



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências

CARLOS AUGUSTO BRANDÃO

**PONTOS QUÂNTICOS COMO NANOSSONDAS FLUORESCENTES  
PARA ESTUDOS DA CAPTAÇÃO DA GLICOSE POR  
CÉLULAS DE CÂNCER**

Recife  
2022

CARLOS AUGUSTO BRANDÃO

**PONTOS QUÂNTICOS COMO NANOSSONDAS FLUORESCENTES  
PARA ESTUDOS DA CAPTAÇÃO DA GLICOSE POR  
CÉLULAS DE CÂNCER**

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.

Orientador: Dr. Paulo Euzébio Cabral Filho  
Coorientadora: Dr.<sup>a</sup> Maria Isabela de A. Pereira

Recife  
2022

CARLOS AUGUSTO BRANDÃO

**PONTOS QUÂNTICOS COMO NANOSSONDAS FLUORESCENTES  
PARA ESTUDOS DA CAPTAÇÃO DA GLICOSE POR  
CÉLULAS DE CÂNCER**

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: 29/06/2022

**BANCA EXAMINADORA**

*Paulo Euzébio Cabral Filho*

---

Orientador: Prof. Dr. Paulo Euzébio Cabral Filho  
Departamento de Biofísica e Radiobiologia/UFPE

*Wesley Felix de Oliveira*

---

Prof. Dr. Wesley Felix de Oliveira  
Departamento de Bioquímica/UFPE

*Jéssika Fernanda Ferreira Ribeiro*

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Jéssika Fernanda Ferreira Ribeiro  
Departamento de Biofísica e Radiobiologia/UFPE

Dedico este trabalho aos meus pais,  
minha família e meus amigos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus orientadores, Prof. Dr. Paulo Euzébio Cabral Filho, Dra. Maria Isabela de Andrade Pereira e Profa. Dr. Adriana Fontes por me ensinarem a ter senso crítico, ética na pesquisa e amor pelo que faço. A oportunidade que vocês me deram realizou um sonho de criança, ser pesquisador. Serei eternamente grato.

Ao Departamento de Biofísica e Radiobiologia da UFPE por ceder toda a estrutura e apoio na realização deste trabalho. Também gostaria de agradecer aos órgãos de fomento CNPq e Propesqi que auxiliaram no financiamento deste trabalho.

Aos professores Antonio Roberto Lucena de Araújo, Marcos André Cavalcanti Bezerra e a Profa. Rosângela Frade Ferreira de Araújo por todas as oportunidades que me deram e pelo incentivo a me tornar um profissional de excelência.

A todos do Laboratório de Biofísica-Química por terem me acolhido, me ensinado e me dado oportunidades maravilhosas.

Aos meus amigos Ítallo Luiz, Lucas Alvarenga e Marcos Victor por estarem comigo desde o ensino médio. A Bruna Alcântara, Erik Luis, Euda Maria, João Paulo, Paloma Andrade, Ramona Widmer e Túlio Queiroga por tudo que vivemos juntos dentro e fora da Universidade.

Aos meus grupos de amigos Biofilme, Caxal e Scientizando. As pessoas da entrada 2017.1 de Biomedicina me receberam com muito carinho e tornaram a minha graduação uma das melhores experiências da minha vida.

Aos meus pais, Carlos José e Sueli Irene, que desde cedo me ensinaram que a educação é o melhor caminho para o crescimento pessoal. Ao meu avô, João Soares, que sempre me deu apoio e torceu pelo meu sucesso. A minhas tias Célia, Cecília e Raminha que sempre apoiaram as minhas escolhas e me fizeram chegar até aqui. A Elane, Cleber e aos meus outros primos e primas que sempre prestaram todo o apoio que precisei e me ensinaram a ser uma pessoa melhor.

BRANDÃO, Carlos Augusto. **Pontos quânticos como nanossondas fluorescentes para estudos da captação da glicose por células de câncer**. 2022. 46 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

## RESUMO

As neoplasias são doenças complexas que apresentam inúmeras alterações moleculares. Antes mesmo da formação dos tumores, tais alterações metabólicas já precedem a proliferação celular e crescimento tumoral. Otto Warburg, em 1926, observou que as células neoplásicas apresentavam diferenças no metabolismo energético, entretanto, por conta de limitações da época era impossível estudar de forma mais aprofundada esse comportamento. Desde então, surgiram inúmeros avanços na nanobiotecnologia, tornando possível o avanço no diagnóstico molecular e compreensão de doenças complexas, como o câncer. Os pontos quânticos (PQs), são nanocristais fluorescentes que vêm sendo largamente utilizados em ciências da vida, possibilitando estudos com elevada sensibilidade e especificidade. Isso é possível devido às características únicas desses nanocristais, como superfície ativa para conjugação com biomoléculas e resistência à fotodegradação, permitindo estudos com maior duração de tempo, como aqueles relacionados ao metabolismo do câncer. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi desenvolver um conjugado baseado em PQs e um análogo da glicose para estudos da captação deste carboidrato por células do câncer. Os PQs de telureto de cádmio (CdTe) estabilizados/funcionalizados com ácido 3-mercaptopropionico foram sintetizados em meio aquoso. Os PQs foram caracterizados e conjugados covalentemente ao análogo de glicose, D-Glicosamina (D-GN). As características físicas dos PQs e dos conjugados foram analisadas através da estabilidade coloidal e fluorescência sob luz UV, além de espectroscopias de absorção e emissão. A avaliação da conjugação foi realizada utilizando uma metodologia adaptada do ensaio de fluorescência em microplaca (EFM), empregando o polímero de manose, a Manana, a lectina tetramérica Concanavalina A (ConA) e o monossacarídeo Manopiranosídeo. Além disso, também foi utilizada a citometria de fluxo de leveduras de *Candida albicans*, sensibilizadas previamente com a ConA. Por fim, foi analisado o potencial de interação dos PQs-D-GN com células HeLa (adenocarcinoma cervical humano). Os PQs sintetizados apresentaram tamanho de 3,3 nm, concentração de 1,4  $\mu$ M e emissão em 630 nm. Após a conjugação houve um *redshift* de aproximadamente 20 nm, esse deslocamento já foi relatado para conjugados de PQs com outras biomoléculas, sendo um indicativo de bioconjugação. De acordo com o EFM, o conjugado apresentou uma Fluorescência Relativa (FR) de 1.455% em comparação aos controles. Por outro lado, nos poços onde houve inibição prévia com o manopiranosídeo a FR caiu para 845%, provando a especificidade. A marcação das leveduras indicou conjugação eficiente com mais de 90% de células marcadas. A citometria indicou aproximadamente 85% das células HeLa marcadas pelo conjugado PQs-D-GN. Por fim, os conjugados demonstraram ótima estabilidade química e óptica e o EFM mostrou-se eficaz na confirmação da conjugação de PQs à D-GN. Além disso, esses novos glicoconjugados mostram-se como potenciais nanoferramentas para estudos de captação celular de glicose, bem como para entendimento da biologia celular do câncer.

**Palavras-chave:** Pontos Quânticos. Marcadores fluorescentes. Derivado de glicose.

Glicosamina. Cancerologia.

BRANDÃO, Carlos Augusto. **Quantum dots as fluorescent nanoprobe for studies of glucose uptake by cancer cells.** 2022. 46 pages. Completion of course work (Graduate in Biomedicine) – Federal University of Pernambuco, Recife, 2022.

### ABSTRACT

Neoplasms are complex diseases that present numerous molecular changes. Even before the formation of tumors, such metabolic changes already precede cell proliferation and tumor growth. Otto Warburg, in 1926, observed that neoplastic cells showed differences in energy metabolism, however, due to limitations at the time, it was impossible to study this altered behavior in more depth. Since then, numerous advances in nanobiotechnology have emerged, making possible advances in molecular diagnosis and understanding of complex diseases such as cancer. Quantum dots (QDs) are fluorescent nanocrystals that have been widely used in life sciences, enabling studies with high sensitivity and specificity. This is possible due to the unique characteristics of these nanocrystals, such as active surface for conjugation with biomolecules and resistance to photodegradation, allowing studies with longer duration, such as those related to cancer metabolism. Thus, the objective of this work was to develop a conjugate based on QDs and a glucose analogue for studies on the uptake of this carbohydrate by cancer cells. Cadmium telluride (CdTe) QDs stabilized/functionalized with 3-mercaptopropionic acid was synthesized in aqueous medium. The QDs were characterized and covalently conjugated to the glucose analogue, D-Glucosamine (D-GN), giving rise to the QDs-D-GN conjugates. The physical characteristics of QDs and conjugates were analyzed through colloidal stability and fluorescence under UV light, in addition to absorption and emission spectroscopy. The evaluation of conjugation was performed by the adapted methodology of the microplate fluorescence assay (MFS), employing the mannose polymer Manana, the tetrameric lectin Concanavalin A (ConA) and the monosaccharide Manopyranoside. Moreover, it was also used the flow cytometry of *Candida albicans* yeasts previously sensitized with the lectin ConA. Finally, the interaction potential of QDs-D-GN with HeLa cancer cells (human cervical adenocarcinoma) was analyzed. The synthesized QDs had an average size of 3.3 nm, concentration of 1.4  $\mu\text{M}$  and emission at 630 nm. After conjugation there was a redshift of approximately 20 nm, this shift has already been reported for conjugates of PQs with other biomolecules, being indicative of bioconjugation. According to the EFM, the conjugate had a Relative Fluorescence (RF) of 1455% compared to controls. On the other hand, in wells where there was previous inhibition with manopyranoside, the FR dropped to 845%, proving the specificity. Yeast labeling indicated efficient conjugation with more than 90% labeled cells. Cytometry indicated approximately 85% of the HeLa cells were labeled by the QDs-D-GN conjugate. Finally, the conjugates showed excellent chemical and optical stability and EFM proved to be effective in confirming the conjugation of QDs to D-GN. In addition, these new glycoconjugates show up as potential nanotools for studies of cellular glucose uptake, as well as for the understanding the cellular biology of cancer.

**Key words:** Quantum Dots. Fluorescent markers. Glucose derivative. Glucosamine. Cancerology.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Preferência da célula normal pela fosforilação oxidativa na presença de oxigênio e pela fermentação láctica na ausência do mesmo. Células neoplásicas optam pela formação do lactato, na presença ou ausência de oxigênio. (+) presença de oxigênio, (-) ausência de oxigênio.. ..... 16
- Figura 2** – Esquema representando uma molécula de glicose que entra na célula a partir dos transportadores de glicose (GLUT) dispostos na membrana celular. A glicose será processada pela maquinaria energética da célula no citoplasma e na mitocôndria, resultando na geração de aproximadamente 30 moléculas de ATP no final do processo da glicólise. .... 17
- Figura 3** – Diferença no Eg para diferentes classes de materiais sólidos (Retângulo branco indica a Banca de Valência e retângulo preto a Banda de Condução)..... 20
- Figura 4** – Esquema da fluorescência de semicondutores. Ao ser excitado por radiação eletromagnética ( $h\nu$ ), o  $e^-$  passa para a BC, levando à formação de um éxciton. Após relaxação e recombinação excitônica, é gerada a emissão de fluorescência ( $h\nu'$ ). Onde:  $h^+$  representa a lacuna formada na BV, pela excitação do  $e^-$ ..... 21
- Figura 5** – Sintonização do  $\lambda_{em}$  dos PQs com o seu tamanho. Também é ilustrado o aumento da energia de Eg com a discretização dos níveis energéticos para nanopartículas (NPs) menores, sob maior efeito de confinamento quântico ..... 22
- Figura 6** – Combinações possíveis de átomos que podem compor PQs. Cádmiu (Cd), zinco (Zn), selênio (Se), enxofre (S) e telúrio (Te) são frequentemente usados na síntese de PQs. Destacados em: Vermelho – grupos II-VI; amarelo III-V e azul III-VI ..... 23
- Figura 7** – Esquema de um Ponto quântico funcionalizado quimicamente e bioconjugado a uma biomolécula para utilização como marcador fluorescente ..... 23

<b>Figura 8</b> – Esquema representativo da estrutura adaptada da microplaca para possibilitar a realização das análises dos PQs-D-GN .....	29
<b>Figura 9</b> – Espectro de absorção (linha contínua) e emissão dos PQs (linha tracejada). A emissão foi obtida utilizando comprimento de onda de excitação ( $\lambda_{exc}$ ) em 488 nm .....	32
<b>Figura 10</b> – Espectros de emissão do PQs-D-GN (Linha tracejada) e PQs-Controle (Linha preta). A emissão foi realizada com $\lambda_{exc} = 488$ nm .....	33
<b>Figura 11</b> – Histogramas representativos da marcação de <i>C. albicans</i> revestida com a lectina ConA ( <i>C. albicans</i> /ConA) e incubada com PQs-D-GN. Em: (A) Controle, apenas <i>C. albicans</i> /ConA, (B) Teste, <i>C. albicans</i> /ConA/PQs-D-GN e (C) Inibido, <i>C. albicans</i> /ConA/Manopiranosídeo/PQs-D-GN .....	36
<b>Figura 12</b> – Histograma de Células HeLa antes (A) e após a incubação com o conjugado PQs-D-GN (B).....	37

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Média do sinal e a porcentagem de FR das amostras controle e testes através do EFM. (u.a. = unidades arbitrárias).....	34
--	----

## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1</b> – Relação de Dagtepe.....	27
<b>Equação 2</b> – Coeficiente de extinção molar .....	27
<b>Equação 3</b> – Equação de Beer-Lambert .....	27
<b>Equação 4</b> – Fluorescência Relativa .....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Acetil-CoA	Acetil-Coenzima A
ADP	Adenosina Difosfato
$a_{exc}$	Raio de Bohr do éxciton
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ATP	Adenosina Trifosfato
ATPase	Adenosinatrifosfatases
BC	Banda de condução
BV	Banda de valência
Cd	Cádmio
$Cd(ClO_4)_2$	Perclorato de cádmio
CdS	Sulfeto de cádmio
CdSe	Seleneto de cádmio
CdTe	Telureto de cádmio
ConA	Concanavalina A
D-GN	D-glicosamina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EROS	Espécies reativas de oxigênio
$e^-$	Elétrons
$E_g$	<i>Bandgap</i>
eV	Eletron-Volt
$FADH_2$	Dinucleótido de Flavina e Adenina
GLUT	Transportador de glicose
HeLa	Células de adenocarcinoma cervical
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	Nanômetro
PBS	Tampão fosfato salino
PET	Tomografia por emissão de pósitrons
PQs	Pontos quânticos
QDs	Quantum dots
TRIS	2-amino-2- (hidroximetil) propano-1,3-diol
u.a.	Unidades arbitrárias

$\mu\text{M}$	Micromolar
$\lambda$	Comprimento de onda
$\lambda_{\text{em}}$	Comprimento de onda do máximo de emissão
$\lambda_{\text{exc}}$	Comprimento de onda de excitação

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>14</b>
2.1 O Câncer .....	14
2.2 Metabolismo energético do câncer.....	17
2.3 Pontos Quânticos .....	19
2.4 Aplicações dos Pontos Quânticos na (nano)medicina .....	23
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>25</b>
3.1 Objetivo geral .....	25
3.2 Objetivos específicos .....	25
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>26</b>
4.1 Síntese dos PQs .....	26
4.2 Conjugação dos PQs covalentemente a glicose .....	26
4.3 Caracterização óptica dos conjugados PQs-D-GN .....	27
4.4 Ensaio Fluorescente em Microplaca adaptado para estudo da conjugação de PQs à D-GN .....	28
4.5 Avaliação da conjugação com leveduras <i>Candida albicans</i> .....	30
4.6 Marcação de células HeLa a partir de Citometria de Fluxo .....	31
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>32</b>
5.1 Caracterizações ópticas dos PQs e PQs-D-GN .....	32
5.2 Confirmação da bioconjugação dos PQs-D-GN por EFM .....	33
5.3 Confirmação da bioconjugação através da marcação de <i>Candida albicans</i> sensibilizadas com concanavalina A .....	35
5.4 Citometria de fluxo com células HeLa .....	36
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>39</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Devido à complexidade das mais diversas doenças que causam incapacitação das pessoas, faz-se necessária a busca por técnicas mais específicas para a compreensão dos mecanismos patológicos das mesmas, de modo a buscar melhorias no diagnóstico e tratamento. Nesse contexto, é fundamental o estudo para maior entendimento da interação entre biomoléculas a nível celular. Com o advento das técnicas moleculares e a microscopia por fluorescência, tornou-se possível a percepção de tais interações, bem como a identificação do local de ocorrência das mesmas. Nesse contexto, técnicas baseadas em fluorescência, que apresentam alta sensibilidade e especificidade química, favorecem o estudo dos eventos celulares com acurácia e uma grande riqueza de informações moleculares (ETRYCH et al., 2016). Portanto, o uso de marcadores fluorescentes é essencial para identificar as estruturas celulares e monitorar os processos biológicos das interações nas quais elas encontram-se envolvidas.

Para essas finalidades, os *Quantum Dots*, ou Pontos Quânticos (PQs), que são nanocristais fluorescentes de semicondutores, vêm ganhando espaço na Nanomedicina. Esse sucesso deve-se às características inerentes dos PQs, que apresentam propriedades mais eficientes, se comparado aos corantes orgânicos, como: (1) melhor resistência à fotodegradação, proporcionando maior tempo de exposição das amostras à luz, além de possibilitar monitoramento e realização de estudos biológicos em tempo real; (2) amplo espectro de absorção, permitindo que uma única fonte de luz possa excitar a fluorescência de PQs de tamanhos diferentes; (3) estreito espectro de emissão, possibilitando múltiplas marcações simultâneas; (4) são eletrodensos, permitindo a sua localização pela microscopia eletrônica; (5) emissão regulável com a alteração do tamanho, ou seja, um PQs de mesmo material pode emitir em variadas regiões do espectro eletromagnético; (6) presença de superfície ativa, permitindo a sua conjugação com várias biomoléculas ou, ainda, outras nanopartículas. Por conta de todas essas características, os PQs possibilitam a sua utilização em diversos estudos, como, estudos de imagens *in vitro* de células e tecidos, ensaios bioanalíticos, desenvolvimento de biossensores, imagens *in vivo* de pequenos animais e também no diagnóstico do câncer e outras patologias (MONTEIRO et al., 2020; PEREIRA et al., 2019a).

A composição da nanoestrutura dos PQs é complexa, apresentando várias camadas, que incluem: (1) o núcleo, responsável pela emissão; (2) uma camada de passivação, comprometida com a intensidade da emissão e sua fotoestabilidade; e (3) a camada orgânica mais externa, que atua como agente estabilizante/funcionalizante, determinando a estabilidade química da nanopartícula e o seu grau de funcionalidade em relação a processos de interação e marcação do sistema biológico de interesse. A biomolécula de interesse vai se ligar na camada mais externa de revestimento dos PQs, apresentando importância no direcionamento desse marcador para alvos biológicos, como receptores das células. Para realização da conjugação covalente, essa camada formada por precursores que fornecem grupamentos funcionais precisa ser ativada, viabilizando o processo de bioconjugação (ou seja, a ligação dos PQs com uma biomolécula que pode ser, por exemplo, proteína, lectina, carboidrato), desempenhando, assim, papel fundamental nas aplicações biológicas sítio-específicas. Essa etapa da bioconjugação ainda configura-se como desafiadora, pois devem ser mantidas as características de ambos os materiais: fluorescência dos PQs e funções bioquímicas da molécula, bem como estabilidade do sistema final (PEREIRA et al., 2019a).

No contexto do câncer, o pesquisador Otto Warburg foi um dos primeiros a observar um elevado consumo de glicose pelas células tumorais, associado a uma restrição no consumo de oxigênio, mesmo num ambiente com a presença do gás. A partir dessas observações, esse comportamento ficou conhecido como Efeito *Warburg*, em homenagem ao pesquisador (WARBURG, 1956). A linha de pesquisa iniciada por Otto Warburg ainda hoje é utilizada para estudar inúmeros tipos de cânceres e entender padrões no seu comportamento da captação de glicose e seus análogos por essas células (SCHWARTZ; SUPURAN; ALFAROUK, 2017; VAUPEL; MULTHOFF, 2021; VAUPEL; SCHMIDBERGER; MAYER, 2019), o que faz dessa molécula um importante alvo de estudo para ser conjugado a um PQs. Visto que uma conjugação eficiente entre tais componentes pode guiar o estudo da interação e o caminho que a molécula de glicose faz, através de técnicas de registro e monitoramento de eventos biológicos em tempo real que extraiam informações a partir do sinal óptico emitido pelos PQs, baseadas em fluorescência. Essa maior captação já vem sendo explorada em outras modalidades de imagem, tais como a tomografia por emissão de pósitron (PET), que administra *2-deoxy-2-(<sup>18</sup>F)fluoro-D-*

*glucose* para fins de diagnóstico clínico de câncer (GAMBHIR, 2002). A utilização da PET no diagnóstico promoveu um grande avanço na identificação e localização das neoplasias, entretanto, essa técnica apresenta limitações a cerca das informações sobre o câncer, por exemplo, o seu metabolismo glicolítico, que pode ter relação direta com o grau de malignidade. Diante do diferenciado padrão de captação de diferentes carboidratos pelas distintas linhagens de células de câncer, principalmente, de acordo com o tipo de tecido e grau de malignidade, é necessário o desenvolvimento de ferramentas que façam melhor rastreio da internalização desses carboidratos e das alterações nas vias bioquímicas do tumor, a fim de melhor compreender o comportamento neoplásico dos pacientes (PAVLOVA; THOMPSON, 2016).

Assim, dentro desse contexto, temos o objetivo de desenvolver novas ferramentas nanotecnológicas baseadas em PQs conjugados a D-GN para o estudo e monitoramento da interação desses bioconjugado com linhagem imortalizada de células de câncer. Para isso, foram realizadas a preparação dos PQs e conjugados de PQs-D-GN, caracterizações espectroscópicas e de eficiência do processo de conjugação, através de ensaio fluorescência em microplaca (EFM) e validação de marcação e especificidade por interação com sistema biológico.

A suspensão coloidal obtida de PQs de CdTe apresentou-se estável, ou seja, bastante fluorescente e ausência de precipitação. A absorção e emissão dos PQs sozinhos foi 610 nm e 645 nm, respectivamente, apresentando uma cor vermelha. De acordo com os valores obtidos do espectro de absorção, o diâmetro médio das partículas foi em torno de 1,4  $\mu\text{M}$ . De acordo com a emissão, o valor da largura à meia altura foi de 59,5 nm. Após conjugação dos nanocristais à D-glicosamina, o espectro de absorção apresentou o mesmo perfil, se sobrepondo aos PQs sozinhos, enquanto o espectro de emissão foi apresentou uma diminuição da intensidade de fluorescência, com emissão no vermelho em 650 nm. Os conjugados PQs-D-GN quando incubados com a levedura (*C. albicans*/ConA) mostraram uma marcação média de aproximadamente 98,5%. Após a inibição prévia dos sítios da ConA com manopiranosídeo, a marcação foi reduzida para um valor menor que 40%. De acordo com os resultados da marcação das células HeLa pelos PQS-D-GN foi possível observar que mais de 90% das células foram marcadas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

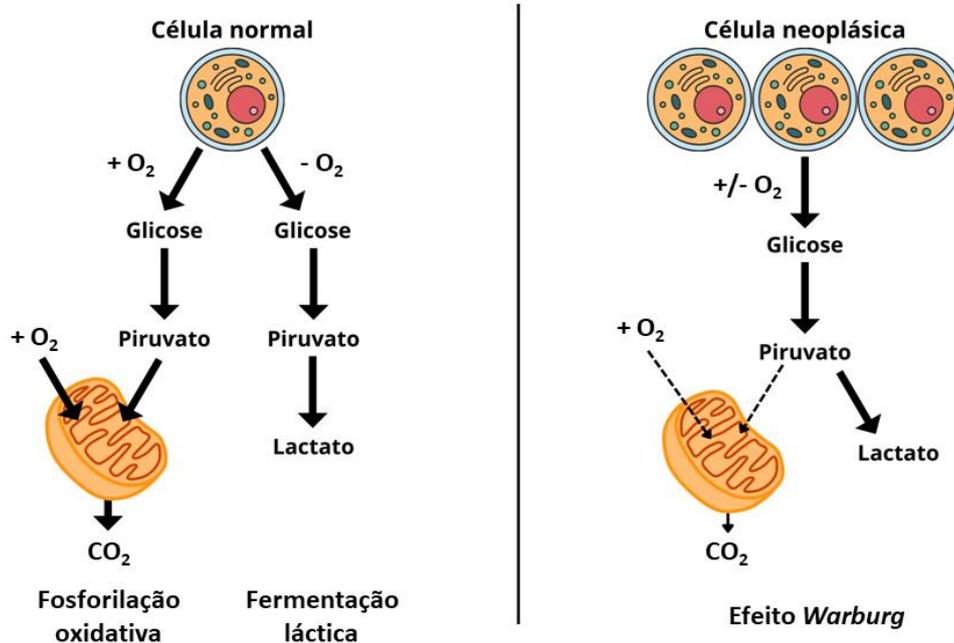
### 2.1 O Câncer

O câncer é uma das maiores causas de mortes em todo o mundo, fazendo por ano cerca de 7,6 milhões de vítimas. Estimativas indicam que até 2030, esse número pode chegar a 13 milhões (INCA, 2020). A carcinogênese é o processo de formação do câncer que envolve várias etapas, incluindo proliferação descontrolada das células até alterações no metabolismo energético (BARTKOVA et al., 2006; FADAKA et al., 2017; TRAN et al., 2017).

O desenvolvimento inicial do câncer é causado por mutações em genes específicos responsáveis pela síntese de biomoléculas vitais que atuam no controle da homeostasia celular, sendo inúmeras linhagens celulares susceptíveis ao acúmulo dessas mutações genéticas e transformação em células neoplásicas. Grande parte das estratégias diagnósticas e terapêuticas é baseada em características próprias das células neoplásicas, como a intensa divisão celular e o aumento no metabolismo das células. Tomografia computadorizada, a ressonância magnética, a ultrassom, a tomografia por emissão de pósitrons (PET) e outras técnicas são utilizadas para identificação de massas tumorais (DANHIER et al., 2012), entretanto, essas abordagem apresentam apenas informações macroscópicas sobre o tumor, como localização e tamanho, sem informações sobre o metabolismo celular e energético (CHATURVEDI et al., 2019).

De acordo com as primeiras observações realizadas pelos pesquisadores Otto Warburg e Herbert Crabtree, algumas ideias puderam ser desenvolvidas sobre o funcionamento do câncer. Em seu livro lançado em 1926, o bioquímico Otto Warburg observou que as células normais morrem se forem mantidas em um estado de glicólise anaeróbia, enquanto as células tumorais não somente continuam a existir, como também mantêm a sua multiplicação, utilizando a energia proveniente da glicólise anaeróbia, também conhecida como Efeito Warburg (Figura 1). As primeiras conclusões foram que o metabolismo das células de câncer está relacionado com distúrbios respiratórios. Dos cânceres que apresentam variação do seu metabolismo anaeróbio, uns podem apresentar elevada respiração, enquanto outros a respiração tumoral é reduzida, entretanto, sempre vai ser observada a glicólise anaeróbia (WARBURG, 1926).

