

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

RUAN PIRES DA SILVA

AVALIAÇÃO *in vitro* DO POTENCIAL ANTITUMORAL E
ANTIMICROBIANO DE NANOCRISTAIS DE ÓXIDO DE ZINCO DOPADOS COM
PRATA

UBERLÂNDIA - MG
AGOSTO DE 2025

RUAN PIRES DA SILVA

**AVALIAÇÃO *in vitro* DO POTENCIAL ANTITUMORAL E
ANTIMICROBIANO DE NANOCRISTAIS DE ÓXIDO DE ZINCO DOPADOS COM
PRATA**

Monografia apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito final para a obtenção
do título de Bacharel em Biotecnologia

**Orientador: Prof. Dr. Robson José de
Oliveira Júnior**

Coorientador: Lucas Ian Veloso Correia

UBERLÂNDIA – MG

AGOSTO DE 2025

*“A verdadeira viagem de descobrimento
não consiste em procurar novas
paisagens, mas em ter novos olhos”.*
Marcel Proust

AGRADECIMENTOS

Grande parte da minha motivação e inspiração foi nutrida pela comunidade de afeto que me cercou ao longo desses anos. A vida torna-se mais leve quando temos ao nosso lado pessoas as quais dividimos nossas conquistas e vulnerabilidades.

Desde o ventre, pude sentir o amor inquestionável de minha mãe, Simone, e de meu irmão, Rian, fontes de minha dedicação e inspiração, raízes que sustentam e dão sentido ao caminho que escolhi trilhar.

Estendo minha sincera gratidão ao meu núcleo familiar: meu pai, Reginaldo, minha irmã, Raíssa, minhas avós, Irma e Odenir, e minhas primas, Laura e Luara, que sempre torceram por mim e estiveram presentes em cada etapa desta trajetória.

Aos meus amigos da graduação Arthur, Anna, Alander, Lavynia e Nicole que tive o privilégio de cruzar em seus caminhos e carregar comigo um pouquinho de suas formas tão singulares de ver o mundo. Também deixo registrado meu carinho pelas amizades que resistiram ao tempo desde a infância, em especial à Júlia, que se tornou presença constante e essencial em minha vida.

Agradeço a toda equipe do Laboratório de Nanobiotecnologia Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho. Em especial à Sabrina e ao Lucas, que não apenas me acolheram, mas também me deram a confiança necessária para acreditar no meu potencial e me enxergar, enfim, como o cientista que sempre desejei ser.

Por fim, dirijo minha gratidão ao meu orientador, Prof. Dr. Robson, pela oportunidade de realizar esta pesquisa. Estendo meus agradecimentos à Universidade Federal de Uberlândia, bem como às agências e projetos que fomentam o laboratório: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e INCT-TeraNano, cujo apoio financeiro foi essencial para a execução deste trabalho.

Concluo, portanto, estes agradecimentos reiterando meu apreço pelas conexões estabelecidas ao longo desta trajetória, na certeza de que a ciência, em sua essência, é feita de pessoas e destinada a pessoas.

RESUMO

O câncer representa um dos principais problemas de saúde pública mundial, devido sua alta incidência e mortalidade. Apesar dos avanços terapêuticos, os tratamentos oncológicos convencionais ainda apresentam efeitos colaterais significativos, como a imunossupressão, que comprometem a resposta imunológica do paciente e aumentam o risco de infecções oportunistas. Deste modo, a busca por agentes terapêuticos com propriedades antimicrobianas associadas à atividade antitumoral é particularmente relevante, pois pode ampliar a eficácia clínica e reduzir complicações infecciosas durante o tratamento. Neste contexto, este trabalho avaliou o potencial *in vitro* antitumoral e antimicrobiano de nanocristais de óxido de zinco (ZnO) dopados com diferentes teores de prata. Os ensaios de viabilidade celular demonstraram que os tratamentos não atingiram índice de seletividade (IS) ≥ 2 , embora os tratamentos ZnO: 0,3 Ag e ZnO:0,7 Ag alcançaram IS de 1,53 e 1,54, respectivamente, para a linhagem tumoral de próstata (PC-3). Por outro lado, a linhagem de pulmão (A549) mostrou baixa sensibilidade, com ausência de redução da viabilidade celular significativa na maioria das concentrações. Em relação à atividade antimicrobiana, observou-se que apenas os nanocristais com altas concentrações de prata exibiram efeito marcante. Em particular, a formulação com 11% de dopagem apresentou inibição intensa contra todas as cepas avaliadas, as quais incluem *Staphylococcus aureus* e sua cepa mutante resistente à meticilina, *Pseudomonas aeruginosa* VIM, *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*. Esses resultados evidenciam o impacto da dopagem metálica na atividade biológica, destacando o potencial dos nanocristais ZnO:Ag em terapias integradas nos tratamentos oncológicos e no combate a infecções bacterianas.

Palavras-chave: Câncer de próstata; Câncer de pulmão; Bactérias multirresistentes; Nanotecnologia.

ABSTRACT

Cancer represents one of the major global public health problems due to its high incidence and mortality. Despite therapeutic advances, conventional oncological treatments still present significant side effects, such as immunosuppression, which compromise the patient's immune response and increase the risk of opportunistic infections. Thus, the search for therapeutic agents with antimicrobial properties combined with antitumor activity is particularly relevant, as it may enhance clinical efficacy and reduce infectious complications during treatment. In this context, this study evaluated the in vitro antitumor and antimicrobial potential of zinc oxide (ZnO) nanocrystals doped with different silver contents. Cell viability assays demonstrated that the treatments did not reach a selectivity index (SI) ≥ 2 , although ZnO:0.3Ag and ZnO:0.7Ag treatments achieved SI values of 1.53 and 1.54, respectively, for the prostate cancer cell line (PC-3). On the other hand, the lung cancer cell line (A549) showed low sensitivity, with no significant reduction in cell viability at most concentrations. Regarding antimicrobial activity, it was observed that only nanocrystals with high silver concentrations exhibited a marked effect. In particular, the formulation with 11% doping showed strong inhibition against all evaluated strains, which included *Staphylococcus aureus* and its methicillin-resistant mutant strain, *Pseudomonas aeruginosa* VIM, carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhimurium*. These results highlight the impact of metallic doping on biological activity, underscoring the potential of ZnO:Ag nanocrystals for integrated therapies in cancer treatment and in combating bacterial infections.

Keywords: Prostate cancer; Lung cancer; Multidrug-resistant bacteria; Nanotechnology.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ad12SV40: Vírus híbrido entre o SV40 e o adenovírus 12
ANOVA: Análise de variância
ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHI: Infusão Cérebro-Coração
CPCP: Carcinoma Pulmonar de Pequenas Células
CPNPC: Carcinoma Pulmonar de Não Pequenas Células
CRPC: câncer de próstata resistente à castração
EGFR: Fator de Crescimento Epidérmico
IC₅₀: Razão entre as concentrações necessárias para reduzir 50% da viabilidade celular
IS: Índice de Seletividade
KEAP1: *Kelch-like ECH-associated protein*
KPC: *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos
MHA: Ágar Mueller Hinton
MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina
NCs: Nanocristas
NRF2: *Nuclear Factor Erythroid 2 Related Factor 2*
OMS: Organização Mundial da Saúde
Pa/VIM: *Pseudomonas aeruginosa* VIM
PBS: Solução Salina Tamponada com Fosfato
PCR: *Polymerase Chain Reactio*
PEG: Polietilenoglico
PLGA: Ácido poli (lático-co-glicólico)
PSA: Antígeno Prostático Específico
ROS: Espécies Reativas de Oxigênio
RPMI: Roswell Park Memorial Institute
STRs: Short Tandem Repeats
SV40: Simian Virus 40
TSA: Ágar de Soja Triptona
Zn₃(PO₄)₂: Fosfato de zinco
ZnO: Óxido de zinco
ZnO:Ag: Óxido de zinco dopado com prata

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática das dez “Hall Marks” essenciais.....	12
Figura 2 - Estrutura de revestimento tripla de bactérias Gram-negativas	17
Figura 3 - Distribuição dos átomos de zinco (Zn) e oxigênio (O) na estrutura cristalina hexagonal do tipo wurtzita do ZnO	21
Figura 4 - Vias de dopagem na rede cristalina de nanomateriais	22
Figura 5 - Reação de redução da resazurina	25

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Gráfico de barras da viabilidade celular da linhagem PNT-2 após o tratamento com nanocristais de ZnO (óxido de zinco) puro e dopados com prata.....	30
Gráfico 2 - Gráfico de barras da viabilidade celular da linhagem PC-3 após o tratamento com nanocristais de ZnO (óxido de zinco) puro e dopados com prata.....	32
Gráfico 3 - Gráfico de barras da viabilidade celular da linhagem BEAS-2B após o tratamento com nanocristais de ZnO (óxido de zinco) puro e dopados com prata.....	34
Gráfico 4 - Gráfico de barras da viabilidade celular da linhagem A549 após o tratamento com nanocristais de ZnO (óxido de zinco) puro e dopados com prata.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - IC ₅₀ das linhagens celulares de próstata e pulmão	37
Tabela 2 – Índice de Seletividade comparativo das linhagens de próstata e pulmão ...	38
Tabela 3 - Análise qualitativa do potencial antimicrobiano dos nanocristais.....	38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 EPIDEMIOLOGIA E ETIOLOGIA DO CÂNCER	11
1.1.1 Câncer de próstata	13
1.1.2 Câncer de pulmão.....	14
1.2 IMUNOSSUPRESSÃO RELACIONADA À ONCOLOGIA	15
1.2.1 Cenário das infecções bacterianas	17
1.3 NANOCRISTÁIS DE ÓXIDOS METÁLICOS.....	19
1.3.1 Nanocristais de óxido de zinco dopados com prata.....	21
2. OBJETIVOS.....	23
2.1 OBJETIVO GERAL:	23
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 SÍNTESE DOS NANOCRISTÁIS	24
3.2 MANUTENÇÃO DAS LINHAGENS CELULARES:.....	24
3.3 TESTE DE MICOPLASMA	25
3.4 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR POR RESAZURINA:	25
3.5 ÍNDICE DE SELETIVIDADE (IS).....	26
3.6 MULTIPLICAÇÃO DAS BACTÉRIAS	27
3.7 ENSAIO DE ANTIBIOGRAMA	27
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS:.....	27
4. RESULTADOS	28
4.1 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR COM RESAZURINA:	28
4.2 IC ₅₀ E ÍNDICE DE SELETIVIDADE.....	37
4.3 ANTIBIOGRAMA.....	38
5. DISCUSSÃO	39
5.1 ATIVIDADE SOB AS LINHAGENS CELULARES	40
5.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	44
6. CONCLUSÃO.....	45
REREFRÊNCIAS.....	45

1. INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia e etiologia do câncer

A conceituação do câncer, mesmo antes de sua definição formal como entidade patológica, permeia a história da medicina. Registros arqueológicos, como um papiro egípcio do século VII a.C. atribuído a Imhotep, já descreviam massas tumorais invasivas, evidenciando a antiguidade desta enfermidade. A terminologia que hoje empregamos tem suas raízes na Grécia Antiga: Hipócrates (c. 400 a.C.), ao observar a morfologia de tumores com vasos sanguíneos radialmente dilatados, cunhou o termo *karkinos* (caranguejo) pela analogia visual com o crustáceo. Paralelamente, a palavra *onkos* (massa ou fardo) capturava a percepção da doença como um peso imposto ao corpo. No que diz respeito à sua etiologia, Hipócrates propôs a influente Teoria Humoral, atribuindo a origem do câncer e de outras doenças a um desequilíbrio entre os quatro fluidos corporais essenciais: sangue, catarro, bile amarela e bile negra. Séculos mais tarde, Stah e Hoffmann sugeriram que a causa estaria associada a processos de fermentação e degradação da linfa. No entanto, foi somente no século XIX, com a Teoria Blastema de Johannes Müller, que se demonstrou definitivamente que o câncer era, em sua essência, uma proliferação de células anômalas, marcando a transição da doença de uma concepção filosófica para uma base celular e científica (Freitas, 2023),

Hoje, o termo câncer é utilizado para englobar um conjunto heterogêneo de mais de 200 doenças, conhecidas como neoplasias malignas. Sua característica fundamental reside na divisão desordenada e descontrolada de células do organismo, as quais adquirem a capacidade de invadir tecidos adjacentes e metastatizar para órgãos distantes, interferindo severamente na homeostasia corporal. Embora compartilhem essas características comuns de malignidade, os diversos tipos de câncer são patologias distintas, apresentando notável variabilidade em sua origem genética e histopatológica, padrão de progressão, grau de agressividade, opções terapêuticas e resposta ao tratamento (INCA, 2022).

A descobertas destas características tornou-se possível devido os avanços científicos marcados ao longo do século XX, dentre eles a identificação de duas famílias de genes com funções antagônicas relacionadas ao câncer: os proto-oncogenes, envolvidos no estímulo ao crescimento e divisão celular, e os genes supressores de tumor, associados à apoptose (morte celular programada), à reparação de danos no DNA e à inibição da proliferação celular. Em condições fisiológicas saudáveis, ambos desempenham funções de vigilância no genoma (Caldeira, 2016). Contudo, estão sujeitos a modificações, sejam elas hereditárias ou adquiridas

por exposições ambientais, dieta ou hormônios, as quais podem levar à proliferação descontrolada de células neoplásicas, possibilitando o desenvolvimento de tumores malignos (Klaunig, 2018).

Diante desse panorama de avanços no entendimento do funcionamento celular das células tumorais, o conceito “Hall Marks” introduzido por Weinberg e Hanahan em 2000 e atualizados em 2022 foi expandido ao longo dos anos, esse engloba dez marcas essenciais que definem a biologia das células neoplásicas humanas, as quais conferem vantagens quando comparadas a células normais. Essas marcas incluem: produção da própria sinalização proliferativa; evasão dos supressores de crescimento; evasão do apoptose; imortalidade sustentada; angiogênese sustentada; invasão e metástase; inflamação promotora tumoral; instabilidade genômica e mutações; desregulação da energética celular e escape do sistema imune conforme ilustrado na Figura 1.

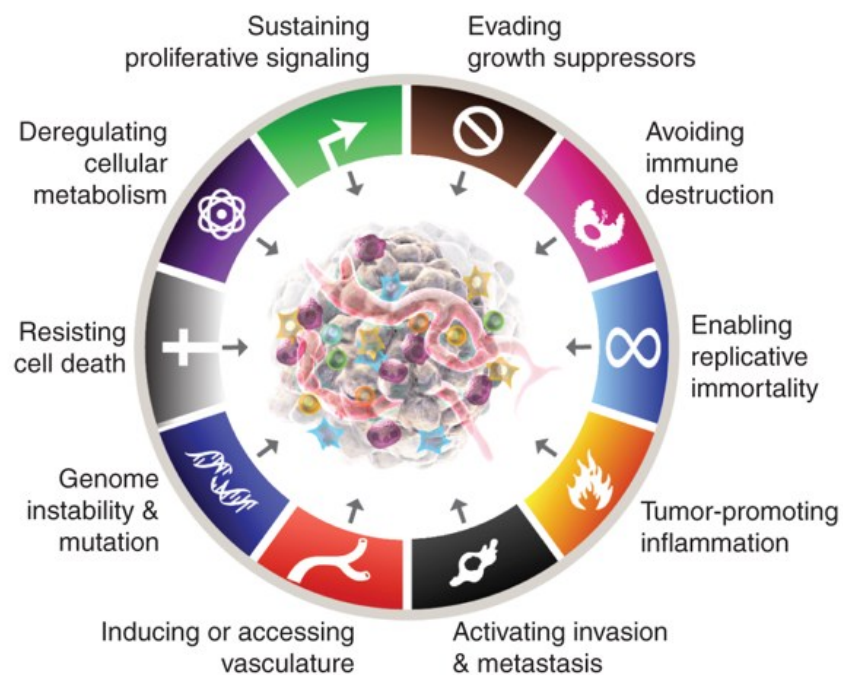


Figura 1 - Representação esquemática das dez “Hall Marks” essenciais

Fonte: Adaptado de Hanahan (2022)

As mutações descritas por Weinberg e Hanahan decorrem, em grande parte, de fatores ambientais, do estilo de vida e de predisposições genéticas da população. Esses elementos contribuem para que o câncer se consolide como o principal problema de saúde pública mundial, com mais de 19 milhões de casos registrados globalmente em 2022 segundo a International Agency for Research on Cancer (IARC). Dentre esses casos, o câncer de pulmão

apresentou a maior incidência, com 2,5 milhões de novos casos (12,4% do total), seguido pelo o câncer de próstata, com aproximadamente 1,5 milhão de casos (7,3%). Para a população brasileira, a IARC projeta um incremento de 83,5% na incidência de casos até o ano de 2050.

Diante desses dados, evidencia-se que os cânceres de pulmão e próstata não apenas configuram um desafio crescente para a saúde pública, mas também geram impactos sociais e econômicos relevantes. O aumento expressivo de sua incidência implica maior demanda por recursos do sistema de saúde, além de refletir diretamente na qualidade de vida dos pacientes e de suas famílias, reforçando a urgência de estratégias eficazes de prevenção, diagnóstico precoce e tratamento.

