular em gel de Sephadex G-75 (Sigma-Aldrich), em seguida, a amostra foi analisada por espectrofotometria, com a absorbância medida a 280 nm utilizando um espectrofotômetro (Gene Quant 1300), separando os picos obtidos. A lectina foi então eluída com NaCl 0,15 M e dialisada contra água destilada e NaCl 0,15 M durante 4 horas. A concentração de proteína foi determinada de acordo com o método descrito por Lowry et al. (1951).

4.2 Síntese e caracterização dos PQs de cdte-ams

Para a síntese e caracterização dos conjugados foram realizados os seguintes procedimentos: inicialmente, os Pontos Quânticos (PQs) de CdTe foram sintetizados em meio aquoso e estabilizados utilizando ácido mercaptossuccínico (AMS). Este processo envolveu a utilização de precursores, incluindo soluções aquosas contendo Cloreto e cádmio (0.5 mmol) e Telúrio metálico (0.1 mmol), aos quais foi adicionado o agente estabilizante AMS (0.6 mmol), nas condições ideais de pH e temperatura durante a reação, de acordo com protocolo previamente estabelecido (Cabral Filho *et al.*, 2015). Esse sistema foi mantido sob atmosfera de

nitrogênio, a 80 °C, durante 7 horas. Inicialmente, foi preparada a solução aquosa contendo cloreto de cádmio e AMS em pH > 10. Em seguida, o telúrio metálico foi reduzido a Te^{2-} usando boro-hidreto de sódio (NaBH_4^{-3} mmol) em pH >10, ajustado com NaOH (2 M), sob uma atmosfera inerte de N_2 . Depois, o telúrio reduzido (Te^{2-}) foi adicionado à solução de AMS/ Cd^{2+} , e a reação foi mantida por aproximadamente 7h sob agitação constante e aquecimento a 80 °C para obter pontos quânticos que emitem na região espectral laranja.

Posteriormente, os PQs foram caracterizados por absorção UV-Vis e espectroscopia de emissão (fotoluminescência), para tal, foi feita uma varredura na faixa de 400-700 nm.

4.3 Preparação e caracterização do bioconjugado

Os PQs foram conjugados à Cramoll por uma metodologia de bioconjugação por adsorção, onde os PQs e as proteínas interagiram através dos seus radicais carboxílicos e amino por interações eletrostáticas e hidrofóbicas.

O pH dos PQs foi ajustado usando AMS até atingir os valores de pH 7 e 8. Em seguida, realizou-se uma diluição de 1:50 da Cramoll dosada (10 μL da lectina + 480 μL de H_2O) e adicionou-a em cada eppendorf contendo o PQs ajustado (104 μL da Egvil diluída + 1.896 μL do PQs ajustado) e, em seguida, o conjugado foi mantido sob agitação por 2h, a 25°C. Após o prazo de sete dias, realizou-se a lavagem dos pontos quânticos, utilizando filtro de ultracentrífuga (10 kDa MWCO — GE Healthcare) em quatro ciclos de centrifugação (908 x g por 6 min) e ressuspensos em água ultrapura.

O bioconjugado foi caracterizado por absorção UV-Vis e espectroscopia de emissão (fotoluminescência), para tal, foi feita uma varredura na faixa de 400-700 nm. A confirmação da atividade da lectina no bioconjugado PQs-Cramoll foi determinada pelo ensaio de hemaglutinação.

4.4 Marcação de tecidos e inibição

A marcação de tecidos foi adaptada de Fontes *et al.* (2013). Amostras parafinadas de hiperplasia benigna prostática, neoplasia intraprostática e adenocarcinoma prostático foram obtidas no Banco de Tecidos do Setor de

Patologia do LIKA – UFPE, em colaboração com o Prof. Dr. Mário Ribeiro de Melo Júnior e o Prof. Dr. Luiz Bezerra de Carvalho Junior. Foram feitos cortes de 4 μ m, fixados em lâminas albuminizadas. As lâminas foram então desparafinizadas e reidratadas através do uso de soluções de xilol e soluções de álcool em diferentes concentrações (100% e 70%). Após a desparafinização, os cortes foram tratados com uma solução de tripsina 0,1% (m/v), durante 2 minutos a 37°C. Em seguida, os tecidos foram incubados com 125 μ L do bioconjugado PQ-Cramoll por 30 min, a 4°C. Nas lâminas controle, os tecidos foram incubados com 125 μ L de PBS.

As lâminas foram então lavadas com PBS 0,01M, pH 7,2. Posteriormente, foram adicionados 20 μ L de PBS sobre a lâmina e esta foi coberta com lamínula para realização da leitura em microscópio. Testes de inibição da marcação foram realizados incubando, previamente, o bioconjugado PQs-Cramoll com soluções dos carboidratos ovoalbumina a 0,4 M, durante 1h a 25°C, e então esse bioconjugado inibido foi incubado com o tecido por 15 e 30 min a 4°C.