**Figura 1** – Preferência da célula normal pela fosforilação oxidativa na presença de oxigênio e pela fermentação láctica na ausência do mesmo. Células neoplásicas optam pela formação do lactato, na presença ou ausência de oxigênio. (+) presença de oxigênio, (-) ausência de oxigênio.



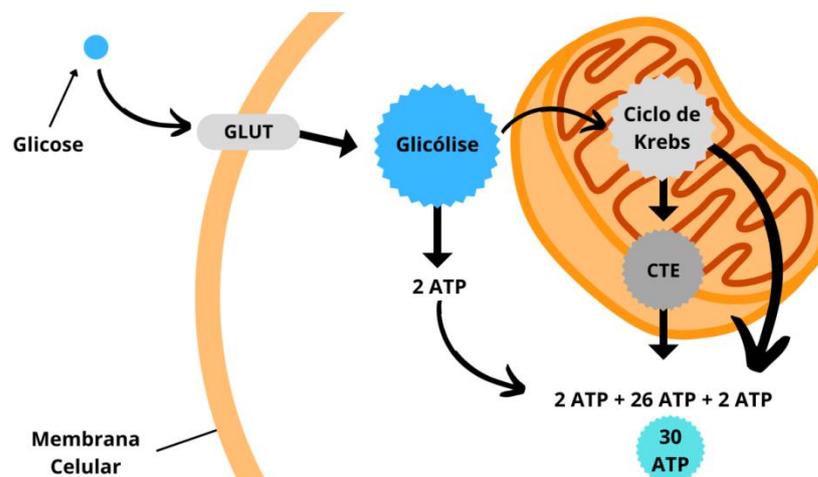
Fonte: O autor (2022).

Já nas observações realizadas por Crabtree, o pesquisador notou que células normais na presença de glicose não alteravam o consumo de oxigênio, ou tinham um discreto aumento. Já nas células cancerígenas, as mesmas diminuíam a captação de oxigênio na presença de glicose, e essa inibição respiratória foi chamada de Efeito *Crabtree* (CRABTREE, 1929). Estudos posteriores observaram que essa característica metabólica está presente em células normais que se dividem rapidamente, como é o caso de células da mucosa intestinal, células renais, células progenitoras hematopoiéticas e espermatozoides. Os mecanismos moleculares por trás deste fenômeno ainda não estão totalmente esclarecidos, mas algumas das hipóteses estão relacionadas com a danificação das membranas mitocondriais por causa da geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) pelo metabolismo acelerado, e também por condições reguladoras do metabolismo, como a relação Adenosina Trifosfato/Adenosina difosfato (ATP/ADP), pH citosólico e reguladores do metabolismo, como a glicose-6-fosfato (DIAZ-RUIZ; RIGOULET; DEVIN, 2011; FADAKA et al., 2017; SLYSHENKOV; RAKOWSKA; WOJTCZAK, 1996; YANG; BORG; ERIKSSON, 1997).

## 2.2 Metabolismo energético do câncer

Para o funcionamento normal do metabolismo das células, o corpo realiza o catabolismo da glicose a partir da via de Embden-Meyerhoff, também conhecido como glicólise. As 10 etapas desse processo promovem a conversão de uma molécula de glicose em duas moléculas de piruvato. Após a geração das moléculas de piruvato, se na presença de oxigênio, a molécula será alvo da enzima piruvato desidrogenase, que dará como produto o Acetil-Coenzima A (Acetil-CoA). Essas moléculas geradas são movidas para a mitocôndria e ingressam no ciclo do ácido cítrico (ou ciclo de Krebs), que gera seis moléculas de Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (NADH), duas moléculas de Dinucleótido de Flavina e Adenina ( $\text{FADH}_2$ ) e duas moléculas de Adenosina Trifosfato (ATP). Somando duas moléculas de ATP que foram geradas em reações anteriores, todos esses produtos serão utilizados pela Cadeia Transportadora de Elétrons (CTE) que, através da fosforilação oxidativa terá como produto um número aproximado de 30 ATPs por molécula de glicose (Figura 2) que entraram na via de Embden-Meyerhoff (FADAKA et al., 2017; NELSON; COX, 2001).

**Figura 2** – Esquema representando uma molécula de glicose que entra na célula a partir dos transportadores de glicose (GLUT) dispostos na membrana celular. A glicose será processada pela maquinaria energética da célula no citoplasma e na mitocôndria, resultando na geração de aproximadamente 30 moléculas de ATP no final do processo da glicólise.



Fonte: O autor (2022).

Se ocorrer o predomínio da fosforilação oxidativa sobre a glicólise, vai ocorrer a queda do ATP nuclear, causando a diminuição de funções vitais para o núcleo

como a transcrição e replicação do Ácido desoxirribonucleico (DNA) (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Em um estudo realizado por Isidoro e Cuezva, por exemplo, foi observado que esse predomínio da fosforilação oxidativa também ocasionou uma menor expressão de uma proteína mitocondrial Beta F1 Adenosinatrifosfatases (ATPase), resultando em mitocôndrias alteradas nas células cancerígenas (ISIDORO et al., 2004). Além disso, estudos anteriores já tinham observado que a fosforilação oxidativa apresenta uma diminuição no metabolismo das células cancerígenas, tais como a diminuição da troca ATP - ADP (LAU; CHAN, 1984), diminuição da atividade da ATPase (CHERNYAK, B.V., DUKHOVIC, V.P., KHODJAEV, 1991), diminuição da quantidade de DNA mitocondrial (SIMONNET et al., 2002) diminuição do número de mitocôndrias e do conteúdo dos complexos da fosforilação oxidativa (ISIDORO et al., 2004).

Nos primeiros trabalhos sobre o metabolismo do câncer, foram observados que as células nem sempre eram idênticas, apresentando diferentes características. Por exemplo, enquanto alguns cânceres apresentavam células cancerosas altamente diferenciadas com níveis de glicólise anaeróbia normal e baixa taxa de crescimento, outros tinham células minimamente diferenciadas com alta taxa de glicólise anaeróbia e altas taxas de crescimento (BAGGETTO, 1992). Além de alterações a níveis de metabolismo, diferentes tumores também apresentam adaptações que permitem seu desenvolvimento em locais com pH ácido e baixa tensão de oxigênio (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Em relação à captação de nutrientes pelas células de câncer, existem algumas particularidades desse mecanismo, o qual ainda não há consenso sobre o metabolismo dos derivados da glicose entre os estudos da literatura (KOROTCOV et al., 2012). Assim, novas gliconopartículas envolvendo fluorescência e análogos da glicose podem fornecer informações que levem a um melhor entendimento do mecanismo de captação e retenção desse carboidrato em diferentes linhagens de células cancerígenas. Estudos deste tipo podem contribuir para a padronização dos perfis típicos de cada neoplasia, bem como elucidar seu grau de malignidade (EL-BOUBBOU; GRUDEN; HUANG, 2007; KOROTCOV et al., 2012).

Assim, as técnicas baseadas em fluorescência utilizando nanopartículas podem fornecer alta sensibilidade e especificidade bioquímica, e serem úteis ao empregar sondas fluorescentes capazes de direcionar carboidratos para alvos

específicos em sistemas biológicos e para monitoramento através do sinal fluorescente das técnicas baseadas em fluorescência, como microscopias e citometria de fluxo (ETRYCH et al., 2016). Por apresentarem uma superfície ativa que permite a conjugação com inúmeras biomoléculas, uma emissão próxima do infravermelho ( $> 650$  nm), resistência à fotodegradação e outras vantagens frente aos corantes convencionais, os Pontos Quânticos são nanoferramentas que apresentam um grande potencial para realização de estudos sobre o metabolismo celular e molecular do câncer (CABRAL FILHO et al., 2016; MONTEIRO et al., 2020; PEREIRA et al., 2019b; VOLKOV, 2015).

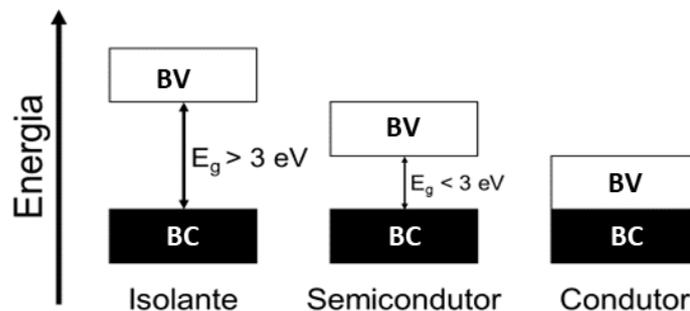
### 2.3 Pontos Quânticos

A nanotecnologia é a área da ciência que busca compreender e explorar as propriedades de materiais em com escala nanométrica ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ) (RENGERS, C.; GAPONIK, N.; EYCHMÜLLER, 2019). Os nanomateriais podem ser aplicados em inúmeros campos, como a construção de televisores, células fotovoltaicas, processos bioquímicos de liberação controlada de fármacos, monitoramento do metabolismo celular e molecular das células (KUMAR; SINHA RAY, 2018). Dentro desta perspectiva, surgem os PQs que são nanocristais de semicondutores altamente fluorescentes (KRISHNA et al., 2018; MARTINS; TRINDADE, 2012; PEREIRA, 2016; SMITH; GAO; NIE, 2004). Devido ao confinamento quântico, os PQs têm sua energia quantizada em níveis discretos, sendo conhecidos também como átomos artificiais (KHALEDI-NASAB et al., 2014).

De acordo com a quantidade de precursores e o tempo de crescimento do cristal, os PQs podem apresentar diferentes tamanhos, e, conseqüentemente, emitir fluorescência em diferentes espectros de emissão. A primeira parte da síntese produz um núcleo que pode ser feito de diferentes materiais, como o Seleneto de Cádmio (CdSe), Sulfeto de Cádmio (CdS) e o Telureto de Cádmio (CdTe), entretanto esse núcleo apresenta um rendimento quântico muito baixo, sendo necessário a produção de uma capa com um material de semicondutor de alta *bandgap* (intervalo de energia entre a banda de valência e a banda de condução), que além de elevar muito o rendimento quântico do nanocristal, vai proteger o núcleo da oxidação e lixiviação (PENG; PENG, 2001).

Os materiais sólidos possuem uma banda de valência (BV), totalmente preenchida por elétrons ( $e^-$ ), e uma banda de condução (BC), que pode estar parcialmente preenchida por  $e^-$ . Essas bandas são separadas por uma região não ocupada por  $e^-$ , o *bandgap* ( $E_g$ ). Os materiais isolantes apresentam uma alta resistência ao fluxo de cargas, sendo utilizados comumente no recobrimento de fios elétricos. No caso dos semicondutores, para os  $e^-$  passarem da BV para a BC, é necessária uma mínima quantidade de energia igual ao  $E_g$ , normalmente expressa em eV (elétron-Volt) (SMITH; GAO; NIE, 2004). O  $E_g$  é utilizado para classificar os sólidos em relação a sua condutividade elétrica: caso o  $E_g$  de um sólido seja de energia superior a 3,0 eV, ele é considerado isolante, pois a alta energia de excitação dificulta a passagem dos  $e^-$  da BV à BC (Figura 3). Nos materiais condutores os  $e^-$  transitam com facilidade entre as bandas, devido à pequena distância entre elas. Já os semicondutores apresentam uma  $E_g$  considerada intermediária, sendo possível a utilização de radiação eletromagnética na região do UV-Vis e à temperatura ambiente para excitar os  $e^-$  da BV à BC (RENGERS; GAPONIK; EYCHMÜLLER, 2019; SMITH; GAO; NIE, 2004).

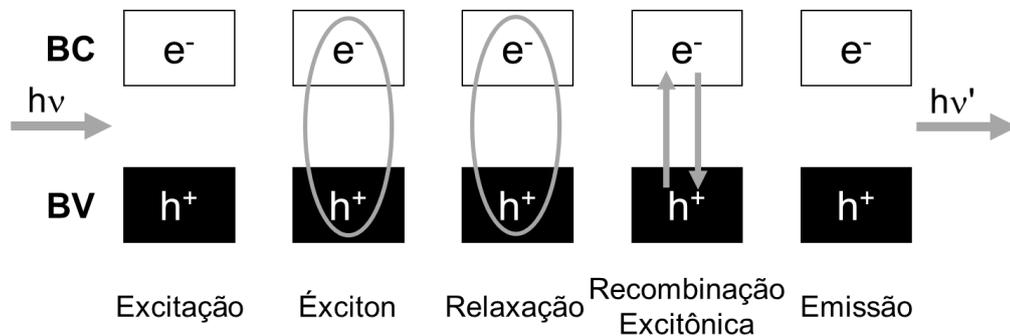
**Figura 3** – Diferença no  $E_g$  para diferentes classes de materiais sólidos (Retângulo branco indica a Banca de Valência e retângulo preto a Banda de Condução).



Fonte: Adaptada de RENGERS *et al.* (2019).

Após a passagem de elétrons da BV para a BC, são criados “buracos” na BV ( $h^+$ ). As lacunas formadas possuem cargas positivas, sendo os  $e^-$  atraídos eletrostaticamente pelos buracos, formando os “éxcitons”. O par elétron-buraco é separado por uma distância chamada raio de Bohr do éxciton ( $a_{exc}$ ), que é específica de cada material semicondutor. Quando os  $e^-$  excitados retornam a BV há emissão de fótons (fluorescência), no processo chamado de recombinação excitônica (Figura 4) (MICHALET; BENTOLILA; WEISS, 2008; SMITH; GAO; NIE, 2004).

