

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
FARMÁCIA

LARISSA IOLANDA MOREIRA DE ALMEIDA

**POTENCIAL USO TERANÓSTICO DE PONTOS QUÂNTICOS
ULTRAPEQUENOS DE CdSe/CdS: INVESTIGANDO A
BIOCOMPATIBILIDADE EM *Drosophila melanogaster***

Maceió - AL

2024

LARISSA IOLANDA MOREIRA DE ALMEIDA

**POTENCIAL USO TERANÓSTICO DE PONTOS QUÂNTICOS
ULTRAPEQUENOS DE CdSe/CdS: INVESTIGANDO A
BIOCOMPATIBILIDADE EM *Drosophila melanogaster***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia do Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Lucas Anhezini de Araujo

Maceió - AL

2024

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

A447p Almeida, Larissa Iolanda Moreira de.
Potencial uso teranóstico de pontos quânticos ultrapequenos de
CdSe/cds : investigando a biocompatibilidade em *Drosophila melanogaster* /
Larissa Iolanda Moreira de Almeida. – 2024.
50 f. : il. color.

Orientador: Lucas Anhezini de Araujo.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) –
Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas.
Maceió, 2024.

Bibliografia: f. 43-50.

1. Nanomedicina teranóstica. 2. Pontos quânticos. 3.
Biocompatibilidade. 4. *Drosophila melanogaster*. I. Título.

CDU: 620.5 : 61

LARISSA IOLANDA MOREIRA DE ALMEIDA

**POTENCIAL USO TERANÓSTICO DE PONTOS QUÂNTICOS
ULTRAPEQUENOS DE CdSe/CdS: INVESTIGANDO A
BIOCOMPATIBILIDADE EM *Drosophila melanogaster***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Farmácia da Universidade Federal de
Alagoas (UFAL) como requisito parcial para a
obtenção do título de bacharel em Farmácia,
aprovado em 12 de março de 2024.

Banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Lucas Anhezini de Araujo
Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Examinadora: Prof^ª. Dr^ª. Anielle Christine Almeida Silva
Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Examinadora: Prof^ª. Dr^ª. Jerusa Maria de Oliveira
Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Maceió - AL

2024

À minha querida avó Marlene, cujo apoio incansável e incentivo foram os alicerces fundamentais ao longo da minha jornada acadêmica. Seu constante estímulo aos estudos, confiança e o carinho dedicado serão eternamente lembrados e valorizados. Este trabalho é dedicado a você, fonte inesgotável da minha determinação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente aos meus pais, Adagmar e Luís Antônio, e à minha avó Marlene, por terem moldado quem sou hoje. Seus investimentos em minha formação acadêmica, além do apoio e incentivo constantes ao longo de todas as etapas, foram fundamentais para meu crescimento pessoal e profissional,

Ao meu irmão, Anthony, por ser meu melhor amigo desde sempre, além de ser um dos motivos da minha dedicação, pois faço o meu melhor para ser um exemplo a seguir, não apenas por ser sua irmã, mas pelo amor incondicional que sinto por você.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Lucas Anhezini, gostaria de expressar minha profunda gratidão por me acolher em seu laboratório e por apoiar as minhas ideias ao longo destes dois anos de trabalho no Laboratório de Análise *in vivo* da Toxicidade e Doenças Neurodegenerativas (LAVITOX). Seu notável amor pela pesquisa com *Drosophila*, inclusive o melhor organismo modelo, fez com que eu reconsiderasse minha escolha inicial de não trabalhar com um modelo de estudo *in vivo*. Além disso, agradeço pela amizade, pelos valiosos ensinamentos e pelo incentivo constante que recebi. Lhe considero um profissional e pesquisador de sucesso e mal posso esperar pelo meu mestrado para continuar aprendendo e crescendo sob sua orientação.

À Prof^a. Dr^a. Anielle Christine por me encantar com a pesquisa científica em biotecnologia e por confiar em mim ao me aceitar como aluna de iniciação científica no período pós-pandemia, mesmo sem me conhecer pessoalmente. Sou grata por orientar-me ao longo dos últimos dois anos em minha iniciação tecnológica e científica. Além disso, agradeço pelos insistentes convites para seguir o doutorado direto e por proporcionar-me a oportunidade de participar de outros projetos paralelos.

À Prof^a. Dr^a. Jerusa Oliveira, gostaria de expressar minha gratidão por sua disponibilidade constante em me auxiliar na escrita de projetos, esclarecer minhas dúvidas, acompanhar-me na realização de experimentos no laboratório, ensinar-me novas técnicas e compartilhar valiosos ensinamentos pessoais. Agradeço imensamente por ter sido minha orientadora informal durante esses dois anos de LAVITOX.

Aos meus estimados professores da graduação, expresso minha profunda gratidão pelos valiosos ensinamentos transmitidos e pelas lembranças criadas em sala de aula.

Aos meus amigos de graduação, em especial a Gabriel, Bruna, Brunele, Fernanda e Maria Cleidiane, e fora da universidade (Anthony Fonseca), expresso minha profunda gratidão pela amizade verdadeira, pelas vivências compartilhadas, pelos conselhos, apoio incondicional e carinho ao longo desta jornada. Vocês foram fundamentais para tornar esta fase acadêmica mais significativa e enriquecedora.

Aos amigos que fiz no LAVITOX, gostaria de expressar minha sincera gratidão pelos ensinamentos compartilhados, pelas brincadeiras que tornaram os dias mais leves e pelos conselhos. A amizade de vocês foi um verdadeiro presente.

Por fim, quero expressar minha felicidade por ter cursado minha graduação na Universidade Federal de Alagoas. Durante esse período, aprendi que mesmo com recursos limitados é possível alcançar grandes realizações, o que certamente moldou a pessoa que sou e a profissional que me tornarei.

*"A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original"*

(Albert Einstein)

RESUMO

O uso de nanopartículas na medicina tem crescido significativamente, especialmente na área da nanomedicina teranóstica, que integra diagnóstico e terapia em uma única estrutura nanométrica. Entre as diversas nanopartículas, os pontos quânticos têm se destacado como promissores na entrega de fármacos e como sistemas de imagens médicas e biossensores. No entanto, a presença de metais pesados em sua composição levanta preocupações sobre sua toxicidade, limitando sua utilidade clínica. Este estudo investigou a biocompatibilidade de pontos quânticos ultrapequenos de núcleo de seleneto de cádmio e casca de sulfeto de cádmio (CdSe/CdS) em *Drosophila melanogaster*, um organismo modelo com vantagens para estudos de nanotoxicologia. Os resultados demonstraram que os tratamentos não afetaram as distintas fases do desenvolvimento do animal e a expectativa de vida, além disso não causaram desequilíbrio redox na mitocôndria do corpo gorduroso larval por meio de biossensores *in vivo*. Esses resultados sugerem que os pontos quânticos de CdSe/CdS são biocompatíveis em *D. melanogaster*, fornecendo insights valiosos sobre sua segurança em sistemas biológicos. Futuras pesquisas devem continuar explorando os efeitos desses tratamentos e outras técnicas para uma avaliação abrangente da segurança dos pontos quânticos, visando seu potencial uso em aplicações teranósticas.

Palavras-chave: Biocompatibilidade, Pontos Quânticos, *Drosophila melanogaster*, Nanomedicina Teranóstica

ABSTRACT

The use of nanoparticles in medicine has grown significantly, especially in the area of theranostic nanomedicine, which integrates diagnosis and therapy in a single nanometric structure. Among the various nanoparticles, quantum dots have stood out as promising in drug delivery and as medical imaging systems and biosensors. However, the presence of heavy metals in its composition raises concerns about its toxicity, limiting its clinical usefulness. This study investigated the biocompatibility of ultrasmall cadmium selenide core and cadmium sulfide shell (CdSe/CdS) quantum dots in *Drosophila melanogaster*, a model organism with advantages for nanotoxicology studies. The results demonstrated that the treatments did not affect the different phases of the animal's development and life expectancy, in addition, they did not cause redox imbalance in the mitochondria of the larval fat body using *in vivo* biosensors. These results suggest that CdSe/CdS quantum dots are biocompatible in *D. melanogaster*, providing valuable insights into their safety in biological systems. Future research should continue exploring the effects of these treatments and other techniques for a comprehensive assessment of the safety of quantum dots, aiming for their potential use in theranostic applications.

Keywords: Biocompatibility, Quantum Dots, *Drosophila melanogaster*, Theranostic Nanomedicine

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número de artigos científicos publicados sobre nanopartículas de 2000 a 2024 no PubMed	16
Figura 2. Representação esquemática dos efeitos adversos e da nanotoxicidade das nanopartículas	19
Figura 3. Pontos quânticos de grafeno (GQD) mostraram eficácia na entrega de curcumina (Cur) em uma terapia anticâncer <i>in vivo</i>	22
Figura 4. Esquema representativo do ponto quântico ultrapequeno (PQUPs) com núcleo de CdSe e casca de CdS	26
Figura 5. Fluxograma da exposição via oral ao tratamento no ensaio de desenvolvimento pós-embrionário	28
Figura 6. Ensaio para avaliar o padrão de homeostase redox mitocondrial	30
Figura 7. Fluxograma da avaliação da homeostase redox mitocondrial em animais expostos ao tratamento por meio de biossensores	30
Figura 8. Taxa diária de pupação de animais expostos a diferentes concentrações do tratamento com CdSe/CdS	33
Figura 9. Taxas de letalidade larval e pupação total de animais expostos a diferentes concentrações de PQUPs de CdSe/CdS	35
Figura 10. Taxa de sobrevivência de animais em fase adulta após exposição crônica de diferentes concentrações de PQUPs de CdSe/CdS durante o desenvolvimento	37
Figura 11. Análise da maior exposição do tratamento (40 µg/ml) na homeostase redox do corpo gorduroso	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA: Análise de variância unidirecional

CAT: Catalase

Cd: Cádmio

Cd^{2+} : Íon cádmio com uma carga elétrica de +2

CdS: Sulfeto de cádmio

CdSe: Seleneto de cádmio

CdTe: Telureto de cádmio

Cur: Curcumina

DGO: Óxido de grafeno duplamente oxidado

DGO-Cur: Óxido de grafeno duplamente oxidado com curcumina

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EPM: Erro padrão da média

EROs: Espécies reativas de oxigênio

EUA: Estados Unidos da América

FDA: Food and Drug Administration

GQD: Ponto quântico de grafeno

GQD-Cur: Ponto quântico de grafeno com curcumina

GSH: Glutathiona reduzida

GSSG: Glutathiona oxidada

ICBS: Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde

IF: Instituto de Física

LAVITOX: Laboratório de Análise *in vivo* da Toxicidade e Doenças Neurodegenerativas

LME: Laboratório de Materiais Estratégicos

NC: Nanocristal

nm: Nanômetro

NM: Nanomaterial

NMs: Nanomateriais

NPs: Nanopartículas

PBS: Solução salina tamponada com fosfato

PEG: Polietilenoglicol

PQ: Ponto quântico

PQs: Pontos quânticos

PQUPs: Pontos quânticos ultrapequenos

SOD: Superóxido dismutase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1 Nanotecnologia e Nanopartículas.....	13
2.2 Nanotoxicologia.....	15
2.3 Uso de pontos quânticos na nanomedicina teranóstica.....	20
2.4 Drosophila melanogaster como modelo de estudo para nanotoxicologia.....	23
3 HIPÓTESE.....	25
4 OBJETIVOS.....	25
4.1 OBJETIVO GERAL.....	25
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
5.1 Síntese e caracterização dos pontos quânticos ultrapequenos de CdSe/CdS.....	26
5.2 Estoque e cultura de Drosophila.....	27
5.3 Ensaio de desenvolvimento.....	27
5.4 Lifespan.....	28
5.5 Ensaio in vivo com biossensores.....	29
5.6 Análise estatística.....	31
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
6.1 Somente a exposição à maior concentração de PQUPs de CdSe/CdS causa atraso de um dia na formação de pupas.....	32
6.2 A exposição aos PQUPs de CdSe/CdS não causou letalidade larval.....	34
6.3 A exposição a diferentes concentrações de PQUPs de CdSe/CdS não impactou a expectativa de vida dos animais.....	36
6.3 Avaliação da maior exposição dos animais a concentração mais elevada de PQUPs de CdSe/CdS não causou desequilíbrio redox mitocondrial no corpo gorduroso.....	38
7 CONCLUSÃO.....	41
8 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	42
9 REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

Partículas de tamanho nanométrico podem ser definidas como nanomateriais (NMs) e, especificamente, como nanopartículas (NPs). Os NMs abrangem uma variedade de estruturas que possuem dimensões na faixa de 1-100 nanômetros (nm) em pelo menos uma dimensão, enquanto as NPs se referem a partículas que possuem as três dimensões na escala nanométrica (Contera et al., 2020).

O tamanho bastante pequeno proporciona aos materiais na escala nanométrica uma relação entre área superficial e volume extremamente alta (Kheiri et al., 2019). Consequentemente, características de tamanho e funcionalidades de superfície desempenham papéis fundamentais na diferenciação de suas propriedades e aplicações, quando comparadas às formulações convencionais do mesmo material (Arora et al., 2012; Gwinn et al., 2006).

Por suas características peculiares, o uso das NPs tem sido amplamente explorado em diversas áreas, incluindo cosméticos, eletrônica e aplicações biomédicas (Missaoui et al., 2018). A nanomedicina é um campo em expansão da nanotecnologia que busca revolucionar o diagnóstico e tratamento de doenças, como o câncer. Uma vez que essa doença é uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo; no entanto, os tratamentos convencionais frequentemente resultam em efeitos adversos nos pacientes (A Zaimy et al., 2017; Sung et al., 2021).

Assim, o primeiro marco significativo da nanomedicina ocorreu na década de 1970 com a introdução da formulação lipossomal da doxorubicina (Doxil®), que se tornou o primeiro nanomedicamento aprovado pela Administração Federal de Medicamentos (Food and Drug Administration - FDA) dos Estados Unidos da América (EUA) (Forouhari et al., 2021, Zhao et al., 2018). Desde então, as aplicações das NPs se estenderam do desenvolvimento de medicamentos para avanços em bioimagem, diagnóstico e engenharia de tecidos (Brown et al., 2014).

A nanomedicina teranóstica é um campo emergente como uma abordagem promissora no paradigma terapêutico, uma vez que a nanotecnologia permite a integração do diagnóstico e da terapia em uma única estrutura nanométrica (Ramanathan et al., 2018). Entre os diversos tipos de NPs, os pontos quânticos (PQs) são semicondutores cristalinos que possuem uma aplicação vasta em razão de suas propriedades ópticas e eletrônicas serem ajustáveis através do tamanho do nanocristal (NC) (Jesus, 2018). Nesse sentido, apresentam-se como agentes

promissores não apenas na entrega de fármacos, mas também por suas propriedades fluorescentes, tornando-os candidatos ideais para atuarem como sistema de imagens médicas e biossensores (Khan et al., 2021).