4.5 Obtenção e processamento das imagens

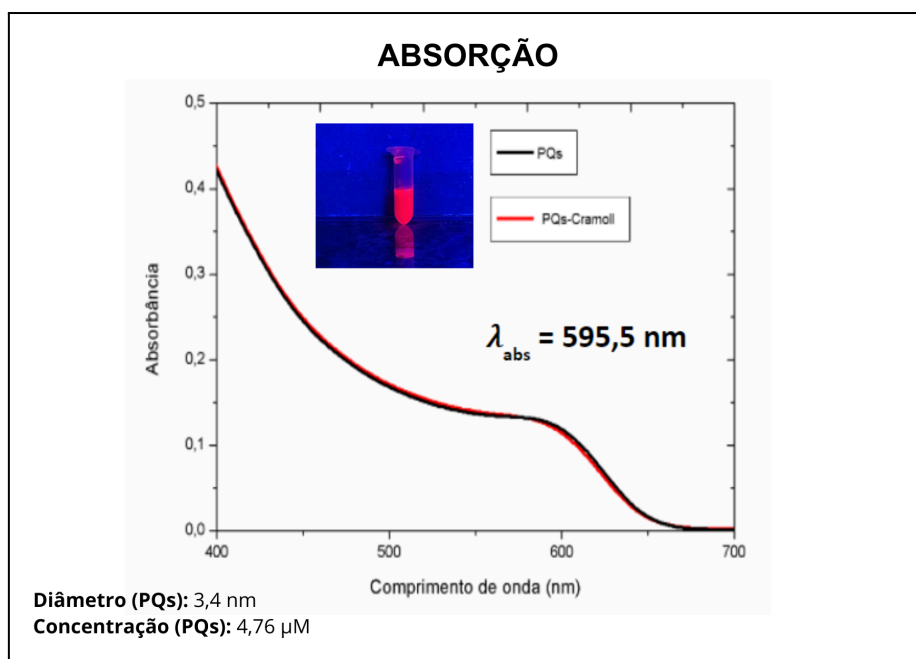
As lâminas foram analisadas no microscópio de fluorescência (Leica DMI4000B, Leica, Alemanha) utilizando o filtro A com excitação bandpass (340-380 nm) e coleta de emissão long pass, acima de 425 nm, para que fosse detectada a auto fluorescência emitida pelo tecido (visualizada na faixa do azul-verde), assim como a fluorescência emitida pelos pontos quânticos (visualizada na faixa do laranja-avermelhado). Os tecidos foram observados usando a objetiva de 20x e 40x, e as imagens adquiridas utilizando a câmera PCO Pixelfly (PCOTECH Inc., Michigan, USA). Todas as imagens foram coletadas utilizando os mesmos parâmetros de aquisição. Os mapas de intensidade foram obtidos utilizando o software Image- Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Silver Spring, USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira etapa do estudo consistiu em obter a lectina Cramoll através de colunas de cromatografia. Em seguida, foi realizada a preparação e caracterização óptica e estrutural dos PQs de CdTe-AMS e do bioconjugado PQs-Cramoll. A partir dos espectros de absorção dos PQs e do conjugado PQs-Cramoll (Figura 1) foi possível observar um primeiro máximo de absorção dos PQs em 595,5 nm, enquanto a concentração dos PQs de CdTe-AMS foi estimada em 4,76 μM e o diâmetro em 3,4 nm. O pH dos PQs escolhido foi o 8, uma vez que a suspensão se manteve estável, sem precipitações e altamente fluorescente, como se pode observar no inserto da Figura 9.

Os PQs foram sintetizados com emissão na região espectral do laranja/vermelho e se mantiveram em suspensão homogênea e altamente fluorescentes até o momento. Além disso, o bioconjugado de PQs-Cramoll também se preservou em solução homogênea e altamente fluorescente após os quatro meses de obtenção. Essas nanopartículas apresentam estabilidade superior à dos fluoróforos orgânicos convencionais, no que se refere à fotodegradação, e dessa forma, suas propriedades fluorescentes as tornam vantajosas para uso em diversas aplicações biológicas.

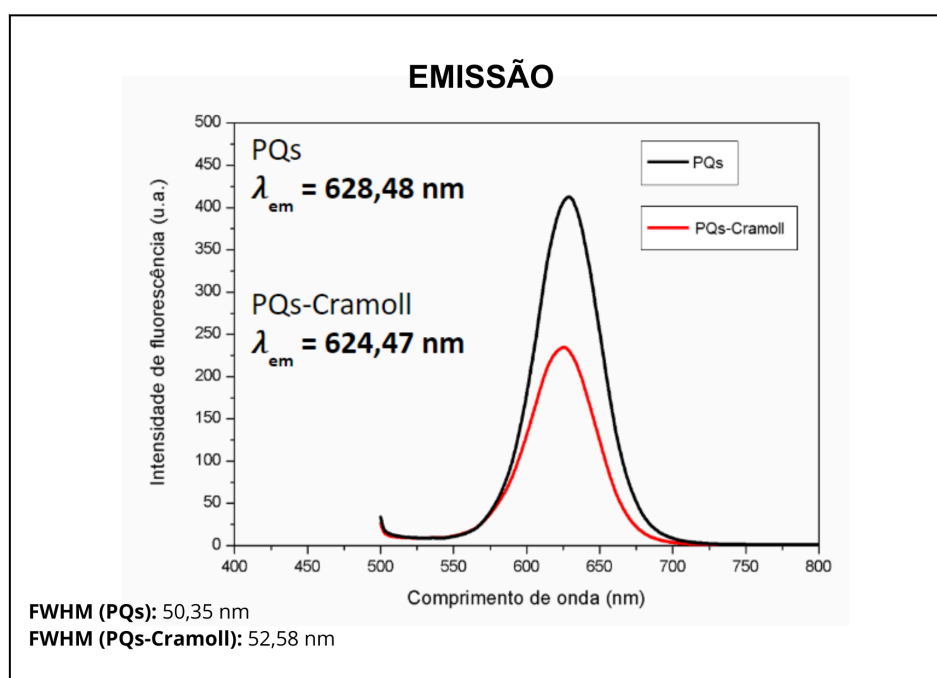
Figura 9 - Espectros de absorção dos PQs de CdTe-MAS e do bioconjugado (A) PQs-Cramoll.