**Figura 4** – Esquema da fluorescência de semicondutores. Ao ser excitado por radiação eletromagnética ( $h\nu$ ), o  $e^-$  passa para a BC, levando à formação de um éxciton. Após relaxação e recombinação excitônica, é gerada a emissão de fluorescência ( $h\nu'$ ). Onde:  $h^+$  representa a lacuna formada na BV, pela excitação do  $e^-$ .

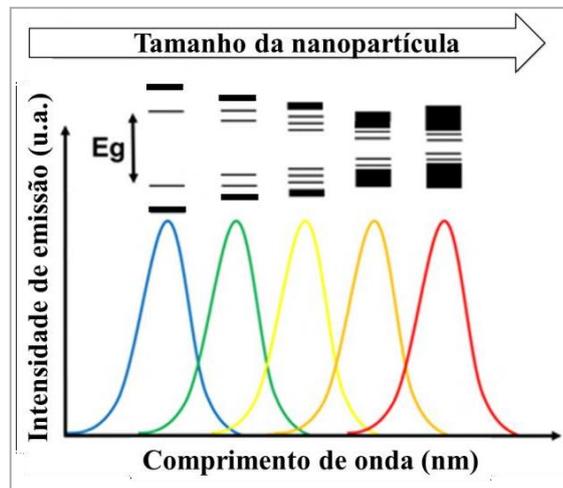


**Fonte:** Adaptada de PEREIRA (2014).

Já no cristal semicondutor macroscópico (*bulk*), há uma distribuição contínua de níveis eletrônicos nas bandas. Isto não acontece quando as dimensões ( $x$ ,  $y$  e  $z$ ) de um nanocristal são menores que o  $a_{exc}$  de seu material semicondutor constituinte. O efeito causado por esse confinamento quântico leva a uma mudança na distribuição dos estados energéticos, formando níveis discretos de energia semelhantes ao de um átomo, e por isto os PQs também são chamados de átomos artificiais (BRUS, 1984; MICHALET; BENTOLILA; WEISS, 2008).

Adicionalmente, quanto menor for o diâmetro ( $d$ ) do nanocristal, maior é a  $E_g$ , o que também leva a uma emissão com radiação eletromagnética de maior energia. Visto que o comprimento de onda ( $\lambda$ ) da luz é inversamente proporcional a sua energia, PQs com menor diâmetro terão  $\lambda$  de emissão ( $\lambda_{em}$ ) mais próximo da região do azul, e PQs maiores terão, conseqüentemente,  $\lambda_{em}$  mais próximo da região do infravermelho (Figura 5) (SANTOS; FARIAS; FONTES, 2008; SMITH; GAO; NIE, 2004).

**Figura 5** – Sintonização do  $\lambda_{em}$  dos PQs com o seu tamanho. Também é ilustrado o aumento da energia de  $E_g$  com a discretização dos níveis energéticos para nanopartículas (NPs) menores, sob maior efeito de confinamento quântico.



Fonte: Adaptada de CESAR (2014).

Os PQs podem ser sintetizados a partir de elementos semicondutores dos grupos 12-14 (II-IV), 13-15 (III-V) e 14-16 (IV-VI) da tabela periódica (Figura 6). Com a diminuição do tamanho dos cristais, há um grande aumento da área de superfície, aumentando a relevância das ligações não compartilhadas causadas pela interrupção do crescimento do nanocristal, que, por criarem níveis de energia intermediários (armadilhas) entre a BV e a BC, podem diminuir a intensidade de emissão e, conseqüentemente, o rendimento quântico do nanossistema (CESAR, 2014; LEITE., 2019; MARTINS; TRINDADE, 2012; SILVA, *et al.*, 2010). Para garantir que os PQs tenham uma intensa fluorescência, uma casca (*shell*), chamada de camada de passivação, de outro semicondutor de maior  $E_g$  é crescida ao redor do núcleo – *core*, com a possibilidade da ligação de uma biomolécula na superfície da nanopartícula (Figura 7). Este processo pode ser realizado durante a síntese dos PQs, com a adição de precursores que contenham átomos que vão se ligar aos átomos não compartilhados presentes na superfície do nanocristal. O próprio agente estabilizante do sistema pode ser utilizado para compor uma fina e eficiente camada de passivação, que pode ser, por exemplo, de CdS para os PQs de CdTe, se esse agente estabilizante for tiolado, pois o enxofre se ligará aos átomos de cádmio não ligados presentes na superfície do cristal (H. R; SCHIFFMAN; BALAKRISHNA, 2018).

**Figura 6** – Combinações possíveis de átomos que podem compor PQs. Cádmi (Cd), zinco (Zn), selênio (Se), enxofre (S) e telúrio (Te) são frequentemente usados na síntese de PQs. Destacados em: Vermelho – grupos II-VI; amarelo III-V e azul III-VI.

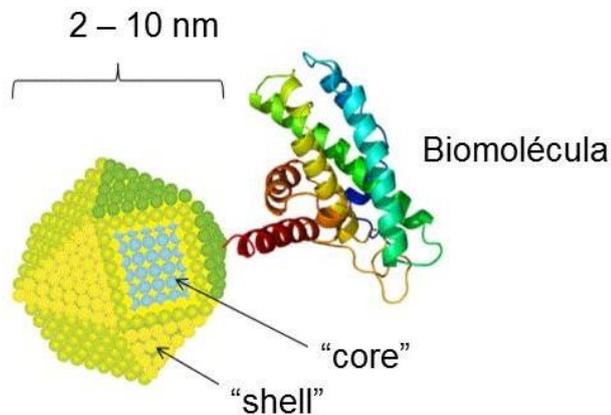
**TABELA PERIÓDICA DOS ELEMENTOS**

Key:  
atomic number  
Symbol  
name  
conventional atomic weight  
standard atomic weight

1 H hydrogen 1.00784 [1.0078, 1.0082]																	18 He helium 4.0026		
3 Li lithium 6.94 [6.938, 6.987]	4 Be beryllium 9.0122																	9 F fluorine 18.998 [18.998, 18.998]	10 Ne neon 20.180 [20.180, 20.180]
11 Na sodium 22.990 [22.989, 22.991]	12 Mg magnesium 24.305 [24.304, 24.307]																	17 Cl chlorine 35.45 [35.446, 35.457]	18 Ar argon 39.95 [39.962, 39.963]
19 K potassium 39.098 [39.096, 39.098]	20 Ca calcium 40.078 [40.078, 40.078]	21 Sc scandium 44.956 [44.955, 44.956]	22 Ti titanium 47.867 [47.867, 47.867]	23 V vanadium 50.942 [50.942, 50.942]	24 Cr chromium 51.996 [51.996, 51.996]	25 Mn manganese 54.938 [54.938, 54.938]	26 Fe iron 55.845 [55.845, 55.845]	27 Co cobalt 58.933 [58.933, 58.933]	28 Ni nickel 58.693 [58.693, 58.693]	29 Cu copper 63.546 [63.546, 63.546]	30 Zn zinc 65.38 [65.38, 65.38]	31 Ga gallium 69.723 [69.723, 69.723]	32 Ge germanium 72.630 [72.630, 72.630]	33 As arsenic 74.922 [74.922, 74.922]	34 Se selenium 78.96 [78.96, 78.96]	35 Br bromine 79.904 [79.904, 79.907]	36 Kr krypton 83.798 [83.798, 83.798]		
37 Rb rubidium 85.468 [85.468, 85.468]	38 Sr strontium 87.62 [87.62, 87.62]	39 Y yttrium 88.906 [88.906, 88.906]	40 Zr zirconium 91.224 [91.224, 91.224]	41 Nb niobium 92.906 [92.906, 92.906]	42 Mo molybdenum 95.94 [95.94, 95.94]	43 Tc technetium 98 [98, 98]	44 Ru ruthenium 101.07 [101.07, 101.07]	45 Rh rhodium 102.91 [102.91, 102.91]	46 Pd palladium 106.42 [106.42, 106.42]	47 Ag silver 107.87 [107.87, 107.87]	48 Cd cadmium 112.41 [112.41, 112.41]	49 In indium 114.82 [114.82, 114.82]	50 Sn tin 118.71 [118.71, 118.71]	51 Sb antimony 121.76 [121.76, 121.76]	52 Te tellurium 127.60 [127.60, 127.60]	53 I iodine 126.90 [126.90, 126.90]	54 Xe xenon 131.29 [131.29, 131.29]		
55 Cs caesium 132.91 [132.91, 132.91]	56 Ba barium 137.33 [137.33, 137.33]	57-71 lanthanoids	72 Hf hafnium 178.49 [178.49, 178.49]	73 Ta tantalum 180.95 [180.95, 180.95]	74 W tungsten 183.84 [183.84, 183.84]	75 Re rhenium 186.21 [186.21, 186.21]	76 Os osmium 190.23 [190.23, 190.23]	77 Ir iridium 192.22 [192.22, 192.22]	78 Pt platinum 195.08 [195.08, 195.08]	79 Au gold 196.97 [196.97, 196.97]	80 Hg mercury 200.59 [200.59, 200.59]	81 Tl thallium 204.38 [204.38, 204.38]	82 Pb lead 207.2 [207.2, 207.2]	83 Bi bismuth 208.98 [208.98, 208.98]	84 Po polonium [209, 209]	85 At astatine [210, 210]	86 Rn radon [222, 222]		
87 Fr francium [223, 223]	88 Ra radium [226, 226]	89-103 actinoids	104 Rf rutherfordium [261, 261]	105 Db dubnium [262, 262]	106 Sg seaborgium [263, 263]	107 Bh bohrium [264, 264]	108 Hs hassium [265, 265]	109 Mt meitnerium [266, 266]	110 Ds darmstadtium [267, 267]	111 Rg roentgenium [268, 268]	112 Cn copernicium [269, 269]	113 Nh nihonium [271, 271]	114 Fl flerovium [272, 272]	115 Mc moscovium [273, 273]	116 Lv livermorium [275, 275]	117 Ts tennessine [277, 277]	118 Og oganesson [278, 278]		
57 La lanthanum 138.91 [138.91, 138.91]	58 Ce cerium 140.12 [140.12, 140.12]	59 Pr praseodymium 140.91 [140.91, 140.91]	60 Nd neodymium 144.24 [144.24, 144.24]	61 Pm promethium [145, 145]	62 Sm samarium 150.36 [150.36, 150.36]	63 Eu europium 151.96 [151.96, 151.96]	64 Gd gadolinium 157.25 [157.25, 157.25]	65 Tb terbium 158.93 [158.93, 158.93]	66 Dy dysprosium 162.50 [162.50, 162.50]	67 Ho holmium 164.93 [164.93, 164.93]	68 Er erbium 167.26 [167.26, 167.26]	69 Tm thulium 168.93 [168.93, 168.93]	70 Yb ytterbium 173.05 [173.05, 173.05]	71 Lu lutetium 174.97 [174.97, 174.97]					
89 Ac actinium [227, 227]	90 Th thorium 232.04 [232.04, 232.04]	91 Pa protactinium 231.04 [231.04, 231.04]	92 U uranium 238.03 [238.03, 238.03]	93 Np neptunium [237, 237]	94 Pu plutonium [244, 244]	95 Am americium [243, 243]	96 Cm curium [247, 247]	97 Bk berkelium [247, 247]	98 Cf californium [251, 251]	99 Es einsteinium [252, 252]	100 Fm fermium [257, 257]	101 Md mendelevium [258, 258]	102 No nobelium [259, 259]	103 Lr lawrencium [260, 260]					

Fonte: Adaptada de LEITE (2019).

**Figura 7** – Esquema de um ponto quântico funcionalizado quimicamente e bioconjugado a uma biomolécula para utilização como marcador fluorescente.



Fonte: Adaptada de PEREIRA *et al.* (2016).

## 2.4 Aplicações dos Pontos Quânticos em estudos com glicose

Reconhecendo a complexidade e desafios para compreender e desenvolver tratamentos para o câncer, surge a nanooncologia, um braço da nanomedicina que tem como objetivo a utilização de nanomateriais para atuar tanto no diagnóstico como no tratamento das neoplasias (TRAN *et al.*, 2017).

Neste contexto, o uso de PQs como sonda fluorescente é interessante, devido às suas propriedades únicas, tais como: (i) excepcional resistência à fotodegradação, permitindo o monitoramento de processos biológicos por longos períodos e (ii) superfície ativa, composto por grupos funcionais que permitem a conjugação com biomoléculas, como anticorpo anti-A (CABRAL FILHO et al., 2015), transferrina (CABRAL FILHO et al., 2016), lectina de concanavalina A (ConA) (TENÓRIO et al., 2015), e pequenas moléculas, como ácido fólico (MONTEIRO et al., 2017), componentes paramagnéticos (PEREIRA et al., 2019b) e carboidratos, como derivados ou análogos de glicose (RANJBAR-NAVAZI et al., 2018). Além disso, os PQs possuem tamanho nanométrico, sendo citocompatíveis para interagir e serem internalizados com os transportadores GLUTs e outras possíveis vias do metabolismo da glicose, possibilitando o monitoramento de eventos em nível celular (CHENG et al., 2006).

Para aprimorar a compreensão, o diagnóstico e o tratamento de doenças complexas como o câncer, é fundamental o entendimento da interação entre moléculas ao nível celular. Desde o advento da microscopia por fluorescência, a percepção destas interações foi viabilizada (KWON; GUNASEKARAN; EOM, 2019). Entretanto, o uso de marcadores fluorescentes é essencial para entender os processos/fenômenos biológicos nos quais as moléculas estão envolvidas através do sinal óptico captados pelos equipamentos de análises e processados a fim de transmitir os dados.