No entanto, as informações sobre a segurança das NPs estão atrasadas em comparação com as pesquisas sobre suas aplicações, já que o número de artigos que abordam a aplicabilidade dos NMs é significativamente maior do que estudos de toxicidade e riscos associados a eles (Najahi-Missaoui et al., 2020). Assim, embora os PQs apresentem vantagens que lhes conferem potencial na aplicação clínica, a inclusão de metais pesados em sua formulação restringe essa utilidade devido às preocupações com a toxicidade associada a esses elementos químicos (Missaoui et al., 2018).

A nanotoxicologia atual se baseia principalmente em modelos *in vitro*, que fornecem dados limitados sobre o comportamento das NPs nos organismos (Chifiriuc et al., 2016). Portanto, os modelos *in vivo* são essenciais para entender os efeitos das NPs, permitindo observar suas interações complexas com os sistemas biológicos e capturar a complexidade dos tecidos e sistemas de defesa (Chrishtop et al., 2021).

Nesse contexto, a *Drosophila melanogaster*, também conhecida como mosca-da-fruta, é um organismo modelo amplamente utilizado devido à sua considerável semelhança genética e fisiológica com os humanos (Ong et al., 2014). Além disso, é um modelo que oferece várias vantagens e por ser econômico e dinâmico permite uma avaliação rápida dos possíveis efeitos dos NMs, tornando este organismo um excelente modelo para testar efeitos tóxicos mediados por NPs (Demir et al., 2022; Demir e Demir, 2022).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Nanotecnologia e Nanopartículas

Os termos nanociência e nanotecnologia ganham destaque e se tornam cada vez mais presentes em nosso cotidiano, sendo necessário distingui-los. Enquanto a nanociência abrange o estudo e a compreensão dos fenômenos e propriedades relacionadas à manipulação de materiais em escalas atômica, molecular e macromolecular, a nanotecnologia concentra-se na produção, caracterização e aplicação das NPs em uma ampla variedade de áreas (Cadioli e Salla, 2006; Lekshmi et al., 2024; Zhu et al., 2021).

A nanotecnologia proporciona soluções inovadoras para os desafios contemporâneos enfrentados pela sociedade (Saritha et al., 2022). Fundamentado na alta relação entre área e volume das NPs, este campo dinâmico e abrangente confere propriedades mecânicas, magnéticas, elétricas e ópticas únicas a esses materiais, possibilitando o desenvolvimento de produtos inovadores (Bansal et al., 2024; Malik et al., 2023). Por isso, as NPs encontram aplicação em diversas áreas, incluindo medicina, indústria têxtil e aeroespacial, automóveis, cosméticos, agricultura, embalagens de alimentos, dispositivos optoeletrônicos, óptica, entre outros (Chhipa et al., 2019; El-Kalliny et al., 2023).

Apesar da nanotecnologia ser considerada uma das tecnologias mais promissoras do século XXI, sua origem não é recente. Seu uso remete ao século IV d.C., como demonstrado pelo uso de NPs na taça de Licurgo pelos romanos, representando assim um dos mais antigos exemplos de NMs sintéticos (Bayda et al., 2019). Essa descoberta é consequência da constante evolução da nanociência impulsionada pelo interesse crescente e pela capacidade de obter imagens de NMs com técnicas de resolução atômica, como a microscopia de varredura por tunelamento (Najahi-Missaoui et al., 2020). Por isso, a nanotecnologia teve um crescimento exponencial na última década, o que implica na aplicabilidade das NPs em diversas áreas, incluindo a indústria farmacêutica, ciência dos materiais, tecnologia de alimentos, eletrônica, equipamentos esportivos, cosméticos, entre diversas outras (Missaoui et al., 2018).

NPs são definidas como partículas cujas dimensões variam entre 1 e 100 nanômetros. Esse termo engloba partículas de diferentes rotas sintéticas, a partir de elementos químicos como lipídios, carbono, polímeros, metais e óxidos (Li et al., 2020). Esse tipo de NM apresenta propriedades físicas e químicas distintas em comparação com materiais de composição semelhante em escalas micro ou macroscópicas, devido ao aumento da relação entre área de superfície e volume (Rao et al., 2023).

Vale ressaltar que as novas propriedades físicas e químicas das NPs ampliam a diversidade de materiais disponíveis e que algumas dessas propriedades, como as ópticas, são dependentes do tamanho e da composição química dos materiais (Korotcenkov et al., 2010; Sanfelice et al., 2022). Segundo Yang et al. (2021) são as propriedades físico-químicas, em especial composição, estrutura cristalina, tamanho e forma, que afetam suas interações com sistemas biológicos e biomoléculas, influenciando aspectos como sinalização, cinética e toxicidade.

As NPs apresentam uma ampla variedade de características, incluindo dimensões, formas, tamanhos, composições, porosidade, fases e uniformidade. Como resultado dessa diversidade, várias classificações têm sido propostas para categorizá-los (Namakka et al., 2023). Em particular, as NPs inorgânicas, especialmente os materiais semicondutores, têm sido alvo de maior atenção como sistemas potenciais de diagnósticos e terapia em diversas doenças, incluindo o câncer (Nuñez et al., 2018). Essa grande aplicabilidade no campo biomédico é decorrente do seu tamanho controlável e propriedades ópticas únicas, condutividade elétrica, propriedades magnéticas, propriedades catalíticas e boa biocompatibilidade (Ma et al., 2023).

Em relação a sua origem, as NPs podem ser classificadas em três grupos principais: naturais, incidentais e projetadas. As NPs naturais surgem de processos normais, como em decorrência de um incêndio florestal (Grillo et al., 2015), enquanto as incidentais são subprodutos involuntários de processos industriais, como corrosão e combustão. Já as projetadas são fabricadas intencionalmente para aplicações específicas, como as NPs de dióxido de titânio (TiO_2) na composição de filtros solares (Barhoum et al., 2022, Yang et al., 2021).

NPs provenientes de fontes naturais e antropogênicas são amplamente presentes no meio ambiente, tornando a exposição humana inevitável. Dada essa exposição constante, é de extrema importância compreender os potenciais efeitos adversos agudos e crônicos que as nanopartículas podem causar nos seres humanos (Yang et al., 2021).

2.2 Nanotoxicologia

Em 2004, a nanotoxicologia surgiu como uma nova subcategoria essencial da toxicologia, direcionada em avaliar os riscos e ameaças potenciais associados ao rápido crescimento da indústria de nanotecnologia (Pikula et al., 2020). Um exemplo marcante é o dióxido de titânio (TiO_2), amplamente utilizado em protetores solares, cremes dentais e produtos alimentícios, representando 70% da produção mundial de pigmentos devido à sua considerada inércia biológica (Chen et al., 2014). Embora em 2009 apenas cerca de 4% de sua produção fosse nanométrica, estima-se que até 2025 a substituição exclusiva por NPs de TiO_2 aumente o risco de exposição ao meio ambiente e aos consumidores, uma vez que as NPs de TiO_2 são classificadas como possivelmente cancerígenas para humanos, devido à genotoxicidade que podem gerar (Grande et al., 2016; Richter et al., 2018).

Considerando que mais de 8.000 tipos de NPs são fabricados globalmente, torna-se crucial realizar uma avaliação de segurança das nanoestruturas e nanodispositivos projetados, especialmente considerando sua possível toxicidade (Liu et al., 2022). Portanto, é surpreendente que, apesar do crescimento na fabricação de produtos contendo NPs e da contínua descoberta de novas aplicações, o conhecimento sobre os efeitos da nanotecnologia na saúde e a exposição a partículas na escala nanométrica ainda seja limitado (Figura 1) (Prajitha et al., 2019).

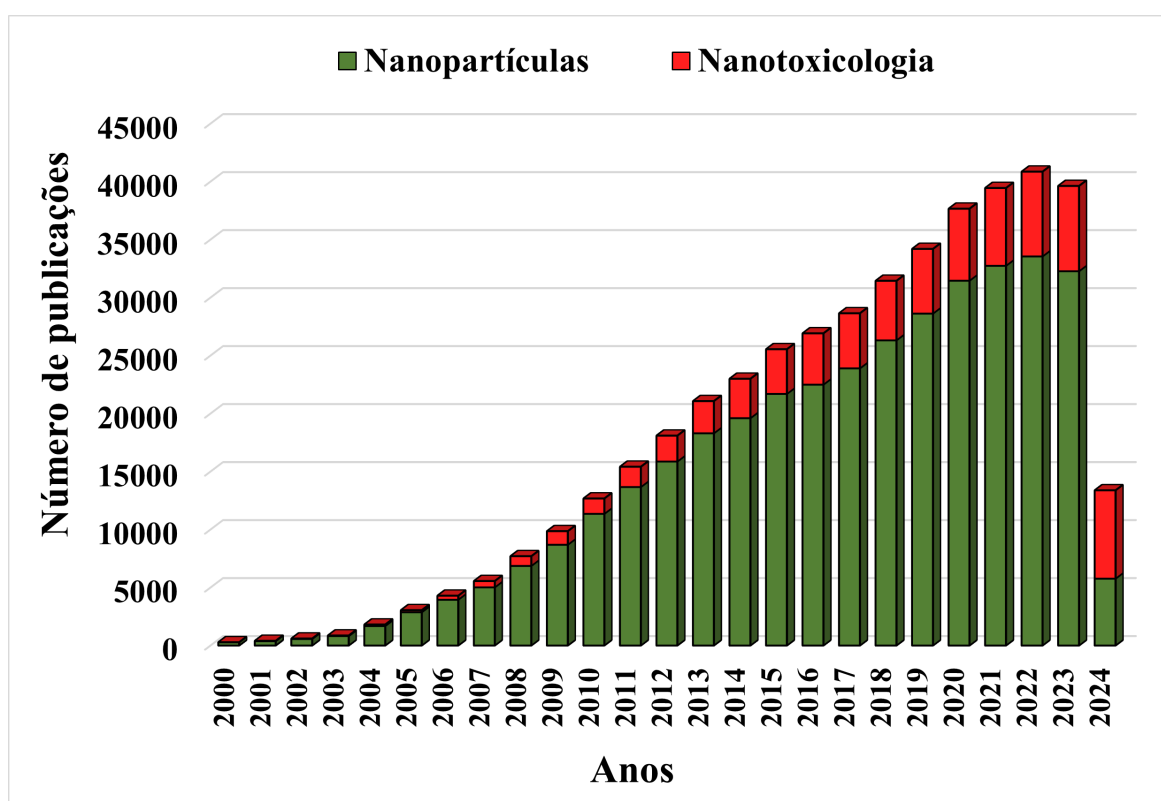


Figura 1. Número de artigos científicos publicados sobre nanopartículas de 2000 a 2024 no PubMed. Os artigos foram pesquisados e quantificados na base de dados científicos Pubmed, abrangendo o período de 2000 a fevereiro de 2024, utilizando as palavras-chave "nanopartículas" (em verde) e "nanopartículas seguras", "toxicidade das nanopartículas" e "riscos das nanopartículas" (em vermelho), todas em inglês.

Observa-se uma vasta quantidade de publicações sobre a aplicação das nanopartículas. No entanto, ao comparar esse dado com os estudos relacionados à sua segurança, toxicidade e riscos, verifica-se uma escassez de informações.

Fonte: Autor (2024)

A alta relação entre área de superfície e volume das NPs proporciona maior reatividade química e biológica, além de sua persistência no corpo por um longo período (Sufian et al., 2017). Apesar do tamanho das partículas e a área grande superficial serem características proeminentes na escala nanométrica, a toxicidade das NPs também depende de

outros parâmetros, como forma, composição, estrutura cristalina, solubilidade em água, carga superficial, frequência e duração da exposição (Saifi et al., 2018). Em comparação a materiais que não estão na escala nanométrica, essas variáveis físico-químicas adicionais tornam a avaliação da nanotoxicidade complexa, e a avaliação da toxicidade das nanopartículas pode ser necessária caso a caso. Por exemplo, pequenas variações na química da superfície das nanopartículas podem resultar em toxicidade, biodistribuição e perfis de eliminação significativamente diferentes, mesmo que o núcleo do nanomaterial seja o mesmo (Yang et al., 2021).

O uso de cosméticos contendo NMs tem sido associado a um aumento na exposição das NPs à pele (Sufian et al., 2017) e aos olhos (Cosert et al., 2022). Além disso, quando ingeridos acidentalmente, esses produtos podem entrar em contato com o trato gastrointestinal (TGI) (Arora et al., 2012), o que pode levar a uma possível penetração na corrente sanguínea. Esse cenário tem levantado sérias preocupações sobre segurança e saúde dos consumidores, especialmente devido à natureza tóxica das NPs (Sufian et al., 2017).

As NPs têm sido amplamente empregadas na agricultura e na indústria alimentícia, bem como no desenvolvimento de formulações destinadas a melhorar a solubilidade oral e a dissolução de medicamentos encapsulados (Missaoui et al., 2018). Nesse contexto, uma das formas pelas quais as NPs podem chegar ao trato gastrointestinal (TGI) é por meio da ingestão de água, alimentos e medicamentos, assim como por meio da depuração mucociliar do trato respiratório das vias respiratórias superiores (Arora et al., 2012). Enquanto a exposição às NPs pela via endovenosa geralmente ocorre apenas por meio de aplicações terapêuticas, como vacinas (Kheirollahpour et al., 2020).

Entre as possíveis vias de exposição aos NMs, Matteis e Rinaldi (2018) destacam que a inalação é a principal. Quando as NPs são depositadas no trato respiratório, elas interagem com as células epiteliais e o fluido intersticial. Nesse contexto, pode ocorrer translocação intersticial, seja porque a capacidade dos macrófagos de incorporar as NPs está saturada ou porque as NPs escapam do sistema fagocitário (Arora et al., 2012). Independente da via de exposição, a fagocitose e a pinocitose são as principais vias de internalização de NPs inorgânicas nas células, que é a classe da nanopartícula do presente trabalho (Khan et al., 2021). Assim, dentro de órgãos, tecidos e sangue, as NPs podem interagir com células, biomoléculas e organelas para potencialmente causar toxicidade em níveis celulares e subcelulares (Yang et al., 2021).

A farmacocinética e a biodistribuição das nanopartículas são influenciadas por suas características físico-químicas, como mencionado anteriormente. Entre essas características, o tamanho é um fator importante, pois nanopartículas de diferentes tamanhos têm padrões distintos de acumulação, com as maiores tendendo a se concentrar principalmente no fígado e baço, enquanto as menores, <10 nm, se distribuem mais amplamente por outros tecidos além do fígado e baço, podendo chegar ao cérebro (Arora et al., 2012; Khan et al., 2021). Além disso, os capilares dos rins apresentam um tamanho de poro de 70 nm, portanto a excreção por essa via depende do tamanho dos NPs (Matteis e Rinaldi, 2018)

Quando as NPs atingem um fluido biológico, as proteínas e lipídios do soro, por exemplo, são adsorvidas em sua superfície, formando uma coroa proteica (El-Kalliny et al., 2023). Esse fenômeno altera as propriedades deste nanomaterial, podendo afetar a nanotoxicidade ou a eficácia da nanomedicina (Yang et al., 2021). Assim, o transporte e a biodistribuição das nanopartículas *in vivo* são amplamente influenciados pela coroa proteica, em vez das características projetadas das nanopartículas sintéticas (Donahue et al., 2019).