1.1.1 Câncer de próstata

A próstata é um órgão pélvico, localizado na parte inferior à bexiga e anterior ao reto. É a principal glândula acessória do sistema reprodutor masculino, responsável pela produção do fluido prostático, que favorece a nutrição, sobrevivência e movimentação dos espermatozoides após a ejaculação (Pernar *et al.*, 2018). A classificação histológica do câncer de próstata segue as diretrizes de 2016 da Organização Mundial de Saúde para tumores do sistema urinário e órgãos sexuais masculinos sendo eles: tumores epiteliais, mesenquimais, hemato-linfoides, mistos e neuroendócrinos (Humphrey *et al.*, 2016).

As neoplasias malignas de próstata ocupam a segunda posição entre os tipos de câncer mais incidentes na população masculina mundial, totalizando aproximadamente 1,4 milhão de novos casos em 2020. No contexto brasileiro, desconsiderando-se os tumores de pele não melanoma, o câncer de próstata também figura como o segundo mais frequente na população em geral. Para o triênio 2023–2025, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estima a ocorrência de cerca de 71.730 novos casos por ano. Entre os homens, trata-se do tipo de câncer mais incidente, com risco estimado de 67,86 casos a cada 100 mil habitantes (INCA, 2023).

O rastreamento do câncer de próstata é recomendado para homens acima de 45 anos de idade, majoritariamente feito com toque retal associado a dosagem sérica do antígeno prostático específico (PSA) (Steffen *et al.*, 2018). O toque retal verifica a regularidade, tamanho, forma, consistência, sensibilidade, presença de nódulos e entre outras características da glândula. Enquanto o PSA avalia a quantidade de antígenos prostáticos específicos feito por meio da coleta de sangue, utilizado clinicamente para embasar o diagnóstico, prognóstico e monitoramento da terapia. (Silvestre *et al.*, 2021).

Como o câncer de próstata é geralmente assintomático em seus estágios iniciais, a realização combinada de exames preventivos constitui um método eficaz de rastreamento, aumentando as chances de remissão quando o tumor é detectado precocemente. Esse

diagnóstico precoce contribui para a redução das sequelas associadas ao tratamento, favorecendo um manejo clínico menos invasivo e melhorando o prognóstico do paciente (Wei *et al.*, 2023).

Entretanto, as normas sociais de masculinidade desencorajam o autocuidado e contribuem para a evasão da população masculina aos programas de saúde preventiva, o preconceito relacionado aos métodos de prevenção do câncer de próstata, principalmente, ao exame de toque retal, constitui uma barreira significativa a adesão dos homens aos serviços de saúde. Como consequência, gera-se um aumento de diagnósticos tardios, dificultando o tratamento e elevando a mortalidade associadas às neoplasias prostáticas (Leal *et al.*, 2023).

A terapia hormonal primária tende a mostrar um bom prognóstico como resposta inicial, com remissão a qual geralmente dura de 1 a 2 anos. No entanto, as células malignas tornam-se resistentes a essa terapia, progredindo para um estado de câncer de próstata resistente à castração (CRPC) com potencial metastático. Uma vez que se torna CRPC metastático, há poucas opções de tratamentos eficazes disponíveis e o paciente passa a ter um prognóstico desfavorável, com uma taxa de sobrevivência limitada, destacando a necessidade pela busca de novos tratamentos (Teo; Rathkopf; Kantoff, 2019; Mansinho *et al.*, 2018; Haung *et al.*, 2023).

1.1.2 Câncer de pulmão

Os pulmões são órgãos de formato piramidal, que estão situados de cada lado da coluna vertebral, e apoiados sobre o diafragma, na cavidade torácica. O pulmão direito apresenta maior volume e largura, sendo dividido em três lobos: superior, médio e inferior, enquanto o pulmão esquerdo possui apenas dois lobos, superior e inferior. Ambos são revestidos pela pleura, uma membrana serosa que reduz o atrito durante os movimentos respiratórios. A principal função dos pulmões é a hematose, processo pelo qual ocorre a troca gasosa entre o oxigênio inalado e o dióxido de carbono proveniente do metabolismo celular (Duarte, 2014).

A classificação histológica do câncer de pulmão divide-se em carcinomas de pequenas células (CPCP), caracterizados pelo seu rápido crescimento associado frequentemente a alta metástase, e carcinomas de não pequenas células (CPNPC), mais comuns, os quais incluem o carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma e carcinoma de células grandes (INCA, 2022).

Atualmente, o câncer de pulmão tem como principal causa o tabagismo, devido a sua popularização ao fim do século XIX, com o advento da mecanização e das propagandas de consumo em massa. Este tem prevalência na população masculina, possivelmente por conta da maior exposição ao fumo, piores hábitos de vida e alimentação, além da pouca procura por

serviços de saúde, entretanto a população feminina apresentou maior crescimento padrão no período de 2013 a 2019, seguindo a tendência das últimas décadas de aproximação das taxas de incidência entre os sexos (Nunes; Kock, 2024; Tolwin; Gillis; Peled, 2020).

O tabagismo e a idade são critérios pertinentes para classificar os grupos de risco nas diretrizes de rastreamento do câncer de pulmão. Em 2019, o percentual de pacientes diagnosticados com câncer de pulmão que são fumantes e ex-fumantes no RHC (Registro Hospitalar de Câncer) representava 80% casos. Em relação a idade, 73% dos casos totais eram de pacientes com 60 anos ou mais (Campos *et al.*, 2024).

O pulmão, principal órgão integrante do sistema respiratório, quando sujeito as neoplasias malignas assume a terceira colocação das estimativas para o período de 2018-2040 em incidência (22,5%) e mortalidade (18,6%) em ambos os sexos feitas pelo projeto GLOBOCAN da World Health Organization International / Agency for Research on Cancer (WHO/IARC).

No Brasil, a estimativa para cada ano do triênio 2023-2025 é de 32.560 novos casos, sendo 18.020 entre os homens e 14.540 entre as mulheres, representando um risco estimado de 17,06 e 13,15 a cada 100 mil habitantes, respectivamente (INCA, 2022). Em termos de mortalidade, em 2020, ocorreram 16.009 óbitos por essa neoplasia maligna segundo o INCA (2022).

As tendências da mortalidade por câncer de pulmão no Brasil estão fortemente relacionadas ao diagnóstico tardio, principalmente, gerado pela falta de incorporação e distribuição das tecnologias direcionadas a detecção deste, estima-se que cerca de 70% dos pacientes com CPNPC sejam diagnosticados em estágios localmente avançados ou metastáticos (III e IV, respectivamente). Além da alta taxa de diagnósticos em estágio tardio, observa-se também uma baixa frequência de pacientes que recebem tratamento, sendo esses seguindo a linha padrão de cirurgias de remoção do tumor atreladas com rádio e quimioterapias (Araujo *et al.*, 2018). Ressaltando a urgência de investimentos em políticas públicas que ampliem o acesso à informação, ao diagnóstico precoce e às terapias eficazes, bem como a necessidade de fomentar o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

1.2 Imunossupressão relacionada à oncologia

Entre as diferentes abordagens terapêuticas para o tratamento do câncer, a quimioterapia destaca-se como uma estratégia eficaz. Trata-se de um tratamento químico e sistêmico utilizado para o controle e combate à doença. No entanto, devido à sua baixa seletividade, a quimioterapia

pode causar danos indiscriminados às células saudáveis do paciente, resultando em diversos efeitos colaterais que dificultam tanto a condução do tratamento quanto a manutenção da qualidade de vida. Entre esses efeitos, destacam-se fadiga, náuseas, vômitos, alopecia, mucosite, diarreia ou constipação, anemia, neutropenia, trombocitopenia, alterações cognitivas, infertilidade e alterações emocionais, como ansiedade e depressão. A intensidade e a frequência desses efeitos variam conforme o tipo de quimioterápico utilizado, a dosagem administrada e a resposta individual do paciente (Pedroso *et al.*, 2021; Disner e Pestana, 2025).

Esses efeitos adversos não se limitam a sintomas clínicos imediatos, mas incluem também a imunossupressão. Condição marcada pela redução ou inibição da atividade do sistema imunológico. Esta ocorre em razão dos alvos das terapias atuarem de forma citotóxicas sobre células de alta taxa proliferativa, abrangendo as neoplásicas, mas também células de outros sistemas como as hematopoiéticas (Abbas; Lichtman; Pillai, 2015).

As células hematopoiéticas estão localizadas na medula óssea, e são responsáveis pela formação dos componentes celulares do sangue, incluindo as células do sistema imune. Ao reduzir a atividade dessas, leva-se a diminuição quantitativa e qualitativa de linfócitos, neutrófilos e outras células imunocompetentes. Como consequência, há um comprometimento no quadro de respostas imunes humorais e de mediadas por células (Abbas; Lichtman; Pillai, 2012).

Diante deste cenário, pacientes oncológicos mostram-se mais suscetíveis a infecções, sendo esta uma das principais causas de complicação e mortes relacionada a quimioterapia (Galloway-Penã; Brumlow; Shelburne, 2017). Conforme a revisão de Silva e Castella (2022), bactérias como *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.* estão entre os agentes etiológicos mais prevalentes de infecções da corrente sanguínea em pacientes oncológicos. Fato que agrava o a complexidade de tratamento, uma vez que à resistência a antimicrobianos vinculada a esses microrganismos dificulta a escolha terapêutica, limita ao arsenal de antibióticos disponíveis e está associada a maiores taxas de falha terapêutica de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2019.

Frente a esse contexto, torna-se evidente a necessidade de novas estratégias terapêuticas que vão além da assepsia e cuidado convencionais para com os pacientes oncológicos. A busca por novos agentes antimicrobianos com eficácia contra patógenos multirresistentes torna-se imperativa, sobretudo por fármacos que alinhem propriedades antitumorais e antimicrobiana. Essa abordagem integrada apresenta-se como uma alternativa potencial e promissora para atender às complexas demandas clínicas de pacientes oncológicos imunossuprimidos.

1.2.1 Cenário das infecções bacterianas

As bactérias constituem um grupo de microrganismos procariotos com ampla diversidade, cuja trajetória evolutiva remota a mais de 3,8 bilhões de anos, representando uma das formas de vida mais antigas e adaptáveis da Terra. Sua morfologia celular simples, atrelada a complexidade metabólica, favoreceu sua irradiação adaptativa a diversos nichos ecológicos. Do ponto de vista clínico, apresentam relevância ambivalente, podendo contribuir como simbiontes associados ao processo fisiológicos ou como agentes etiológicos de infecções (Madigan *et al.*, 2010; Tortora, Funke, Case, 2017).

As bactérias podem ser classificadas, desde a proposta de Hans Christian Gram em 1884, em dois grandes grupos com base na composição e organização da parede celular. As gram-positivas são caracterizadas por uma espessa camada de peptidoglicano, responsável por conferir rigidez e proteção celular. As gram-negativas, apresentam uma organização estrutural mais complexa, composta por uma tripla camada de revestimento: membrana externa, periplasma e membrana citoplasmática (Madigan *et al.*, 2010; Silhavy, 2015; Breijyeh, Jubeh, Karaman, 2020).

A membrana externa constitui a principal característica distintiva das bactérias gram-negativas (Figura 2). Essa estrutura corresponde efetivamente a uma segunda bicamada fosfolipídica composta também por lipopolissacarídeo (LPS), distribuídos na face mais externa da membrana. Tais componentes estão frequentemente relacionados à virulência bacteriana e à indução de respostas inflamatórias intensas em hospedeiros humanos, devido a endotoxidade conferida ao lipídeo “A” da camada de LPS. (Madigan *et al.*, 2010; Tortora, Funke, Case, 2017).

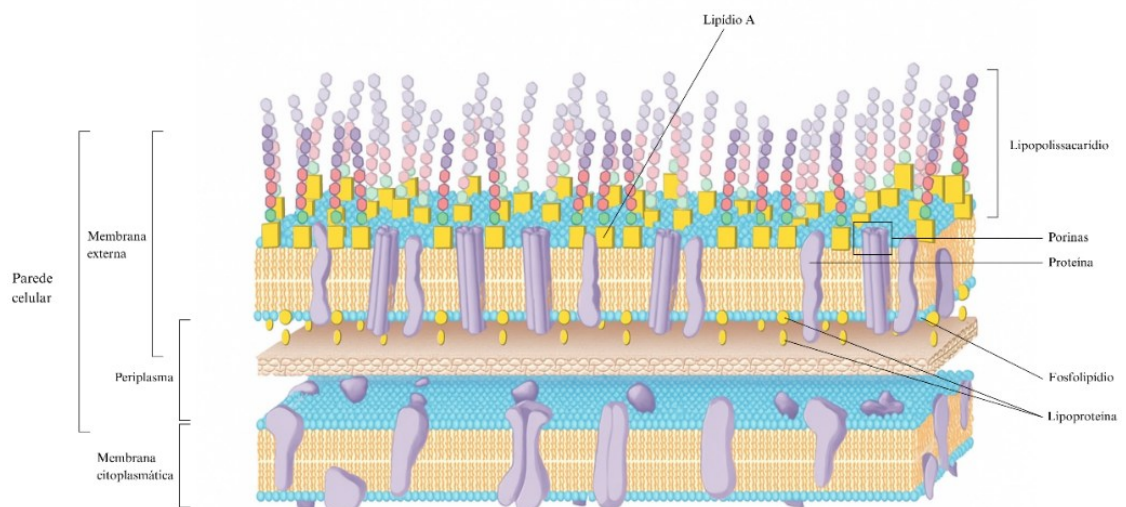


Figura 2 - Estrutura de revestimento tripla de bactérias Gram-negativas

Fonte: Adaptado Madigan *et al.* (2010)

A relevância clínica dessas estruturas é evidenciada pelo impacto que as infecções bacterianas figuraram como uma das principais causas das elevadas taxas de mortalidade durante a história da humanidade. Antes da era dos antibióticos, doenças como pneumonia bacteriana apresentavam letalidade de a 70%-90% (Aggarwal; Lokken-Toyli; Weiser, 2024). A descoberta da penicilina em 1928 por Alexander Fleming e sua posterior produção em massa durante a segunda guerra mundial, marcam o início de uma nova era na medicina moderna, possibilitando avanços significativos para o tratamento de infecções graves (Alsan *et al.*, 2021).

Entretanto, esse antibiótico apresentava algumas limitações estruturais as quais o tornavam mais suscetível à hidrólise por enzimas bacterianas. Com o intuito de superar essas limitações da penicilina, modificações como a substituição do átomo de enxofre por carbono no C-1, a introdução de uma ligação insaturada entre os carbonos C-2 e C-3 e a configuração trans do radical hidroxietil no C-6, foram feitas de modo a conferem maior estabilidade frente às β -lactamases e ampliarem sua eficácia clínica. (Nguyen; Joshi, 2021).

Assim como as penicilinas, por fazerem parte da classe de β -lactâmicos, o mecanismo de ação dos carbapenêmicos é sobre as proteínas ligadoras de penicilina, inibindo a síntese da parede celular, porém com eficácia estendida a patógenos multirresistentes, incluindo cepas Gram-negativas e anaeróbias, tornando-se amplamente utilizados na prática médica (Papp-Wallace *et al.*, 2011).

Apesar do papel decisivo dos antimicrobianos na redução da mortalidade por infecções, sua prescrição extensiva e indiscriminada, somada a regimes de dosagem inadequados impuseram uma intensa pressão seletiva sobre os microrganismos, moldando um cenário favorável a emergência e disseminação de cepas com perfis multirresistentes, inclusive entre patógenos previamente sensíveis a fármacos de amplo espectro (Giacomini *et al.*, 2021; Nguyen, Joshi; 2021).

As bactérias desenvolveram múltiplos mecanismos de resistência, sendo a produção de enzimas carbapenemases um dos mais preocupantes. Segundo a classificação de proposta por Ambler (1980), as β -lactamases são divididas em quatro classes: A, B, C e D, com bases em suas estruturas e mecanismos. As enzimas de classe A, C e D contêm serina em seu sítio ativo e são caracterizadas por hidrolisar eficientemente grande parte dos β -lactâmicos quando codificadas em plasmídeos, o que além de garantir alto fator de virulência facilita a disseminação para outras bactérias. O tipo KPC (Carbapenemase de *Klebsiella pneumoniae*) é o exemplo mais representativo da classe A e as cepas de *Acinetobacter baumannii* representam as oxacilinas da classe D (Naas, Dorted; Iorga; 2016; Sawa, Kooguchi; Moriyama, 2020; Zander *et al.*, 2014).

As β -lactamase de classe B, possuem o metal zinco no centro ativo da enzima e codificam metalo- β -lactamases, em genes inseridos em diferentes partes do material genético da bactéria como: integron, transposon, plasmídeo e cromossomos. Como exemplo têm-se as codificadas pelo integron de Verona (VIM) detectado em diferentes mutações de cepas *Pseudomonas aeruginosa* (Pournaras *et al*, 2002; Sawa, Kooguchi; Moriyama, 2020).