A glicose é uma das biomoléculas que pode ter o metabolismo/internalização alterado em determinadas linhagens de células cancerígenas e, por isso, precisa ser melhor compreendido, como através do uso de PQs, a fim de aperfeiçoar os métodos de diagnósticos/terapêuticos. Por conta das suas características físico-químicas únicas, os PQs demonstram ser uma nanoferramenta eficiente para estudos com objetivo de entender o metabolismo celular da glicose nas células cancerígenas (ESTEVE-TURRILLAS; ABAD-FUENTES, 2013; KAIRDOLF et al., 2013; KOROTCOV et al., 2012)

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver conjugados baseados em PQs e um análogo de glicose (D-glicosamina) para estudo da captação desse carboidrato utilizando células de adenocarcinoma cervical (HeLa) imortalizadas como modelo.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os PQs;
- Conjugar covalentemente PQs a D-GN;
- Caracterizar opticamente os PQs e os conjugados PQs-D-GN;
- Avaliar os PQs e conjugados PQs-D-GN a partir do ensaio fluorescente em microplaca (EFM) com metodologia adaptada;
- Examinar a conjugação através da marcação de leveduras de *Candida albicans* sensibilizadas com concanavalina A (ConA);
- Avaliar o padrão de captação fluorescente dos PQs-D-GN com células de adenocarcinoma cervical (HeLa) imortalizadas através da citometria de fluxo.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Síntese dos PQs

A síntese de PQs de telureto de cádmio (CdTe) estabilizados/funcionalizados com o ácido 3-mercaptopuccínico (AMS) em meio aquoso foi realizada de acordo com protocolos já definidos pelo grupo de pesquisa em Nanotecnologia Biomédica - NanoBio (CABRAL FILHO et al., 2016). Inicialmente, a partir do cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2$  - 0,2 mmol – *Sigma Aldrich*) e do AMS (0,6 mmol – *Sigma Aldrich*) foi preparada uma solução aquosa de  $\text{Cd}^{2+}$ /AMS com pH elevado para aproximadamente 10,5, com Hidróxido de sódio (NaOH - 2 M). Em segundo passo, o telúrio metálico ( $\text{Te}^0$  - 0,1 mmol) foi reduzido a  $\text{Te}^{2-}$  utilizando o agente redutor, o borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$  - 3 mmol – *Sigma Aldrich*) em pH elevado em atmosfera inerte. Após a redução do telúrio, a qual é comprovada pela mudança da coloração de violeta ( $\text{Te}^{1-}$ ) para transparente ( $\text{Te}^{2-}$ ), este foi adicionado na solução de  $\text{Cd}^{2+}$ /AMS para formação das nanopartículas na proporção de 2:1:6 (Cádmio: Telúrio: AMS). A reação continuou por 7 h sob agitação constante e aquecimento (90 - 100 °C).

### 4.2 Conjugação dos PQs covalentemente a glicose

Para realização da conjugação, 1 mL de PQs (a 1,4  $\mu\text{M}$ ) teve o pH ajustado para aproximadamente 5,5 utilizando AMS a 4,9% (m/v). Os grupos carboxílicos dos PQs foram ativados através dos agentes de acoplamento, sendo 500  $\mu\text{L}$  de N-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC - 0,4 mg/mL – *Sigma Aldrich*) e 500  $\mu\text{L}$  de N-hidroxissuccinimida (NHS - 1,1 mg/mL – *Sigma Aldrich*), os quais possibilitam a formação de ligações amida, promovendo a conjugação covalente entre os grupos carboxílicos dos PQs e a amina presente na D-glicosamina (D-GN – *Sigma Aldrich*). Adicionou-se 42  $\mu\text{L}$  da D-GN (20  $\mu\text{g/mL}$  – *Sigma Aldrich*) na suspensão coloidal de PQs ativados para formação do bioconjugado na proporção de 1 nanopartícula de ponto quântico para 250 moléculas de D-GN, e em seguida, armazenados a temperatura de 4-8 °C, sendo utilizados a partir do sétimo dia após conjugação com a biomolécula.

### 4.3 Caracterização óptica dos PQs e dos conjugados PQs-D-GN

Depois de sintetizados, os PQs foram caracterizados por espectroscopia de absorção e emissão utilizando espectrofotômetro UV-Vis 1800 (*Shimadzu*) e espectrofluorímetro LS55 (*PerkinElmer*), respectivamente. As caracterizações realizadas proporcionaram obter informações sobre as características ópticas dos PQs. A estimativa de tamanho dos PQs de CdTe pode ser obtida utilizando-se a relação de Dagtepe (DAGTEPE et al., 2007), descrita através da Eq. 1:

$$d = \frac{1,38435 - 0,00066\lambda}{1 - 0,00121\lambda} \quad \text{Eq.1}$$

Onde,  $d$  é diâmetro do ponto quântico e,  $\lambda$  é o comprimento de onda do primeiro máximo de absorção observado para os PQs de CdTe. Além disso, utilizando o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon$ ), para o CdTe, proposto por Yu, (YU et al., 2003) Eq. 2, foi também possível calcular a concentração dos PQs por meio da Equação de Beer-Lambert, descrita na Eq. 3:

$$\epsilon = 10043 (d)^{2.12} \quad \text{Eq.2}$$

$$A = \epsilon \cdot C \cdot L \quad \text{Eq.3}$$

Onde,  $A$  é absorvância,  $C$  é a concentração da suspensão coloidal e  $L$  o comprimento do percurso óptico (largura da cubeta = 1 cm).

Já o espectro de emissão, permite saber em qual região do espectro eletromagnético os PQs estão florescendo, além de indicar sobre a qualidade óptica dos mesmos. Os conjugados PQs-D-GN também foram caracterizados opticamente por espectroscopias de absorção e emissão e comparados com os PQs.

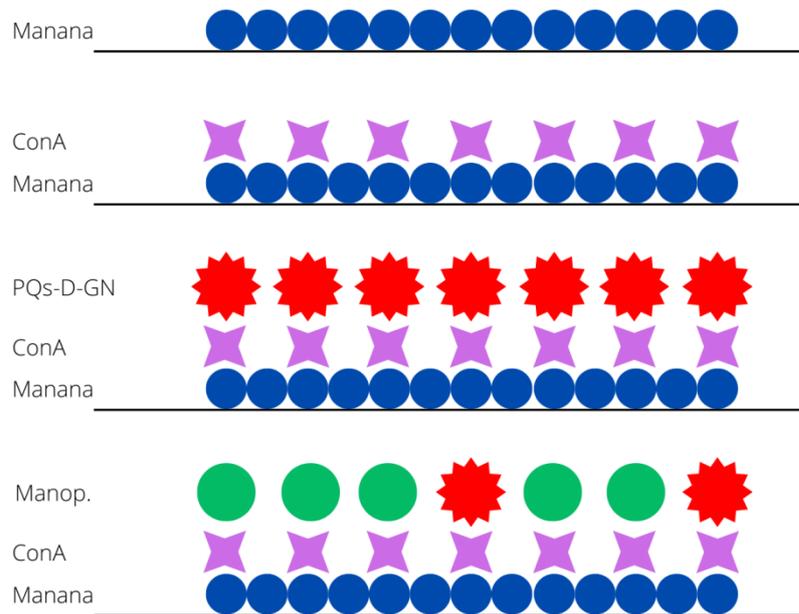
#### 4.4 Ensaio Fluorescente em Microplaca (EFM) adaptado

O ensaio de fluorescência em microplaca é um método para confirmação da bioconjugação já descrito anteriormente em outros trabalhos do grupo NanoBio (CARVALHO et al., 2014). É baseado na leitura da fluorescência dos conjugados utilizando-se uma microplaca de poliestireno Optiplate F HB (*PerkinElmer*) que possui afinidade por proteínas. (CABRAL FILHO et al., 2015).

Entretanto, para obter a confirmação da conjugação entre os PQs e carboidratos (como é o caso do conjugado de interesse nesse trabalho, PQs-D-GN), foi necessária a adaptação do EFM já descrito. Para isso, a microplaca foi revestida com manana (polímero de manose, polissacarídeo da *Saccharomyces cerevisiae* – *Sigma Aldrich*) e ConA (lectina Concanavalina A – *Sigma Aldrich*), que é uma lectina tetramérica, a qual possui quatro sítios de ligação a resíduos de glicose e manose, sendo possível interagir com a manose do polímero adsorvido previamente na placa, como também com a glicose presente nos conjugados PQs-D-GN. Além disso, para confirmar a especificidade da interação dos PQs-D-GN com a ConA, realizou-se incubação de alguns poços com manopiranosídeo (*Sigma Aldrich*) para saturar os sítios da ConA, e assim avaliar a redução da possibilidade de interação dos PQs-D-GN com a ConA.

Para isso, foram adicionados 50  $\mu$ L de cada componente nos poços em triplicata, na ordem descrita a seguir: Controle 1 (Somente Manana); Controle 2 (Manana + ConA); Controle 3 (Manana + ConA + Manopiranosídeo); Teste (Manana + ConA + PQs-D-GN) e; Saturado (Manana + ConA + Manopiranosídeo + PQs-D-GN). A manana (200  $\mu$ g/mL) isolada foi incubada em todos os poços da microplaca por três horas em banho-maria à 37 °C (Figura 8). Após incubação, todos os poços foram lavados com 100  $\mu$ L de tampão fosfato salino (PBS) por três vezes. Em seguida, adicionou-se 50  $\mu$ L de ConA (1 mg/mL), por duas horas a 4°C, nos poços controle (2 e 3), teste e saturado, e lavou-se três vezes com PBS. No poço saturado, incubou-se 50  $\mu$ L de manopiranosídeo (0,2 mg/mL) por 30 minutos a 4°C (temperatura ótima para lectina), e também seguido das lavagens.

**Figura 8** – Esquema representativo da estrutura adaptada da microplaca para possibilitar a realização das análises dos PQs-D-GN.



Fonte: O autor (2022).

Para todos os ensaios PQs-D-GN foram previamente bloqueados com 2-amino-2- (hidroximetil) propano-1,3-diol (TRIS) base (0,1 mM) por duas horas a 25°C, sob agitação constante. Por fim, incubou-se os conjugados PQs-D-GN (Teste) por uma hora nos poços teste e saturado a 4°C. Após lavagens, foi realizada a leitura da microplaca (Victor2 – *PerkinElmer*) nos filtros F405 (excitação) e F595 (emissão).

Neste método, para a comprovação da eficiência da conjugação, os testes devem apresentar pelo menos 100% de aumento da fluorescência relativa quando comparados aos valores médios dos controles. E quanto maior a Fluorescência Relativa (FR) mais eficiente é a conjugação (CABRAL FILHO et al., 2016). Esse valor pode ser analisado através da Eq. 4 (CARVALHO et al., 2014):

$$FR(\%) = \frac{\text{Média das fluorescência Teste} - \text{Média fluorscencia controles}}{\text{Média fluorescência controles}} \times 100 \quad \text{Eq. 4}$$

#### 4.5 Avaliação da interação biológica do conjugado com leveduras *Candida albicans*

Células de levedura *Candida albicans* (*American Type Culture Collection*, ATCC 10231) foram utilizadas como suporte biológico para avaliar a eficiência e especificidade de conjugados PQs-D-GN. Para isso, as leveduras foram semeadas em meio líquido Saboraud por 24 h. Em seguida, 1 mL de suspensão de células de *C. albicans* foi lavada com 1 mL de solução salina (NaCl a 0,9%) através de uma centrifugação na rotação de 775 x g por 2 min. O sedimento foi ressuspense em 1 mL de solução salina e a densidade óptica foi ajustada para aproximadamente 0,7 a 540 nm. Em seguida, a suspensão celular foi incubada com Concanavalina A (ConA - 2,8 mg/mL), lectina extraída de *Canavalia ensiformis*, por 30 min sob agitação. A parede celular de *C. albicans* é rica em resíduos de carboidratos possibilitando a interação com ConA, uma vez que se liga especificamente a  $\alpha$ -D-manose/glicose. ConA é tetramérica (em pH acima de 7), pois possui mais de um sítio de ligação (um por monômero), podendo interagir em um dos sítios com a superfície de *C. albicans* e ainda fornecer outros sítios para a interação dos conjugados PQs-D-GN desenvolvidos neste trabalho na próxima etapa (CHATTERJEE; MANDAL, 2005).

Após o período de incubação, o sistema *C. albicans*/ConA foi lavado e ressuspense ao volume inicial com solução salina (1 mL). Somente após este processo, os conjugados PQs-D-GN foram incubados com a suspensão de *C. albicans*/ConA, a 0,2: 1 (PQs-D-GN: *C. albicans*/ConA, v/v) por 15 min, sob agitação em agitador 360°. Antes da incubação, os grupos carboxilas ativados restantes dos conjugados PQs-D-GN foram previamente bloqueados com TRIS base a 0,4 mM, usando a razão de volume como sendo 1:20 (TRIS: PQs-D-GN, v/v), por aproximadamente 2 h à temperatura ambiente (~25 °C) sob agitação constante em agitador 360° (BioSan - Bio RS-24).

Além disso, para avaliar a especificidade da interação entre *C. albicans*/ConA e conjugados PQs-D-GN, foi realizada uma inibição dos sítios ConA com metil- $\alpha$ -D-manopiranosídeo (Sigma-Aldrich). Para isso, a suspensão de *C. albicans*/ConA foi incubada com esse carboidrato na concentração final de aproximadamente 0,4 mM durante 30 min à temperatura ambiente sob agitação. Em seguida, o sistema *C. albicans*/ConA/manopiranosídeo foi centrifugado e ressuspense em solução salina e incubado com conjugados PQs-D-GN seguindo o

mesmo procedimento e proporções utilizadas no ensaio sem inibição. Por fim, ambos os sistemas foram centrifugados (774,8 xg, 30 s), ressuspensos em solução salina e analisados em um citômetro de fluxo BD Accuri C6 (*Becton Dickinson*) a 488 nm de excitação e a emissão foi coletada por um filtro *band-pass* (FL4 - 675/25 nm). Para cada sistema, foram coletadas 20.000 células.