As NPs projetadas possuem diversos mecanismos de toxicidade descritos (Gupta et al., 2018). Dentre eles, destaca-se a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), entre outros (Figura 2e). Essa formação de EROs pode ocorrer por meio de reações oxidativas de um elétron com elementos químicos da superfície das NPs, cenário decorrente do aumento da reatividade química e da área de superfície desse tipo de nanomaterial (Yang et al., 2021).

A superprodução de EROs, decorrente do desequilíbrio entre as enzimas antioxidantes intracelulares e as EROs, por exemplo, juntamente com a liberação de íons metálicos nocivos a partir de NPs podem induzir estresse oxidativo (Soares et al., 2021). Esse estresse pode causar danos a organelas celulares, DNA, membranas celulares, canais iônicos e receptores de superfície celular (Paunovic et al., 2020; Zuberek et al., 2018). Dessa forma, quando a mitocôndria é afetada, ela se torna disfuncional (Anozie et al., 2017), estimulando ainda mais a liberação de EROs das mitocôndrias através de um processo denominado liberação de EROs induzidas por EROs (Yang et al., 2021).

Uma alta geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode impactar várias vias de sinalização celular, influenciando a proliferação, diferenciação e sobrevivência celular (Figura 2) (Luo et al., 2013; Mohammadinejad et al., 2018). A extensão do dano celular

depende da intensidade do estresse oxidativo, onde níveis baixos perturbam a homeostase redox e podem causar inflamação, enquanto níveis mais altos resultam em citotoxicidade e morte celular (eutres, sutres, diestres - citar e pesquisar, substituir) (Wang et al., 2018). Esse processo, assim como a disfunção mitocondrial, está associado a diversas patologias, incluindo diabetes, câncer, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares (Sarma et al., 2021), distúrbios de imunodeficiência e doenças pulmonares crônicas (Yao et al., 2024).

Além do material do núcleo das NPs, os componentes da superfície também desempenham um papel significativo nos efeitos adversos e na sua toxicidade (Matteis e Rinaldi, 2018). Por exemplo, as superfícies das NPs podem ser revestidas com polietilenoglicol (PEG) para reduzir a adsorção de proteínas e outras biomoléculas, prolongando assim seu tempo de circulação sanguínea. No entanto, o uso de PEG pode desencadear reações de hipersensibilidade e anafilaxia mediadas por anticorpos anti-PEG em humanos (Yang et al., 2021).

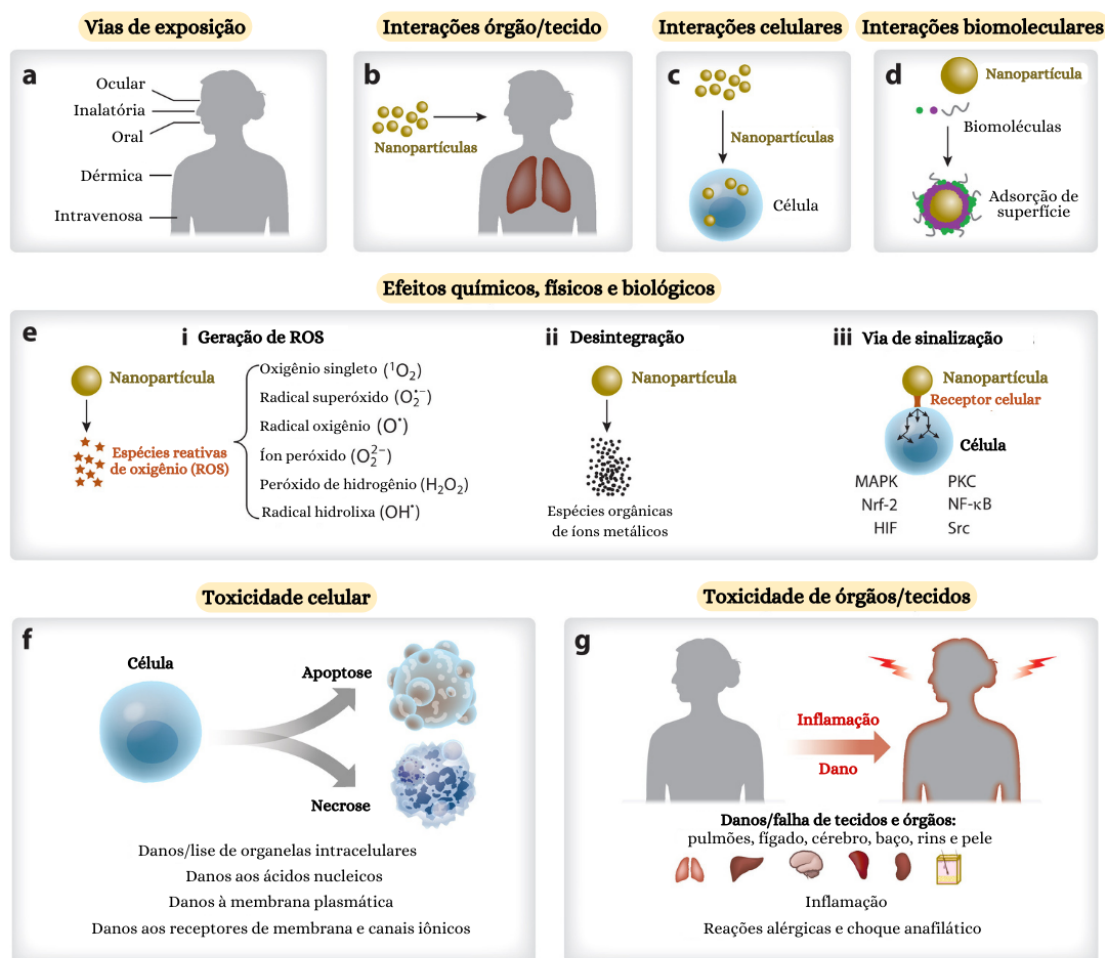


Figura 2. Representação esquemática dos efeitos adversos e da nanotoxicidade das nanopartículas. (a) Vias de exposição às nanopartículas. Após a exposição, as nanopartículas podem interagir com (b) órgãos/tecidos, (c) células e (d) biomoléculas. Os principais mecanismos de toxicidade de nanopartículas incluem (e,i) a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), (e, ii) desintegração de nanopartículas e liberação de íons metálicos e espécies orgânicas, e (e, iii) ativação mediada por nanopartículas de vias de sinalização celular. Os efeitos adversos e a toxicidade das nanopartículas podem levar a (f) apoptose e necrose celular, além de (g) danos a tecidos/órgãos, inflamação e choque anafilático.

Fonte: Adaptado de Yang et al. (2021)

Nesse contexto, para fins biomédicos, especialmente em aplicações *in vivo* que envolvem a ingestão ou injeção deliberada e direta de nanopartículas no corpo, a toxicidade é um fator crítico a ser considerado ao avaliar seu potencial. Assim, a pesquisa em nanotoxicologia não apenas fornece dados para a avaliação da segurança de NPs projetadas, mas também contribui para o avanço da nanomedicina, oferecendo informações sobre suas propriedades indesejáveis e estratégias para mitigá-las (Lewinski et al., 2008; Oberdörster et al., 2005).

2.3 Uso de pontos quânticos na nanomedicina teranóstica

Hu et al. (2017) destacam que a citotoxicidade dos PQs está correlacionada com o tamanho das partículas, observando que QDs menores resultam em maior toxicidade. No entanto, essa característica de tamanho também apresenta um aspecto positivo. As vantagens das NPs na nanomedicina oferecem diversas vantagens, incluindo sua capacidade de penetrar facilmente através das barreiras celulares, acumular-se em organelas e células específicas, possuir propriedades teranósticas (tanto terapêuticas quanto diagnósticas), bem como sua capacidade de ajuste fino (Mohammadinejad et al., 2018).

Além disso, os sistemas de administração de medicamentos nanoparticulados têm recebido muita atenção em comparação ao tratamento convencional devido à sua maior segurança, melhores perfis farmacocinéticos, maior biodisponibilidade e melhor eficácia terapêutica (Sarma et al., 2021). Após a modificação das moléculas de superfície, as NPs carregadas de fármacos podem ser direcionadas para se acumularem em células e tecidos lesionados e não em células e tecidos normais, aumentando a especificidade do alvo e reduzindo efeitos colaterais (Xu et al., 2021).

A crescente demanda por diagnóstico em estágio inicial de doenças como câncer, diabetes e neurodegenerativas pode ser atendida com o desenvolvimento de materiais que oferecem alta sensibilidade e especificidade (Kansara et al., 2022). Dessa forma, o objetivo

principal do desenvolvimento da nanomedicina teranóstica é criar plataformas de entrega para a entrega direcionada de medicamentos ou agentes de imagem para melhorar a eficácia terapêutica, reduzir os efeitos colaterais e aumentar a sensibilidade diagnóstica (Shete et al., 2022; Wu et al., 2024)

Em comparação com as NPs orgânicas, as NPs inorgânicas se destacam como transportadores de fármacos devido ao seu alto rendimento quântico, facilidade nas modificações de superfície, liberação controlada de fármacos e alta fotoestabilidade (khan et al., 2021). PQs são NCs semicondutores com características únicas, como vida útil, excelente fotoestabilidade, seus espectros de emissão são intensos e podem variar de acordo com seu tamanho e composição, além disso são resistentes ao fotobranqueamento e à degradação química (Ni et al., 2020). Seu tamanho típico varia de 1 a 10 nm que pode ser precisamente controlado pela duração, temperatura e uso de moléculas de ligante apropriadas na síntese (Zarschler et al., 2016).

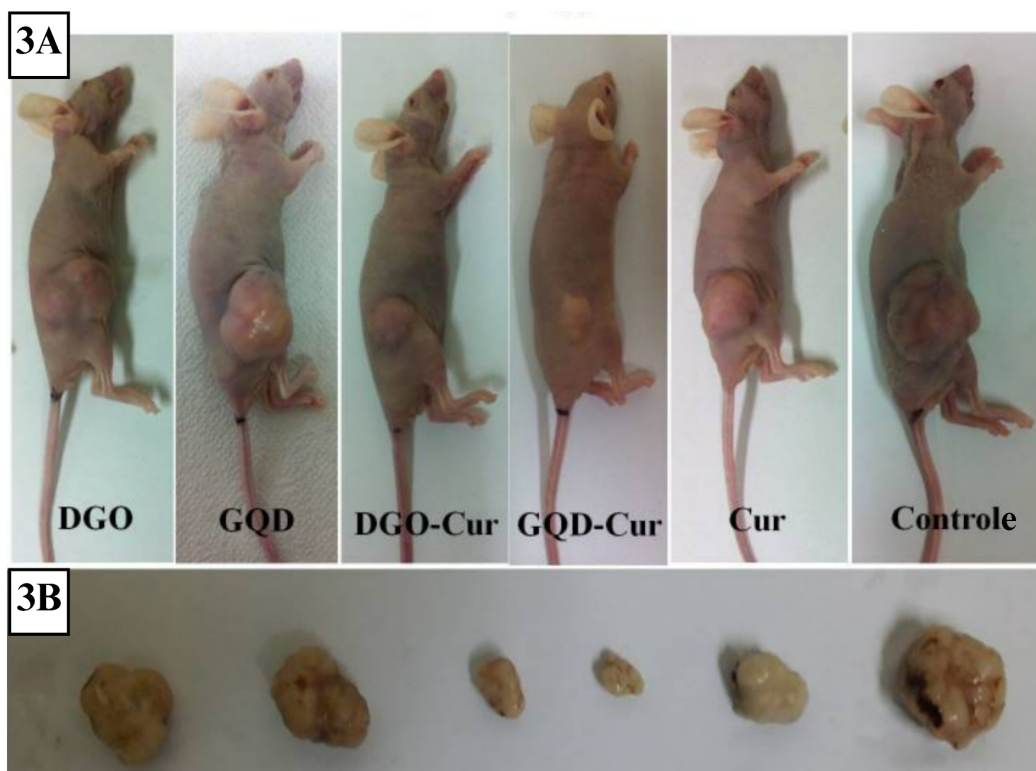
Há muitos elementos semicondutores que podem compor os PQs, entre eles os PQs baseados em Cd (CdS, CdTe e CdSe) são amplamente utilizados para aplicações biomédicas (Paithankar et al., 2022). Entretanto, a meia-vida prolongada e a bioacumulação de íons Cd^{2+} constituem uma ameaça sistêmica para todas as formas de vida (Paithankar et al., 2022). Além disso, os PQs de núcleo baseado em Cd foram associados a efeitos tóxicos agudos ou crônicos no fígado, rins e pulmões em camundongos (Le et al., 2022). Assim, a biossegurança dos PQs tem sido um problema intratável quando os PQs passam para a aplicação clínica devido à sua potencial citotoxicidade (Hu et al., 2017).

Os átomos de metais pesados presentes no núcleo do PQ são responsáveis pela sua toxicidade, como por exemplo o Cádmio, pois o núcleo metálico sofre oxidação, levando à geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e respectivos íons metálicos, induzindo subsequentemente toxicidades celulares (Paithankar et al., 2022). Para superar esse problema, o núcleo semicondutor (por exemplo, CdSe), principal componente de um PQ típico, pode ser encapsulado em um invólucro para melhorar as propriedades eletrônicas e ópticas e reduzir a lixiviação do metal do núcleo (Hu et al., 2017).

Nas últimas duas décadas, os PQs atraíram enorme atenção em imagens celulares e moleculares, assim como medicina contra o câncer (Zarschler et al., 2016), tornando-se um dos materiais fluorescentes mais estudados (Sheng et al., 2014). A fluorescência intrínseca das biomoléculas representa um problema quando são utilizados fluoróforos que absorvem

luz visível (350-700 nm) (Leung, 2007). Ao contrário da maioria dos fluoróforos convencionais, os PQs oferecem a possibilidade de emissão no infravermelho próximo (>650 nm), uma região altamente desejada para imagens biomédicas já que evita a interferência da fluorescência de fundo de biomoléculas naturais, proporcionando um alto contraste entre os tecidos alvo e de fundo (Matea et al., 2017). Portanto, os PQs, com suas propriedades optoeletrônicas ajustáveis, ganharam grande interesse (Phafat et al., 2023).