Fonte: o autor

Os espectros de emissão dos PQs e do bioconjugado PQs-Cramoll estão revelados na Figura 10. O pico máximo de emissão foi de 628,48 nm e 625,47 nm para os PQs e o PQs-Cramoll, respectivamente. Após a conjugação da lectina também foi observado um desvio espectral do comprimento de onda para a esquerda (*blue shift*), podendo ser um indício de modificação de superfície pela ligação da lectina aos PQs. Ainda, após a conjugação, as larguras à meia altura calculadas foram de 50,35 nm e 52,58 nm para os PQs e o PQs-Cramoll, respectivamente. De acordo com os resultados obtidos, o bioconjugado permaneceu altamente fluorescente, mesmo apresentando redução no espectro de intensidade de fluorescência (inserto da Figura 9).

Figura 10 - Espectros de emissão dos PQs de CdTe-AMS e dos bioconjugados fluorescentes e PQs-Cramoll. Comprimento de onda de excitação = 488 nm.



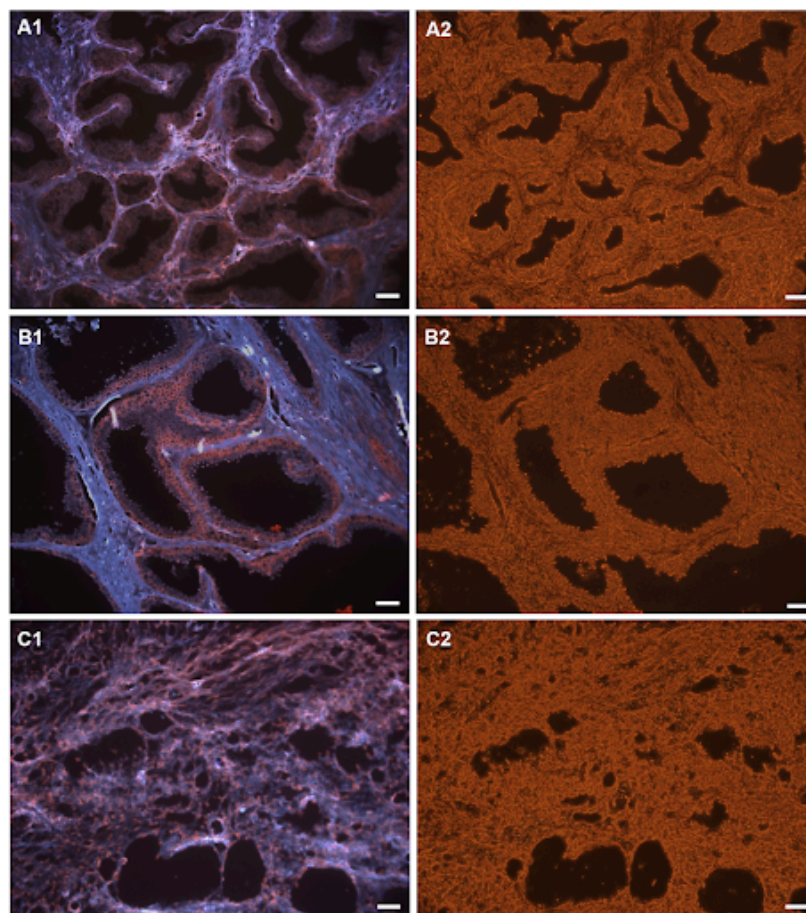
Fonte: o autor

Os tecidos prostáticos neoplásicos apresentam uma expressão significativa de glicose/manose (Silva *et al.*, 2014; Correia *et al.*, 2010). Baseado nisso, os resultados obtidos evidenciaram a capacidade de PQs-Cramoll na marcação tecidual prostática, revelando assim uma alta expressão de resíduos de glicose/ manose na região celular das glândulas dos tecidos de hiperplasia benigna, neoplasia intraprostática e de adenocarcinoma (Figura 11: A1, B1 e C1). Por outro lado, apesar

da importância do estroma tumoral para o desenvolvimento, promoção e invasão do câncer (Sund; Kalluri, 2009), não foi visualizada afinidade do bioconjugado pela região estromal, em ambos os tecidos prostáticos analisados (Figura 11: A1, B1 e C1). Além disso, todas as amostras de tecidos humanos apresentam autofluorescência própria, devido às fibras de colágeno presentes em grande quantidade nas membranas basais dos tecidos possuírem forte emissão na região do azul-violeta. O mesmo padrão de autofluorescência seguiu para os tecidos de hiperplasia benigna prostática e adenocarcinoma prostático, como observado na Figura 11: A1 e C1.

Em continuidade aos ensaios de marcação, uma vez que os tecidos prostáticos neoplásicos possuem resíduos de glicose/manose e glicoconjugados em sua estrutura, foi realizada a análise de especificidade de Cramoll. Realizou-se a inibição de PQs-Cramoll com ovoalbumina antes de ser aplicado nos tecidos de adenocarcinoma e hiperplasia prostática, e uma diminuição significativa na marcação de fluorescência era esperada. De modo geral, a incubação prévia do bioconjugado com o carboidrato permite que este ocupe os sítios de ligação presentes na lectina e, sendo assim, ao ser aplicado no tecido, não seja capaz de se ligar aos glicoconjugados localizados na superfície celular.

Figura 11 - Microscopia de fluorescência de neoplasias prostáticas marcadas com PQs-Cramoll. A1 Marcação de Hiperplasia Benigna com PQs-Cramoll (A2 Contraste de fase/ campo limpo). B1 Marcação de Neoplasia Intraprostática com PQs-Cramoll (B2 Contraste de fase/ campo limpo). C1 Marcação de Adenocarcinoma com PQs-Cramoll (C2 Contraste de fase/ campo limpo). Cor vermelho/alaranjado indica fluorescência do bioconjugado. Barra de escala: 50µm.