#### **4.6 Marcação de células HeLa a partir de Citometria de Fluxo**

As células imortalizadas de Adenocarcinoma Humano (HeLa) foram cultivadas em meio de cultura DMEM (*Dulbecco's modified Eagle's medium, Sigma-Aldrich*), o qual apresenta alta quantidade de glicose, suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS, *Gibco*), 100 mg/mL de estreptomicina e 100 Unidades/mL de penicilina (*Gibco*). As células foram mantidas na estufa a 37 °C, em atmosfera umidificada e com 5% de CO<sub>2</sub>.

Os PQs-D-GN inicialmente tiveram os grupamentos carboxílicos bloqueados com TRIS Base a 0,1 mM na proporção 1:20 (Tris/conjugado, v/v), por 2 h, sob agitação, visando reduzir marcações inespecíficas. Após isso, os conjugados foram incubados com as HeLa na proporção 1:2 (PQs-D-GN: PBS, v/v), por 60 min. Após esse período, as células foram lavadas com PBS 1x, e logo após, foi adicionada a tripsina (0,25%), por aproximadamente 1 – 2 min, para que as células desprendessem da placa e possibilitasse a análise por citometria de fluxo, a qual requer as células em suspensão. Em seguida, foi adicionado meio DMEM suplementado com FBS (para neutralizar a tripsina) e as células em suspensão foram adicionadas em microtubos (ependorfs), lavadas por centrifugação a 400 xg (*MiniSpin*) por 2 min, sendo retirado todo o sobrenadante e adicionado PBS. Por fim, foi realizada a análise por citometria de fluxo (*Accuri - C6 Becton Dickinson*) para avaliar quantitativamente o potencial dos conjugados PQs-D-GN em marcar as células HeLa. Para isso, foram adquiridas 20.000 células e a fluorescência foi excitada em 488 nm e captada no filtro (FL4 - 675/25 nm).

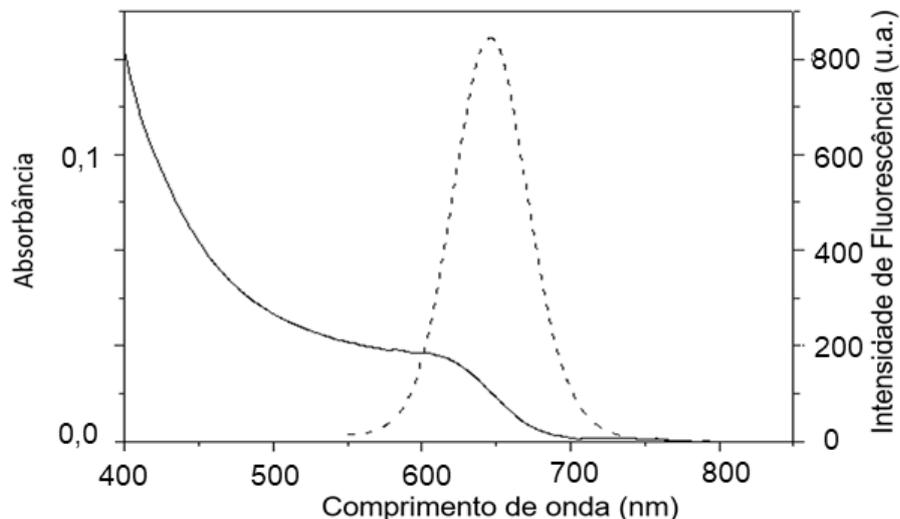
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterizações ópticas dos PQs e PQs-D-GN

A suspensão coloidal obtida de PQs de CdTe apresentou-se estável, ou seja, bastante fluorescente e com ausência de precipitação. A Figura 9 mostra o padrão de absorção e emissão da suspensão de CdTe funcionalizados/estabilizados com o MSA (CdTe-MSA), tendo o primeiro máximo de absorção em aproximadamente 610 nm, e o comprimento de onda máximo de emissão em 645 nm, ou seja, na região do vermelho.

De acordo com o espectro de absorção, o diâmetro médio das partículas foi cerca de 3,8 nm, tendo uma concentração em torno de 1,4  $\mu\text{M}$  e correspondendo a aproximadamente  $4,3 \times 10^{14}$  partículas/mL (DAGTEPE et al., 2007; TENÓRIO et al., 2015; YU et al., 2003). Quanto à emissão, os PQs apresentaram uma largura à meia altura (FWHM) de aproximadamente 59,5 nm, refletindo poucos defeitos na superfície. Portanto, a caracterização óptica indicou que os PQs possuíam tamanho nanométrico e boa intensidade de fluorescência, com perfil típico para esses nanocristais.

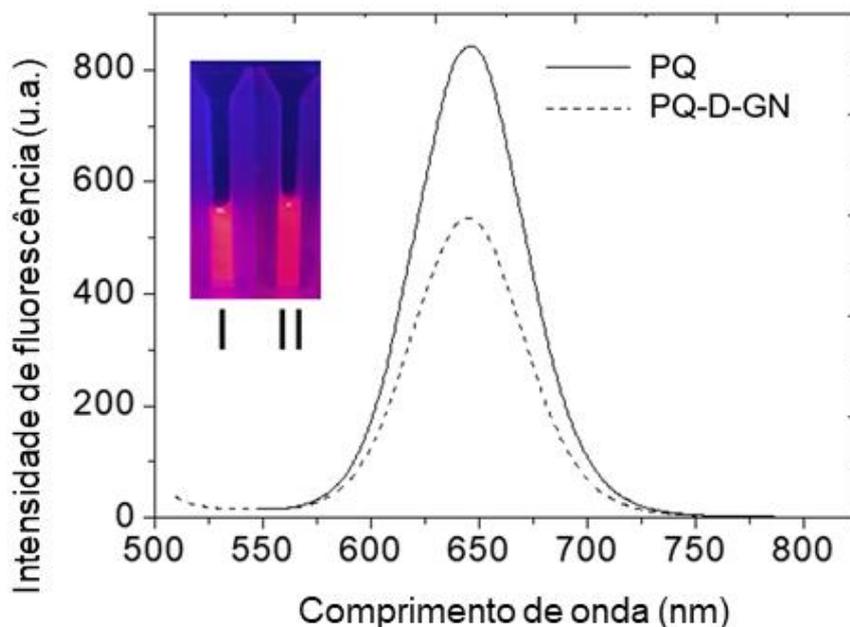
**Figura 9** – Espectro de absorção (linha contínua) e emissão dos PQs (linha tracejada). A emissão foi obtida utilizando comprimento de onda de excitação ( $\lambda_{\text{exc}}$ ) em 488 nm. (u.a. = unidades arbitrárias).



Fonte: O autor (2022).

Enquanto na análise da emissão, o nanossistemas PQs-D-GN, apresentou uma diminuição da intensidade de fluorescência inferior a 40% em relação aos PQs (Figura 10), isso sugere que ocorram modificações na superfície dos PQs, como é o caso do deslocamento do espectro, resultando numa mudança na cor devido à interação com agentes de acoplamento e biomolécula D-GN (CABRAL FILHO et al., 2016), entretanto, ainda é possível observar boa intensidade de fluorescência com emissão no vermelho em 650 nm, sendo estas características compatíveis com os equipamentos comerciais de análise, como a citometria de fluxo e a microscopia. A realização dos testes de caracterização e conjugação devem ser realizados para confirmar se de fato ocorreu à ligação entre o PQ e a D-GN.

**Figura 10** – Espectros de emissão do PQs-D-GN (Linha tracejada) e PQs-Controle (Linha preta). A emissão foi realizada com  $\lambda_{exc} = 488$  nm. Na figura da esquerda (I) pode ser observada a fluorescência dos PQs sozinhos, enquanto na direita (II) se observa a fluorescência do conjugado PQs-D-GN, que, mesmo com diminuição de aproximadamente 40% na sua intensidade, ainda demonstra alta fluorescência.



Fonte: O autor (2022).

## 5.2 Confirmação da bioconjugação dos PQs-D-GN por EFM

Para estudar a eficiência da conjugação entre PQs e D-GN, o ensaio fluorescente em microplaca adaptado tem sido bastante explorado para estudos de

bioconjugação (CABRAL FILHO et al., 2018; CARVALHO et al., 2014). Através do sinal fluorescente obtido no EFM adaptado foi possível calcular o aumento da FR (%) do conjugado (PQs-D-GN) em relação às amostras controle (D-GN e PQs). Os resultados indicam que houve conjugação eficiente, como mostra a Tabela 1.

**Tabela 1** – Média do sinal e a porcentagem de FR das amostras controle e testes através do EFM. (u.a. = unidades arbitrárias).

<b>Sistemas</b>	<b>Média do sinal (u. a.)</b>	<b>FR (%)</b>
<b>Manana</b> (controle 1)	253	-
<b>Manana + ConA</b> (controle 2)	169	-
<b>Manana + ConA + Manopiranosídeo</b> (controle 3)	192	-
<b>Manana + ConA + PQs-D-GN</b> (Teste)	<b>3.286</b>	<b>1.455</b>
<b>Manana + ConA + Manopiranosídeo + PQs-D-GN</b> (Saturado)	<b>1.936</b>	<b>845</b>

Fonte: O autor (2022).

Neste ensaio, as triplicatas dos controles 1, 2 e 3 (apenas PQs) apresentaram uma fluorescência basal com sinal médio de 253, 169 e 192 unidades arbitrárias (u.a.), respectivamente. O teste contendo o conjugado PQs-D-GN mostrou sinal médio das triplicatas de 3.286 u. a. e a FR de 1.455%. Enquanto os poços saturados com manopiranosídeo apresentaram redução do sinal médio das triplicatas para 1.936 u. a. e conseqüentemente da FR para 845%. A redução do sinal indica que houve ocupação de alguns sítios da ConA pelo manopiranosídeo, interferindo na interação do conjugado PQs-D-GN com a ConA, demonstrando assim a especificidade dos nanossistemas. Uma vez que o sistema apresentou fluorescência relativa maior que 100% pré-determinado por CARVALHO *et al.* (2014) e mantiveram-se estáveis por até três meses, essa pode ser definida como nanossonda eficiente para os estudos futuros com as células cancerígenas por fluorescência (CARVALHO, *et al.*, 2014).

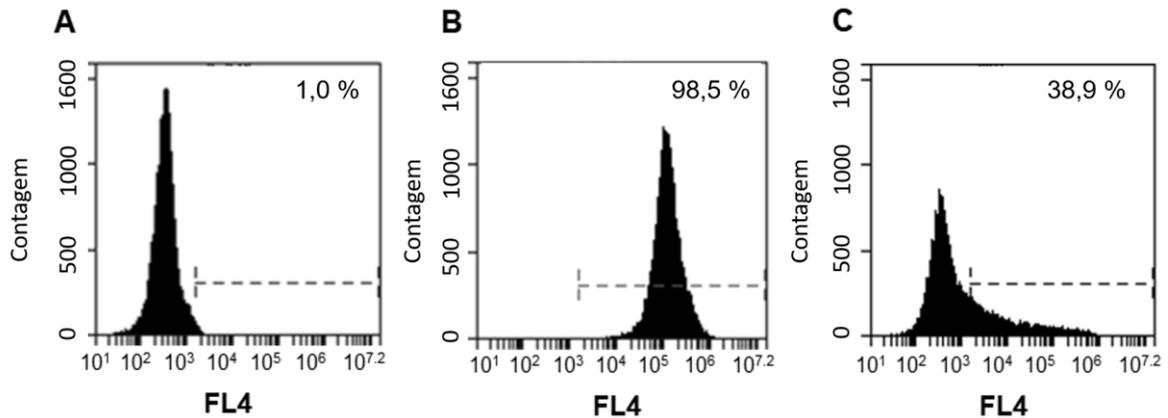
Vale destacar ainda que, no poço saturado, a alta FR pode ter sido decorrente do pouco tempo de incubação com o manopiranosídeo e pelos processos de lavagem, porém, mesmo assim o valor de fluorescência diminuiu aproximadamente 50% em relação ao poço teste, indicando a especificidade do conjugado, como mencionado anteriormente. A metodologia adaptada do ensaio de fluorescência em microplaca foi uma ferramenta eficiente para avaliar a conjugação dos PQs com a D-GN. Uma vez que o conjugado se mostrou promissor, específico e com uma estabilidade por pelo menos quatro meses, partiremos para os ensaios de marcação dos sistemas biológicos.

### **5.3 Confirmação da bioconjugação através da marcação de *Candida albicans* sensibilizadas com concanavalina A**

Os conjugados PQs-D-GN mostraram uma marcação média de aproximadamente 98,5% da levedura (*C. albicans*/ConA), conforme mostrado no perfil de histograma homogêneo na Figura 11.

A partir da inibição prévia dos sítios da ConA com manopiranosídeo, a marcação foi reduzida para mais da metade, apresentando um valor menor que 40% das leveduras marcadas. Como esperado, a redução na detecção quantitativa observada pela citometria de fluxo reflete que o manopiranosídeo diminuiu a disponibilidade de locais de lectina ConA, devido à sua interação específica com os sítios-ativos (BIELY; KRATKY; BAUER, 1976; TENÓRIO et al., 2015). Assim, quando o conjugado é incubado com ConA, ocorre uma redução na possibilidade de interação, pelos sítios já estarem ocupados, e uma redução quantitativa na sua marcação. Essa inibição contribui para comprovar que a interação de PQs-D-GN com *C. albicans*/ConA é específica e que a metodologia é sensível a esses tipos de ensaios baseados na detecção de sinais de fluorescência.