As características distintas dos PQs os tornam candidatos ideais como agentes de contraste para marcação e imagem em bioensaios. PQs podem atuar como sondas fluorescentes fototérmicas, agentes sensibilizadores, agente de contraste fotoacústico e plataforma de diagnóstico (Figura 3), além de serem utilizados em terapia multimodal (Jha et al., 2017; Tan et al., 2020). Além disso, técnicas de bioconjugação na superfície dos PQs permitem a conjugação de biomoléculas de interesse, o que viabiliza a caracterização de mecanismos fisiológicos e patológicos subjacentes aos processos de doença (Tosat-Bitrián et al., 2020).



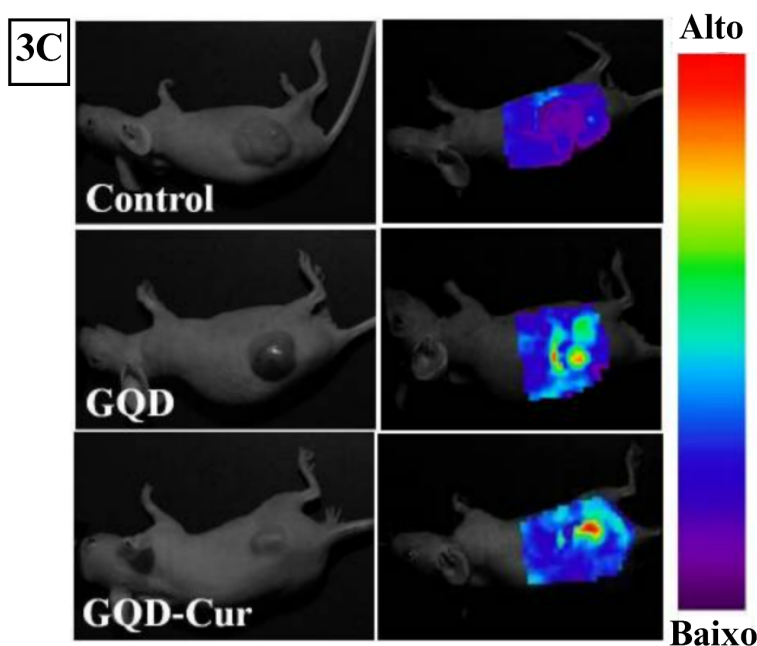


Figura 3. Pontos quânticos de grafeno (GQD) mostraram eficácia na entrega de curcumina (Cur) em uma terapia anticâncer *in vivo*. As imagens em (a) mostram fotografias dos camundongos tratados com solução salina tamponada com fosfato (PBS), óxido de grafeno duplamente oxidado (DGO), ponto quântico de grafeno (GQD), óxido de grafeno duplamente oxidado com curcumina (DGO-Cur), ponto quântico de grafeno com curcumina (GQD-Cur) e curcumina (Cur) após 14 dias, enquanto as imagens.GQD-cur no local do tumor demonstraram aumentar efetivamente a eficácia da terapia tumoral, liberando Cur de forma estável e contínua, resultando na morte eficaz das células cancerígenas e inibição do crescimento do tumor. Já em (b) são fotografias dos tumores tratados com os respectivos agentes após 14 dias e em (c) imagens de tomografia óptica *in vivo* de camundongos portadores de tumor após injeção de GQDs e GQD-Cur (10 mg/kg).

Fonte: Adaptado de Some et al. (2014)

2.4 *Drosophila melanogaster* como modelo de estudo para nanotoxicologia

É importante enfatizar que os resultados de estudos de nanotoxicidade obtidos *in vitro* não recapitulam necessariamente o potencial de toxicidade das NPs em modelos animais ou seres humanos (Chifiriuc et al., 2016). Por exemplo, embora os PQs de CdSe tenham demonstrado citotoxicidade em culturas de células, esse mesmo efeito não foi observado em modelos animais, como murinos e peixes, nas condições específicas de teste relatadas (Yang et al., 2021). Portanto, os modelos *in vivo* são essenciais para entender os complexos efeitos das NPs. Entre eles, a *Drosophila melanogaster* é um modelo padrão na avaliação da toxicidade de NPs projetadas (Chrishtop et al., 2021).

A *Drosophila melanogaster* oferece uma série de vantagens, como rápida rotatividade de descendentes, custos de manutenção acessíveis relativo a outros modelos de invertebrados

e vertebrados, ferramentas avançadas de análise genética, regulamentação ética limitada e inúmeras opções para detecção fenótipos induzidos ou anormais (Ong et al., 2014; Paithankar et al., 2022). Além disso, *Drosophila* apresenta alta conservação evolutiva de muitos genes relacionados a doenças humanas, aproximadamente 75% (Chifiriuc et al., 2016). Essa ampla conservação de genes, que codificam vias fundamentais de desenvolvimento e fisiológicas entre *Drosophila* e mamíferos, sustenta a traduzibilidade dos resultados do estudo com moscas para humanos (Rand et al., 2023).

Os estudos sobre a toxicidade dos NMs após a ingestão oral são limitados (Arora et al., 2012). É importante notar que o modelo de *D. melanogaster* mimetiza essa via de exposição através da barreira intestinal (Alaraby et al., 2015). Isso porque a *Drosophila* e seres humanos compartilham semelhanças em vários sistemas fisiológicos, incluindo o sistema digestivo (Mishra et al., 2021), em termos de desenvolvimento, anatomia e funcionamento (Pandey et al., 2011). Além disso, o uso de *D. melanogaster* como organismo modelo em estudos de nanotoxicologia respeita o conceito dos Três Rs (Substituição, Redução e Refinamento) promovido pelo Centro Europeu para a Validação de Métodos Alternativos (CEVMA) (Silva et al., 2022). Por todas estas razões, *D. melanogaster* é o modelo de escolha para avaliar a atividade biológica dos PQs deste trabalho.

3 HIPÓTESE

Acredita-se que pontos quânticos ultrapequenos compostos por um núcleo de CdSe e um revestimento de CdS, que protege o núcleo e controla suas propriedades ópticas e eletrônicas, possam ser biocompatíveis em *Drosophila melanogaster*, sugerindo um potencial uso teranóstico.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a biocompatibilidade dos pontos quânticos ultrapequenos de CdSe/CdS em *Drosophila melanogaster*.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar os efeitos dos pontos quânticos ultrapequenos (PQUPs) de CdSe/CdS sobre o estágio larval e pupal, avaliando a letalidade larval e a pupação por dia durante o desenvolvimento da *Drosophila melanogaster*;
- Analisar *in vivo* os efeitos dos PQUPs de CdSe/CdS sobre o tempo de vida (lifespan) dos animais;
- Avaliar o estado redox *in vivo* após exposição crônica a PQUPs de CdSe/CdS por meio de biossensores fluorescentes expressos no corpo gorduroso.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Síntese e caracterização dos pontos quânticos ultrapequenos de CdSe/CdS

A investigação *in vivo* dos efeitos dos pontos quânticos ultrapequenos de Seleneto de Cádmio e Sulfeto de Cádmio (PQUPs de CdSe/CdS) foi possível devido a uma colaboração científica com o Laboratório de Materiais Estratégicos (LME) do Instituto de Física (IF) da Universidade Federal de Alagoas, sob a coordenação da Prof^a. Dr^a. Anielle Christine de Almeida Silva. Além disso, embora o grupo esteja envolvido com diversos nanomateriais, neste trabalho dedicaremos maior atenção aos pontos quânticos ultrapequenos.

A metodologia de síntese e as caracterizações dos PQUPs de CdSe/CdS foram publicadas por Silva et al. em 2014 (Figura 4). Em resumo, os PQUPs de CdSe/CdS utilizados possuem menos de 2nm de diâmetro, foram sintetizados via solução aquosa e foram caracterizados por diversas técnicas experimentais, incluindo espectroscopia de absorção óptica, espectroscopia de fluorescência, difração de raios X, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier e espectroscopia Raman (Silva et al., 2014).

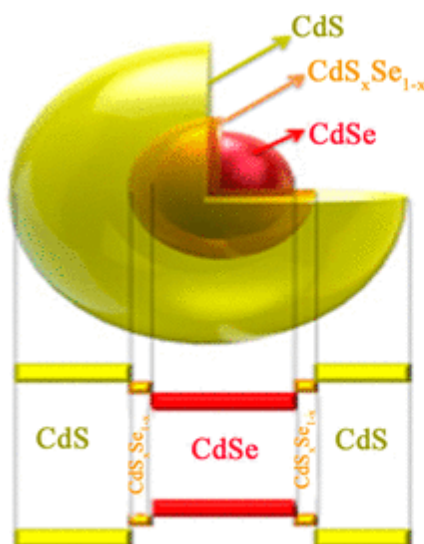


Figura 4. Esquema representativo do ponto quântico ultrapequeno (PQUPs) com núcleo de CdSe e casca de CdS. Observa-se um núcleo composto de CdSe, que, ao ser recoberto por 1-tioglicerol, um surfactante, recebe uma camada externa de CdS.

Fonte: Silva et al. (2014)

5.2 Estoque e cultura de *Drosophila*

Os animais utilizados para os fins deste estudo eram oriundos do biotério do Laboratório de Análise *in vivo* da Toxicidade e Doenças Neurodegenerativas (LAVITOX), localizado no Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da Universidade Federal de Alagoas.

Animais da linhagem *Canton S*, *PPL-GAL4*, *UAS-mito-roGFP2-Grx1* e *UAS-mito-roGFP2-Orp1* de *Drosophila melanogaster* (Diptera, Drosophilidae) foram criados em meio padrão de fubá (farinha de milho, ágar, extrato de levedura, açúcares, ácido fosfórico, metilparabeno (nipagin) e ácido propiônico) sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade (60-70%) e fotoperíodo (ciclo claro-escuro de 12:12h). As amostras, em estado líquido, de pontos quânticos ultrapequenos (PQUPs) de seleneto de cádmio/sulfeto de cádmio (CdSe/CdS) foram suspensas em água ultrapura. A partir da solução mãe (18 mg/mL) foram preparadas duas soluções estoques (0,2 e 1 mg/mL). Essas soluções foram então usadas para preparar as concentrações apropriadas para as análises *in vivo*. Os PQUPs foram então dispersos usando um sonicador de sonda de 5 W (Elmasonic EASY 60 H, Misonix, EUA) por 30 minutos antes do uso.

5.3 Ensaio de desenvolvimento

O ensaio de desenvolvimento é essencial para avaliar se os PQUPs podem afetar o desenvolvimento geral de *Drosophila* e causar qualquer letalidade durante cada estágio de desenvolvimento. Para realizar este experimento, aproximadamente 80 machos e fêmeas foram mantidos em um aparato de oviposição que contém uma tampa de ágar à base de suco de uva no fundo. A coleta de embriões foi realizada em intervalos de 6 horas quando as tampas foram substituídas. Após 24 horas da coleta dos ovos, os embriões se transformam em larvas, e essas larvas recém-eclodidas foram então transferidas para frascos experimentais contendo 4mL de meio padrão de fubá adicionado de seis concentrações diferentes (0,0; 0,1; 1,0; 10,0; 20,0 e 40,0 $\mu\text{g} / \text{mL}$) de PQUPs de CdSe/CdS e 4 mL de meio padrão como controle. Foram montadas cinco ($n=5$) réplicas contendo 30 larvas para cada concentração, e os animais foram monitorados durante as fases seguintes de desenvolvimento por cerca de 5 dias a 25°C (Figura 5).

Os animais que atingiram a fase pupal foram registrados diariamente. A frequência de pupação foi analisada diariamente e comparada com o controle para determinar qualquer

atraso durante o desenvolvimento larval. A diferença entre o número inicial de larvas transferidas para o meio e o número total de pupas indica o nível de letalidade larval para cada concentração experimental.

5. 4 Lifespan

O experimento de lifespan tem como objetivo avaliar o impacto de uma substância em estudo na longevidade dos animais. A média de vida da *Drosophila* em condições normais é de aproximadamente cinquenta dias (Linford et al., 2013). Para isso, os animais sobreviventes do experimento de desenvolvimento (item 5.3) são separados por sexo desde o primeiro dia de vida e colocados em vials contendo 4 mL de meio padrão, dependendo da concentração da substância investigada ou do grupo controle (Figura 5). A cada três ou quatro dias, os animais são transferidos para novos vials, no intuito de evitar o crescimento de fungos na comida, e as mortes são registradas, atribuindo "1" para mortes e "0" para sobreviventes.

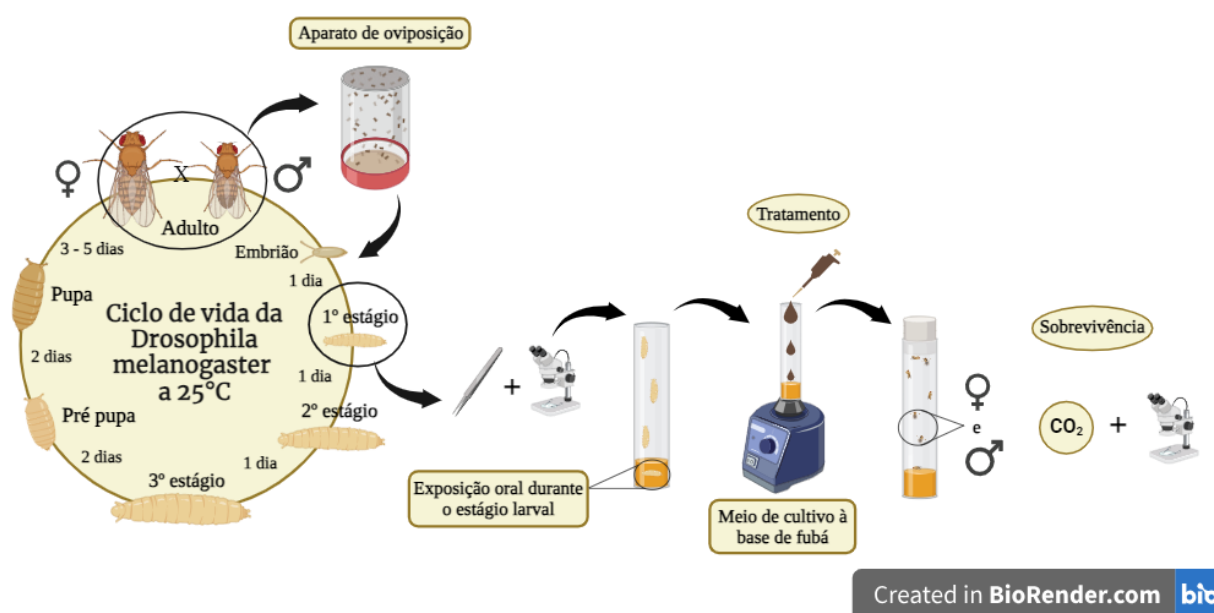


Figura 5. Fluxograma da exposição via oral ao tratamento no ensaio de desenvolvimento pós-embriônico. Animais de diferentes sexos foram acondicionados em um dispositivo acoplado a uma placa de oviposição, na qual as fêmeas depositam seus ovos. Um dia depois, esses embriões eclodem em larvas de primeiro estágio (L1), que foram inseridas em frascos de vidro contendo meio de cultura padrão de *Drosophila* misturado com o tratamento em diferentes concentrações (0,0; 0,1; 1,0; 10,0; 20,0 e 40,0 µg/ml). Seguindo esse processo, os estágios subsequentes de desenvolvimento desses animais foram monitorados.