Fonte: o autor

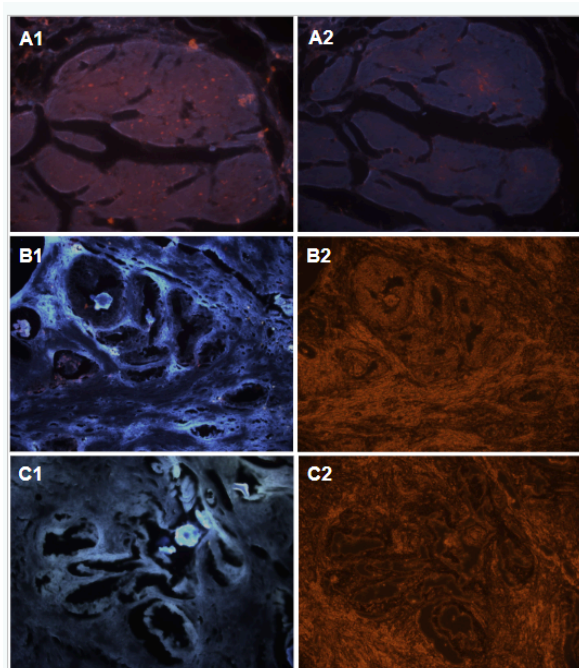
A ovoalbumina é uma glicoproteína à qual a Cramoll demonstra afinidade; a redução na marcação após a inibição com a ovoalbumina era esperada - uma glicoproteína a qual Cramoll tem afinidade, havendo a possibilidade de uma redução na marcação baseado na interação lectina-glicoconjugados ser mais efetiva em relação aos monossacarídeos livres. A avaliação da supressão da marcação no tecidos prostáticos também levou em consideração o período de incubação do bioconjugado com o carboidrato de ligação específica. Os resultados mostram uma considerável redução na intensidade após 30 minutos.

O resultado dos testes de inibição da marcação é mostrado na Figura 12 revelando que as marcações do adenocarcinoma prostático com PQs-Cramoll indicam especificidade do bioconjugado (Figura 12: A1 e A2), uma vez que houve redução da emissão de fluorescência no tecido tratado com o bioconjugado inibido

pela presença de ovoalbumina, sugerindo que a interação do PQs-Cramoll com carboidrato específico pode estar ocorrendo pelo Domínio de reconhecimento a Carboidratos (DRC) da lectina. Ainda, foi evidenciada a redução total da marcação na região celular do tecido de hiperplasia prostática (Figura 12 B1, B2, C1 e C2), com prévia incubação do bioconjugado inibido, corroborando assim com os resultados anteriores mencionados. Os resultados indicam que a marcação obtida pelo bioconjugado PQs-Cramoll nas amostras de hiperplasia e adenocarcinoma prostáticos analisados foi específica.

A região estromal dos tecidos prostáticos, composto por um tecido predominantemente colagenoso com uma grande presença de linfócitos residentes e menor vascularização, apresenta uma expressão de α -D-glicose/manose significativamente menor em comparação aos tecidos mamários, que possuem estroma menos fibroso, com adipócitos e células mioepiteliais (Andrade *et al.*, 2013; Cunha *et al.*, 2018).

Figura 12 - Microscopia de fluorescência de neoplasias prostáticas marcadas com PQs-Cramoll. A1 Adenocarcinoma prostático marcado com PQs-Cramoll (A2 Adenocarcinoma próstata marcado com PQS-Cramoll inibido por ovoalbumina, após 30 minutos). B1 Hiperplasia prostática inibido com PQs-Cramoll, após 30 minutos (B2 Contraste de fase/ campo limpo). C1 Hiperplasia prostática inibido com PQs-Cramoll, após 30 minutos (C2 Contraste de fase/ campo limpo). Cor vermelho/alaranjado indica fluorescência do bioconjugado.



Fonte: o autor

6 CONCLUSÃO

Os Pontos Quânticos foram conjugados à lectina Cramoll através de adsorção (interações não-covalentes). Não foram detectadas mudanças significativas nas características ópticas do nanossistema, e o conjugado bioquímico permaneceu estável. A combinação PQs-Cramoll revelou a presença de resíduos de glicose/manose na superfície celular de tecidos neoplásicos prostáticos. As marcações com PQs-Cramoll mostraram-se específicas, uma vez que observou-se uma considerável redução da fluorescência após a inibição com ovoalbumina por 30 minutos.

A pesquisa atual revelou que a produção de nanossondas moleculares, como as PQs-Cramoll, pode representar uma valiosa ferramenta associada à microscopia de fluorescência. Essa abordagem foi empregada para avaliar distintos níveis de expressão de glicanos na superfície celular de casos de hiperplasia prostática benigna e adenocarcinoma prostático, alcançado por meio da análise da presença de resíduos de carboidratos de ligação específicas a Cramoll na superfície celular. Esses avanços abrem novas perspectivas no âmbito do monitoramento molecular, permitindo a exploração do estudo do microambiente neoplásico, tanto intracelular quanto extracelular.

REFERÊNCIAS

ABATE-SHEN, C.; SHEN, M. M. Molecular genetics of prostate cancer. *Genes & development*, v. 14, n. 19, p. 2410–2434, 2000.

ADAMCZYK, B.; THARMALINGAM, T.; RUDD, P. M. Glycans as cancer biomarkers. *Biochimica et biophysica acta. General subjects*, v. 1820, n. 9, p. 1347–1353, 2012.

ADUA, E. et al. Innovation analysis on postgenomic biomarkers: Glycomics for chronic diseases. *Omics: a journal of integrative biology*, v. 21, n. 4, p. 183–196, 2017.