**Figura 11** – Histogramas representativos da marcação de *C. albicans* revestida com a lectina ConA (*C. albicans*/ConA) e incubada com PQs-D-GN. Em: (A) Controle, apenas *C. albicans*/ConA, (B) Teste, *C. albicans*/ConA/PQs-D-GN e (C) Inibido, *C. albicans*/ConA/Manopiranosídeo/PQs-D-GN.



Fonte: O autor (2022).

#### 5.4 Marcação de células HeLa a partir da Citometria de fluxo

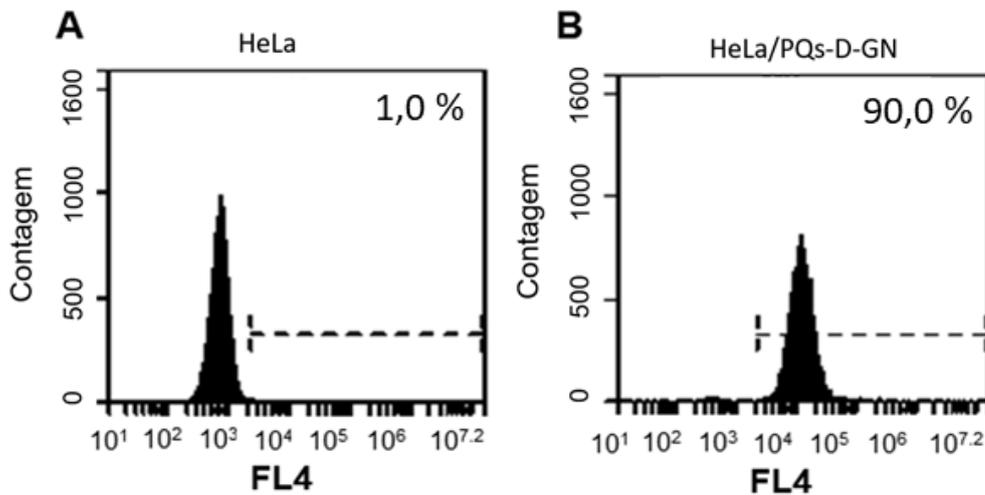
De acordo com os resultados da marcação das células HeLa pelos PQs-D-GN foi possível observar que mais de 90% das células foram marcadas demonstrando um alto grau de internalização da glicose por seus receptores nesse tipo celular utilizado como modelo.

Já é conhecido na literatura que a captação aumentada da glicose em inúmeros tipos de tumores se deve pelo aumento na expressão dos transportadores de glicose (CHAN et al., 2011; SIEBER-FRANK et al., 2021). Kraus e colaboradores (2018) avaliaram a partir de ensaios de captação de glicose que o inibidor dos transportadores de glicose WZB-117 causou uma inibição (> 90%) na captação de glicose das células HeLa. Como forma de controle, utilizou-se o radiofármaco Fluorodesoxiglicose (18F-FDG), que é um agente já utilizado em exames de imagem para diagnóstico de localização de tumores. A avaliação da desidrogenase láctica extracelular demonstrou que a redução na captação do 18F-FDG estava relacionada com o bloqueio dos transportadores do tipo GLUT (KRAUS et al., 2018).

A Figura 12 demonstra a diferença na análise quando as células foram analisadas sozinhas (Figura 12A), e quando as células foram incubadas previamente com os conjugados (Figura 12B). A marcação das células observada pela citometria de fluxo demonstrou que os PQs-D-GN apresentam potencial para serem utilizados

como ferramenta para o estudo da captação de derivados de glicose pelas células de câncer. Experimentos futuros devem ser realizados no sentido de entender como e por qual transportador acontece essa captação de glicose nesse tipo celular e entender o padrão de captação de acordo com o tipo e grau de malignidade da linhagem das células de câncer estudada.

**Figura 12** – Histograma de Células HeLa antes (A) e após a incubação com o conjugado PQs-D-GN (B).



Fonte: O autor (2022).

## 6 CONCLUSÃO

Os PQs sintetizados isolados mostraram propriedades ópticas e fluorescentes características desses materiais. O EFM adaptado, através do uso de manana e da lectina concanavalina A para confirmar a eficiência da conjugação, mostrou-se bastante eficiente. O ensaio a partir da citometria de fluxo mostrou-se potencial para estudar a conjugação da D-glicosamina com sondas fluorescentes. Isso porque a marcação das leveduras de *C. albicans* utilizando a da ConA confirmou a eficiência da marcação pelos PQs-D-GN, além de demonstrar a especificidade após inibição com o manopiranosídeo.

Além disso, o conjugado PQs-D-GN mostrou-se bastante promissor para aplicações biológicas como observado pelas marcações de células HeLa. Por fim, esses conjugados podem ser utilizados para o entendimento do metabolismo e captação de derivados da glicose, bem como para melhorar o entendimento da biologia do câncer. Vale ressaltar, que essas aplicações podem ser estendidas a outras linhagens celulares.

## REFERÊNCIAS

- BAGGETTO, L. G. Deviant energetic metabolism of glycolytic cancer cells. **Biochimie**, [S. l.], v. 74, n. 11, p. 959–974, 1992. DOI: 10.1016/0300-9084(92)90016-8.
- BARTKOVA, Jirina et al. Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints. **Nature**, [S. l.], v. 444, n. 7119, p. 633–637, 2006. DOI: 10.1038/nature05268.
- BIELY, Peter; KRATKY, Zdenek; BAUER, Stefan. Interaction of Concanavalin A with External Mannan-Proteins of *Saccharomyces cerevisiae*. Glycoprotein Nature of beta-Glucanases. **European Journal of Biochemistry**, [S. l.], v. 70, n. 1, p. 75–81, 1976. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1976.tb10957.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1432-1033.1976.tb10957.x>.
- BRUS, L. E. Electron-electron and electron-hole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state. **The Journal of Chemical Physics**, [S. l.], v. 80, n. 9, p. 4403–4409, 1984. DOI: 10.1063/1.447218.
- CABRAL FILHO, Paulo E. et al. CdTe quantum dots as fluorescent probes to study transferrin receptors in glioblastoma cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, [S. l.], v. 1860, n. 1, p. 28–35, 2016. DOI: 10.1016/j.bbagen.2015.09.021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304416515002639>.
- CABRAL FILHO, Paulo E.; CABRERA, Mariana P.; CARDOSO, Ana L. C.; SANTANA, Otacilio A.; GERALDES, Carlos F. G. C.; SANTOS, Beate S.; PEDROSO DE LIMA, Maria C.; PEREIRA, Giovannia A. L.; FONTES, Adriana. Multimodal highly fluorescent-magnetic nanoplatfom to target transferrin receptors in cancer cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, [S. l.], v. 1862, n. 12, p. 2788–2796, 2018. DOI: 10.1016/j.bbagen.2018.08.014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304416518302800>.
- CABRAL FILHO, Paulo; PEREIRA, Maria; FERNANDES, Heloise; DE THOMAZ, Andre; LENZ CESAR, Carlos; SANTOS, Beate; BARJAS-CASTRO, Maria; FONTES, Adriana. Blood group antigen studies using CdTe quantum dots and flow cytometry. **International Journal of Nanomedicine**, [S. l.], p. 4393, 2015. DOI: 10.2147/IJN.S84551. Disponível em: <http://www.dovepress.com/blood-group-antigen-studies-using-cdte-quantum-dots-and-flow-cytometry-peer-reviewed-article-IJN>.
- CARVALHO, Kilmara H. G.; BRASI, Aluizio G.; FILHO, Paulo E. Cabral; TENORIO, Denise P. L. A.; DE SIQUEIRA, Ana C. A.; LEITE, Elisa S.; FONTES, Adriana; SANTOS, Beate S. Fluorescence Plate Reader for Quantum Dot-Protein Bioconjugation Analysis. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, [S. l.], v. 14, n. 5, p. 3320–3327, 2014. DOI: 10.1166/jnn.2014.8721. Disponível em: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=1533-4880&volume=14&issue=5&spage=3320>.
- CESAR, Carlos L. Quantum Dots as Biophotonics Tools. *In*: FONTES, Adriana; SANTOS, Beate Saegesser (org.). **Quantum Dots: Applications in Biology**. Nova Iorque: Humana Press, 2014. v. 1199p. 3–9. DOI: 10.1007/978-1-4939-1280-3.

CHAN, Denise A. et al. Targeting GLUT1 and the Warburg Effect in Renal Cell Carcinoma by Chemical Synthetic Lethality. **Science Translational Medicine**, [S. l.], v. 3, n. 94, 2011. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002394. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.3002394>.

CHATTERJEE, Anindya; MANDAL, Dipak K. Quaternary association and reactivation of dimeric concanavalin A. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 35, n. 1–2, p. 103–109, 2005. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2005.01.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813005000024>.

CHATURVEDI, Vivek K.; SINGH, Anshuman; SINGH, Vinay K.; SINGH, Mohan P. Cancer Nanotechnology: A New Revolution for Cancer Diagnosis and Therapy. **Current Drug Metabolism**, [S. l.], v. 20, n. 6, p. 416–429, 2019. DOI: 10.2174/1389200219666180918111528. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/165536/article>.

CHENG, Zhen; LEVI, Jelena; XIONG, Zhengming; GHEYSENS, Olivier; KEREN, Shay; CHEN, Xiaoyuan; GAMBHIR, Sanjiv Sam. Near-Infrared Fluorescent Deoxyglucose Analogue for Tumor Optical Imaging in Cell Culture and Living Mice. **Bioconjugate Chemistry**, [S. l.], v. 17, n. 3, p. 662–669, 2006. DOI: 10.1021/bc050345c. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bc050345c>.

CHERNYAK, B.V., DUKHOVIC, V.P., KHODJAEV, E. Y. Regulation of ATP hydrolysis in hepatoma 22a mitochondria. **Arch. Biochem. Biophys.**, [S. l.], v. 286, p. 604–609, 1991.

CRABTREE, Herbert Grace. Observations on the carbohydrate metabolism of tumours. **Biochemical Journal**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 536–545, 1929. DOI: 10.1042/bj0230536. Disponível em: <https://portlandpress.com/biochemj/article/23/3/536/3678/Observations-on-the-carbohydrate-metabolism-of>.

DAGTEPE, Pinar; CHIKAN, Viktor; JASINSKI, Jacek; LEPPERT, Valerie J. Quantized Growth of CdTe Quantum Dots; Observation of Magic-Sized CdTe Quantum Dots. **The Journal of Physical Chemistry C**, [S. l.], v. 111, n. 41, p. 14977–14983, 2007. DOI: 10.1021/jp072516b. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jp072516b>.

DANHIER, Fabienne; ANSORENA, Eduardo; SILVA, Joana M.; COCO, Régis; LE BRETON, Aude; PRÉAT, Véronique. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 161, n. 2, p. 505–522, 2012. DOI: 10.1016/j.jconrel.2012.01.043. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365912000752>.

DIAZ-RUIZ, Rodrigo; RIGOLET, Michel; DEVIN, Anne. The Warburg and Crabtree effects: On the origin of cancer cell energy metabolism and of yeast glucose repression. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, [S. l.], v. 1807, n. 6, p. 568–576, 2011. DOI: 10.1016/j.bbabbio.2010.08.010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0005272810006869>.

EL-BOUBBOU, Kheireddine; GRUDEN, Cyndee; HUANG, Xuefei. Magnetic Glyco-nanoparticles: A Unique Tool for Rapid Pathogen Detection, Decontamination, and Strain Differentiation. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 129, n. 44, p. 13392–13393, 2007. DOI: 10.1021/ja076086e. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja076086e>.

ESTEVE-TURRILLAS, Francesc A.; ABAD-FUENTES, Antonio. Applications of quantum dots as probes in immunosensing of small-sized analytes. **Biosensors and Bioelectronics**, [S. l.], v. 41, n. 1, p. 12–29, 2013. DOI: 10.1016/j.bios.2012.09.025.

ETRYCH, Tomáš; LUCAS, Henrike; JANOUŠKOVÁ, Olga; CHYTIL, Petr; MUELLER, Thomas; MÄDER, Karsten. Fluorescence optical imaging in anticancer drug delivery. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 226, p. 168–181, 2016. DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.02.022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016836591630075X>.

FADAKA, Adewale; AJIBOYE, Basiru; OJO, Oluwafemi; ADEWALE, Olusola; OLAYIDE, Israel; EMUOWHOCHERE, Rosemary. Biology of glucose metabolization in cancer cells. **Journal of Oncological Sciences**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 45–51, 2017. DOI: 10.1016/j.jons.2017.06.002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jons.2017.06.002>.

FONTES, Adriana; CABRAL FILHO, Paulo; PEREIRA, Maria; FERNANDES, Heloise; DE THOMAZ, Andre; LENZ CESAR, Carlos; SANTOS, Beate; BARJAS-CASTRO, Maria. Blood group antigen studies using CdTe quantum dots and flow cytometry. **International Journal of Nanomedicine**, [S. l.], p. 4393, 2015. DOI: 10.2147/IJN.S84551. Disponível em: <http://www.dovepress.com/blood-group-antigen-studies-using-cdte-quantum-dots-and-flow-cytometry-peer-reviewed-article-IJN>.

GAMBHIR, Sanjiv Sam. Molecular imaging of cancer with positron emission tomography. **Nature Reviews Cancer**, [S. l.], v. 2, n. 9, p. 683–693, 2002. DOI: 10.1038/nrc882. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrc882>.