Fonte: Autor (2024)

5.5 Ensaio *in vivo* com biossensores

Para avaliar os efeitos da exposição aos PQUPs de CdSe/CdS sobre a homeostase redox foi utilizado o sistema UAS-GAL4, amplamente utilizado para manipulação e análise de expressão gênica em *Drosophila*, uma vez que permite a expressão de uma proteína ou gene de interesse em um tecido específico (Caygill et al., 2016). Para tanto, o promotor de GAL4 escolhido foi um driver de corpo gorduroso, uma vez que esse tecido interage com outros tecidos para responder às necessidades fisiológicas do crescimento durante o desenvolvimento, coordenando vários processos metabólicos nos diferentes estágios de vida do animal (Aguila et al., 2007; Zheng et al., 2016).

As sondas ro-GFP são sensores baseados em GFP (proteína fluorescente verde) que são sensíveis a mudanças redox. Elas funcionam por meio de uma mudança conformacional induzida por alterações no estado redox de resíduos de cisteína específicos. Essas cisteínas formam pontes dissulfeto em um ambiente oxidativo e são reduzidas em um ambiente redutor, conforme figura 6 (Albrecht et al., 2011).

Dessa forma, animais das linhagens UAS-mito-roGFP2-Orp1 e UAS-mito-roGFP2-GRX1, que expressam os biossensores mitocondriais para peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e glutathiona (GSH/GSSG), respectivamente, foram submetidos a um cruzamento genético com um drive de corpo gorduroso (*ppl-Gal4*), conforme figura 7. Mudanças conformacionais afetam o espectro de emissão desta sonda, pois, quando oxidada, ela emite fluorescência na faixa de 405 nm, e quando reduzida, emite fluorescência na faixa de 488 nm. Portanto, por meio da análise das imagens adquiridas em microscópio de fluorescência, é possível o processamento utilizando o software ImageJ, indicando padrões de homeostase tecidual *in vivo* pelo cálculo da proporção de fluorescência nos dois distintos canais de excitação da amostra (405/488, oxidação/redução). Foram realizadas as análises de quantificação do equilíbrio redox a partir das imagens de fluorescência obtidas a partir do corpo gorduroso de quatro animais por grupo experimental.

Biossensor *in vivo* de glutationa



Biossensor *in vivo* de peróxido de hidrogênio

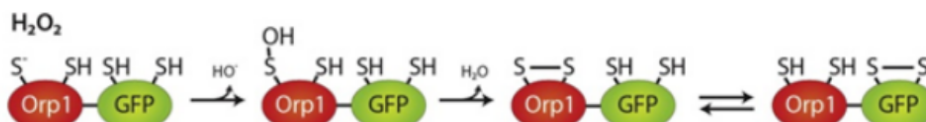


Figura 6. Ensaio para avaliar o padrão de homeostase redox mitocondrial. Os biossensores *in vivo* funcionam por meio de uma sonda mitocondrial sensível a alterações redox, conhecida como roGRF. Em ambientes pró-oxidativos, ocorre a formação de pontes dissulfeto nas cisteínas desta sonda. Em contrapartida, em um estado reduzido, ditióis se formam nas cisteínas da sonda, resultando em uma mudança conformacional. Essas alterações conformacionais modificam a faixa de excitação da molécula, levando à emissão de fluorescência a 405 nm quando oxidada (espectro observado na cor azul) e a 488 nm quando reduzida (espectro observado na cor verde).

Fonte: Adaptado de Albrecht et al. (2011)

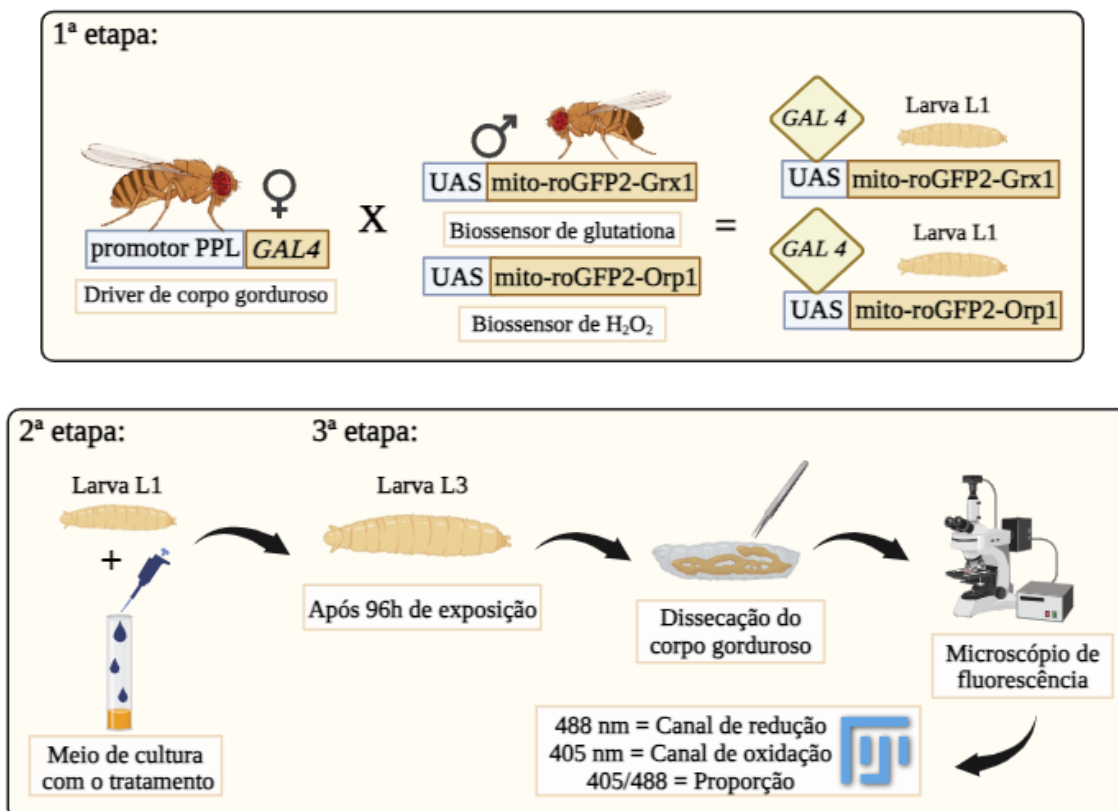


Figura 7. Fluxograma da avaliação da homeostase redox mitocondrial em animais expostos ao tratamento por meio de biossensores. Observa-se os cruzamentos genéticos realizados e a posterior análise do corpo gorduroso de animais controle e animais tratados por 96h.

Fonte: Autor (2024)

5.6 Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas no software Graph Pad Prism (versão 8.0, GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Os dados foram submetidos à análise de variância unidirecional (ANOVA), em especial aos testes paramétricos de One-way ANOVA e Two-way ANOVA, seguido do teste de tukey para comparações de médias. Foi adotado o nível de significância de 5% e os dados são apresentados média $\pm$ erro padrão da média (EPM). As curvas de sobrevivência (vida útil) foram testadas quanto à igualdade entre grupos usando o teste log-rank.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Somente a exposição à maior concentração de PQUPs de CdSe/CdS causa atraso de um dia na formação de pupas

Tendo como base o ciclo de vida da *D. melanogaster*, foi realizado o acompanhamento da quantidade de pupas formadas por dia após a exposição oral durante o estágio larval. Assim, observou-se que os animais expostos à maior concentração do tratamento (40 µg/ml) demoraram um dia a mais para atingir o estágio de pupa quando comparados aos demais grupos, incluindo o controle. Ainda no primeiro dia, os animais expostos às concentrações de 0,1; 1,0 e 20,0 µg/ml formaram menos pupas que o grupo controle e 10 µg/ml do tratamento. No segundo dia, os animais expostos a 40,0 µg/ml continuaram apresentando menor formação de pupas que os demais grupos.

Além disso, os animais expostos às concentrações de 0,1 e 1,0 µg/ml apresentaram diferença na quantidade de pupas formadas em relação ao grupo controle, enquanto aqueles expostos a concentração de 1,0 µg/ml apresentaram um número menor de pupas que 10,0 µg/ml. No terceiro dia, os animais expostos a 40,0 µg/ml continuaram a formar menos pupas que os demais grupos, com exceção de 1,0 µg/ml.

A discussão acima descreve que 40 µg/ml provoca o atraso um dia no processo de metamorfose de larva a pupa. Além disso, foi observado um efeito inesperado na exposição à 10,0 µg/ml na taxa de pupação por dia, pois esta foi a única concentração que teve resultados similares ao controle. Uma vez que a alimentação e o crescimento em tamanho cessam na pupação (Rolff et al., 2019), os animais no estágio larval precisam consumir comida suficiente para armazenar energia no corpo gorduroso para o estágio de pupa (Reis et al., 2023). Portanto, o aumento na ingestão de comida durante o estágio larval pode estar diretamente relacionado aos resultados observados, uma vez que as larvas expostas ao tratamento consumiram mais meio de cultura misturado com os PQs.

Além disso, é nítida a ocorrência de um fenômeno definido como hormese, uma estratégia adaptativa baseada na evolução que medeia como células, órgãos e organismos, incluindo insetos (Cutler et al., 2022), se adaptam ao estresse. A hormese implica que os efeitos de vários materiais ou condições aos quais os organismos estão expostos podem não seguir uma resposta dependente da dose, mas sim uma resposta bifásica (Bondy et al., 2023). Nesse contexto, a exposição a baixas doses, como 10 µg/ml, gera uma resposta estimulatória

no organismo, enquanto altas doses, como 40 $\mu\text{g/ml}$, dessa mesma substância acarretam em uma resposta inibitória (Calabrese et al., 2023).

Kang et al. (2019) relata que a exposição de PQs de grafeno à *Chorella vulgaris* também teve efeito hormético (Kang et al., 2019). Todavia, o efeito hormese depende do tipo do agente estressor, organismo, meio de teste e no estágio de vida (Tyne et al., 2015). Em nossos estudos, conforme a figura 8, observamos esse fenômeno, pois a concentração de 10,0 $\mu\text{g/ml}$ teve a quantidade de pupas formadas semelhante ao controle, enquanto que as concentrações menores que 10,0 $\mu\text{g/ml}$ não tiveram a mesma resposta. Dessa forma, este é um resultado notável, uma vez que demonstra que a exposição durante o ciclo de vida pode ser ferramenta valiosa para a investigação e compreensão da hormese em testes de curto prazo (Tyne et al., 2015).

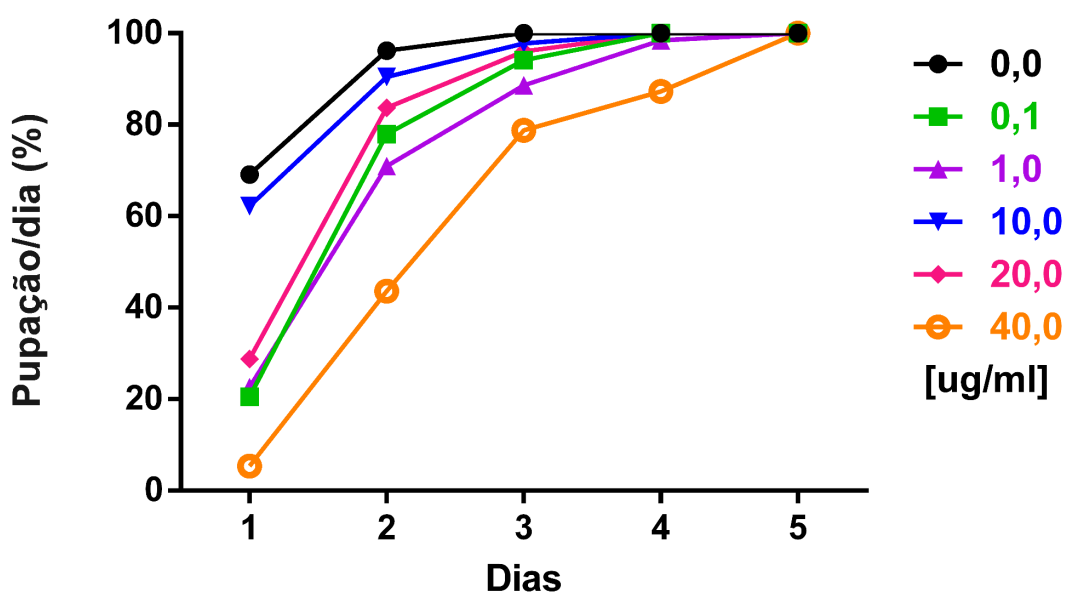


Figura 8. Taxa diária de pupação de animais expostos a diferentes concentrações do tratamento com CdSe/CdS. No primeiro dia, animais expostos à maior concentração de tratamento, 40 $\mu\text{g/ml}$, tiveram uma taxa de pupação inferior comparados ao grupo controle e as demais concentrações. O gráfico mostra apenas a média. Foi utilizado o teste ANOVA Two-way, seguido do teste de média de Tukey, com valor de $p < 0,05$.

Fonte: Autor (2024)

6.2 A exposição aos PQUPs de CdSe/CdS não causou letalidade larval

Ao analisar as taxas de letalidade larval (Figura 9A) e de pupação total (Figura 9B), percebe-se que nenhuma das concentrações analisadas causou letalidade larval significativamente maior em comparação com o grupo controle, indicando que a exposição a essas concentrações não resultou em toxicidade larval relevante. Além disso, a viabilidade das pupas em todos os grupos foi comparável àquela vista nos animais controle, sugerindo que as concentrações testadas não afetaram negativamente o desenvolvimento das pupas.

Os mesmos PQUPs de CdSe/CdS deste estudo também foram investigados em *Danio rerio* (Zebrafish). De acordo com Alves (2023), o teste de toxicidade embriolarval evidenciou que os embriões de zebrafish expostos ao grupo controle apresentaram uma taxa de sobrevivência próxima de 100%, enquanto os embriões expostos às concentrações de 10,0 e 20,0 µg/mL apresentaram as menores taxas de sobrevivência, sendo inferiores a 40%.

Dessa forma, afirmamos que a fase do desenvolvimento e o método de exposição ao tratamento investigados por Alves (2023) influenciam na toxicidade dos PQUPs de CdSe/CdS, apresentando resultados opostos aos deste trabalho, isso porque realizamos a exposição oral do tratamento durante o estágio larval de *Drosophila*. Nesse sentido, a toxicidade dos PQs não está apenas relacionada às suas propriedades físicas e químicas, como métodos de preparação, propriedades de superfície e tamanho de partícula, mas também é influenciada pelo tipo de organismo modelo, ambiente de tratamento e via de administração (Lin et al., 2023).