ALBUQUERQUE, L. P. et al. Antifungal Activity of *Microgramma vacciniifolia* Rhizome Lectin on Genetically Distinct *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Races. *Applied biochemistry and biotechnology*, v. 172, n. 2, p. 1098–1105, 2014.

ALBUQUERQUE, P. B. S. et al. Healing activity evaluation of the galactomannan film obtained from *Cassia grandis* seeds with immobilized *Cratylia mollis* seed lectin. *International journal of biological macromolecules*, v. 102, p. 749–757, 2017.

ALDEEK, F. et al. Surface-engineered quantum dots for the labeling of hydrophobic microdomains in bacterial biofilms. *Biomaterials*, v. 32, n. 23, p. 5459–5470, 2011.

ALVES, E. F. Análise histológica e quantitativa dos componentes acinares e estromais das zonas da próstata humana normal. 2018. 79 f. Dissertação (Mestrado em Sistema Urogenital; Sistema Cardiovascular; Técnica operatória e Cirurgia Experimental) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

AMBEKAR, R. et al. Quantifying collagen structure in biopsies using second-harmonic generation imaging. *Biomedical Optics Express*, v. 3, n. 9, p. 2021-2035, 2012.

ANDRADE, C. A. S. et al. Antitumor activity of *Cratylia mollis* lectin encapsulated into liposomes. *International journal of pharmaceutics*, v. 278, n. 2, p. 435–445, 2004.

ANDRADE, C. G. et al. Evaluation of glycophenotype in breast cancer by quantum dot-lectin histochemistry. *International journal of nanomedicine*, v. 8, p. 4623 - 4629, 2013.

ARAÚJO, L. C. C. et al. Evaluation of cytotoxic and anti-inflammatory activities of extracts and lectins from *Moringa oleifera* seeds. *PloS one*, v. 8, n. 12, p. e81973, 2013.

ARNDT-JOVIN, D. J. et al. Tumor-targeted quantum dots can help surgeons find tumor boundaries. *IEEE transactions on nanobioscience*, v. 8, n. 1, p. 65–71, 2009.

ARRUDA, C. C. L. et al. CdTe-GSH as luminescent biomarker for labeling the larvicidal action of WSMoL lectin in *Aedes aegypti* larvae. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 187, n. June 2019, p. 110672, 2020.

AVELINO, K. Y. P. S. et al. Biossensor baseado em nanocompósito híbrido e lectina CramoLL para detecção de glicoproteínas da dengue em amostras reais. *Metais sintéticos*, v. 194, p. 102–108, 2014.

BARBIERI, L.; BATTELLI, M. G.; STIRPE, F. Ribosome-inactivating proteins from plants. *Biochimica et biophysica acta*, v. 1154, n. 3–4, p. 237–282, 1993.

BILAN, R. et al. Quantum dot surface chemistry and functionalization for cell targeting and imaging. *Bioconjugate Chemistry*, v. 26, n. 4, p. 609-624, 2015.

BLANCO-CANOSA, J. B. et al. Recent progress in the bioconjugation of quantum dots. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 263–264, p. 101–137, 2014.

BRITO, J. S. et al. Lectin from inflorescences of ornamental crop *Alpinia purpurata* acts on immune cells to promote Th1 and Th17 responses, nitric oxide release, and lymphocyte activation. *Biomedecine & pharmacotherapie [Biomedicine & pharmacotherapy]*, v. 94, p. 865–872, 2017.

CABRAL FILHO, P. E. et al. Blood group antigen studies using CdTe quantum dots and flow cytometry. *International Journal of Nanomedicine*, v. 10, p. 4393–4404, 2015.

CABRAL FILHO, P. E. et al. CdTe quantum dots as fluorescent probes to study transferrin receptors in glioblastoma cells. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, v. 1860, n. 1, p. 28–35, 2016.

CARVALHO, M. E. T. et al. Evaluating the glycophenotype on breast cancer tissues with quantum dots-Cramoll lectin conjugates. *International journal of biological macromolecules*, v. 138, p. 302–308, 2019.

CARVALHO-SALLES, A. B.; TAJARA, E. H. Fatores hormonais e genéticos na próstata normal e neoplásica. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*, v. 43, n. 3, p. 177–185, 1999.

CHAN, W. C. W.; NIE, S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. *Science*, v. 281, n. 5385, p. 2016–2018, 1998.

CHAVES, C. R. Síntese e caracterização de nanopartículas de sulfeto de cádmio: aplicações biomédicas. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Ciência de materiais, Recife, 111p, 2006.

CHU, M. et al. The therapeutic efficacy of CdTe and CdSe quantum dots for photothermal cancer therapy. *Biomaterials*, v. 33, n. 29, p. 7071–7083, 2012.

CHUGHTAI, B. et al. Benign prostatic hyperplasia. *Nature reviews. Disease primers*, v. 2, n. 1, 2016.

COELHO, L. C. B. B. et al. Lectins, interconnecting proteins with biotechnological/pharmacological and therapeutic applications. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, v. 2017, p. 1–22, 2017.

CORIOLOANO, M. C. et al. Immunomodulatory response of mice splenocytes induced by RcaL, a lectin isolated from cobia fish (*Rachycentron canadum*) serum. *Applied biochemistry and biotechnology*, v. 168, n. 5, p. 1335–1348, 2012.

CORIOLOANO, M. C. et al. *Parkia pendula* seed lectin: Potential use to treat cutaneous wounds in healthy and immunocompromised mice. *Applied biochemistry and biotechnology*, v. 172, n. 5, p. 2682–2693, 2014.