Esse fenômeno de resistência agrava os desfechos clínicos, eleva os custos hospitalares e demanda intervenções em escala global e nacional. Segundo estudo divulgado pela OMS, estima-se que em 2019 a resistência a antimicrobianos foi associada a 4,95 milhões de óbitos de forma indireta e em outros 1,27 milhões causada diretamente por microrganismos resistentes a antibióticos (Murray *et al.*, 2022). Em uma perspectiva nacional, segundo do Boletim Epidemiológico (2024) gerenciado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), ao analisar o período pandêmico e ao pré-pandêmico, o aumento das bactérias resistentes, como as produtoras de carbapenemases, é expressivo tanto em termos quantitativos quanto qualitativamente.

Dessa forma, o cenário atual da oncologia e da microbiologia clínica revela desafios interconectados de grande relevância para a saúde pública. A elevada incidência e mortalidade do câncer de pulmão e de próstata, somada aos efeitos adversos da quimioterapia, que devido à sua baixa seletividade frequentemente induz imunossupressão, tornam os pacientes especialmente suscetíveis a infecções bacterianas oportunistas e resistentes. Paralelamente, a emergência de cepas bacterianas multirresistentes, em razão do uso indiscriminado dos antibióticos, evidenciam a crescente dificuldade de controle das infecções, ampliando o risco clínico e limitando a eficácia das terapias convencionais. Portanto, nesse cenário multifatorial, a nanotecnologia surge como uma abordagem inovadora e promissora, permitindo a criação de sistemas de entrega de fármacos altamente seletivos. Tais sistemas não apenas potencializam a ação terapêutica sobre células tumorais, minimizando os efeitos adversos da quimioterapia, como também possibilitam estratégias dirigidas para superar a resistência bacteriana, oferecendo, assim, soluções integradas que atendem simultaneamente às demandas do tratamento oncológico e do controle infeccioso.

1.3 Nanocristais de óxidos metálicos

O físico Richard P. Feynman, ganhador do Prêmio Nobel, durante sua apresentação na Reunião Anual da Sociedade Americana de Física de 1959, introduz pela primeira vez o termo nanotecnologia para referir-se a aspectos do universo nanométrico até então nunca interpretados. Desde então, a nanotecnologia usa da produção e inovação do conhecimento para

manipular, controlar e integrar a matéria a nível atômico e molecular em diversos âmbitos científicos, se relacionando de forma correlacionada a nanociência (Feynman, 1959; Hornyak *et al.*, 2018).

A nanociência consiste no estudo, compreensão e investigação das propriedades que surgem devido escala reduzida dos materiais. Esta atua como uma ciência de fronteira, interligando diversas áreas do conhecimento como a biologia, a química, física, medicina, entre outras. A qual envolve a alteração de materiais em escala nanométrica, geralmente entre 1 a 100 nm, com intuito de inovar em ferramentas e abordagens teranósticas (Hornyak *et al.*, 2018; Das *et al.*, 2025).

Nesse contexto revolucionário, a nanociência reflete um avanço ao ultrapassar barreiras biológicas limitantes das terapias convencionais, oferecendo estratégias mais eficazes ao reduzir efeitos colaterais, otimizar a entrega seletiva de fármacos e promover um controle mais preciso sobre a liberação do princípio ativo (Lhaglam *et al.*, 2024; Malik; Muhammad; Waheed, 2023; Wang *et al.*, 2024).

Dentre as diferentes abordagens da nanociência, os nanocristais (NCs) de óxidos metálicos representam uma classe de nanomateriais com propriedades ópticas, eletrônicas e catalíticas derivadas do confinamento quântico e da alta relação superfície-volume (Cao; Wang, 2011). A metodologia de síntese dos nanocristais permite modular o tamanho, morfologia e a cristalinidade, fatores os quais diferenciam suas interações biológicas quando comparadas as suas formas amorfas dos óxidos (Reis, 2014).

Além dos atributos físico-químicos, nanocristais de óxidos metálicos têm sido explorados na prática clínica experimental, devido à sua biocompatibilidade, atividade antimicrobiana, capacidade de geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e propriedades magnéticas ou fotocatalíticas. Características as quais os tornam candidatos promissores para aplicações em terapia alternativas. (Salleh *et al.*, 2020; Madkhali, 2023).

Diversos estudos têm demonstrado o potencial terapêutico de nanocristais no tratamento de infecções, destacando, inclusive, perfis favoráveis de segurança biológica. Segundo Gomes (2022), os resultados obtidos em modelos *in vivo* demonstraram que nanocristais de óxido de zinco dopados com prata não induzem efeitos tóxicos significativos sobre a função renal, reforçando a viabilidade como agentes terapêuticos em contextos infecciosos.

No âmbito das terapias oncológicas, a nanotecnologia tem se destacado pelo seu potencial genotóxico seletivo. De acordo com os estudos de Wahab *et al.* (2013), nanocristais de óxido de zinco atuam como agentes clastogênicos e genotóxicos, promovendo a formação de micronúcleos e induzindo a ativação de vias apoptóticas. Esses efeitos demonstraram-se

especialmente eficazes em células T98G, derivadas de glioblastoma multiforme, enquanto os impactos sobre células HEK, de origem não tumoral, foram mínimos. Tais resultados evidenciam o elevado potencial terapêutico associado à sua seletividade citotóxica (Sidhic *et al.*, 2025).

1.3.1 Nanocristais de óxido de zinco dopados com prata

Classificado como um material semiconductor do grupo II-VI, o óxido de zinco (ZnO) apresenta elevada ionicidade, comportamento piezoelétrico e piroelétrico. Quando reduzido à escala nanométrica, suas propriedades são potencializadas, tornando-o promissor para diversas aplicações. A síntese de nanocristais de óxido de zinco pode ser conduzida por diferentes métodos, incluindo co-precipitação, sol-gel, hidrotérmicos e de decomposição térmicas, ultrassom, combustão assistida por micro-ondas e síntese química-termal (Rotte *et al.*, 2023).

A estrutura cristalina dos nanocristais de óxido de zinco possui três principais arranjos tridimensionais dos seus átomos: a cúbica do tipo sal-gema, cúbica do tipo blenda de zinco e a hexagonal do tipo wurtzita. Dentre elas, a estrutura wurtzita (Figura 3), é a de maior relevância tecnológica caracterizada por uma organização tetraédrica entre os íons Zn^{2+} e O^{2-} a qual confere maior estabilidade térmica e atividade fotocatalítica (Özgür; Avrutin; Morkoç, 2018; Singh; Kumar; Singh, 2019).

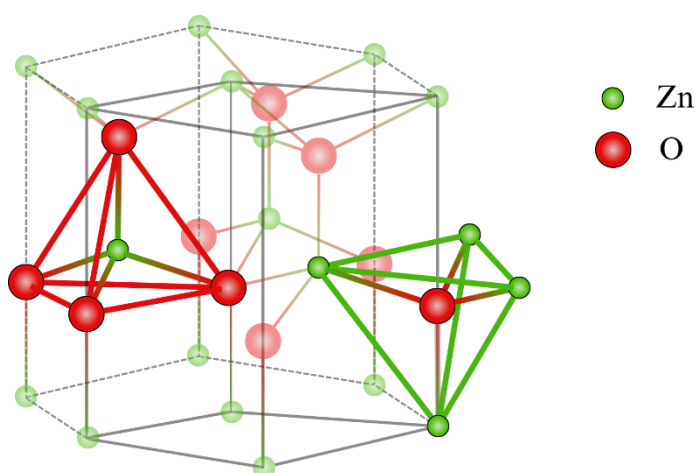


Figura 3 - Distribuição dos átomos de zinco (Zn) e oxigênio (O) na estrutura cristalina hexagonal do tipo wurtzita do ZnO.

Fonte: Autoria própria (2025)

Em termos de caracterização, os NCs de ZnO possuem alta atividade catalítica com capacidade de gerar ROS, como peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila, devido à natureza semicondutora e fotocatalítica, levando ao estresse oxidativo e morte celular ou bacteriana. Em

comparação com outros semicondutores óxidos metálicos, o ZnO apresenta maior estabilidade química e física (Espitia *et al.*, 2012; Siddiqi *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2018; Singh; Kumar; Singh, 2019; Floresta, 2023).

Nesse contexto, a eficiência catalítica dos nanocristais pode ser intensificada em decorrência do processo de introdução de outros íons à estrutura cristalina, denominado como dopagem, cujo objetivo é modular as propriedades do material. Esta pode ser feita de forma substitucional homo-valente e hetero-valente ou por inserção nos espaços intersticiais da rede, denominada dopagem de átomo intersticial (Sharma *et al.*, 2022). No caso dos nanocristais utilizados nesse estudo, a dopagem realizada foi a substitucional com átomo hetero-valente, como representado na Figura 4.

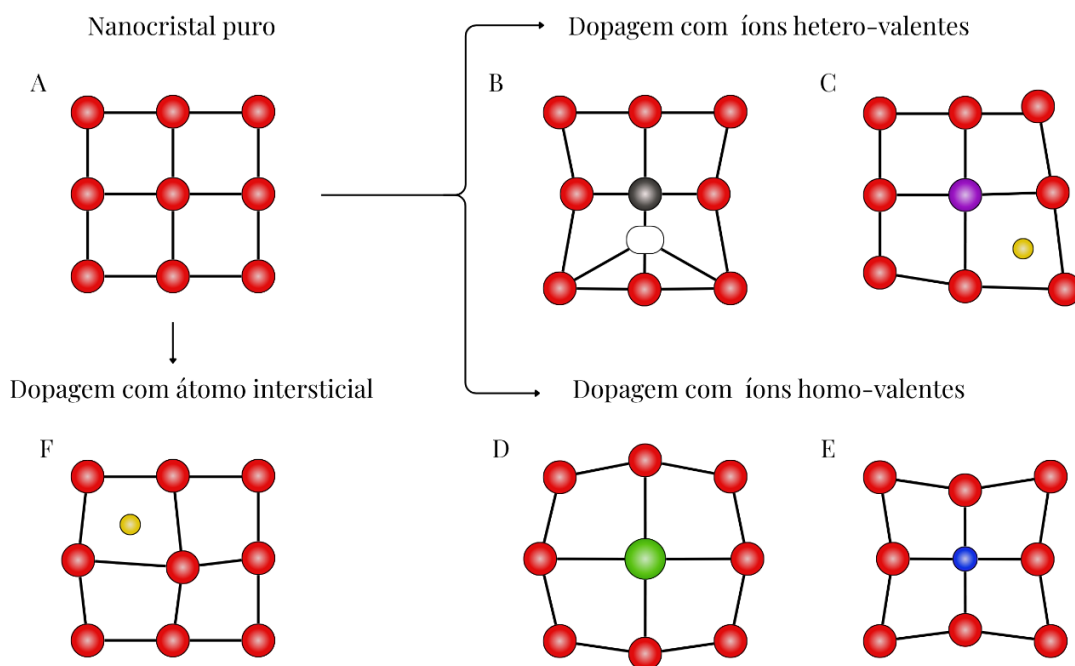


Figura 4 - Vias de dopagem na rede cristalina de nanomateriais. (A) Rede de nanomaterial não dopada com íons hospedeiros (vermelho). (B) Modificação da rede pela substituição por um íon dopante de heterovalência (preto) e indenização de carga através da presença de vacância (branco). (C) Modificação da rede pela substituição por um íon dopante de heterovalência (roxo) e indenização de carga por meio da posse intersticial de um íon adicional (amarelo claro). (D) Modificação da rede pela substituição por um íon dopante de homovalência (verde) com maior raio. (E) Modificação da rede pela substituição por um íon dopante de homovalência (azul) com menor raio. (F) Modificação da rede induzida pela ocupação intersticial de um pequeno dopante (amarelo).

Fonte: Autoria própria (2025)

A presença de impurezas (dopantes) no processo de síntese pode gerar defeitos extrínsecos substitucionais e intrínsecos a rede, os quais alteram parâmetros estruturais do nanocristal, como tamanho médio e microdeformação. Tais anomalias favorecem a atividade catalítica da nanopartícula intensificando o mecanismo de produção de ROS, principalmente

em razão da introdução de novos níveis energéticos intermediários entre as bandas de valência e condução, os quais desaceleram a taxa recombinação dos elétrons, e também da variação de tamanho dos raios iônicos dos íons dopantes e os da matriz hospedeira, que interferem na compressão da estrutura (Muktaridha *et al.*, 2021; Ayoub *et al.*, 2022; Gonçalves, 2023).

Classificada como um metal de transição do grupo 11, a prata (Ag) apresenta elevada condutividade elétrica e térmica, além de reatividade química em função da liberação de íons Ag^+ . Reconhecida pelo seu expressivo efeito antimicrobiano, tanto para bactérias quanto fungos, principalmente quando está na forma estrutural de nanopartículas. Esta tem sido amplamente explorada como agente na dopagem de nanocristais com intuito de melhorar propriedades estruturais, ópticas, elétricas e catalíticas. (Pal; Tak; Song, 2007; Madkhali, 2023; Khojasteh-Taheri *et al.*, 2023).

O efeito antimicrobiano da prata está fortemente associado à concentração de íons Ag^+ livres. A atividade bactericida dessa espécie metálica é atribuída à penetração dos íons no interior da célula bacteriana, seguida da interrupção da replicação do DNA, culminando na lise celular. Além disso, sua ação também está relacionada à geração de ROS, que promovem danos oxidativos a proteínas, lipídios e componentes nucleares das bactérias, reforçando seu efeito letal (Rebelo *et al.*, 2016).

Portanto, a dopagem de nanocristais de óxido de zinco com nanopartículas de prata representa uma estratégia eficiente para potencializar as propriedades físico-químicas e biológicas do ZnO. A presença de íons Ag^+ na rede cristalina não apenas promove modificações estruturais que favorecem a geração de espécies reativas de oxigênio, mas também acrescenta efeitos antimicrobianos diretos. Dessa forma, a combinação de ZnO e Ag permite o desenvolvimento de nanomateriais multifuncionais, capazes de conciliar alta atividade catalítica, estabilidade estrutural e eficácia biológica, mostrando-se promissora em tratamentos antimicrobianos, fotocatalíticos e potencialmente em abordagens terapêuticas contra células tumorais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Caracterizar o potencial biológico de nanocristais de zinco com diferentes dopagens de prata, por meio dos ensaios *in vitro* de viabilidade celular em linhagens celulares de próstata e pulmão, além de testar sua atividade antimicrobiana por meio de ensaios de antibiograma aplicados em cepas bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas.

2.2 Objetivos específicos:

- Avaliar a viabilidade celular *in vitro* das linhagens tumorais humanas A549 (pulmão) e PC-3 (próstata) e linhagens não tumorais BEAS-2B (pulmão) e PNT-2 (próstata) sob ação de nanocristais de óxido de zinco dopados com prata em teores moleculares de 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1; 3; 9 e 11%;
- Definir a concentração inibitória de 50% de viabilidade celular (IC_{50}) *in vitro* dos nanocristais nas diferentes linhagens celulares;
- Avaliar a seletividade dos nanocristais dopados sobre as linhagens tumorais e não tumorais;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos diferentes teores de dopagens de prata nos nanocritais de oxido de zinco sob as cepas bacterianas: *Pseudomonas aeruginosa* VIM, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e a não resistente, *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos e *Salmonella typhimurium*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Síntese dos nanocristais

A síntese dos nanocristais de óxido de zinco puros e dopados (ZnO:Ag), com teores moleculares de dopagem de 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1; 3; 9 e 11% de Ag foram realizadas no Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores do Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia. Os NCs de ZnO:Ag foram sintetizados pelo método de coprecipitação, que está sob pedido de patente (BR 10 2018 00771) e foram gentilmente cedidas para execução deste trabalho.

3.2 Manutenção das linhagens celulares:

As linhagens celulares de próstata (PNT-2 e PC-3) e pulmão (BEAS-2B e A549) foram cultivadas *in vitro*, utilizando garrafas de cultura com volume de 75 cm² Greiner® contendo em seu interior o meio RPMI Medium 1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibiótico-antimicótico (100x), todos do mesmo fabricante Gibco®. As células foram mantidas em estufa a 37 °C sob atmosfera contendo 5% de CO₂. Os repiques foram realizados quando os frascos atingiam aproximadamente 80–90% de confluência.

Adicionalmente, todas as linhagens celulares foram autenticadas por meio da técnica de PCR para Short Tandem Repeats (STRs), a qual possibilita a análise de regiões altamente polimórficas do genoma. Esse procedimento permite a obtenção de um perfil genético

característico para cada linhagem. Em seguida, os perfis gerados foram comparados com bancos de dados de referência, assegurando a autenticidade e a ausência de contaminação cruzada entre as culturas celulares.