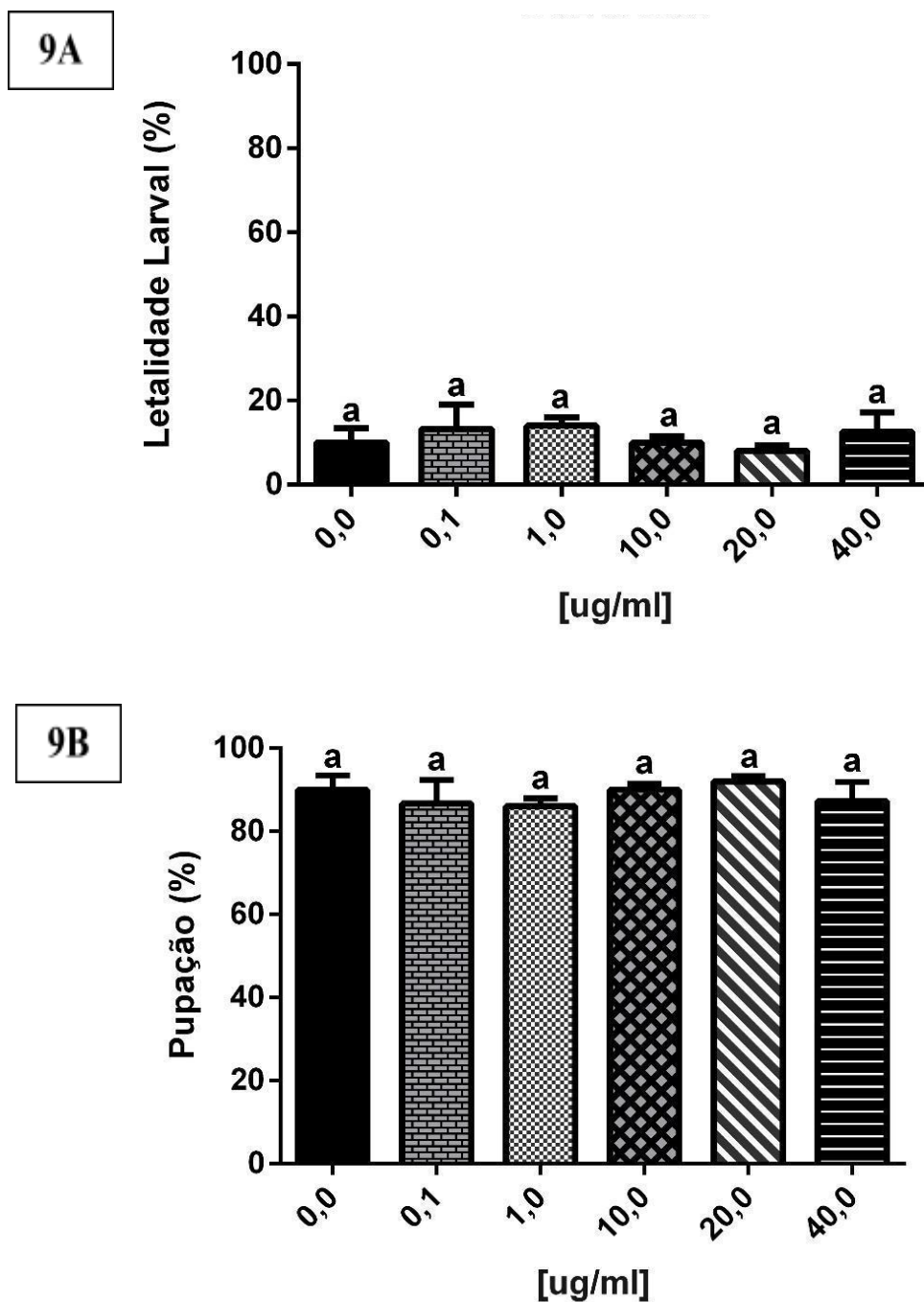


Figura 9. Taxas de letalidade larval e pupação total de animais expostos a diferentes concentrações de PQUPs de CdSe/CdS. Os resultados revelaram que nenhuma das concentrações analisadas causou letalidade larval significativa em comparação com o grupo controle (Figura 9A), assim como, a viabilidade das pupas em todos os grupos foi comparável àquela vista nos animais controle (Figura 9B). Os gráficos mostram a média e o erro padrão da média (EPM), foi utilizado o teste One-way ANOVA seguido do teste de média de Tukey, (a) representa um valor de $p < 0,05$.

Fonte: Autor (2024)

6.3 A exposição a diferentes concentrações de PQUPs de CdSe/CdS não impactou a expectativa de vida dos animais

Para verificar os impactos dos PQs de CdSe/CdS a longo prazo, realizamos um experimento de sobrevivência (lifespan) dos animais expostos às diferentes concentrações do tratamento durante o desenvolvimento. Considerando que o tempo médio de vida em condições normais é de cinquenta dias (Linford et al., 2013), foi comparado o tempo de vida total dos animais tratados com o grupo controle, que só consumiu meio padrão. Na figura 10, observamos que as diferentes concentrações do tratamento não afetaram significativamente o tempo de sobrevivência dos animais em comparação com o grupo controle, e todos os grupos avaliados ultrapassaram a média de 50 dias de vida.

É importante frisar que PQs de tamanhos mágicos e ultrapequenos possuem propriedades ópticas e eletrônicas semelhantes, porém diferem dos PQs convencionais, classificando-os como uma classe particular de PQs (Bastos, 2016). Nosso grupo desenvolveu PQs de CdSe/CdS de tamanhos mágicos e ultrapequenos pelo mesmo método de síntese (Silva, 2014). Um resultado semelhante a este trabalho foi demonstrado por Silva et al. (2022), onde a exposição de PQs de tamanhos mágicos de CdSe/CdS, em concentrações até 100 µg/mL em *Drosophila melanogaster*, não causou efeitos deletérios no tempo de vida dos animais tratados em comparação ao grupo controle que se desenvolveu em meio de cultura padrão.

Silva et al. (2022) também evidenciaram que não foi possível detectar os PQs de CdSe/CdS de tamanhos mágicos por meio de microscopia de fluorescência nas larvas expostas a até 100 µg/mL, sugerindo que esses PQs não se acumulam no corpo dos animais durante o desenvolvimento. Tanto os PQs de CdSe/CdS de tamanho mágico quanto os de tamanho pequeno possuem um diâmetro aproximado de 2 nm. A diferenciação entre eles reside na faixa expandida do espectro de luminescência e na densidade de íons Cd^{2+} na superfície dos PQs de CdSe/CdSe de tamanhos mágicos (Bastos, 2016). Portanto, presume-se que os PQs ultrapequenos de CdSe/CdS utilizados neste trabalho possam ter um efeito semelhante, explicando a ausência de efeitos na sobrevivência dos animais adultos.

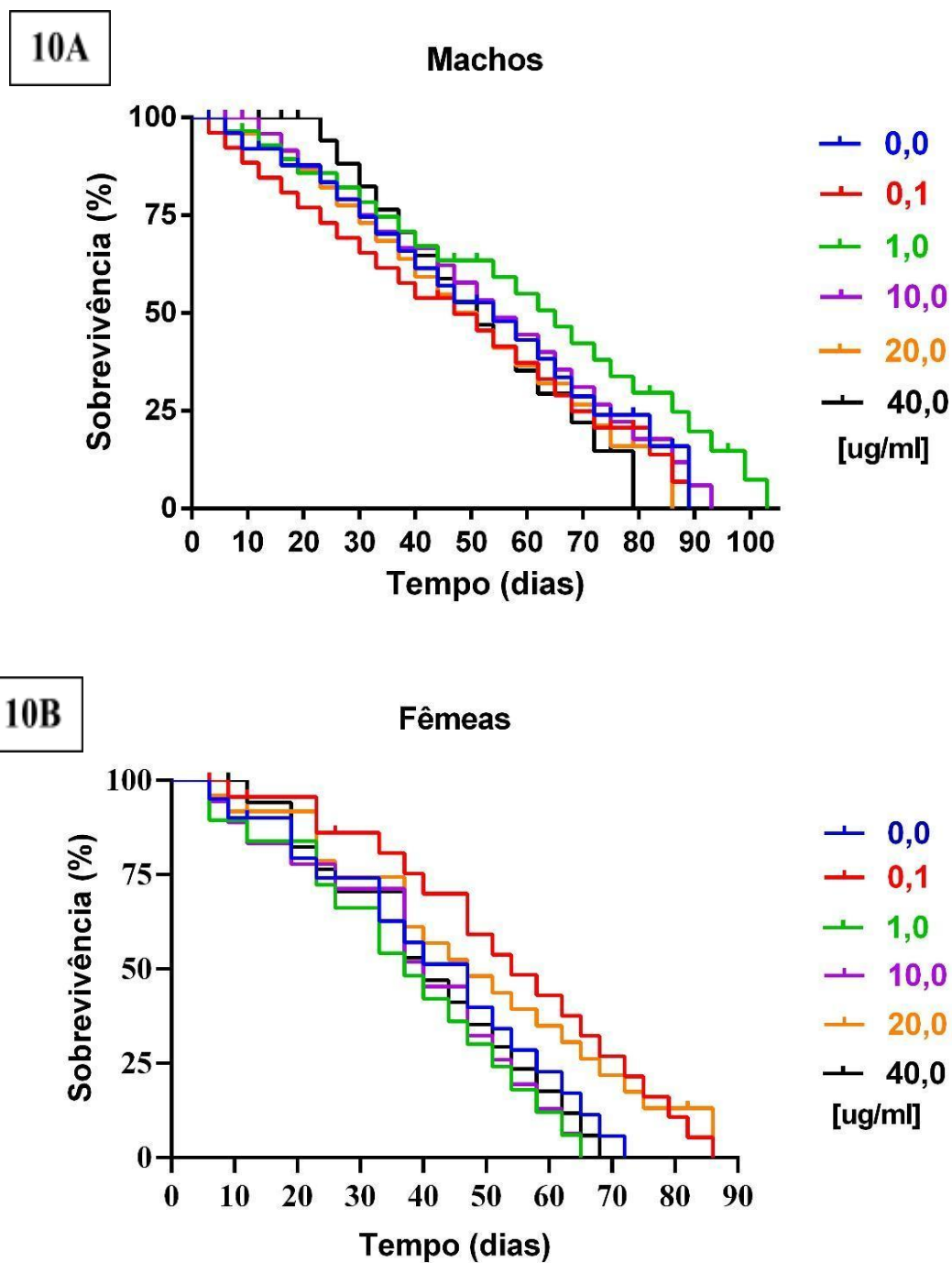


Figura 10. Taxa de sobrevivência de animais em fase adulta após exposição crônica de diferentes concentrações de PQUPs de CdSe/CdS durante desenvolvimento. Nenhuma das concentrações avaliadas apresentou diferença estatisticamente significativa na porcentagem do tempo de vida entre machos (Figura 10A) e fêmeas (Figura 10B) em comparação com o grupo controle.

Fonte: Autor (2024)

6.3 Avaliação da maior exposição dos animais a concentração mais elevada de PQUPs de CdSe/CdS não causou desequilíbrio redox mitocondrial no corpo gorduroso

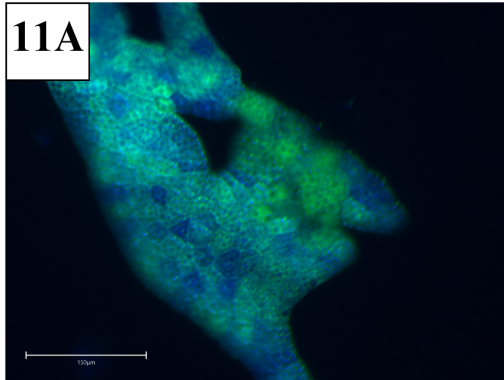
O Cádmio (Cd), mesmo em baixas concentrações, pode ter efeitos tóxicos, inclusive produzir estresse oxidativo (Cao et al., 2021). Quando o dano induzido pelo Cd excede a capacidade da célula de se reparar, vias de transdução de sinal são ativadas para iniciar o processo de apoptose, o que pode minimizar os danos de uma determinada área. Mudanças no potencial, estrutura e permeabilidade da membrana mitocondrial ocorrem durante a apoptose em *Drosophila* (Yang et al., 2022). Esse cenário é decorrente do estresse oxidativo, o que provoca um aumento na produção de EROs e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), além de uma redução do consumo de glutathiona (Korotkov et al., 2023).

A glutathiona reduzida (GSH) é um antioxidante não enzimático essencial nas células de mamíferos, desempenhando um papel crucial na proteção contra radicais livres e pró-oxidantes, além de servir como cofator para enzimas antioxidantes e desintoxicantes. Quando a GSH reage com EROs, por exemplo, ela se converte em sua forma oxidada, conhecida como dissulfeto de glutathiona (GSSG). No entanto, a GSSG pode ser regenerada de volta para GSH por meio de enzimas redutoras como parte do ciclo de reciclagem da glutathiona no corpo (Averill-Bates et al., 2023).

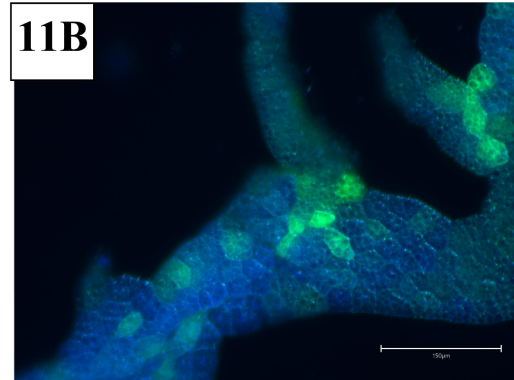
Diante do que foi discutido, é imprescindível a investigação dos efeitos da exposição a PQs de CdSe/CdS, os quais contêm Cd em seu núcleo. Para tanto, utilizamos biossensores *in vivo* para avaliar a presença de H₂O₂ e as formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) da glutathiona em larvas durante uma exposição crônica (96h). Surpreendentemente, nossos resultados revelaram que mesmo na concentração mais elevada, o tratamento não afetou a homeostase redox mitocondrial no corpo gorduroso, conforme observado na Figura 11.

De acordo com Silva (2014), a toxicidade dos PQs está intimamente relacionada com o processo de síntese, proporção de Cd presente, presença de uma casca protetora, moléculas de revestimento e a composição do núcleo e/ou casca. Assim, nossos achados sugerem que o método de síntese utilizado e a casca de sulfeto de cádmio (CdS) pode conter a toxicidade associada ao cádmio.