H. R, Chandan; SCHIFFMAN, Jessica D.; BALAKRISHNA, R. Geetha. Quantum dots as fluorescent probes: Synthesis, surface chemistry, energy transfer mechanisms, and applications. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [S. l.], v. 258, p. 1191–1214, 2018. DOI: 10.1016/j.snb.2017.11.189. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400517323201>.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, [S. l.], v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867411001279>.

INCA. **Estimativa 2020: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2020.

ISIDORO, Antonio; MARTÍNEZ, Marta; FERNÁNDEZ, Pedro L.; ORTEGA, Álvaro D.; SANTAMARÍA, Gema; CHAMORRO, Margarita; REED, John C.; CUEZVA, José M. Alteration of the bioenergetic phenotype of mitochondria is a hallmark of breast, gastric, lung and oesophageal cancer. **Biochemical Journal**, [S. l.], v. 378, n. 1, p. 17–20, 2004. DOI: 10.1042/BJ20031541.

KAIRDOLF, Brad A.; SMITH, Andrew M.; STOKES, Todd H.; WANG, May D.; YOUNG, Andrew N.; NIE, Shuming. Semiconductor Quantum Dots for Bioimaging and Biodiagnostic Applications. **Annual Review of Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 143–162, 2013. DOI: 10.1146/annurev-anchem-060908-155136.

KHALEDI-NASAB, Ali; SABAEIAN, Mohammad; SAHRAI, Mostafa; FALLAHI, Vahid. Kerr nonlinearity due to intersubband transitions in a three-level InAs/GaAs quantum dot: the impact of a wetting layer on dispersion curves. **Journal of Optics**, [S. l.], v.

16, n. 5, p. 055004, 2014. DOI: 10.1088/2040-8978/16/5/055004. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/2040-8978/16/5/055004>.

KOROTCOV, Alexandru V.; YE, Yunpeng; CHEN, Yue; ZHANG, Fayun; HUANG, Sophia; LIN, Stephen; SRIDHAR, Rajagopalan; ACHILEFU, Samuel; WANG, Paul C. Glucosamine-Linked Near-Infrared Fluorescent Probes for Imaging of Solid Tumor Xenografts. **Molecular Imaging and Biology**, [S. l.], v. 14, n. 4, p. 443–451, 2012. DOI: 10.1007/s11307-011-0520-4. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11307-011-0520-4>.

KRAUS, Dominik; RECKENBEIL, Jan; VEIT, Nadine; KUERPIG, Stefan; MEISENHEIMER, Michael; BEIER, Imke; STARK, Helmut; WINTER, Jochen; PROBSTMEIER, Rainer. Targeting glucose transport and the NAD pathway in tumor cells with STF-31: a re-evaluation. **Cellular Oncology**, [S. l.], v. 41, n. 5, p. 485–494, 2018. DOI: 10.1007/s13402-018-0385-5. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s13402-018-0385-5>.

KRISHNA, Venkatramana D.; WU, Kai; SU, Diqing; CHEERAN, Maxim C. J.; WANG, Jian Ping; PEREZ, Andres. Nanotechnology: Review of concepts and potential application of sensing platforms in food safety. **Food Microbiology**, [S. l.], v. 75, p. 47–54, 2018. DOI: 10.1016/j.fm.2018.01.025.

KUMAR, Neeraj; SINHA RAY, Suprakas. Synthesis and functionalization of nanomaterials. In: RAY, Suprakas Sinha (org.). **Processing of Polymer-based Nanocomposites**. Cham: Springer International Publishing, 2018. v. 277p. 15–55. DOI: 10.1007/978-3-319-97779-9\_2.

KWON, Taeyun; GUNASEKARAN, Sundaram; EOM, Kilho. Atomic force microscopy-based cancer diagnosis by detecting cancer-specific biomolecules and cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, [S. l.], v. 1871, n. 2, p. 367–378, 2019. DOI: 10.1016/j.bbcan.2019.03.002. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304419X19300228>.

LAU, B. W.; CHAN, S. H. Efflux of adenine nucleotides in mitochondria from rat tumor cells of varying growth rates. **Cancer research**, [S. l.], v. 44, n. 10, p. 4458–64, 1984. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6467206>.

LEITE, Bruno. O ano internacional da tabela periódica e o ensino da química: das cartas ao digital. **Química Nova**, [S. l.], v. 42, n. 6, p. 702–710, 2019. DOI: 10.21577/0100-4042.20170359.

MARTINS, Manuel A.; TRINDADE, Tito. Os Nanomateriais e a Descoberta de Novos Mundos na Bancada do Químico. **Química Nova**, [S. l.], v. 35, n. 7, p. 1434–1446, 2012.

MICHALET, Xavier; BENTOLILA, Laurent A.; WEISS, Shimon. Molecular Imaging: Physics and Bioapplications of Quantum Dots. In: WOLBARST, A. B.; MMOSSMAN, K. L.; HENDEE, W. (org.). **Advances In Medical Physics**. Madison: Medical Physics Publishing, 2008. p. 111–127.

MONTEIRO, Camila A. P. et al. Evaluating internalization and recycling of folate receptors in breast cancer cells using quantum dots. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [S. l.], v. 209, p. 111918, 2020. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2020.111918. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1011134420303687>.

MONTEIRO, Camila A. P.; SILVA, Ryan C.; PEREIRA, Goreti; OLIVEIRA, Aline D. P. R.; SANTOS, Beate S.; PEREIRA, Giovannia A. L.; CABRAL FILHO, Paulo E.; FONTES, Adriana. QUANTUM DOTS CONJUGADOS AO ÁCIDO FÓLICO PARA MARCAÇÃO DE RECEPTORES EM CÉLULAS CANCERÍGENAS. *In: BLUCHER BIOPHYSICS PROCEEDINGS 2017*, São Paulo. **Anais** [...]. São Paulo: Editora Blucher, 2017. p. 42–45. DOI: 10.5151/biofisica2017-014. Disponível em: <http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/25432>.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Lehninger - Principles of Biochemistry**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2001. DOI: 10.1007/978-3-662-08289-8. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-08289-8>.

PAVLOVA, Natalya N.; THOMPSON, Craig B. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. **Cell Metabolism**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 27–47, 2016. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.12.006. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S155041311500621X>.

PENG, Z. Adam; PENG, Xiaogang. Formation of High-Quality CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals Using CdO as Precursor. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 123, n. 1, p. 183–184, 2001. DOI: 10.1021/ja003633m. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja003633m>.

PEREIRA, Goreti; MONTEIRO, Camila; ALBUQUERQUE, Gabriela; PEREIRA, Maria; CABRERA, Mariana; CABRAL, Paulo; PEREIRA, Giovannia; FONTES, Adriana; SANTOS, Beate. (Bio)conjugation Strategies Applied to Fluorescent Semiconductor Quantum Dots. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 00, n. 00, p. 1–25, 2019. a. DOI: 10.21577/0103-5053.20190163.

PEREIRA, Goreti; MONTEIRO, Camila; ALBUQUERQUE, Gabriela; PEREIRA, Maria; CABRERA, Mariana; CABRAL, Paulo; PEREIRA, Giovannia; FONTES, Adriana; SANTOS, Beate. (Bio)conjugation Strategies Applied to Fluorescent Semiconductor Quantum Dots. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], 2019. b. DOI: 10.21577/0103-5053.20190163. Disponível em: [http://jbcs.sbq.org.br/audiencia\\_pdf.asp?aid2=5667&nomeArquivo=2019-0142RV\\_BrazWoman.pdf](http://jbcs.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=5667&nomeArquivo=2019-0142RV_BrazWoman.pdf).

PEREIRA, M. G. C. et al. **Nanocolloids: A Meeting Point for Scientists and Technologists**. 1. ed. ed. Nova Iorque: Elsevier, 2016.

RANJBAR-NAVAZI, Zahra; ESKANDANI, Morteza; JOHARI-AHAR, Mohammad; NEMATI, Ali; AKBARI, Hamid; DAVARAN, Soudabeh; OMIDI, Yadollah. Doxorubicin-conjugated D-glucosamine- and folate- bi-functionalised InP/ZnS quantum dots for cancer cells imaging and therapy. **Journal of Drug Targeting**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 267–277, 2018. DOI: 10.1080/1061186X.2017.1365876. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1061186X.2017.1365876>.

RENGERS, C.; GAPONIK, N.; EYCHMÜLLER, A. **Biological Responses to Nanoscale Particles**. [s.l.] : Springer International Publishing, 2019.

RENGERS, Christin; GAPONIK, Nikolai; EYCHMÜLLER, Alexander. Quantum Dots and Quantum Rods. *In: GEHR, Peter; ZELLNER, Reinhard (org.)*. **Biological Responses to Nanoscale Particles**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 29–51. DOI: 10.1007/978-3-030-12461-8.

SANTOS, Beate S.; FARIAS, Patrícia M. A.; FONTES, Adriana. Semiconductor Quantum Dots for Biological Applications. *In: MOHAMED HENINI (org.)*. **Handbook**

**of Self Assembled Semiconductor Nanostructures for Novel Devices in Photonics and Electronics.** Nova Iorque: Elsevier Science, 2008. p. 773–798. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-046325-4.X0001-1>.

SCHWARTZ, Laurent; SUPURAN, Claudiu; ALFAROUK, Khalid. The Warburg Effect and the Hallmarks of Cancer. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 17, n. 2, p. 164–170, 2017. DOI: 10.2174/1871520616666161031143301. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1871-5206&volume=17&issue=2&page=164>.

SIEBER-FRANK, Julia et al. Treatment resistance analysis reveals GLUT-1-mediated glucose uptake as a major target of synthetic rocaglates in cancer cells. **Cancer Medicine**, [S. l.], 2021. DOI: 10.1002/cam4.4212. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cam4.4212>.

SILVA, Fernanda Oliveira; DE SOUZA VIOL, Livia Cristina; FERREIRA, Diego Lourençoni; ALVES, José Luiz Aarestrup; SCHIAVON, Marco Antônio. O estado da arte da síntese de semicondutores nanocristalinos coloidais. **Química Nova**, [S. l.], v. 33, n. 9, p. 1933–1939, 2010. DOI: 10.1590/S0100-40422010000900021.

SIMONNET, Hélène; ALAZARD, Nathalie; PFEIFFER, Kathy; GALLOU, Catherine; BÉROUD, Christophe; DEMONT, Jocelyne; BOUVIER, Raymonde; SCHÄGGER, Hermann; GODINOT, Catherine. Low mitochondrial respiratory chain content correlates with tumor aggressiveness in renal cell carcinoma. **Carcinogenesis**, [S. l.], v. 23, n. 5, p. 759–68, 2002. DOI: 10.1093/carcin/23.5.759. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12016148>.

SLYSHENKOV, V. S.; RAKOWSKA, M.; WOJTCZAK, L. Protective effect of pantothenic acid and related compounds against permeabilization of Ehrlich ascites tumour cells by digitonin. **Acta biochimica Polonica**, [S. l.], v. 43, n. 2, p. 407–10, 1996. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8862188>.

SMITH, Andrew M.; GAO, Xiaohu; NIE, Shuming. Quantum Dot Nanocrystals for In Vivo Molecular and Cellular Imaging. **Photochemistry and Photobiology**, [S. l.], v. 80, n. 3, p. 377, 2004. DOI: 10.1562/2004-06-21-ir-209.1.

TENÓRIO, Denise P. L. A. et al. CdTe quantum dots conjugated to concanavalin A as potential fluorescent molecular probes for saccharides detection in *Candida albicans*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [S. l.], v. 142, p. 237–243, 2015. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2014.11.010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1011134414003649>.

TRAN, Stephanie; DEGIOVANNI, Peter-Joseph; PIEL, Brandon; RAI, Prakash. Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. **Clinical and Translational Medicine**, [S. l.], v. 6, n. 1, 2017. DOI: 10.1186/s40169-017-0175-0. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1186/s40169-017-0175-0>.

VAUPEL, Peter; MULTHOFF, Gabriele. Revisiting the Warburg effect: historical dogma versus current understanding. **The Journal of Physiology**, [S. l.], v. 599, n. 6, p. 1745–1757, 2021. DOI: 10.1113/JP278810. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1113/JP278810>.

VAUPEL, Peter; SCHMIDBERGER, Heinz; MAYER, Arnulf. The Warburg effect: essential part of metabolic reprogramming and central contributor to cancer progression. **International Journal of Radiation Biology**, [S. l.], v. 95, n. 7, p. 912–

919, 2019. DOI: 10.1080/09553002.2019.1589653. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09553002.2019.1589653>.

VOLKOV, Yuri. Quantum dots in nanomedicine: recent trends, advances and unresolved issues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. l.], v. 468, n. 3, p. 419–427, 2015. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.07.039. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X15302709>.

WARBURG, O. On the Origin of Cancer Cells. **Science**, [S. l.], v. 123, n. 3191, p. 309–314, 1956. DOI: 10.1126/science.123.3191.309. Disponível em: <https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.123.3191.309>.

WARBURG, Otto. **Über den Stoffwechsel der Tumoren**. Berlin: Springer, 1926.

YANG, X.; BORG, L. A.; ERIKSSON, U. J. Altered metabolism and superoxide generation in neural tissue of rat embryos exposed to high glucose. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, [S. l.], v. 272, n. 1, p. E173–E180, 1997. DOI: 10.1152/ajpendo.1997.272.1.E173. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.1997.272.1.E173>.

YU, W. William; QU, Lianhua; GUO, Wenzhuo; PENG, Xiaogang. Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. **Chemistry of Materials**, [S. l.], v. 15, n. 14, p. 2854–2860, 2003. DOI: 10.1021/cm034081k. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cm034081k>.