3.3 Teste de micoplasma

As linhagens foram avaliadas quanto à presença de micoplasma, utilizando-se o kit de detecção Lonza MycoAlert®, um ensaio baseado em bioluminescência que identifica enzimas específicas desses microrganismos. O teste consiste em uma primeira leitura do nível basal de ATP do sobrenadante de parte do meio retirado da garrafa de cultivo, sendo este meio com no mínimo 3 dias de contato com as células, seguida de uma segunda leitura após a adição de um substrato que, na presença de micoplasma, é convertido em ATP adicional. A razão entre as duas leituras é utilizada como critério de interpretação, sendo considerada negativa quando inferior a 1, o que assegura a integridade e a pureza dos cultivos celulares.

3.4 Ensaio de viabilidade celular por resazurina:

O potencial citotóxico dos nanocristais de óxido de zinco puro e os dopados com prata foi verificado pelo teste de viabilidade celular pela redução de resazurina. Esse ensaio se fundamenta na capacidade metabólica de células vivas de reduzir a resazurina, um corante azul não fluorescente, em resorufina, um composto rosa altamente fluorescente. Essa conversão é catalisada principalmente por enzimas mitocondriais, refletindo diretamente a atividade metabólica e, portanto, a viabilidade celular, como ilustrado na Figura 5.

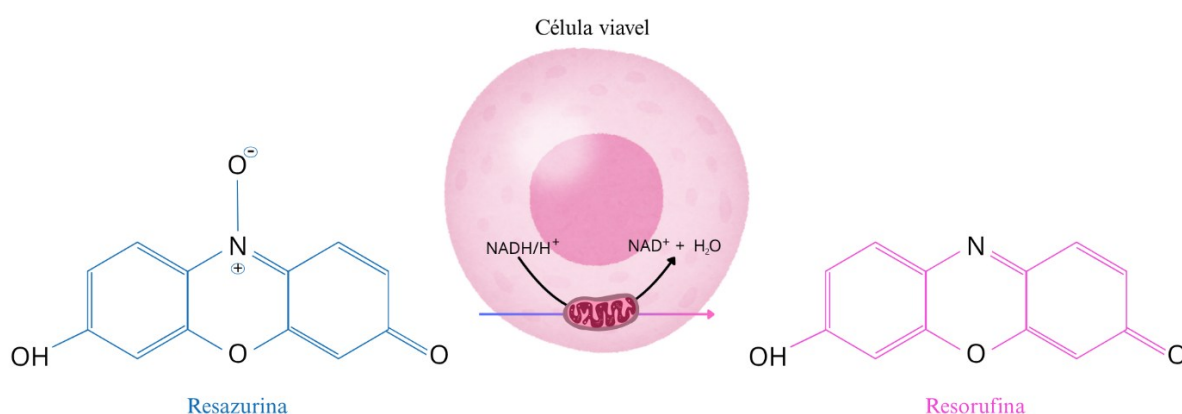


Figura 5 - Reação de redução da resazurina
Fonte: Autoria própria (2025).

As linhagens celulares foram cultivadas conforme descrito anteriormente (item 3.2), desagregadas enzimaticamente com 2 mL tripsina a 0,25% por 3 minutos, centrifugadas por 5

minutos a 1000 RPM, coradas com o corante azul de tripano a 0,4% e contabilizadas na câmara de Neubauer em microscópio óptico (EVOS M3000 Imaging System). Em uma concentração de 2×10^4 células/poço as linhagens foram semeadas em uma microplaca estéril de 96 poços Greiner®. Para o tratamento os nanocristais passaram pela diluição seriada variando as concentrações de 6,25 a 800 µg/mL, conduzidos em triplicata.

A microplaca foi armazenada na estufa de CO₂ (5%) a 37 °C por 24 horas. Após o intervalo de 20 horas tratamento foi adicionado 20 µL da resazurina a 0,1 mM em cada poço. Ao atingir o período de 24 horas, foi feita a leitura da absorbância na leitora de microplaca Nivos PerkinElmer® nos comprimentos 570 e 600 nm.

A viabilidade celular foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ viabilidade celular} = \frac{(O2 \times A1) - (O1 \times A2)}{(O2 \times P1) - (O1 \times P2)}$$

Em que:

A1 = absorbância das células tratadas à 570nm;

A2 = absorbância das células tratadas com à 600nm;

O1 = coeficiente de extinção molar (E) de resazurina oxidado a 570nm (pré-determinado em 117.216);

O2 = valor de coeficiente de extinção molar (E) de resazurina oxidado a 600nm (pré-determinado em 80.586);

P1 = valores de absorbância do controle negativo à 570nm;

P2 = valores de absorbância do controle negativo à 600nm.

3.5 Índice de seletividade (IS)

Para a verificação da seletividade no que tange as células tumorais, o índice de seletividade (IS) foi calculado pela razão entre as concentrações necessárias para reduzir 50% da viabilidade celular (IC₅₀), em ambas as linhagens (tumoral e não tumoral). Por meio da seguinte fórmula:

$$IS = \frac{IC_{50} \text{ da linhagem não tumoral}}{IC_{50} \text{ da linhagem tumoral}}$$

Os resultados ≥ 2 evidenciam que o composto foi seletivo para as linhagens tumorais, ou seja, mata duas vezes mais células neoplásicas malignas do que as células saudáveis, sendo considerados promissores (Maciel *et al.*, 2022).

3.6 Multiplicação das bactérias

As amostras, previamente armazenadas a -80°C , foram coletadas com o auxílio de uma alça de inoculação e reativadas em meio líquido BHI (sigla em inglês para Infusão Cérebro-Coração). Após um período de incubação de 24 horas, utilizando novamente a alça, procedeu-se à estriação das culturas em placas de Petri em meio TSA (sigla em inglês para Ágar de Soja Triptona) em consonância com o CLSI – Clinical and Laboratory Standart Institute.

3.7 Ensaio de antibiograma

Para a triagem das diferentes nanopartículas às distintas cepas foram submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de spot. Com o auxílio da alça de inoculação as colônias foram coletadas e diluídas em Solução Salina Tamponada com Fosfato (PBS) até a padronização em escala visual de MacFarland a 0,5. Posteriormente, semeadas em cinco direções em placas de Petri com Ágar Mueller Hinton (MHA) com ajuda de um swab. Em seguida, foram gotejados 10 μL da solução de 2 mg/mL dos tratamentos nas placas semeadas, as quais foram incubadas à 37°C por 24 horas. Após a incubação, realizou-se análise qualitativa dos halos inibitórios formados ao redor de cada spot, comparando-os com o controle positivo para averiguar a ação sobre as cepas bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa* VIM (Pa/VIM), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* (ATCC29213), *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos (KPC) e *Salmonella typhimurium* (S. thiphi). Como controle positivo utilizou-se a gentamicina e como negativo o PBS.

3.8 Análises estatísticas:

Utilizando o GraphPad Prism 9.2.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, Califórnia, EUA) análises estatísticas da viabilidade celular foram realizadas por meio da análise de normalidade distribuição dos dados pelo teste Shapiro-Wilk, os que apresentaram distribuição normal, foram submetidos análise de variância bidirecional (one-away ANOVA) assumindo-se um intervalo de confiança de 95%. Diante da detecção de diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), procedeu-se à aplicação do teste de comparações múltiplas de Tukey (Tukey HSD), com o objetivo de identificar quais pares de médias diferiram significativamente do grupo controle.

Em relação ao IC_{50} sua estatística também foi feita utilizando o GraphPad Prism 9.2.0 e determinada por meio da regressão não linear, em que a porcentagem da viabilidade celular foi determinada como uma função logarítmica das concentrações testadas, assumindo um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Ensaio de viabilidade celular com resazurina:

Para assegurar a qualidade e a autenticidade das linhagens utilizadas nos experimentos, foi realizada a verificação da presença de micoplasma por meio do kit Lonza MycoAlert®, confirmando que as quatro linhagens celulares (PNT-2, PC-3, BEAS-2B e A549) estavam livres dessa contaminação, com a razões entre a primeira e a segunda leituras menores que 1 (dados não mostrados). De maneira complementar, o processo de autenticação genética foi conduzido por meio da técnica de PCR multiplex para STRs, na qual todas as linhagens apresentaram os mesmos conjunto de alelos os quais compõem o perfil característico que as definem, garantindo a confiabilidade dos modelos celulares empregados no estudo (dados não mostrados).

Posteriormente, já com as linhagens verificadas, foram realizados ensaios com o corante-redox resazurina com o intuito de avaliar a citotoxicidade dos nanocristais de ZnO puros e os dopados com Ag. As leituras espectrométricas foram obtidas em leitora de microplacas a 570 e 600 nm. O comprimento de onda de 570 nm corresponde ao pico de absorção da resorufina, produto fluorescente da redução da resazurina, enquanto 600 nm foi empregado como referência para correção de fundo e minimização de interferências ópticas. A diferença entre essas leituras permite a quantificação da viabilidade celular. Com os dados da leitura, foram calculadas as viabilidades e os gráficos feitos utilizando o software GraphPad Prism 9.2 para a compreensão visual dos dados.

Dessa forma, foi possível verificar a redução da viabilidade celular da linhagem PNT-2 (Gráfico 1) que apresentou diferenças estatísticas em relação ao controle para todos os tratamentos realizados nas concentrações de 200 a 800 $\mu\text{g/mL}$. Curiosamente, na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ os tratamentos com nanocristais de ZnO puro e ZnO: 3 Ag obtiveram a maior redução da viabilidade, sendo essas cerca de 63% e 45%, respectivamente. Adicionalmente, após os tratamentos, nas concentrações de 6,25 a 50 $\mu\text{g/mL}$, todos os nanocristais dopados com prata mantiveram viabilidade celular superior a 70%, indicando menor citotoxicidade nessas faixas. Ressalta-se que o tratamento com nanocristais de ZnO puro apresentou redução da viabilidade celular em todas as concentrações analisadas. Entretanto, os nanocristais dopados com prata, independentemente da porcentagem utilizada, demonstraram maior redução da

viabilidade em comparação ao ZnO puro apenas nas concentrações mais elevadas, de 800 e 400 $\mu\text{g/mL}$, sendo essa expressivas nos nanocristais com 9% e 11% de prata. Já na concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$, a redução na viabilidade é evidente em relação ao controle e ao ZnO puro com os nanocristais ZnO: 3, 9 e 11 Ag, com respectivamente, 12%, 26% e 11% de células viáveis.

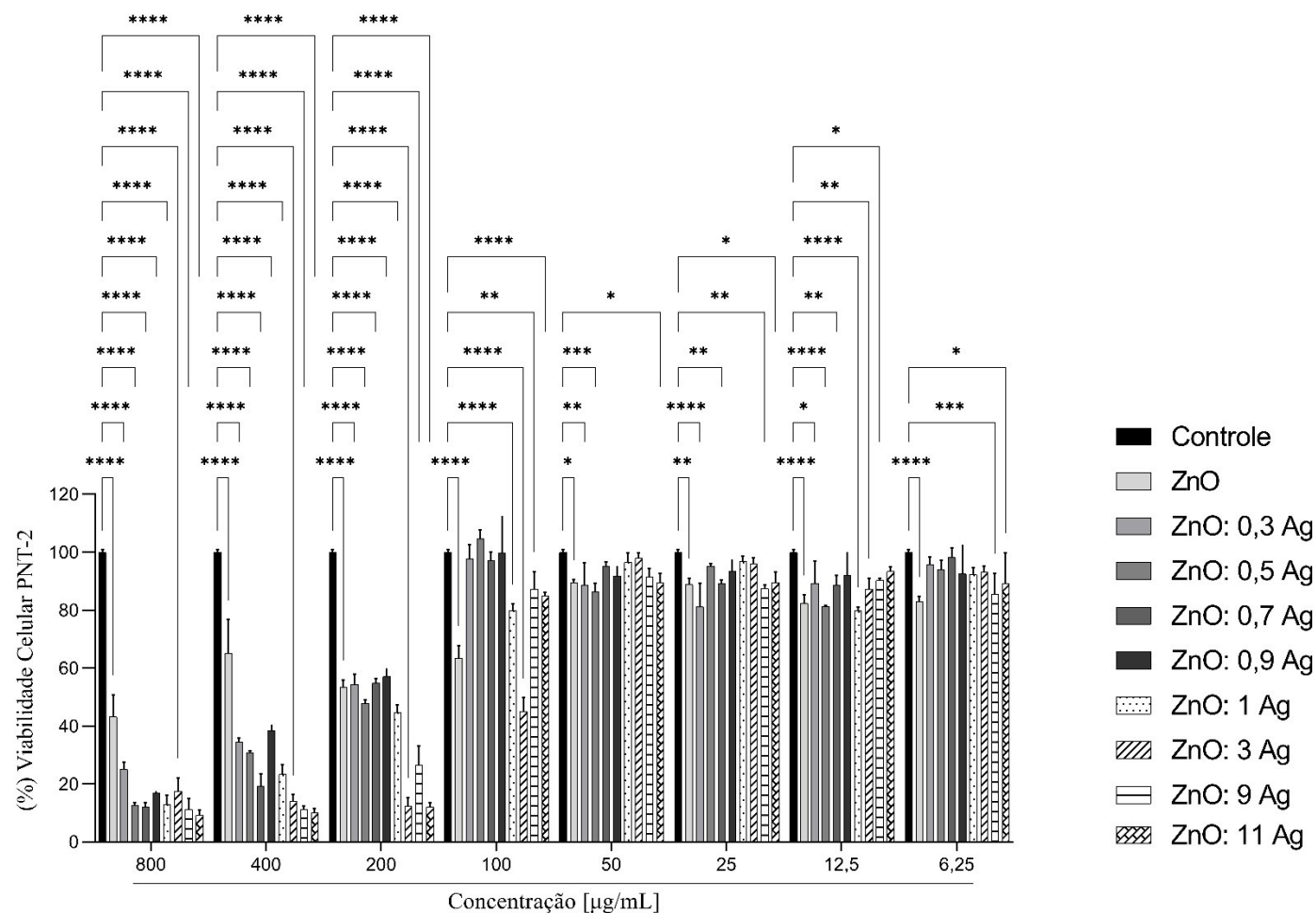


Gráfico 1 – Gráfico de barras da viabilidade celular da linhagem PNT-2 após o tratamento com nanocristais de ZnO (óxido de zinco) puro e dopados com prata: Porcentagem de viabilidade celular em relação ao controle (células da mesma linhagem não tratadas), após 24 horas de exposição às concentrações especificadas (800, 400, 200, 100, 50, 25, 12,5 e 6,25 µg/mL) dos nove tratamentos testados: ZnO, ZnO:0,3 Ag, ZnO:0,5 Ag, ZnO:0,7 Ag, ZnO:0,9 Ag, ZnO:1 Ag, ZnO:3 Ag, ZnO:9 Ag e ZnO:11 Ag. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão e as diferenças foram inferidas pelo teste one way ANOVA (* p < 0,0332; ** p < 0,0021; *** p < 0,0002; **** p < 0,0001).

Já para a linhagem PC-3 as concentrações entre 100 e 800 $\mu\text{g/mL}$ induziram redução da viabilidade celular de modo estatisticamente significativo em relação ao controle em todos os tratamentos testados. Entre 12,5 e 50 $\mu\text{g/mL}$, observou-se que a maioria dos nanocristais mantiveram certa redução da viabilidade, enquanto na concentração de 6,25 $\mu\text{g/mL}$, apenas três nanocristais, sendo esses dopados com prata, demonstraram redução significativa em relação ao controle.

Ao se analisar a concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$, somente o tratamento com ZnO puro apresentou viabilidade celular inferior a 70%, sendo que a viabilidade induzida por esse nanocristal aumentou de forma gradativa com a redução de sua concentração.

Para os tratamentos ZnO puro, ZnO:0,3 Ag, ZnO:0,5 Ag e ZnO:3 Ag a única concentração que não apresentou diferença significativa em relação ao controle foi 6,25 $\mu\text{g/mL}$. Já os tratamentos com ZnO:0,9 Ag e ZnO:1 Ag apresentaram diferenças significativas em todas as concentrações analisadas, evidenciando sua interferência na viabilidade celular.

Nas duas concentrações mais elevadas (800 e 400 $\mu\text{g/mL}$), todas as viabilidades celulares ficaram abaixo de 40%. Enquanto em 200 $\mu\text{g/mL}$, a maioria das viabilidades foi inferior a 50%, exceto os tratamentos com 1 Ag (51,60%) e 9 Ag (55,35%) como verificado no Gráfico 2.