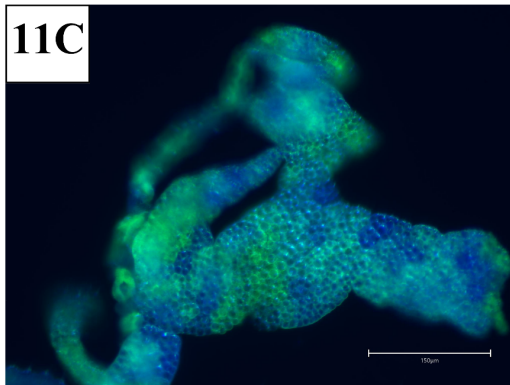
mito-roGF2-Orp1



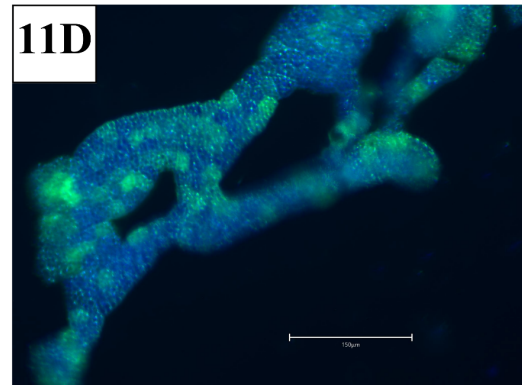
mito-roGF2-Orp1 + tratamento



mito-roGF2-Grx1

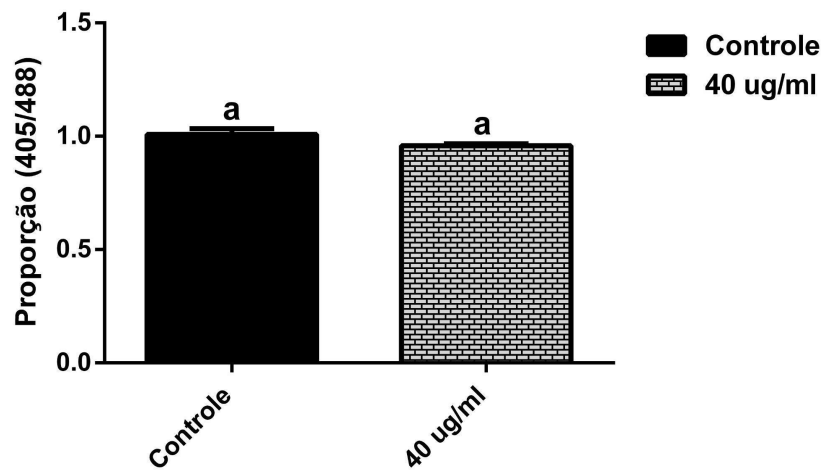


mito-roGF2-Grx1 + tratamento



11E

ppl-GAL4>UAS-mito-roGFP2-Orp1
Biossensor de H₂O₂



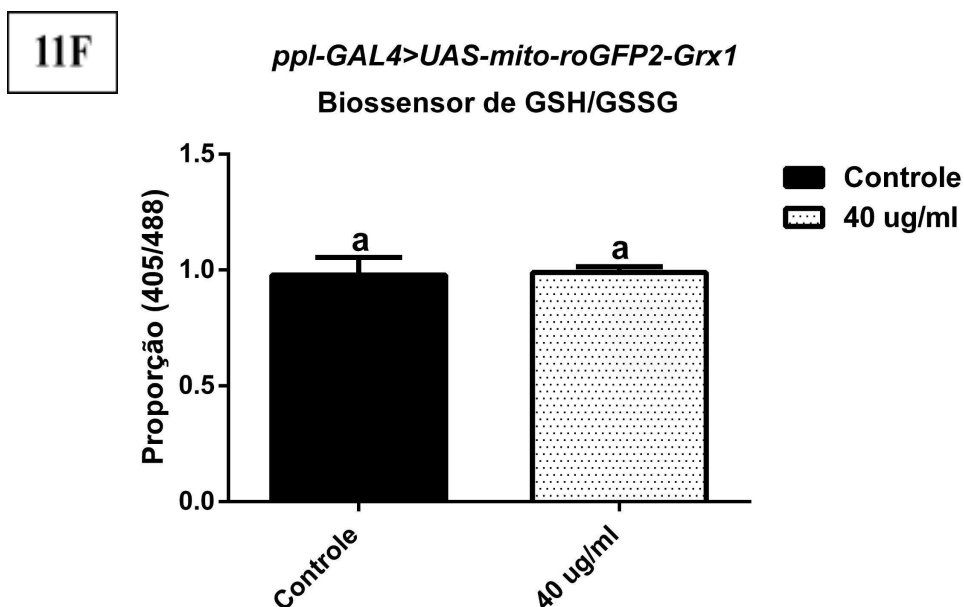


Figura 11. Análise da maior exposição do tratamento (40 µg/ml) na homeostase redox do corpo gorduroso. Nas figuras 11A e 11C, é representado o tecido adiposo utilizado como controle dos biossensores de peróxido de hidrogênio e glutathiona, respectivamente. Em 11B e 11D mostram o corpo gorduroso de animais com biossensores expostos a 40 µg/ml. As figuras 11E e 11F exibem a intensidade média dos pixels da proporção entre os canais de oxidação/redução. O gráfico mostra a média e o erro padrão da média (EPM), foi utilizado o teste One-way ANOVA, seguido do teste de média de Tukey, (a) representa valor de $p > 0,05$.

Fonte: Autor (2024)

Dado que a biocompatibilidade foi confirmada através de parâmetros como pupação por dia, letalidade larval, pupação total e homeostase redox, a bioconjugação de drogas ou biomoléculas em PQUPs de CdSe/CdS é de grande interesse. Quando as nanopartículas são devidamente funcionalizadas, elas podem reduzir os efeitos colaterais dos medicamentos, representando assim uma nova e promissora área de terapia para doenças como o câncer (Cerqueira et al. 2015).

7 CONCLUSÃO

Apesar da complexidade da toxicidade dos pontos quânticos e da não generalização de seus efeitos, é importante reconhecer que as variações em sua composição e no tipo de revestimento da casca podem influenciar significativamente esses efeitos em diferentes organismos. Em nosso estudo, foi possível demonstrar a biocompatibilidade dos pontos quânticos ultrapequenos de núcleo de seleneto de cádmio e casca de sulfeto de cádmio (CdSe/CdS) em *Drosophila melanogaster*, avaliando parâmetros como pupação por dia, letalidade larval, pupação total, lifespan e análise da homeostase redox mitocondrial do corpo gorduroso. Certamente, esses resultados foram obtidos devido às características específicas de síntese e composição desses pontos quânticos, o que foi corroborado pela utilização deste organismo modelo bem estabelecido, permitindo uma investigação abrangente sobre nanotoxicologia. Essas descobertas ressaltam a importância de considerar cuidadosamente as propriedades dos pontos quânticos ao avaliar sua segurança em sistemas biológicos, ao mesmo tempo em que destacam o potencial promissor desses materiais para aplicações terapêuticas.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

Prosseguir com os experimentos utilizando marcadores enzimáticos, tais como catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), para avaliar, além dos biossensores *in vivo*, se o tratamento induz a geração de EROs. Utilizar a técnica de microscopia de fluorescência para rastrear os PQUPs de CdSe/CdS em *Drosophila melanogaster* nos estágios larval e adulto, com o objetivo de investigar a possibilidade de bioacumulação.

Além disso, realizar análises metabolômicas em larvas, utilizando o protocolo já estabelecido nos últimos meses do presente trabalho. Essa técnica sensível tem o objetivo de fornecer insights detalhados sobre os mecanismos subjacentes às alterações biológicas, conforme demonstrado por Kang et al. (2019). Esperamos que isso nos permita uma compreensão mais profunda dos mecanismos moleculares envolvidos tanto na resposta à hormese quanto ao estresse oxidativo. Assim, vislumbramos a publicação de um artigo em uma revista de alto impacto, consolidando nossas descobertas e contribuindo para o avanço sobre o uso de pontos quânticos na teranóstica.

9 REFERÊNCIAS

- A ZAIMY, M et al. New methods in the diagnosis of cancer and gene therapy of cancer based on nanoparticles. **Cancer Gene Therapy**, v. 24, n. 6, p. 233-243, jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/cgt.2017.16>.
- AGUILA, Jerell R. et al. The role of larval fat cells in adult *Drosophila melanogaster*. **Journal Of Experimental Biology**, v. 210, n. 6, p. 956-963, 15 mar. 2007. The Company of Biologists. <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.001586>.
- ALARABY, Mohamed et al. A comprehensive study of the harmful effects of ZnO nanoparticles using *Drosophila melanogaster* as an in vivo model. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 296, p. 166-174, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.04.053>.
- ALBRECHT, Simone C. et al. In Vivo Mapping of Hydrogen Peroxide and Oxidized Glutathione Reveals Chemical and Regional Specificity of Redox Homeostasis. **Cell Metabolism**, v. 14, n. 6, p. 819-829, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2011.10.010>.
- ALVES, Karoline da Silva. **EMBRIOTOXICIDADE EM ZEBRAFISH (Danio rerio) APÓS EXPOSIÇÃO AO PONTO QUÂNTICO ULTRA PEQUENO DE CÁDMIO E SELÊNIO COM CASCA E COBERTURA DE CdSe/CdS**. 2023. 33 f. TCC (Graduação) - Curso de Biologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2023.
- ANOZIE, Uche C. et al. Molecular links among non-biodegradable nanoparticles, reactive oxygen species, and autophagy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 122, p. 65-73, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2017.01.001>.
- ARORA, Sumit et al. Nanotoxicology and in vitro studies: the need of the hour. **Toxicology And Applied Pharmacology**, v. 258, n. 2, p. 151-165, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2011.11.010>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22178382/>.
- AVERILL-BATES, Diana A. et al. The antioxidant glutathione. **Vitamins And Hormones**, p. 109-141, 2023. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.vh.2022.09.002>.
- BANSAL, Richa et al. Nanotechnology in wood science: innovations and applications. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 262, p. 130025, mar. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130025>.
- BARHOUM, Ahmed et al. Review on Natural, Incidental, Bioinspired, and Engineered Nanomaterials: history, definitions, classifications, synthesis, properties, market, toxicities, risks, and regulations. **Nanomaterials**, v. 12, n. 2, p. 177, 6 jan. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nano12020177>.
- BASTOS, Victor Alexandre Félix. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE QUANTUM DOTS DE TAMANHOS MÁGICOS DE CdSe/CdS DO TIPO CORE SHELL NO MODELO ANIMAL C. elegans**. 2016. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Genética, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.
- BAYDA, Samer et al. The History of Nanoscience and Nanotechnology: from chemical*physical applications to nanomedicine. **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 112, 27 dez. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25010112>.

BONDY, Stephen C. et al. The Hormesis Concept: strengths and shortcomings. **Biomolecules**, v. 13, n. 10, p. 1512, 12 out. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biom13101512>.

BROWN, Peter D. et al. Nanomedicine: a pharma perspective. **Wires Nanomedicine And Nanobiotechnology**, v. 7, n. 2, p. 125-130, 4 set. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/wnan.1288>.

CADIOLI, Luiz Paulo; SALLA, Luzia Dizulina. Nanotecnologia: um estudo sobre seu histórico, definição e principais aplicações desta inovadora tecnologia. **Revista de Ciências exatas e tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 98-105, 2006. <https://exatastecnologias.pgsscogna.com.br/rcext/article/view/2403>.

CALABRESE, Edward J. et al. Hormesis defines the limits of lifespan. **Ageing Research Reviews**, v. 91, nov. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2023.102074>.

CAO, Xiangyu et al. Cadmium induced BEAS-2B cells apoptosis and mitochondria damage via MAPK signaling pathway. **Chemosphere**, v. 263, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128346>.

CAYGILL, Elizabeth E. et al. The GAL4 System: a versatile system for the manipulation and analysis of gene expression. **Methods In Molecular Biology**, p. 33-52, 2016. Springer New York. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-6371-3_2.

CERQUEIRA, Brenda Brenner S. et al. Nanoparticle therapeutics: technologies and methods for overcoming cancer. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, v. 97, p. 140-151, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.10.007>.

CHHIPA, Hemraj et al. Applications of nanotechnology in agriculture. **Methods In Microbiology**, p. 115-142, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.mim.2019.01.002>.

CHIFIRIUC, Mariana et al. Drosophotoxicology: an emerging research area for assessing nanoparticles interaction with living organisms. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 17, n. 2, p. 36, 14 fev. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17020036>.

CHRISHTOP, Vladimir V. et al. Nanosafety vs. nanotoxicology: adequate animal models for testing in vivo toxicity of nanoparticles. **Toxicology**, v. 462, p. 152952, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2021.152952>.

CONTERA, Sonia et al. Biotechnology, nanotechnology and medicine. **Emerging Topics In Life Sciences**, v. 4, n. 6, p. 551-554, 9 dez. 2020. Portland Press Ltd.. <http://dx.doi.org/10.1042/etls20200350>.

COSERT, Krista M. et al. Metallic Engineered Nanomaterials and Ocular Toxicity: a current perspective. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 5, p. 981, 3 maio 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics14050981>.

CUTLER, G. Christopher et al. Hormesis and insects: effects and interactions in agroecosystems. **Science Of The Total Environment**, v. 825, jun. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153899>.

DEMIR, Eşref et al. Drosophila as a Suitable In Vivo Model in the Safety Assessment of Nanomaterials. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, p. 275-301, 2022. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-88071-2_12.

DEMIR, Eşref; DEMIR, Fatma Turna. *Drosophila melanogaster* as a dynamic in vivo model organism reveals the hidden effects of interactions between microplastic/nanoplastic and heavy metals. **Journal Of Applied Toxicology**, v. 43, n. 2, p. 212-219, 9 jun. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jat.4353>.

DONAHUE, Nathan D. et al. Concepts of nanoparticle cellular uptake, intracellular trafficking, and kinetics in nanomedicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 143, p. 68-96, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2019.04.008>.

EL-KALLINY, Amer S. et al. Nanomaterials: a review of emerging contaminants with potential health or environmental impact. **Discover Nano**, v. 18, n. 1, 21 abr. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s11671-023-03787-8>.

FOROUHARI, Sedighe et al. Liposomes: ideal drug delivery systems in breast cancer. **Biotechnology And Applied Biochemistry**, v. 69, n. 5, p. 1867-1884, 21 set. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bab.2253>.

GRANDE, Fedora et al. Titanium Dioxide Nanoparticles: a risk for human health?. **Mini-Reviews In Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 9, p. 762-769, 4 abr. 2016. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1389557516666160321114341>.

GRILLO, Renato et al. Engineered nanoparticles and organic matter: a review of the state-of-the-art. **Chemosphere**, v. 119, p. 608-619, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.07.049>.