CORIOLOANO, M. C. et al. Immunomodulatory effects of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) on human peripheral blood mononuclear cells (PBMC). *Protein and peptide letters*, v. 25, n. 3, p. 295–301, 2018.

CORREIA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B. Purification of a glucose/mannose specific lectin, isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu Bean) *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 55 (1995) 261-273.

CORREIA, M. T. D. S. et al. Histochemical evaluation of human prostatic tissues with *Cratylia mollis* seed lectin. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, v. 2010, 2010.

CRAWFORD, E. D. Epidemiology of prostate cancer. *Urology*, v. 62, n. 6, p. 3–12, 2003.

CUNHA, C. R. A. et al. Quantum dot–Cramoll lectin as novel conjugates to glycobiology. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, v. 178, p. 85–91, 2018.

DAMME, E. J. M. V. et al. Plant Lectins: A Composite of Several Distinct Families of Structurally and Evolutionary Related Proteins with Diverse Biological Roles. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 17, n. 6, p. 575–692, nov. 1998.

DELEHANTY, J. B. et al. Active cellular sensing with quantum dots: Transitioning from research tool to reality; a review. *Analytica Chimica Acta*. v. 750, p. 63– 81, 2012.

DE SCHUTTER, K.; VAN DAMME, E. Protein-carbohydrate interactions as part of plant defense and animal immunity. *Molecules* (Basel, Switzerland), v. 20, n. 5, p. 9029–9053, 2015.

DIAMANDIS, E. P.; CHRISTOPOULOS, T. . The Biotin-(Strept)Avidin System: Principles and Applications in Biotechnology. *Clin. Chem.*, v. 37, n. 5, p. 625–636, 1991.

DURMUS, T.; BAUR, A.; HAMM, B. Multiparametric magnetic resonance imaging in the detection of prostate cancer. *RoFo: Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin*, v. 186, n. 03, p. 238–246, 2014.

FILHO, E. C. P. Investigação de antígenos eritrocitários do sistema ABO utilizando Quantum Dots conjugados a anticorpos monoclonais e à lectina *Ulex europaeus*. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/13324>>. Acesso em: 9 jul. 2024.

FONTES, A. et al. Quantum dots in biomedical research. Em: HUDAK, R.; PENHAKER, M.; MAJERNIK, J. (Eds.). *Biomedical Engineering - Technical Applications in Medicine*. Londres, England: InTech, 2012.

FONTES, A. et al. Evaluation of glycophenotype in breast cancer by quantum dot-lectin histochemistry. *International journal of nanomedicine*, v. 8, p. 4623, 2013.

FOUBERT, A. et al. Bioconjugation of quantum dots: Review & impact on future application. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, v. 83, p. 31–48, 2016.

FUSTER, M. M.; ESKO, J. D. The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets. *Nat. Rev. Cancer*. v. 5, n. 7, p. 526–42, 2005.

GABIUS, H. J. et al. From lectin structure to functional glycomics: principles of the sugar code. *Trends Biochem Sci*, v. 36, p. 298 – 313, 2011.

GARCÍA DE ARQUER, F. P. et al. Semiconductor quantum dots: Technological progress and future challenges. *Science* (New York, N.Y.), v. 373, n. 6555, 2021.

GHAZARIAN, H.; IDONI, B.; OPPENHEIMER, S. B. A glycobiology review: Carbohydrates, lectins and implications in cancer therapeutics. *Acta histochemica*. v. 113, p. 236–247, 2011.

HERMANSON, G. T. Bioconjugate techniques. 3ª Edição. Estados Unidos: Academic press. p. 1200, 2013.

HIREMATH, K. Y. et al. A lectin with anti-microbial and anti proliferative activities from *Lantana camara*, a medicinal plant. Protein expression and purification, v. 170, n. 105574, p. 105574, 2020.

HOEKS, C. M. A. et al. Prostate cancer: Multiparametric MR imaging for detection, localization, and staging. *Radiology*, v. 261, n. 1, p. 46–66, 2011.

HOUNSELL, E. F.; YOUNG, M. I. A.; DAVIES, M. J. Glycoprotein changes in tumours: A renaissance in clinical applications. *Clinical science* (London, England: 1979), v. 93, n. 4, p. 287–293, 1997.

ILIC, D. et al. Screening for prostate cancer. *The Cochrane library*, v. 2013, n. 1, 2013.

ISAACS, W.; DE MARZO, A.; NELSON, W. G. Focus on prostate cancer. *Cancer cell*, v. 2, n. 2, p. 113–116, 2002.

ISSO, V. F. S. Câncer de próstata: Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/cartilha_cancer_prostata_nov2019_3areimp_2022_visualizacao.pdf>. Acesso em: 9 jul. 2024.

JING, L. et al. Aqueous Based Semiconductor Nanocrystals. *Chemical Reviews*, 116, 2016.

JIN, Z.; HILDEBRANDT, N. Semiconductor quantum dots for in vitro diagnostics and cellular imaging. *Trends in Biotechnology*, v. 30, n. 7, p. 394–403, 2012.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KARAKOTI, A. S. et al. Surface functionalization of quantum dots for biological applications. *Advances in colloid and interface science*, v. 215, p. 28–45, 2015.

KESER, T. Influence of Genetic and Environmental factors on N-glycosylation of immunoglobulin G and total plasma proteins determined by twin study. [s.l.] University of Zagreb, 2016.

KUMAR, V. L.; MAJUMDER, P. K. Prostate gland: Structure, functions and regulation. *International urology and nephrology*, v. 27, n. 3, p. 231–243, 1995.

LACHANCE, G. et al. The gut microbiome-prostate cancer crosstalk is modulated by dietary polyunsaturated long-chain fatty acids. *Nature communications*, v. 15, n. 1, 2024.