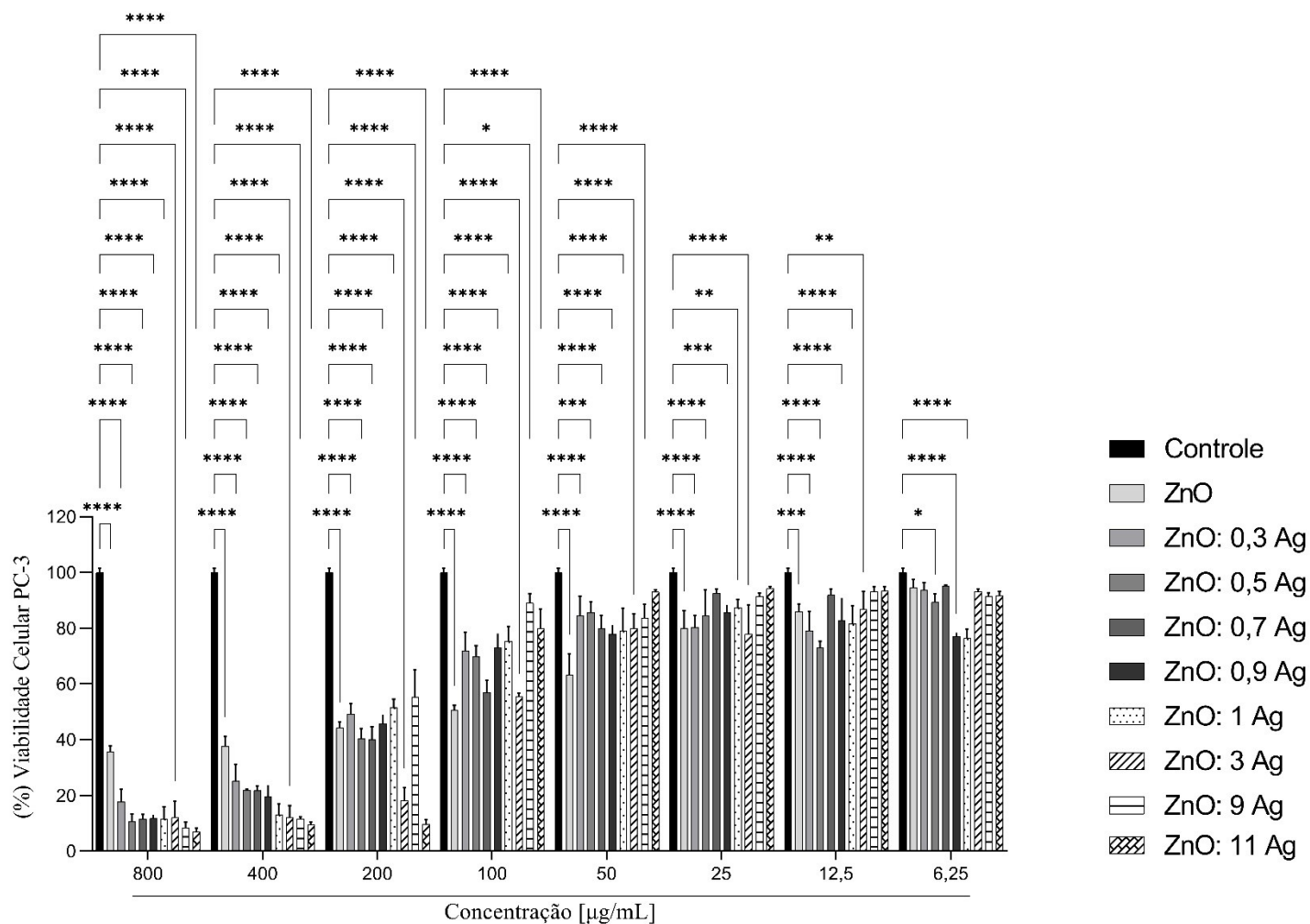


Gráfico 2 - Gráfico de barras da viabilidade celular da linhagem PC-3 após o tratamento com nanocristais de ZnO (óxido de zinco) puro e dopados com prata: Porcentagem de viabilidade celular em comparação ao grupo controle (células não tratadas da mesma linhagem), após 24 horas de exposição às concentrações de 800, 400, 200, 100, 50, 25, 12,5 e 6,25 µg/mL dos nove tratamentos avaliados: ZnO, ZnO:0,3 Ag, ZnO:0,5 Ag, ZnO:0,7 Ag, ZnO:0,9 Ag, ZnO:1 Ag, ZnO:3 Ag, ZnO:9 Ag e ZnO:11 Ag. Os valores foram expressos como média $\pm$ erro padrão, sendo as diferenças estatísticas determinadas pelo teste one-way ANOVA (* $p < 0,0332$; ** $p < 0,0021$; *** $p < 0,0002$; **** $p < 0,0001$)

Enquanto, a análise de viabilidade celular da linhagem BEAS-2B apresentou diferenças estatísticas em relação ao controle para todos os tratamentos entre as concentrações de 100 e 800 $\mu\text{g/mL}$. Na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$, apenas o ZnO puro e os dopados de 0,7; 0,9; 1 e 3 Ag obtiveram níveis de significância.

As viabilidades celulares mantem-se abaixo da faixa de 50% em todos as formulações nas concentrações de 200 a 800 $\mu\text{g/mL}$, evidenciando uma baixa resistência da linhagem aos nanocristais. E é válido ressaltar que na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ apenas os tratamentos de ZnO: 0,3 e 9 Ag ultrapassaram essa faixa, o que reforça a indução de redução da viabilidade dos demais tratamentos para esta linhagem.

Inicialmente, o ZnO puro demonstrou maior viabilidade celular em relação aos nanocristais dopados com prata. Contudo, esse comportamento se altera a partir da concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$, tornando-se ainda mais evidente em 50 e 25 $\mu\text{g/mL}$, concentrações nas quais o ZnO puro passa a exibir níveis de citotoxicidade iguais ou superiores aos demais tratamentos.

Em contrapartida, nas concentrações mais baixas (12,5 e 6,25 $\mu\text{g/mL}$), as diferenças entre os tratamentos se tornam pouco expressivas, e nenhum deles apresentou efeito citotóxico estatisticamente significativo quando comparado ao controle, à exceção do ZnO:0,7 Ag em 12,5 $\mu\text{g/mL}$, que foi o único a demonstrar significância, como referido no Gráfico 3.

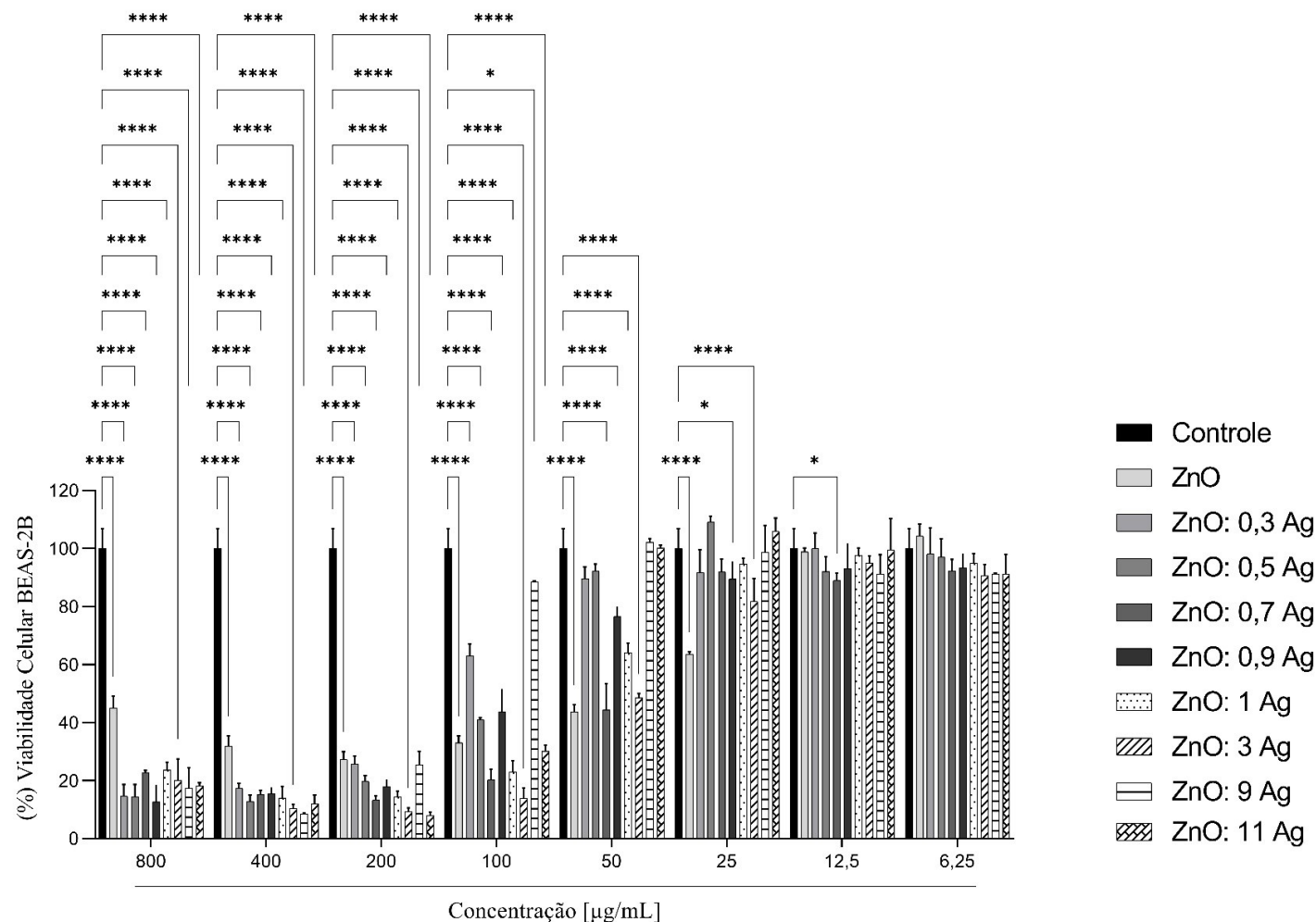


Gráfico 3 - Gráfico de barras da viabilidade celular da linhagem BEAS-2B após o tratamento com nanocristais de ZnO (óxido de zinco) puro e dopados com prata: Representação da viabilidade celular, em termos percentuais, em relação ao controle negativo (células não tratadas), após 24 horas de exposição às concentrações de 800 a 6,25 µg/mL, para os nove tratamentos: ZnO, ZnO:0,3 Ag, ZnO:0,5 Ag, ZnO:0,7 Ag, ZnO:0,9 Ag, ZnO:1 Ag, ZnO:3 Ag, ZnO:9 Ag e ZnO:11 Ag. Os resultados estão expressos como média ± erro padrão, e as diferenças entre grupos foram avaliadas por meio de one-way ANOVA (* $p < 0,0332$; ** $p < 0,0021$; *** $p < 0,0002$; **** $p < 0,0001$).

De forma contrastante, a linhagem pulmonar saudável, ao se examinar os dados de viabilidade celular da linhagem A549 é possível verificar que os tratamentos só foram efetivos nas concentrações mais altas de 800 e 400 $\mu\text{g/mL}$, o que demonstra maior resistência em relação as outras linhagens apresentadas.

A partir da concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$, a citotoxicidade dos tratamentos deixou de apresentar relevância estatística ou, em alguns casos, observou-se um aumento na viabilidade celular em relação ao controle, sugerindo um possível efeito proliferativo induzido pelos nanocristais.

O tratamento com nanocristais de ZnO puro não apresentou citotoxicidade significativa em nenhuma das concentrações testadas, com exceção de 800 $\mu\text{g/mL}$, onde foi observada uma leve redução na viabilidade celular. Ainda assim, esse efeito foi discreto, indicando que o ZnO puro não é tóxico para a linhagem A549 nas condições avaliadas.

Na menor concentração testada (6,25 $\mu\text{g/mL}$), todos os tratamentos promoveram um aumento na viabilidade celular em comparação ao controle. Esse efeito foi particularmente evidente nos tratamentos com nanocristais de ZnO dopados com 0,5% e 1% de prata, que apresentaram viabilidades celulares de 121,74% e 123,47%, respectivamente, sugerindo um possível efeito proliferativo ou de estímulo celular em baixas concentrações, verificado no Gráfico 4.

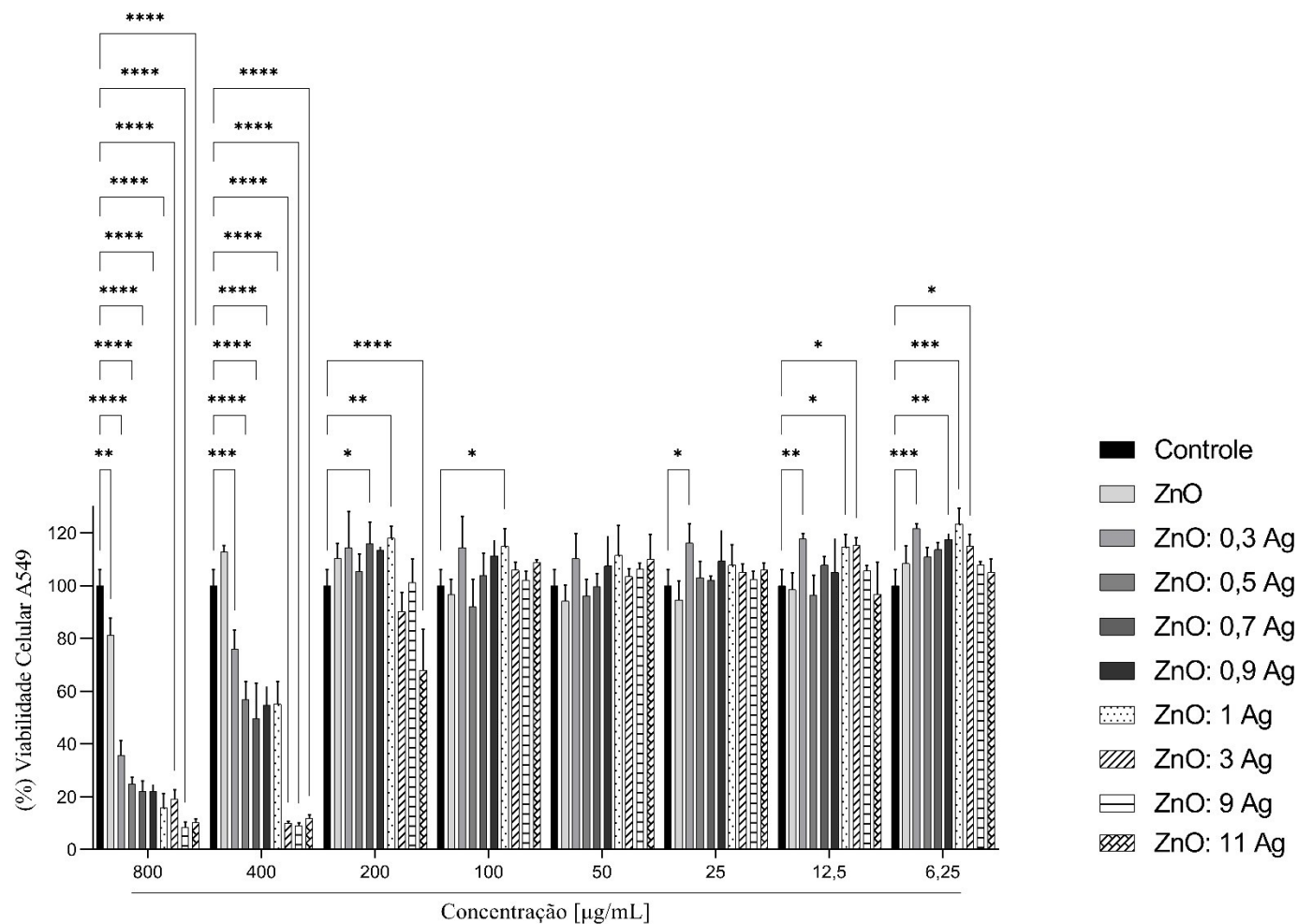


Gráfico 4 - Gráfico de barras da viabilidade celular da linhagem A549 após o tratamento com nanocristais de ZnO (óxido de zinco) puro e dopados com prata: Viabilidade celular expressa como porcentagem em relação ao controle (células não tratadas), após 24 horas de exposição às concentrações de 800 a 6,25 µg/mL dos nove tratamentos avaliados: ZnO, ZnO:0,3 Ag, ZnO:0,5 Ag, ZnO:0,7 Ag, ZnO:0,9 Ag, ZnO:1 Ag, ZnO:3 Ag, ZnO:9 Ag e ZnO:11 Ag. Os resultados são apresentados como média ± erro padrão, e as diferenças estatísticas foram determinadas pelo teste one-way ANOVA (* $p < 0,0332$; ** $p < 0,0021$; *** $p < 0,0002$; **** $p < 0,0001$).

4.2 IC₅₀ e índice de seletividade

No contexto deste trabalho, com objetivo de avaliar quais são os NCs mais promissores para possíveis tratamentos oncológicos, primeiramente foi realizado o cálculo do IC₅₀ (concentração inibitória 50% da viabilidade celular), que visa quantificar e comparar a resposta celular frente à exposição aos nanocritais de óxido de metálicos, fornecendo dados para a compreensão de seu potencial bioativo e auxiliando na interpretação dos mecanismos envolvidos. Trata-se de um parâmetro quantitativo que possibilita a comparação direta entre diferentes tratamentos quanto à sua eficácia em inibir determinada atividade biológica. O valor de IC₅₀ representam a concentração necessária para reduzir em 50% uma resposta biológica previamente estabelecida, em relação a um controle. Dessa forma os resultados o IC₅₀ para as linhagens PNT-2, PC-3, BEAS-2B e A549 foram evidenciados na Tabela 1.