GUPTA, Ritu et al. Nanoparticles in Daily Life: applications, toxicity and regulations. **Journal Of Environmental Pathology, Toxicology And Oncology**, v. 37, n. 3, p. 209-230, 2018. Begell House. <http://dx.doi.org/10.1615/jenvironpatholtoxicoloncol.2018026009>.

GWINN, Maureen R. et al. Nanoparticles: health effects: pros and cons. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 12, p. 1818-1825, dez. 2006. Environmental Health Perspectives. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.8871>.

HU, Liang et al. Bioaccumulation and toxicity of CdSe/ZnS quantum dots in *Phanerochaete chrysosporium*. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, v. 159, p. 303-311, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.08.006>.

JESUS, João Paulo Almirão de. **SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE PONTOS QUÂNTICOS NÚCLEO/CASCA DE CdSe/CdS**. 2018. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso de Química Licenciatura, Departamento Acadêmico de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2018.

JHA, Swati et al. Pharmaceutical potential of quantum dots. **Artificial Cells, Nanomedicine, And Biotechnology**, v. 46, n. 1, p. 57-65, 7 dez. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/21691401.2017.1411932>.

KANG, Weilu et al. Study of the Persistence of the Phytotoxicity Induced by Graphene Oxide Quantum Dots and of the Specific Molecular Mechanisms by Integrating Omics and Regular Analyses. **Environmental Science & Technology**, v. 53, n. 7, p. 3791-3801, 14 mar. 2019. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.8b06023>.

KANSARA, Vrushti et al. Graphene quantum dots: a review on the effect of synthesis parameters and theranostic applications. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, v. 217, p. 112605, set. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112605>.

KHAN, Mohammad Afsar et al. Revisiting inorganic nanoparticles as promising therapeutic agents: a paradigm shift in oncological theranostics. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 164, p. 105892, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2021.105892>.

KHEIRI, Sina. et al. Nanoparticles at biointerfaces: antibacterial activity and nanotoxicology. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, v. 184, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110550>.

KHEIROLLAHPOUR, Mehdi et al. Nanoparticles and Vaccine Development. **Pharmaceutical Nanotechnology**, v. 8, n. 1, p. 6-21, 6 fev. 2020. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/2211738507666191024162042>.

KOROTCENKOY G. el al. Introduction to nanomaterials and nanotechnology. **Chemical Sensors: Fundamentals of Sensing Materials**, v. 2, Nanostructured Materials, nov. 2010. https://www.researchgate.net/profile/GKorotcenkov/publication/286451874_Introduction_to_nanomaterials_and_nanotechnology/links/639b487a484e65005b10c1dd/Introduction-to-nano-materials-and-nanotechnology.pdf.

KOROTKOV, Sergey M. et al. Mitochondrial Oxidative Stress Is the General Reason for Apoptosis Induced by Different-Valence Heavy Metals in Cells and Mitochondria. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 24, n. 19, p. 14459, 22 set. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms241914459>.

LE, Nhi et al. Quantum Dots and Their Interaction with Biological Systems. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 23, n. 18, p. 10763, 15 set. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms231810763>.

LEKSHMI, A. Ardra et al. Synthesis, characterization and versatile applications of silver nanoparticles – A bioinspired approach. **Materials Today: Proceedings**, jan. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2024.01.014>.

LEUNG K. Quantum dot-trastuzumab. 1º de março de 2007 [Atualizado em 24 de fevereiro de 2011]. In: Banco de dados de imagens moleculares e agentes de contraste (MICAD) [Internet]. Bethesda (MD): Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia (EUA); 2004-2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK23521/#>

LEWINSKI, Nastassja et al. Cytotoxicity of Nanoparticles. **Small**, v. 4, n. 1, p. 26-49, 11 jan. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/smll.200700595>.

LI, Binjing et al. Research progress of nanoparticle toxicity signaling pathway. **Life Sciences**, v. 263, p. 118542, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118542>.

LIN, Xiaotan et al. A Review of in vivo Toxicity of Quantum Dots in Animal Models. **International Journal Of Nanomedicine**, v. 18, p. 8143-8168, dez. 2023. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s434842>.

LINFORD, N. et al. Measurement of lifespan in *Drosophila melanogaster*. **Journal of visualized experiments: JoVE**, v. 71, 2013.

LIU, Zhiquan et al. Emerging trends in nanoparticle toxicity and the significance of using *Daphnia* as a model organism. **Chemosphere**, v. 291, p. 132941, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132941>.

LUO, Yueh-Hsia et al. Cadmium-Based Quantum Dot Induced Autophagy Formation for Cell Survival via Oxidative Stress. **Chemical Research In Toxicology**, v. 26, n. 5, p. 662-673, 25 abr. 2013. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/tx300455k>.

MA, Xulu et al. Inorganic Nanoparticles-Based Systems in Biomedical Applications of Stem Cells: opportunities and challenges. **International Journal Of Nanomedicine**, v. 18, p. 143-182, jan. 2023. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s384343>.

MALIK, Shiza et al. Nanotechnology: a revolution in modern industry. **Molecules**, v. 28, n. 2, p. 661, 9 jan. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28020661>.

MATEA, Cristian et al. Quantum dots in imaging, drug delivery and sensor applications. **International Journal Of Nanomedicine**, v. 12, p. 5421-5431, jul. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s138624>.

MATTEIS, Valeria de; RINALDI, Rosaria. Toxicity Assessment in the Nanoparticle Era. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, p. 1-19, 2018. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-72041-8_1.

MISHRA, Monalisa et al. Reactive oxygen species: the root cause of nanoparticle-induced toxicity in drosophila melanogaster. **Free Radical Research**, v. 55, n. 8, p. 919-935, 20 abr. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10715762.2021.1914335>.

MISSAOUI, Wided N. et al. Toxicological status of nanoparticles: what we know and what we don't know. **Chemico-Biological Interactions**, v. 295, p. 1-12, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2018.07.015>.

MOHAMMADINEJAD, Reza et al. Necrotic, apoptotic and autophagic cell fates triggered by nanoparticles. **Autophagy**, v. 15, n. 1, p. 4-33, 13 set. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/15548627.2018.1509171>.

NAJAH-MISSAOUI, Wided et al. Safe Nanoparticles: are we there yet?. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 385, 31 dez. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22010385>.

NAMAKKA, Murtala et al. A review of nanoparticle synthesis methods, classifications, applications, and characterization. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 20, p. 100900, dez. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enmm.2023.100900>.

NI, Jen-Shyang et al. Nanoparticle-based Cell Trackers for Biomedical Applications. **Theranostics**, v. 10, n. 4, p. 1923-1947, 2020. Ivyspring International Publisher. <http://dx.doi.org/10.7150/thno.39915>.

Núñez, Cristina et al. Inorganic nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer. **Jbic Journal Of Biological Inorganic Chemistry**, v. 23, n. 3, p. 331-345, 16 fev. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00775-018-1542-z>.

OBERDÖRSTER, Günter et al. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 7, p. 823-839, jul. 2005. Environmental Health Perspectives. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.7339>.

ONG, Cynthia et al. Drosophila melanogaster as a model organism to study nanotoxicology. **Nanotoxicology**, v. 9, n. 3, p. 396-403, 22 jul. 2014. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/17435390.2014.940405>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25051331/>.

PAITHANKAR, Jagdish Gopal et al. Systematic toxicity assessment of CdTe quantum dots in *Drosophila melanogaster*. **Chemosphere**, v. 295, p. 133836, maio 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133836>.

PANDEY, Udai Bhan et al. Human Disease Models in *Drosophila melanogaster* and the Role of the Fly in Therapeutic Drug Discovery. **Pharmacological Reviews**, v. 63, n. 2, p. 411-436, 17 mar. 2011. American Society for Pharmacology & Experimental Therapeutics (ASPET). <http://dx.doi.org/10.1124/pr.110.003293>.

PAUNOVIC, Jovana et al. Iron-based nanoparticles and their potential toxicity: focus on oxidative stress and apoptosis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 316, p. 108935, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2019.108935>.

PHAFAT, Bhushan et al. Quantum Dots as Theranostic Agents: recent advancements, surface modifications, and future applications. **Mini-Reviews In Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 12, p. 1257-1272, jul. 2023. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1389557522666220405202222>.

PIKULA, Konstantin et al. Risk assessments in nanotoxicology: bioinformatics and computational approaches. **Current Opinion In Toxicology**, v. 19, p. 1-6, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cotox.2019.08.006>.

PRAJITHA, N. et al. Bio-interactions and risks of engineered nanoparticles. **Environmental Research**, v. 172, p. 98-108, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2019.02.003>.

RAMANATHAN, Sahana et al. Theranostic applications of nanoparticles in neurodegenerative disorders. **International Journal Of Nanomedicine**, v. 13, p. 5561-5576, set. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s149022>.

RAND, Matthew D. et al. Perspectives on the *Drosophila melanogaster* Model for Advances in Toxicological Science. **Current Protocols**, v. 3, n. 8, p. 346, ago. 2023. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cpz1.870>.

RAO, G. Naga Mallikarjun et al. A review on synthesis, characterization and applications of nanoparticles in polymer nanocomposites. **Materials Today: Proceedings**, set. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2023.09.135>.

REIS, Tânia et al. Neuronal Regulation of Energy Homeostasis in *Drosophila*: a practical approach. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2023, n. 5, 20 jan. 2023. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/pdb.top107824>.

ROLFF, Jens et al. Complete metamorphosis of insects. **Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences**, v. 374, n. 1783, p. 20190063, 26 ago. 2019. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2019.0063>.

SAIFI, Mohd Aslam et al. Cytotoxicity of Nanomaterials: using nanotoxicology to address the safety concerns of nanoparticles. **Pharmaceutical Nanotechnology**, v. 6, n. 1, p. 3-16, 13 abr. 2018. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/2211738505666171023152928>.

SANFELICE, Rafaela C. et al. Introdução à nanotecnologia. 2022. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1148352/1/P-INTRODUCAO-A-NANO-TECNOLOGIA.pdf>

SARITHA, Golla Nagaraju Gari et al. Nanotechnology - Big impact: how nanotechnology is changing the future of agriculture?. **Journal Of Agriculture And Food Research**, v. 10, p. 100457, dez. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100457>.

SARMA, Anupam et al. Therapeutic nanostructures and nanotoxicity. **Journal Of Applied Toxicology**, v. 41, n. 10, p. 1494-1517, 28 fev. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jat.4157>.

SHENG, Yang et al. Nanoparticles for Molecular Imaging. **Journal Of Biomedical Nanotechnology**, v. 10, n. 10, p. 2641-2676, 1 out. 2014. American Scientific Publishers. <http://dx.doi.org/10.1166/jbn.2014.1937>.

SHETE, Meghanath B. et al. Current trends in theranostic nanomedicines. **Journal Of Drug Delivery Science And Technology**, v. 71, p. 103280, maio 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103280>.

SILVA, Anielle Christine A. et al. Shell Thickness Modulation in Ultrasmall CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS Core/Shell Quantum Dots via 1-Thioglycerol. **ACS Nano**, v. 8, n. 2, p. 1913-1922, 29 jan. 2014. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/nn406478f>.

SILVA, Anielle Christine Almeida da. **Pontos quânticos semicondutores sintetizados via soluções coloidais aquosas: estudos e aplicações nanobiotecnológicas**. 2014. 142 f. Tese (Doutorado) - Curso de Física, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/15614/1/PontosQuanticosSemicondutores.pdf>.

SILVA, Jefferson F. et al. Supersensitive nanothermometer based on CdSe/CdS_xSe_{1-x} magic-sized quantum dots with in vivo low toxicity. **Chemical Engineering Science**, v. 264, p. 118153, dez. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ces.2022.118153>.

SOARES, Eduardo V. et al. Harmful effects of metal(loid) oxide nanoparticles. **Applied Microbiology And Biotechnology**, v. 105, n. 4, p. 1379-1394, fev. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-021-11124-1>.

SOME, Surajit et al. Cancer Therapy Using Ultrahigh Hydrophobic Drug-Loaded Graphene Derivatives. **Scientific Reports**, v. 4, n. 1, 10 set. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep06314>.

SUFIAN, Mian Muhammad et al. Safety issues associated with the use of nanoparticles in human body. **Photodiagnosis And Photodynamic Therapy**, v. 19, p. 67-72, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.05.012>.

SUNG, Hyuna et al. Global Cancer Statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **Ca: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-249, 4 fev. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21660>.

TAN, Yoke Ying et al. Perspectives and advancements in the design of nanomaterials for targeted cancer theranostics. **Chemico-Biological Interactions**, v. 329, p. 109221, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109221>.

TOSAT-BITRIÁN, Carlota et al. CdSe quantum dots evaluation in primary cellular models or tissues derived from patients. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 30, p. 102299, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2020.102299>.

TYNE, William et al. Hormesis depends upon the life-stage and duration of exposure: examples for a pesticide and a nanomaterial. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 120, p. 117-123, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.05.024>.

WANG, Yan et al. Dysfunction of various organelles provokes multiple cell death after quantum dot exposure. **International Journal Of Nanomedicine**, v. 13, p. 2729-2742, maio 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s157135>.

WU, Dejun et al. Glioma nanomedicine: design, fabrication and theranostic application. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 505, p. 215696, abr. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2024.215696>.

XU, Yilan et al. The application of multifunctional nanomaterials in Alzheimer's disease: a potential theranostics strategy. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 137, p. 111360, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111360>.

YAMAGUCHI, Masamitsu et al. Drosophila as a Model Organism. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, p. 1-10, 2018. Springer Singapore. http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-0529-0_1.

YANG, Pingping et al. Effects of cadmium on oxidative stress and cell apoptosis in Drosophila melanogaster larvae. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 19 mar. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-022-08758-0>.

YANG, Wen et al. Nanoparticle Toxicology. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 61, p. 269-289, jan. 2021. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-032320-110338>.

YAO, Yongshuai et al. Toxicity mechanism of engineered nanomaterials: focus on mitochondria. **Environmental Pollution**, v. 343, p. 123231, fev. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2023.123231>.

ZARSCHLER, Kristof et al. Ultrasmall inorganic nanoparticles: state-of-the-art and perspectives for biomedical applications. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 12, n. 6, p. 1663-1701, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2016.02.019>.

ZHAO, Na et al. Advances in Delivery Systems for Doxorubicin. **Journal Of Nanomedicine & Nanotechnology**, v. 09, n. 05, 2018. OMICS Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7439.1000519>.

ZHENG, Huimei et al. Fat body remodeling and homeostasis control in Drosophila. **Life Sciences**, v. 167, p. 22-31, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2016.10.019>.

ZHU, Shuang et al. Research trend of nanoscience and nanotechnology – A bibliometric analysis of Nano Today. **Nano Today**, v. 39, p. 101233, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nantod.2021.101233>.

ZUBEREK, Mariusz et al. Nanoparticles-Caused Oxidative Imbalance. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, p. 85-98, 2018. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-72041-8_6.