LIMA, A. L. R. et al. Histochemical evaluation of human prostatic tissues with *Cratylia mollis* seed lectin. *Journal of biomedicine & biotechnology*, v. 2010, p. 1–6, 2010.

LIMA, V. L. M. et al. Immobilized *Cratylia mollis* lectin as a potential matrix to isolate plasma glycoproteins, including lecithin-cholesterol acyltransferase. *Carbohydrate polymers*, v. 33, n. 1, p. 27–32, 1997.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1 nov. 1951.

LU, Z. et al. Interaction mechanisms of CdTe quantum dots with proteins possessing different isoelectric points. *MedChemComm*, v. 2, n. 4, p. 283, 2011.

MARTINS, E. R. C. et al. Homens acometidos de câncer de próstata e suas vulnerabilidades. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 9, p. e39810918117, 2021.

MARZO, A. M. et al. A Working Group Classification of Focal Prostate Atrophy Lesions. *The American Journal of Surgical Pathology*, v. 30, n. 10, 2006.

MCNEAL, J. Pathology of benign prostatic hyperplasia. Insight into etiology. *The Urologic clinics of North America*, v. 17, n. 3, 1990.

MCNEAL, J. E. Normal and pathologic anatomy of prostate. *Urology*, v. 17, n. Suppl 3, 1981.

MEANY, D. L. et al. Glycoproteomics for prostate cancer detection: changes in serum PSA glycosylation patterns. *Journal of proteome research*, v. 8, n. 2, p. 613–619, fev. 2009.

MEDINTZ, I. L., MATTOUSSI, H., & CLAPP, A. R. Potential clinical applications of quantum dots. *International Journal of Nanomedicine*, 3(2), 151–167, 2008.

MELO, C. M. L. et al. Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. *Phytotherapy research: PTR*, v. 24, n. 11, p. 1631–1636, 2010.

MELO, C. M. L. DE et al. Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. *International journal of pharmaceutics*, v. 408, n. 1–2, p. 113–119, 2011.

MEDINTZ, I. L., MATTOUSSI, H., & CLAPP, A. R. Potential clinical applications of quantum dots. *International Journal of Nanomedicine*, 3(2), 151–167, 2008.

MISHRA, A. et al. Structure-function and application of plant lectins in disease biology and immunity. *Food and chemical toxicology: an international journal*

published for the British Industrial Biological Research Association, v. 134, n. 110827, p. 110827, 2019.

MONTEIRO, C. A. P. et al. Quantum dots functionalized with 3-mercaptophenylboronic acids as novel nanoplatfoms to evaluate sialic acid content on cell membranes. Colloids and surfaces. B, Biointerfaces, v. 193, n. 111142, p. 111142, 2020.

MOURA, M. C. et al. Water-soluble Moringa oleifera lectin interferes with growth, survival and cell permeability of corrosive and pathogenic bacteria. Journal of applied microbiology, v. 119, n. 3, p. 666–676, 2015.

NIE, H. et al. Specific N-glycans of Hepatocellular Carcinoma Cell Surface and the Abnormal Increase of Core-alpha-1, 6-fucosylated Triantennary Glycan via Nacetylglucosaminyltransferases-IVa Regulation. Scientific reports, v. 5, p. 16007, nov. 2015.

NIMRICHTER, L. et al. Intact cell adhesion to glycan microarrays. Glycobiology. v. 14, p. 197–203, 2004.

Novembro Azul 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/campanhas/2023/novembro-azul>>. Acesso em: 9 jul. 2024.

OLIVEIRA, F.; AKISSUE, G. Fundamentos de Farmacobotânica. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 178 p.

OLIVEIRA, M. D. L. et al. Biossensor impedimétrico baseado em nanopartículas híbridas de cisteína-ouro automontadas e lectina CramoLL para reconhecimento de lipopolissacarídeos bacterianos. Journal of colloid and interface science , v. 362, n. 1, p. 194–201, 2011.

OLIVEIRA, W. F. et al. Evaluating glucose and mannose profiles in *Candida* species using quantum dots conjugated with Cramoll lectin as fluorescent nanoprobe. *Microbiological research*, v. 230, n. 126330, p. 126330, 2020.

OLIVEIRA, W. F. DE. Nanossondas baseadas em pontos quânticos e lectinas para aplicações em glicobiologia. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.

PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu bean). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 36, n. 2, p. 113–118, 1992.

PERACAULA, R. et al. Altered glycosylation pattern allows the distinction between prostate-specific antigen (PSA) from normal and tumor origins. *Glycobiology*, v. 13, n. 6, p. 457–470, jun. 2003.

PEREIRA, D. S. T. et al. Efeito da aplicação tópica do hidrogel de isolectina (Cramoll 1,4) em queimaduras de segundo grau: modelo experimental. *Journal of biomedicine & biotechnology*, v. 2012, p. 1–11, 2012.

PEREIRA, G. et al. (Bio)conjugation Strategies Applied to Fluorescent Semiconductor Quantum Dots, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2019.

PEZARO, C.; WOO, H. H.; DAVIS, I. D. Prostate cancer: measuring PSA. *Internal medicine journal*, v. 44, n. 5, p. 433–440, 2014.

PINHO, S. S.; REIS, C. A. Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications. *Nature reviews. Cancer*, v. 15, n. 9, p. 540–555, 2015.

POTAPENKO, I.O. et al. Glycan gene expression signatures in normal and malignant breast tissue; possible role in diagnosis and progression. *Mol Oncol, Holanda*, v. 4, p. 98 – 118, 2010.

RANJBAR-NAVAZI, Z. et al. Cadmium-free quantum dot-based theranostics. Trends in analytical chemistry: TRAC, v. 118, p. 386–400, 2019.