Tabela 1 - IC₅₀ das linhagens celulares de próstata e pulmão

Tratamentos	Linhagens celulares			
	Próstata		Pulmão	
	PNT-2	PC-3	BEAS-2B	A549
ZnO	192,40	137,80	71,35	---
ZnO:0,3 Ag	296,20	192,90	111,10	403,90
ZnO:0,5 Ag	200,70	176,50	84,16	395,90
ZnO:0,7 Ag	200,10	131,10	56,70	386,30
ZnO:0,9 Ag	225,80	200,00	82,96	388,50
ZnO:1 Ag	176,30	162,30	54,28	393,50
ZnO:3 Ag	98,00	109,80	46,52	213,00
ZnO:9 Ag	174,50	243,10	149,5	261,20
ZnO:11 Ag	137,10	122,30	89,78	314,70

--- não foi possível calcular

Na sequência, foi conduzido o cálculo do índice de seletividade, ferramenta utilizada para comparar a seletividade dos tratamentos, contribuindo para a interpretação do seu potencial de aplicabilidade em terapias antineoplásicas. A análise consistiu na comparação entre as linhagens PNT-2 (saudável) e PC-3 (tumoral), bem como entre BEAS-2B (saudável) e A549 (tumoral). Os resultados obtidos encontram-se apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Índice de Seletividade comparativo das linhagens de próstata e pulmão

Tratamentos	IS PC-3	IS A549
ZnO	1,4	---
ZnO:0,3 Ag	1,54	0,28
ZnO:0,5 Ag	1,14	0,21
ZnO:0,7 Ag	1,53	0,15
ZnO:0,9 Ag	1,13	0,21
ZnO:1 Ag	1,09	0,14
ZnO:3 Ag	0,89	0,22
ZnO:9 Ag	0,72	0,57
ZnO:11 Ag	1,12	0,29

--- não foi possível calcular.

4.3 Antibiógrama

Para a verificação do potencial antimicrobiano dos NCs, foram realizadas análises qualitativas pelo método *spot*, nas quais a formação de halos ao redor da região de aplicação de 10µL das soluções de 2 µg/mL foi considerada evidência de atividade antimicrobiana e seus resultados organizados na Tabela 3.

Tabela 3 - Análise qualitativa do potencial antimicrobiano dos nanocristais

Tratamentos	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	Pa/VIM	KPC	<i>S. thiphi</i>	MRSA
ZnO	-	-	-	-	-	-
ZnO:0,3 Ag	-	-	-	-	-	-
ZnO:0,5 Ag	-	-	-	-	-	-
ZnO:0,7 Ag	-	-	-	-	-	-
ZnO:0,9 Ag	-	-	+	-	-	-
ZnO:1 Ag	-	+	+	-	-	-
ZnO:3 Ag	-	-	+	+	-	-
ZnO:9 Ag	-	+++	+++	+	-	++
ZnO:11 Ag	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Gentamicina	+++	+++	+++	+++	+++	+++
PBS	-	-	-	-	-	-

A formação de halos interpretada conforme a seguinte escala: (-) representa ausência de inibição; (+) inibição parcial; (++) inibição moderada e (+++) inibição intensa.

Ao analisar a tabela de resultados, observa-se que o ZnO puro, bem como as formulações dopadas com concentrações de 0,3 a 0,9% de Ag, não apresentaram atividade inibitória frente a nenhuma das cepas avaliadas, com exceção de Pa/VIM, que demonstrou inibição parcial no tratamento com ZnO:9 Ag. Em contrapartida, a amostra com maior concentração de prata (ZnO:11 Ag) exibiu inibição intensa contra todas as cepas testadas.

O tratamento ZnO:9 Ag demonstrou eficácia frente a quatro cepas, sendo três delas pertencentes ao grupo das Gram-positivas. Já as formulações dopadas com 1% e 3% de Ag apresentaram apenas inibição parcial em duas cepas, compartilhando entre si a suscetibilidade da cepa Pa/VIM, a qual dentre os microrganismos testados, apresentou a maior sensibilidade aos nanocristais, especialmente nas amostras com maiores concentrações de prata.

Em contraste, *E. coli* e *S. typhi* se mostraram as menos suscetíveis à ação antimicrobiana. Ainda, ao se comparar *S. aureus* com sua variante mutante resistente à meticilina (MRSA), observa-se que a cepa não resistente foi mais sensível aos NCs, sugerindo que a resistência adquirida pode conferir maior tolerância frente a esses materiais.

Portanto, a ação da Ag em concentrações altas de dopagem se mostra abrangente para cepas Gram-positivas e Gram-negativas, reforçando grande potencial desse metal para tratamentos antimicrobianos de bactérias multirresistentes.

5. DISCUSSÃO

O avanço da nanotecnologia tem possibilitado o desenvolvimento de novos materiais com aplicações promissoras na área da saúde, em especial na oncologia. A busca por compostos capazes de atuar seletivamente sobre células tumorais, reduzindo efeitos adversos e aumentando a eficácia terapêutica, tem impulsionado investigações envolvendo nanocristais com propriedades físico-químicas diferenciadas. Nesse contexto, o óxido de zinco se destaca devido às suas características catalíticas, que favorecem a geração de espécies reativas de oxigênio e podem ser moduladas por estratégias como a dopagem metálica. A incorporação da prata, nesse cenário, surge como uma alternativa de grande interesse, visto seu histórico de uso como agente antimicrobiano e seu potencial para intensificar a atividade biológica de diferentes matrizes (Özgür; Avrutin; Morkoç, 2018; Singh; Kumar; Singh, 2019).

Além disso, em pacientes submetidos a tratamentos oncológicos, a ocorrência de imunossupressão é frequente, o que os torna mais suscetíveis a infecções oportunistas e a patógenos resistentes. Nesse contexto, a busca por compostos capazes de exercer simultaneamente ação antitumoral e antimicrobiana torna-se particularmente relevante. Assim, a avaliação de nanocristais de óxido de zinco dopados com prata representa não apenas uma contribuição ao avanço do conhecimento científico, mas também uma oportunidade de explorar alternativas terapêuticas integradas, voltadas tanto ao combate do câncer quanto à prevenção e ao tratamento de infecções associadas (Silva; Castella, 2022).

Com base nessas premissas, os resultados obtidos neste trabalho foram analisados de forma a elucidar o potencial dos nanocristais de óxido de zinco dopados com prata, tanto em relação à sua atividade antitumoral quanto à sua eficácia frente a microrganismos resistentes, permitindo uma discussão crítica sobre suas perspectivas de aplicação em diferentes contextos da saúde.

5.1 Atividade sob as linhagens celulares

Nesse cenário, um dos objetivos centrais deste estudo foi avaliar o potencial de aplicabilidade dos NCs de ZnO:Ag. Portanto se fez necessária a realização de análises de viabilidade celular, associadas a avaliações quantitativas estatísticas do IC₅₀ e IS, de modo a caracterizar o comportamento dessas nanopartículas sobre linhagens celulares modelo, que representam, de forma inicial, a possível resposta biológica em organismos. Ressalta-se que tais análises não têm a intenção de fornecer verdades absolutas sobre sensibilização dos NCs, mas sim de orientar o estudo para direções promissoras, que possam conduzir ao desenvolvimento de tratamentos alternativos e inovadores para o câncer.

Para compreender os efeitos observados, é necessário considerar os aspectos sobre o comportamento dos nanocristais de ZnO e de ZnO: Ag. Conforme evidenciado na literatura, a presença dos íons livres com Zn²⁺ no meio de cultura está fortemente relacionada com a queda de viabilidade, principalmente nas concentrações mais altas (Song *et al.*, 2010). Embora, o ZnO amorfo possua dissolução parcial em meios aquosos, ou seja, libera quantidades limitadas de íons Zn²⁺, esse processo é significativamente amplificado quando o composto assume morfologia nanoparticulada, devido ao aumento significativo de sua área superficial e reatividade, promovendo maior liberação de íons Zn²⁺ em solução. E quando dopado com prata (Ag), íons Ag⁺ sofrem do processo análogo de liberação (Carofiglio *et al.*, 2020).

A ação citotóxica desses cátions pode estar ligada por possíveis efeitos em vias essenciais para o funcionamento celular, como na inibição do transporte ativo, no metabolismo de

aminoácidos e na interrupção do sistema enzimático (Sirelkhatim *et al.*, 2015; Makauki *et al.*, 2025). Outra possível via que pode contribuir para a citotoxicidade observada nos tratamentos é o aumento na produção de ROS em níveis que superam a capacidade antioxidante da célula. Esse desequilíbrio leva ao estabelecimento de um estado de estresse oxidativo, o qual pode provocar danos significativos a componentes celulares essenciais, como lipídios, proteínas e material genético. A peroxidação lipídica, iniciada pela oxidação de ácidos graxos, desencadeia reações que levam a ruptura da membrana plasmática e de organelas, resultando, consequentemente, em morte celular. Ademais, concentrações elevadas de ROS também atuam como moléculas sinalizadoras envolvidas na ativação de vias apoptóticas. (Ryter *et al.*, 2007; Premanathan *et al.*, 2011).

É válido ressaltar que esses efeitos são modulados pelas estratégias adaptativas específicas de cada linhagem celular, as quais estão diretamente relacionadas à sua origem tecidual e ao perfil de mutações presentes, influenciando sua sensibilidade aos nanocristais. Nesse contexto, a linhagem celular PNT-2 é derivada de células epiteliais da próstata de um adulto saudável e imortalizada pela transfecção plasmidial do genoma modificado do Simian Virus 40 (SV40) com origem de replicação defeituosa. O que possibilita a codificação do Large T antigen sem a produção de partículas virais infecciosas. Esse antígeno interfere no ciclo celular das células humanas, inativando proteínas supressoras de crescimento, permitindo a proliferação indefinida. Enquanto a linhagem PC-3 é proveniente de células epiteliais da próstata de um adulto com adenocarcinoma grau IV, sendo essas então associadas a crescimento rápido, pior prognóstico e resistentes a castração (ATCC, 2025; BCRJ, 2025; Cussenot *et al.*, 1991; Kaighn *et al.*, 1979).

Derivadas de epitélio brônquico humano não neoplásico obtido por autópsia, as células BEAS-2B constituem um modelo amplamente utilizado para estudos em toxicologia e biologia pulmonar, elas foram geneticamente modificadas por meio da infecção com um vírus híbrido entre o SV40 e o adenovírus 12 (Ad12SV40), que é defeituoso em replicação, permitindo a imortalização controlada pelos mesmo mecanismos da PNT-2. A linhagem A549 tem como origem células epiteliais de tecido carcinomatoso pulmonar do subtipo carcinoma de não pequenas células (ATCC, 2025; Reddel *et al.*, 1989; Giard *et al.*, 1973).

O uso das diferentes linhagens neste estudo teve como objetivo comparar possíveis efeitos seletivos de redução da viabilidade celular, uma vez que representam modelos distintos: a PNT-2 e BEAS-2B, como linhagens não tumorais, as quais atuam como controle fisiológico saudável; enquanto a PC-3 e A549 representam o fenótipo tumoral agressivo. Dessa forma, a

comparação entre essas modelos permite avaliar a seletividade e segurança dos tratamentos testados, distinguindo efeitos generalizados de potenciais efeitos antitumorais direcionados.

De forma geral, os tratamentos testados apresentaram maiores indução de redução da viabilidade celular sobre a linhagem tumoral PC-3 em comparação à linhagem não tumoral PNT-2, embora algumas das concentrações e tratamentos testados observou-se diferenças discretas entre as linhagens. No entanto, alguns nanocristais dopados evidenciaram uma seleção citotóxica mais marcante para células tumorais, com destaque para os tratamentos com ZnO:0,3 Ag, ZnO:0,5 Ag, ZnO:0,7 Ag e ZnO:0,9 Ag na concentração de 100 µg/mL. Nesses casos, a diferença na viabilidade celular entre as linhagens foi de 25,81%, 34,72%, 40,49% e 26,72%, respectivamente, sendo a viabilidade das células PC-3 inferior à das PNT-2.

Esses resultados indicariam um possível efeito diferencial das formulações dopadas com prata, sugerindo maior sensibilidade das células tumorais de próstata ao tratamento, sobretudo nas composições baixas a intermediárias. Durante a análise dos resultados, verificou-se que nenhum dos tratamentos avaliados apresentou índice de seletividade (IS) superior ou igual a 2. Entretanto, quimioterápicos clássicos amplamente utilizados, como a cisplatina, também exibem valores relativamente baixos de IS, apresentando 0,6 para a linhagem A549 e 1 para a linhagem PC-3, conforme descrito por Maciel *et al.* (2022). Embora, nesse estudo, as linhagens não tumorais empregadas como controle fossem distintas das utilizadas no presente trabalho, os resultados indicam que valores inferiores a 2 ainda podem ter relevância biológica, reforçando a interpretação dos achados obtidos. Desse modo, os tratamentos ZnO:0,3 e 0,7 Ag apresentaram seletividades relativamente promissoras ao compara-los com os outros nanocristais, sendo em ambos maiores que 1,50. Portanto, ressalta-se que os achados deste trabalho são expressivos e apresentam potencial de otimização, especialmente por meio da funcionalização dos nanocristais com outras substâncias.

Avaliando os ensaios sobre as linhagens pulmonares, não se observou-se citotoxicidade seletiva as células neoplásicas malignas. Os tratamentos foram significativamente mais citotóxicos para a BEAS-2B. Sendo que, a sensibilidade desta pode estar relacionada à sua baixa resistência oxidativa, característica, comum em células epiteliais pulmonares, tornando-as mais suscetíveis ao estresse gerado pelas nanopartículas (Liu *et al.*, 2025).

Por outro lado, mesmo a linhagem A549 sendo derivada de epiteliais pulmonares esta apresentou maior resistência aos tratamentos. Esse comportamento, possivelmente pode estar relacionado com capacidade de conter o estresse oxidativo devido as mutações presentes no complexo KEAP1/NRF2 presente na linhagem A549. O fator de transcrição NRF2 regula mais de 200 genes envolvidos em homeostase redox; metabolismo e excreção de fármacos;

sobrevivência celular e proliferação. Em condições normais, os níveis de NRF2 são mantidos baixos pela ação do KEAP1, que se liga ao NRF2 formando um complexo que induz sua ubiquitinação e degradação. Sob condições de estresse celular, esse complexo é dissociado, permitindo a ativação das respostas antioxidantes. Entretanto, em células neoplásicas malignas, mutações podem interromper o complexo KEAP1/NRF2, resultando em níveis constitutivos elevados de NRF2, conferindo efeitos citoprotetores levando resistência a diversas terapias anticâncer (Aboukassim *et al.*, 2023; Shang *et al.*, 2021).

Essa hipótese é corroborada pelo fato de que a linhagem A549 não apresentou redução significativa da viabilidade celular quando exposta aos NCs de ZnO puros, cuja viabilidade celular permaneceu acima de 50% em todas as concentrações testadas, provavelmente devido ao fato de que o principal mecanismo de ação do ZnO está relacionado ao estresse oxidativo. Em contrapartida, os NCs dopados com prata induziram maior citotoxicidade, sugerindo que esse comportamento pode ter correlação da toxicidade intrínseca do íon prata. Essas observações são apoiadas pela análise dos índices de seletividade (IS), uma vez que todos tratamentos testados em células pulmonares apresentam valores inferiores a 1 e em ZnO puro não foi possível se calcular por essa não ter IC₅₀.

Portanto, em um aspecto geral, os resultados obtidos sugerem que as células tumorais, especialmente a linhagem A549, apresentam mecanismos adaptativos mais eficientes para atenuar os efeitos citotóxicos das nanopartículas, o que pode incluir maior capacidade antioxidante, expressão diferencial de transportadores de efluxo, modulação da permeabilidade de membrana e reparo de danos moleculares. Essas estratégias contribuem para a redução da eficácia citotóxica seletiva observada, refletida nos baixos valores de IS obtidos (Hanahan, 2022).

De forma a aumentar a seletividade, reduzindo a toxicidade a células não tumorais e potencializando a ação sobre células malignas, podem serem feitas modificações estruturais como a funcionalização dessas em superfícies de ligantes específicos de marcadores tumorais. A linhagem A549, expressa níveis elevados do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), uma característica comum em diversos tipos de câncer (Deng *et al.*, 2017). A conjugação de aptâmeros anti-EGFR a nanocristais de ZnO:Ag pode facilitar a internalização específica nas células tumorais pulmonares, potencializando a ação terapêutica e reduzindo a toxicidade sistêmica. O estudo de Huang *et al.* (2015) demonstra que o revestimento de nanopartículas com o anticorpo cetuximabe promove aumento da citotoxicidade direcionada em células A549, evidenciando a eficácia do direcionamento ao receptor EGFR em células tumorais.

Já na linhagem PC-3, o tratamento pode ser direcionado por meio de moléculas com alta afinidade e especificidade, como os aptâmeros. No estudo de Fang *et al.* (2020), foi empregada a funcionalização de nanopartículas poliméricas do tipo *core-shell*, compostas por um núcleo de ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) e uma camada de revestimento de polietilenoglicol (PEG), conjugadas ao aptâmero Wy5a, selecionado por *cell-SELEX* para reconhecer especificamente células PC-3. Essas nanopartículas foram capazes de encapsular simultaneamente o quimioterápico docetaxel e nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro, associando propriedades terapêuticas e de imagem. A presença do aptâmero na superfície promoveu maior internalização celular, intensificou a citotoxicidade em PC-3 e resultou em eficácia antitumoral superior. Assim, a conjugação de aptâmeros evidencia-se como uma estratégia promissora para otimizar a terapia do câncer de próstata resistente à castração. Tais estratégias podem contribuir para o desenvolvimento de formulações mais seguras e eficazes, alinhadas aos objetivos terapêuticos de tratamentos oncológicos direcionados.

5.2 Atividade antimicrobiana

O ensaio realizado neste trabalho teve como objetivo elucidar, de maneira qualitativa, a atividade antimicrobiana dos nanocristais (NCs), constituindo-se como uma etapa preliminar para a seleção e direcionamento de futuros estudos.

Os NCs de óxidos metálicos caracterizam-se por sua natureza multifatorial de ação. A literatura propõe vários mecanismos de interação desses com as células microbianas, como o aumento da permeabilidade da membrana celular bacteriana, resultante de dois processos sinérgicos: a atração eletrostática entre os íons positivos de Zn^{2+} e Ag^+ a superfície celular negativamente carregada e a geração de ROS associadas principalmente a presença do zinco, que induz estresse oxidativo, degrada a membrana celular e camada de lipopolissacarídeos na parede celular de bactérias, comprometendo subsequentemente a integridade do peptidoglicano. (Makauki *et al.*, 2025; Król *et al.*, 2017). Com o aumento da permeabilidade, além de promoverem o vazamento de organelas e componentes celulares essenciais, facilita-se a internalização dos íons ao hialoplasma (Bapat *et al.*, 2018).

Os resultados observados demonstraram que apenas os tratamentos com maiores concentrações de prata exibiram ação inibitória significativa. Esse comportamento pode ser atribuído à baixa solubilidade do ZnO que reforçada quando o solvente é PBS, como é o caso deste trabalho. Estudos de Li *et al.* (2011) indicam que o fosfato presente no PBS pode precipitar íons zinco na forma de fosfato de zinco altamente insolúvel ($Zn_3(PO_4)_2$), formando um

recobrimento superficial que inibe a dissolução contínua do ZnO e, conseqüentemente, reduz a disponibilidade de íons Zn^{2+} capazes de atravessar a membrana bacteriana e exercer efeito citotóxico. Essa precipitação pode explicar a ausência de atividade antimicrobiana do ZnO puro, mesmo contra cepas como *E. coli*, que em outros estudos já demonstraram ser sensíveis ao ZnO (Silva *et al.*, 2019).

Dessa forma, constrói-se a hipótese de que o principal mecanismo de ação dos NCs não está necessariamente associado à dissolução e liberação de íons metálicos no meio, mas sim a propriedades intrínsecas dos materiais. Embora a liberação de íons Zn^{2+} e Ag^+ possa contribuir para a atividade antimicrobiana, os resultados obtidos indicam que, no contexto experimental adotado, particularmente em meio tamponado com PBS, a dissolução do ZnO é severamente limitada, o que compromete a disponibilidade de íons livres em solução. Assim, o efeito bactericida observado, sobretudo nas formulações com maiores teores de prata (como ZnO:11 Ag), parece estar mais associado a interações diretas das nanopartículas com a célula microbiana.

Nesse sentido a prata exerce ação citotóxica adicional mediante a sua interação preferencial com grupos tiol de enzimas e proteínas estruturais, devido a elevada afinidade da prata por resíduos de enxofre, os quais podem levar à inibição de vias tanto pela inativação dos sítios ativos de enzimas como a mudança de sua conformação. Eles interagem com o DNA de forma a impedir a divisão celular, resultando em morte celular. Em escala nanométrica, tais efeitos são potencializados pela elevada área superficial específica e pelo contato íntimo entre nanopartícula e célula-alvo. (Buszewski *et al.*, 2018; Mikhailova, 2020).

Portanto, esses resultados reforçam a importância de considerar os efeitos físico-químicos e de superfície das nanopartículas, os quais vão além da especiação iônica, na avaliação de seu potencial antimicrobiano, ao sugerirem que a toxicidade intrínseca dos NCs, em especial dos dopados com maiores teores de prata, desempenha papel relevante na atividade antimicrobiana. Entretanto, para melhores avaliações e comprovação da teoria de que a ação antimicrobiana da prata é intimamente relacionada à sua toxicidade a nanopartícula é necessário desenvolver novos ensaios, que permitam verificar sua eficácia em diferentes solventes e condições de dissolução, de modo a entender e potencializar sua ação quando a presença de íons livres é maior.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu avaliar o potencial antitumoral e antimicrobiano de nanocristais de óxido de zinco dopados com diferentes concentrações de prata. A análise de viabilidade

celular revelou que as células tumorais de próstata (PC-3) demonstraram maior sensibilidade aos nanocristais quando comparado as células de pulmões (A549). Ademais, embora os NCs tenham apresentado redução da viabilidade celular em algumas condições, nenhum dos tratamentos atingiu índice de seletividade (IS) igual ou superior a 2, parâmetro geralmente considerado promissor para terapias antineoplásicas (Maciel *et al.*, 2022). Ainda assim, observa-se que quimioterápicos clássicos, como a cisplatina, também apresentam baixos valores de seletividade, o que sugere que os resultados obtidos, apesar de modestos, não devem ser desconsiderados. No que se refere à atividade antimicrobiana, os resultados demonstraram efeito notável apenas nas formulações com maiores teores de dopagem. Em especial, os nanocristais contendo 11% de prata, os quais exibiram inibição intensa frente a todas as cepas bacterianas avaliadas, incluindo microrganismos multirresistentes, como *Pseudomonas aeruginosa* VIM e *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase. Esse achado evidencia o impacto direto da dopagem metálica no incremento da atividade antimicrobiana, reforçando o papel da prata como elemento chave para superar mecanismos de resistência bacteriana.

Dessa forma, conclui-se que os nanocristais de óxido de zinco dopados com prata constituem uma plataforma versátil, com potencial de aplicação de terapias integradas no combate a patógenos resistentes e tratamentos oncológicos. Entretanto, são necessários estudos complementares envolvendo mais análises *in vitro* e posteriormente modelos *in vivo*, e possíveis combinações com biomoléculas direcionadoras, a fim de consolidar a aplicabilidade clínica desses nanomateriais. O trabalho, portanto, contribui para o avanço do conhecimento em nanotecnologia aplicada à saúde, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2015

ABOULKASSIM, T. et al. A NRF2 inhibitor selectively sensitizes KEAP1 mutant tumor cells to cisplatin and gefitinib by restoring NRF2-inhibitory function of KEAP1 mutants. **Cell Reports**, v. 42, n. 9, p. 113104, set. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113104>. Acesso em: 05 ago. 2025.

ADAM-KLAGES, S.; ADAM, D.; JANSSEN, O.; KABELITZ, D. Death receptors and caspases: role in lymphocyte proliferation, cell death, and autoimmunity. **Immunol Res**, v.33, n. 2, p. 149-166, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1385/ir:33:2:149> . Acesso em: 15 out. 2024.

AGGARWAL, S. D.; LOKKEN-TOYLI, K. L.; WEISER, J. N. Pneumococcal pneumonia is driven by increased bacterial turnover due to bacteriocin-mediated intra-strain competition. **Communications Biology**, v. 7, n. 1, 6 dez. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s42003-024-07176-4>. Acesso em: 15 jul. 2025.

ALSAN, M. et al. Technological Progress and Health Convergence: The Case of Penicillin in Postwar Italy. **Demography**, v. 58, n. 4, p. 1473–1498, 5 jul. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1215/00703370-9368970>. Acesso em: 18 jul. 2025.

AMBLER, R. P. The structure of beta-lactamases. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 289, n. 1036, p. 321–31, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>. Acesso em: 15 jul. 2025.

ARAÚJO, L. H. et al. Lung cancer in Brazil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 44, n. 1, p. 55–64, fev. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-37562017000000135>. Acesso em: 29 out. 2024.

ATCC. A549. [Online]. Disponível em: <https://www.atcc.org/products/crm-ccl-185>. Acesso em: 25 jul. 2025

ATCC. BEAS-2B. [Online]. Disponível em: <https://www.atcc.org/products/crl-3588>. Acesso em: 25 jul. 2025

ATCC. PC-3. [Online]. Disponível em: <https://www.atcc.org/products/crm-1435>. Acesso em: 25 jul. 2025

AYOUB, I. et al. Advances in ZnO: Manipulation of defects for enhancing their technological potentials. **Nanotechnology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 575–619, 1 jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/ntrev-2022-0035>. Acesso em: 15 jul. 2025.

BADISA, R. B. et al. Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. **Anticancer Research**, v. 29, n. 8, p. 2993-2996, 2009. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2885965/>. Acesso em: 29 out. 2024.

BARATALI RAMAZANZADEH et al. Comparison of Antibacterial Effects of ZnO and CuO Nanoparticles Coated Brackets against Streptococcus Mutans. **Journal of Dentistry**, v. 16, n. 3, p. 200, set. 2015. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4554313/>. Acesso em: 15 jul. 2025.

BCRJ. PNT-2. [Online]. Disponível em: <https://bcRJ.org.br/celula/pnt-2/>. Acesso em: 25 jul. 2025

BÉNÉRE, E.; da LUZ, R. A., I.; VERMEERSCH, M.; COS, P.; MAES, L. A new quantitative *in vitro* microculture method for *Giardia duodenalis* trophozoites. **Journal of Microbiological Methods**, v. 71, n.2, p.101-106, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.07.014>. Acesso em: 02 nov. 2024.

BREIJYEH, Z.; JUBEH, B.; KARAMAN, R. Resistance of gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. **Molecules**, v. 25, n. 6, p. 1340, 16 mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25061340>. Acesso em: 18 jul. 2025.

BUSZEWSKI, B. et al. Antimicrobial activity of biosilver nanoparticles produced by a novel Streptacidiphilus durhamensis strain. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 51, n. 1, p. 45–54, 1 fev. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.03.002>. Acesso em: 28 jul. 2025

CALDEIRA, Izabela Daniel Sardinha. **Papel da nova citocina FAM3B/PANDER na progressão tumoral em câncer de mama**. 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42136/tde-11112016-091111/>. Acesso em: 05 ago. 2025.

CAMPOS, M. R. et al. Tabagismo, mortalidade, acesso ao diagnóstico e tratamento de câncer de pulmão no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 58, p. –, 25 abr. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2024058005704>. Acesso em: 02 nov. 2024.

CAO, G.; WANG, Y. Nanostructures and Nanomaterials. **World Scientific Series in Nanoscience and Nanotechnology**, jan. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1142/7885>. Acesso em: 17 jul. 2025.

CAROFIGLIO, M. et al. Doped Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Potential Use in Nanomedicine. **Applied Sciences**, v. 10, n. 15, p. 5194, 28 jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/app10155194>. Acesso em: 14 jul. 2025.

CUSSENOT O. et al. Immobilization of Human Adult Normal Prostatic Epithelial Cells by Liposomes Containing Large T-SV40 Gene. **The Journal of Urology**, v. 146, n. 3, p. 881–886, 1 set. 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)37953-3](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)37953-3). Acesso em: 05 ago. 2025.

DANGELO, J. G.; FATINNI, C. A. Sistema Genital Masculino. *In*: DANGELO, J. G;

FATINNI, C. A). **Anatomia Humana: sistêmica e segmentar**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2007. Cap. 11. p. 181-187.

DAS, M. et al. Harnessing the human microbiome and its impact on immuno-oncology and nanotechnology for next-generation cancer therapies. **European Journal of Pharmacology**, v. 996, p. 177436, jun. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2025.177436>. Acesso em: 15 jul. 2025.

DENG, C. et al. Novel recombinant immunotoxin of EGFR specific nanobody fused with cucurmosin, construction and antitumor efficiency *in vitro*. **Oncotarget**, v. 8, n. 24, p. 38568–38580, 7 abr. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.16930>. Acesso em: 05 ago. 2025.

DISNER, E.; PESTANA, D. R. **Efeitos colaterais da quimioterapia: quais são e como melhorar? - Dr. Roberto Pestana**. Disponível em: <<https://robertopestana.com.br/efeitos-colaterais-da-quimioterapia-quais-sao-e-como-melhorar>>. Acesso em: 21 ago. 2025.

DUARTE, H. E. Anatomia Humana. 1 ed, Florianópolis: CED/LANTEC, 2014

ESPITIA, P. J. P. et al. Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 5, p. 1447–1464, 22 fev. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0797-6>. Acesso em: 15 jul. 2025.

FANG, Y. et al. Aptamer-Conjugated Multifunctional Polymeric Nanoparticles as Cancer-Targeted, MRI-Ultrasensitive Drug Delivery Systems for Treatment of Castration-Resistant Prostate Cancer. **BioMed Research International**, v. 2020, p. 1–12, 27 abr. 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/15761/>. Acesso em: 05 ago. 2025.

FERRAZ, C. A. G. **Dor total de pessoas com câncer de pulmão avançado - estudo com método misto**. Tese (Doutorado em Enfermagem em Saúde Pública) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/T.22.2022.tde-08032023-155826>. Acesso em: 15 out. 2024.

FEYNMAN, R. P. There's Plenty of Room at the Bottom. 1960. Disponível em: https://web.pa.msu.edu/people/yang/RFeynman_plentySpace.pdf

FLORESTA, Luciana Rosa de Souza. **Biocompatibilidade de nanocristais de óxido de zinco dopados com cobre em *Drosophila melanogaster***. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2023. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/jspui/handle/123456789/11289/>. Acesso em: 05 ago. 2025.

FRANKEN, N. A. P. et al. Clonogenic assay of cells in vitro. **Nature protocols**, v. 1, n. 5, p. 2315–9, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.339>. Acesso em: 02 nov. 2024.

FREITAS, Ligiane Gomes de. **Cádmio: fator de risco para câncer de mama e de próstata? - uma revisão sistemática**. 2023. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/100/100141/tde-30012024-232436/>. Acesso em: 05 ago. 2025.

GALLOWAY-PEÑA, J.; BRUMLOW, C.; SHELBURNE, S. Impact of the Microbiota on Bacterial Infections during Cancer Treatment. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 12, p. 992–1004, dez. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>. Acesso em: 15 jul. 2025.

GIACOMINI, E. et al. Evidence of Antibiotic Resistance from Population-Based Studies: A Narrative Review. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 14, p. 849–858, mar. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IDR.S289741>. Acesso em: 18 jul. 2025.

GIARD, D. J. et al. In Vitro Cultivation of Human Tumors: Establishment of Cell Lines Derived From a Series of Solid Tumors2. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 51, n. 5, p. 1417–1423, nov. 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jnci/51.5.1417>. Acesso em: 05 ago. 2025.

GLOBOCAN - Estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin**. V.68, n.6, p.394-424. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3322/caac.21492>. Acesso em: 02 nov. 2024.

GOMES, Lara Reis. **Caracterização de cães com leptospirose, por meio de testes de diagnóstico sorológico, molecular e alterações clínicos-patológicas, e investigação do efeito antimicrobiano da nanopartícula ZnO:9Ag em cepas padrão de *Leptospira* spp.** 2024. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2024. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/34509>. Acesso em 25 jul. 2025.

GONÇALVEZ, Ítalo Macêdo. **Síntese coloidal, caracterização estrutural, óptica e magnética de nanopartículas de óxido de zinco dopadas com metais de transição**. 2023. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/49548>. Acesso em: 05 ago. 2025.

GOTCHAGORN SAWATPHAKDEE et al. Feasibility of Nanostructured Lipid Carrier Loaded with Alpha-Mangostin and Clove Oil for Canine Periodontal Therapy. **Animals**, v. 14, n. 14, p. 2084–2084, 17 jul. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani14142084>. Acesso em: 28 out. 2024.

HANAHAHAN, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31–46, 12 jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>. Acesso em: 15 out. 2024.

HAUNG, R. et al. Potential Anticancer Effect of Bioactive Extract of Monk Fruit (*Siraitia grosvenori*) on Human Prostate and Bladder Cancer Cells. **Journal of Cancer Therapy**, v. 14, n. 05, p. 211–224, 1 jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.4236/jct.2023.145019>. Acesso em: 28 out. 2024.

HORNYAK, G. L. et al. **Fundamentals of Nanotechnology**. [s.l.] CRC Press, 2018.

HUANG, W.-T. et al. Demethoxycurcumin-carrying chitosan-antibody core-shell nanoparticles with multitherapeutic efficacy toward malignant A549 lung tumor: from in vitro characterization to in vivo evaluation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 4, p. 1242–1249, 6 abr. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/mp500747w>. Acesso em: 05 ago. 2025.