RAWLA, P. Epidemiology of prostate cancer. World journal of oncology, v. 10, n. 2, p. 63–89, 2019.

REIS, C. A. et al. Alterations in glycosylation as biomarkers for cancer detection. J. Clin. Pathol, v. 63, p. 322 – 329, 2010.

RODRÍGUEZ, E. et al. Glycans from *Fasciola hepatica* Modulate the Host Immune Response and TLR-Induced Maturation of Dendritic Cells. PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 9, n. 12, 2015.

SANTOS, B. S.; FARIAS, P.M.A; FONTES, A. Semiconductor quantum dots for biological applications, Handbook of Self Assembled Semiconductor Nanostructures Novel Devices in Photonics and Electronic, Elsevier, 2008.

SELMAN, S. H. The McNeal prostate: A review. Urology, v. 78, n. 6, p. 1224–1228, 2011.

SHARON, N. et al. Carbohydrates as future anti-adhesion drugs for infectious diseases. Biochim Biophys Acta, v. 1760, p. 527 – 537. 2008.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. Glycobiology. v. 14, p. 53R–62R, 2004.

SILVA, L. P. et al. Evaluation of glycophenotype in prostatic neoplasm by chemiluminescent assay. International journal of clinical and experimental pathology, v. 7, n. 7, 2014.

SILVA, P. M. et al. The juicy sarcotesta of *Punica granatum* contains a lectin that affects growth, survival as well as adherence and invasive capacities of human pathogenic bacteria. Journal of functional foods, v. 27, p. 695–702, 2016.

SINGHAL, U. et al. Integrative multi-region molecular profiling of primary prostate cancer in men with synchronous lymph node metastasis. *Nature communications*, v. 15, n. 1, p. 1–9, 2024.

SMITH, A. M.; GAO, X.; NIE, S. Quantum dot nanocrystals for in vivo molecular and cellular imaging. *Photochemistry and photobiology*, v. 80, n. 3, p. 377, 2004.

SUAREZ CARNEIRO, M. A. M. et al. Immunomodulatory and anti-infective effects of *Cratylia mollis* lectin (Cramoll) in a model of wound infection induced by *Staphylococcus aureus*. *International immunopharmacology*, v. 100, n. 108094, p. 108094, 2021.

SUND, M.; KALLURI, R. Tumor stroma derived biomarkers in cancer. *Cancer metastasis reviews*, v. 28, n. 1–2, p. 177–183, 2009.

TANG, H. et al. The detection and discovery of glycan motifs in biological samples using lectins and antibodies: new methods and opportunities. *Adv Cancer Res*. v. 126, p. 167–202, 2015.

TEIXEIRA, Edson Holanda. Avaliação do potencial anticâncer de lectinas vegetais. 2005. 106 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

THE INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Global Cancer Observatory. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/en>>. Acesso em: 9 jul. 2024.

THIRUCHELVAM, N. Benign prostatic hyperplasia. *Surgery - Oxford International Edition*, v. 32, n. 6, p. 314–322, 1 jun. 2014.

TUCCILLO, F. M. et al. Aberrant glycosylation as biomarker for cancer: Focus on CD43. *BioMed research international*, v. 2014, p. 1–13, 2014.

VAN DAMME, E. J. M. et al. Plant lectins: A composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Critical reviews in plant sciences*, v. 17, n. 6, p. 575–692, 1998.

VAN DAMME, E. J. M., LANNON, N., & PEUMANS, W. J. (2008). Plant Lectins. *Advances in Botanical Research*, 107–209.

VAN DAMME, E. J. M. History of plant lectin research. Em: *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer New York, 2014. v. 1200p. 3–13.

VAN DAMME, E. J. M. 35 years in plant lectin research: a journey from basic science to applications in agriculture and medicine. *Glycoconjugate journal*, v. 39, n. 1, p. 83–97, 2022.

VAREJÃO, N. et al. Expressão heteróloga e purificação de uma lectina de leguminosa biologicamente ativa de sementes de *Cratylia mollis* (CRAMOLL 1). *Biochimica et biophysica acta. Proteins and proteomics*, v. 1804, n. 9, p. 1917–1924, 2010.

VARKI, A. et al. *Essentials of Glycobiology*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cold Spring Harbor, NY, 2009.

VARKI, A. Evolutionary forces shaping the Golgi glycosylation machinery: Why cell surface glycans are universal to living cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. v. 3, 2011.

VARKI, A. Biological roles of glycans. *Glycobiology*. v. 27, n. 1, p. 3-49, 2017.

VASCONCELOS-DOS-SANTOS, A. et al. Biosynthetic machinery involved in aberrant glycosylation: Promising targets for developing of drugs against cancer. *Frontiers in oncology*, v. 5, 2015.

WADE, L.G. *Organic chemistry*. 8ª edição. United states of America. Editora Pearson. p. 1326, 2013.

XIAO, Y. et al. Dynamics and mechanisms of quantum dot nanoparticle cellular uptake. *Journal of Nanobiotechnology* , v. 8, p. 13, 2010

XU, X.-C. et al. Antiviral and antitumor activities of the lectin extracted from *Aspidistra elatior*. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences*, v. 70, n. 1–2, p. 7–13, 2015.

YU, C. et al. Prostate cancer stem cell biology. *Minerva urologica e nefrologica = The Italian journal of urology and nephrology*, v. 64, n. 1, p. 19–33, 2012.

ZHACARA, N.E. et al. Cell signaling, the essential role of O-GlcNAc, *Biochim Biophys Acta*, v. 1761, n. 5-6, p. 599 – 617, 2006.