HUMPHREY, P. A. et al. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part B: Prostate and Bladder Tumours. **European Urology**, v. 70, n. 1, p. 106–119, jul. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.028>. Acesso: 29 out. 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **Apresentação, 2022**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa>. Acesso em: 11 nov. 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **Estimativa 2023: Incidência de Câncer no Brasil** / Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA, 2023

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **O que é câncer?**, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer>. Acesso em: 12 nov. 202.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **Tipos de câncer – pulmão**, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/pulmao>. Acesso em: 11 nov. 2024.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Cancer Tomorrow**, 2022. Disponível em: https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/tables?populations=76&single_unit=50000&years=2050&types=0&bar_mode=grouped. Acesso em: 14 out. 2024.

JESUS, J. A. **Nanopartículas lipídicas como carreadores de triterpenos para o tratamento da leishmaniose visceral experimental**. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Experimental) - Faculdade Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5160/tde-06122021-140706/en.php>. Acesso em: 02 nov. 2024.

KAIGHN, M. E. et al. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). **Investigative Urology**, v. 17, n. 1, p. 16–23, 1 jul. 1979.

KHOJASTEH-TAHERI R. et al. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Salvadora persica* and *Caccinia macranthera* Extracts: Cytotoxicity Analysis and Antimicrobial Activity Against Antibiotic-Resistant Bacteria. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 195, n. 8, p. 5120–5135, 27 fev. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04407-y>. Acesso em: 17 jul. 2025.

KLAUNIG, J. E.; WANG, Z. Carcinogenicity. **Comprehensive Toxicology**, p. 233–254, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.01948-6>. Acesso em: 14 jul. 2025.

KRÓL, A. et al. Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 249, n. 1, p. 37–52, nov. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.07.033>. Acesso em: 28 jul. 2025.

LEAL, G. V. et al. Determinantes psicossociais associados à baixa adesão ao exame de toque retal. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n. 1, p. 444–456, 6 jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n1-035>. Acesso em: 26 out. 2024.

LHAGLHAM, P. et al. Drug Nanocrystals: Surface Engineering and Its Applications in Targeted Delivery. **iScience**, p. 111185, out. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.111185>. Acesso em: 17 jul. 2025.

LI, L. et al. Controllable synthesis of monodispersed silver nanoparticles as standards for quantitative assessment of their cytotoxicity. **Biomaterials**, v. 33, n. 6, p. 1714–1721, fev. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.11.030>. Acesso em: 15 jul. 2025.

LI, M.; ZHU, L.; LIN, D. Toxicity of ZnO Nanoparticles to *Escherichia coli*: Mechanism and the Influence of Medium Components. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 5, p. 1977–1983, mar. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es102624t>. Acesso em: 28 jul. 2025.

LIU, S. et al. Mitochondrial dysfunction and alveolar type II epithelial cell senescence: The destroyer and rescuer of idiopathic pulmonary fibrosis. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 13, 31 mar. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcell.2025.1535601>. Acesso em: 28 jul. 2025

MACHADO, P. H. A. **Avaliação in vitro das atividades citotóxicas e genotóxicas de um metalocomplexo à base de cobre (II) denominado Dri-12**. Tese (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.14393/ufu.di.2019.2093>. Acesso em: 15 out. 2024.

MACIEL, L. L. F. et al. In Vitro and In Vivo Relevant Antineoplastic Activity of Platinum(II) Complexes toward Triple-Negative MDA-MB-231 Breast Cancer Cell Line. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 10, p. 2013, 22 set. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102013>. Acesso em: 05 ago. 2025.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12 ed. Porto Alegre: Artmed Editora SA; 2010.

MADKHALI, O. A. A comprehensive review on potential applications of metallic nanoparticles as antifungal therapies to combat human fungal diseases. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 31, n. 9, p. 101733–101733, 1 set. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101733>. Acesso em: 17 jul. 2025.

MAKAUKI, E. et al. Synergistic antimicrobial mechanisms of silver-doped zinc oxide for water treatment: a systematic review. **H2Open Journal**, 10 mar. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.2166/h2oj.2025.037>. Acesso em: 28 jul. 2025

MALIK, S.; MUHAMMAD, K.; WAHEED, Y. Emerging applications of nanotechnology in healthcare and medicine. **Molecules**, v. 28, n. 18, 14 set. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28186624>. Acesso em: 17 jul. 2025.

MANSINHO, A. et al. Castration-Resistant Prostate Cancer: Mechanisms, Targets and Treatment. **Molecular & Diagnostic Imaging in Prostate Cancer**, p. 117–133, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-99286-0_7. Acesso em: 28 out. 2024.

MENDES, A. L. V. **Citotoxicidade do extrato clorofórmico e do ácido betulínico de *eremanthus erythropappus* a células tumorais mamárias**. TCC (Biotecnologia) - Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/39446>. Acesso em: 15 out. 2024.

MIKHAILOVA, E. O. Silver Nanoparticles: Mechanism of Action and Probable Bio-Application. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 11, n. 4, p. 84, 26 nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jfb11040084>. Acesso em: 28 jul. 2025.

MILANI, Natália Cristina. **Utilização de zinco, na forma de óxido de zinco nanoparticulado, em dietas para leitões recém-desmamados**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/D.11.2017.tde-06012017-153804>. Acesso em: 06 jul. 2025

MISHRA, S. M.; SATPATI, B. Morphology of ZnO nanorods and Au–ZnO heterostructures on different seed layers and their influence on the optical behavior. **Journal of Luminescence**, v. 246, p. 118813, jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2022.118813>. Acesso em: 14 jul. 2025.

MOHAMMAD ALI SAGHIRI et al. Functional role of inorganic trace elements in angiogenesis—Part II: Cr, Si, Zn, Cu, and S. **Critical Reviews in Oncology Hematology**, v. 96, n. 1, p. 143–155, 1 out. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2015.05.011>. Acesso em: 29 out. 2024.

MUKTARIDHA, O. et al. Progress of 3d metal-doped zinc oxide nanoparticles and the photocatalytic properties. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 6, p. 103175, jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103175>. Acesso em: 15 jul. 2025.

MURRAY C.J.L. et al. Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: a Systematic Analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629–655, 12 fev. 2022. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)002724-0/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)002724-0/fulltext). Acesso em: 18 jul. 2025.

NAAS, T.; DORTET, L.; I. IORGA, B. Structural and Functional Aspects of Class A Carbapenemases. **Current Drug Targets**, v. 17, n. 9, p. 1006–1028, 19 maio 2016.

Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1389450117666160310144501>. Acesso em: 15 jul. 2025

NGUYEN, M.; JOSHI, S. G. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 6, 21 maio 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jam.15130>. Acesso em: 15 jul. 2025.

NUNES, S. DE F.; KOCK, K. DE S. Prevalência de tabagismo e morbimortalidade por câncer de pulmão nos estados brasileiros. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 19, n. 46, p. 3598–3598, 18 abr. 2024. Disponível em: [https://doi.org/10.5712/rbmfc19\(46\)3598](https://doi.org/10.5712/rbmfc19(46)3598). Acesso em: 02. nov. 2024.

OMS. **Antimicrobial Resistance**, 2019. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 18 jul. 2025.

ÖZGÜR, Ü.; AVRUTIN, V.; MORKOÇ, H. Zinc Oxide Materials and Devices Grown by Molecular Beam Epitaxy. pag 343-375, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812136-8.00016-5>. Acesso em: 18 jul. 2025.

PAL, S.; TAK, Y. K.; SONG, J. M. Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 6, p. 1712–1720, 19 jan. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.02218-06>. Acesso em: 17 jul. 2025.

PAPP-WALLACE, K. M. et al. Carbapenems: Past, Present, and Future. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 11, p. 4943–4960, 22 ago. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11>. Acesso em: 18 jul. 2025.

PEDROSO et al., Saúde e deficiência em pacientes em tratamento com quimioterapia. v. 28, n. 4, p. 435–442, 1 out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-2950/21003828042021> Acesso em: 01 ago. 2025.

PEREIRA, G. F. L. **Espectro e frequência de mutações germinativas em genes de predisposição ao câncer em pacientes com carcinoma de próstata**. Tese (Doutorado em Oncologia) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/T.5.2024.tde-26062024-144703>. Acesso em: 15 out. 2024.

PERNAR, C. H. et al. The Epidemiology of Prostate Cancer. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 8, n. 12, p. a030361, 8 jan. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030361>. Acesso em: 14 jul. 2025.

POLLONI, L. et al. Antiangiogenic effects of phospholipase A2 Lys49 BnSP-7 from Bothrops pauloensis snake venom on endothelial cells: An in vitro and ex vivo approach. **Toxicology in Vitro**, v. 72, p. 105099, abr. 2021 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2021.105099>. Acesso em: 02 nov. 2024.

POURNARAS, S. et al. Novel Variant (*bla*_{VIM-4}) of the Metallo- β -Lactamase Gene *bla*_{VIM-1} in a Clinical Strain of *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 12, p. 4026–4028, dez. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aac.46.12.4026-4028.2002>. Acesso em: 15 jul. 2025.

PREMANATHAN, M. et al. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 7, n. 2, p. 184–192, abr. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2010.10.001>. Acesso em: 14 jul. 2025.

REBELO, R. et al. Morphology and oxygen incorporation effect on antimicrobial activity of silver thin films. **Applied Surface Science**, v. 371, p. 1–8, 1 maio 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.02.148>. Acesso em: 05 ago. 2025.

REDDEL RR, et al. Immortalized human bronchial epithelial mesothelial cell lines. US4885238A. Instituição de registro: US Patent. 05 dez. 1989 Disponível em: <https://patents.google.com/patent/US4885238A/en> Acesso em: 03 ago. 2025

REIS, Érica de Melo. **Avaliação do potencial genotóxico de nanopartículas de óxido de zinco e dióxido de titânio pelo ensaio do micronúcleo em células V79 e teste da mancha da asa em *Drosophila melanogaster***. 2014. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/15761/>. Acesso em: 05 ago. 2025.

ROSENBERG, B. VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum compounds: a new class of potent antitumor agents. **Nature**, v. 222, n. 5191, p. 385-386, 1969. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/222385a0>. Acesso em: 02 nov. 2024.

ROTTE N. K. et al. Morphological features and photoluminescence of ZnO and ZnO decorated S,N-doped few-layered graphene (ZnO–S, N-FLGs). **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 174, p. 111175–111175, 15 dez. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2022.111175>. Acesso em: 15 jul. 2025.

RYTER, S. W. et al. Mechanisms of cell death in oxidative stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 9, n. 1, p. 49–89, 1 jan. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/ars.2007.9.49>. Acesso em: 14 jul. 2025.

SALLEH, A. et al. The Potential of Silver Nanoparticles for Antiviral and Antibacterial Applications: A Mechanism of Action. **Nanomaterials**, v. 10, n. 8, p. 1566, 9 ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nano10081566>. Acesso em: 17 jul. 2025.

SANTOS, M. DE O. et al. Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 69, n. 1, 6 fev. 2023. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/3700>. Acesso em: 16 out. 2024.

SAWA, T.; KOOGUCHI, K.; MORIYAMA, K. Molecular Diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and Antimicrobial Resistance. **Journal of Intensive Care**, v. 8, n. 1, 28 jan. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40560-020-0429-6>. Acesso em: 15 jul. 2025.

SHANG, X. et al. Survival analysis for non-squamous NSCLC patients harbored STK11 or KEAP1 mutation receiving atezolizumab. **Lung Cancer**, v. 154, p. 105–112, abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2021.02.010>. Acesso em: 05 ago. 2025.

SHARMA, B. et al. Nanomaterial Doping: Chemistry and Strategies for Agricultural Applications. **ACS Agricultural Science & Technology**, v. 2, n. 2, p. 240–257, 7 mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.1c00273>. Acesso em: 14 jul. 2025.

SIDDIQI, K. S. et al. Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Activity Against Microbes. **Nanoscale Research Letters**, v. 13, n. 1, 8 maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2532-3>. Acesso em: 17 jul. 2025.

SIDHIC, J. et al. Advancements in metal and metal oxide nanoparticles for targeted cancer therapy and imaging: Mechanisms, applications, and safety concerns. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 105, p. 106622, mar. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.106622>. Acesso em: 15 jul. 2025.

SILHAVY, T. J. Classic Spotlight: Gram-Negative Bacteria Have Two Membranes. **Journal of Bacteriology**, v. 198, n. 2, p. 201, 29 dez. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JB.00599-15>. Acesso em: 18 jul. 2025.

SILVA, ANIELLE C. ALMEIDA; GOULART FILHO, L. R. ; DANTAS, N. O. ; AZEVEDO, F. V. P. V. ; PAULA, A. T. ; VALLE, A. L. ; FONSECA, B. B. ; MELO, F. C.

C. ; SILVA, P. L. A. P. A. ; CORREIA, L. I. V. . **PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE ÓXIDO DE ZINCO PUROS E DOPADOS COM PRATA OU CÁLCIO, NANOCRISTAIS E APLICAÇÕES**. Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 14/09/2018.

SILVA, B. L. et al. Relationship Between Structure And Antimicrobial Activity Of Zinc Oxide Nanoparticles: An Overview. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 14, p. 9395–9410, dez. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/9186583>. Acesso em: 05 ago. 2025.

SILVA, R. T. C. **Síntese, caracterização e estudos biológicos de complexos de Pt(II) e Pd(II) contendo ácido gálico e derivados**. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica) - Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2024. Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2024.702>. Acesso em: 15 out. 2024.

SILVA, R.; CASELLA, T. Healthcare-associated infections in patients who are immunosuppressed due to chemotherapy treatment: a narrative review. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 16, n. 12, p. 1784–1795, 31 dez. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3855/jidc.16495>. Acesso em: 15 jul. 2025.

SILVA, Raphael Tristão Cruvinel Silva. **Síntese, caracterização e estudos biológicos de complexos de Pt(II) e Pd(II) contendo ácido gálico e derivados**. 2024. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2024. Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2024.702>. Acesso em: 01 nov. 2024.

SILVESTRE, H. et al. Câncer de Próstata: Retrato de uma realidade dos pacientes, a importância e o preconceito com o toque retal. **Brazilian Journal of Health Review**. v. 4, n. 4, 16 ago. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.34119/bjhrv4n4-015>. Acesso em: 26 out. 2024.

SINGH, P.; KUMAR, R.; SINGH, R. K. Progress on Transition Metal-Doped ZnO Nanoparticles and Its Application. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 58, n. 37, p. 17130–17163, 19 ago. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b01561>. Acesso em: 17 jul. 2025.

SIRELKHATIM, A. et al. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. **Nano-Micro Letters**, v. 7, n. 3, p. 219–242, 19 abr. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>. Acesso em: 14 jul. 2025.

SONG, W. et al. Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles. **Toxicology Letters**, v. 199, n. 3, p. 389–397, dez. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.10.003>. Acesso em: 14 jul. 2025.

STEFFEN, R. E. et al. Rastreamento populacional para o câncer de próstata: mais riscos que benefícios. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 28, n. 2, 13 ago. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-73312018280209>. Acesso em: 03 nov. 2024.

TEIXEIRA, M. H. S. **Avaliação in vitro da potencial atividade citotóxica e genotóxica de metalocomplexos à base de rênio**. Tese (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.664>. Acesso em: 01 nov. 2024.

TEO, M. Y.; RATHKOPF, D. E.; KANTOFF, P. Treatment of Advanced Prostate Cancer. **Annual Review of Medicine**, v. 70, n. 1, p. 479–499, 27 jan. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-med-051517-011947>. Acesso em: 27 out. 2024.

TOLWIN, Y.; GILLIS, R.; PELED, N. Gender and lung cancer-SEER-based analysis. **Annals of Epidemiology**, v. 46, p. 14–19, 1 jun. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2020.04.003>. Acesso em: 02 nov. 2024.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12 ed. Porto Alegre: Artmed Editora AS, 2017

WAHAB, R. et al. ZnO Nanoparticles Induces Cell Death in Malignant Human T98G Gliomas, KB and Non-Malignant HEK Cells. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 9, n. 7, p. 1181–1189, 6 jun. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1166/jbn.2013.1652>. Acesso em: 15 jul. 2025.

WANG, B. et al. Current advance of nanotechnology in diagnosis and treatment for malignant tumors. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 9, n. 1, 12 ago. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01889-y>. Acesso em: 17 jul. 2025.

WEI, J. T., et al. Early detection of prostate cancer: AUA/SUO guideline part II: considerations for a prostate biopsy. **J Urol**. V. 210, n. 1, p.54-63. 2023. Disponível em: <https://www.auanet.org/guidelines-and-quality/guidelines/early-detection-of-prostate-cancer-guidelines>. Acesso em: 21 out. 2024.

ZANDER, E. et al. Worldwide dissemination of acquired carbapenem-hydrolysing class D β -lactamases in *Acinetobacter* spp. other than *Acinetobacter baumannii*. **International journal of antimicrobial agents**, v. 43, n. 4, p. 375–377, 1 abr. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.01.012>. Acesso em: 15 jul. 2025.

ZEIDAN, N. K. et al. The antibacterial effect of silver, zinc-oxide and combination of silver/zinc oxide nanoparticles coating of orthodontic brackets (an in vitro study). **BMC Oral**

Health, v. 22, n. 1, 9 jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02263-6>. Acesso em: 15 jul. 2025.