



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

CAIO VICTOR BARROS GONÇALVES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO RADIOMITIGADOR *IN VITRO* DO EXTRATO DE
GINKGO BILOBA EM LINFÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO HUMANO
IRRADIADO POR MEIO DO ENSAIO DE CROMOSSOMOS DICÊNTRICOS**

Recife
2024

CAIO VICTOR BARROS GONÇALVES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO RADIOMITIGADOR *IN VITRO* DO EXTRATO DE
GINKGO BILOBA EM LINFÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO HUMANO
IRRADIADO POR MEIO DO ENSAIO DE CROMOSSOMOS DICÊNTRICOS**

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

Orientadora: Fabiana Farias de Lima Guimarães

Coorientador: Júlio Cesar Gomes da Silva

Recife
2024

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

Silva, Caio Victor Barros Gonçalves da.

Avaliação do efeito radiomitigador in vitro do extrato de Ginkgo biloba em linfócitos do sangue periférico humano irradiado por meio do Ensaio de Cromossomos Dicêntricos / Caio Victor Barros Gonçalves da Silva. - Recife, 2024.

p. 60 : il., tab.

Orientador(a): Fabiana Farias de Lima Guimarães

Coorientador(a): Júlio César Gomes da Silva

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

Inclui referências, anexos.

1. Radiação Ionizante. 2. Radiomitigador. 3. Ginkgo biloba. 4. Citogenética. 5. Dosimetria Biológica. I. Guimarães, Fabiana Farias de Lima. (Orientação). II. Silva, Júlio César Gomes da. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

CAIO VICTOR BARROS GONÇALVES DA SILVA

AVALIAÇÃO DO EFEITO RADIOMITIGADOR *IN VITRO* DO EXTRATO DE *GINKGO BILOBA* EM LINFÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO HUMANO IRRADIADO POR MEIO DO ENSAIO DE CROMOSSOMOS DICÊNTRICOS

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

Aprovada em: 11/10/2024

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Dr^a Fabiana Farias de Lima Guimarães
CRCN-NE/Departamento de Dosimetria Biológica

Coorientador: Prof. MsC. Júlio César Gomes da Silva
CRCN-NE/Departamento de Dosimetria Biológica

Dr^a. Raquel Cordeiro de Oliveira
CRCN-NE/Departamento de Dosimetria Biológica

Dr^a. Poliana Karla Amorin
UFPE/Departamento de Bioquímica e Fisiologia

Dedico este trabalho a minha família pelo incentivo durante minha jornada acadêmica e principalmente aos meus amigos que ofereceram apoio e força nos meus momentos mais difíceis.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus orientadores Júlio César Gomes da Silva e a Fabiana Farias de Limas Guimarães por me oferecerem a oportunidade de atuar dentro da pesquisa científica por meio de um projeto, o qual me identifico e sempre almejei em atuar, obrigado pelos ensinamentos que foram regados de paciência e calma.

Agradeço a todos os membros presentes no Laboratório de Dosimetria Biológica por toda contribuição no meu processo de aprendizagem e oferecerem um ambiente acolhedor. Especialmente as minhas amigas Eduarda Santos Silva e Evelin Mirelle Lima Araújo por me incentivarem durante o projeto e o desenvolvimento de uma amizade que exerço apreço e admiração.

Agradeço a Comissão Nacional de Energia Nuclear pelo financiamento do meu projeto e agregar no meu desenvolvimento acadêmico. Assim, como ao CRCN-NE pela sua estrutura e oportunidade de contribuir nesse espaço.

Agradeço a minha mãe, Meire Marlene de Barros e ao meu pai, Carlos Antônio Gonçalves da Silva, agradeço a minha irmã, Caianne Virillem Barros Gonçalves da Silva, vocês sempre incentivaram os meus estudos e contribuíram com tudo que eu sempre precisei.

Agradeço aos meus amigos de faculdade Laura Lucena Serafim, Manuella Amlid Pimenta de Castro Cavalcanti Silva, Eclesiastes Gean da Silva, Ryan Cristina da Silva e Bruna Luiza Gomes da Silva por todas as vezes que me acolheram, vocês me deram apoio e força quando mais precisei, sendo fundamentais para que possa realizar a conclusão do curso.

Agradeço a minha melhor amiga, Maria Izabel Cândido Carneiro, você não só apoiou quando mais precisei, mas sempre esteve disposta a me oferecer formas de me conhecer e acreditar em mim mesmo. Cada passo que eu dou, foi porque de certa forma você me deu um empurrãozinho, por isso também dedico minhas conquistas a você.

Agradeço a Luanna Barbosa do Nascimento, por toda confiança e sempre acreditar no meu potencial. Através de você entendi pontos chave sobre a vida profissional e encontrei uma amizade que me levou a lugares que eu não poderia imaginar. Sempre lembrarei de todos os momentos regados de risadas e leveza que só você poderia promover em meio a tantas dificuldades.

Agradeço ao meu amigo, Alexandre Antônio de Lima Junior, por todos os

conselhos e sempre estar disposto a me ensinar, você foi essencial nessa trajetória e contribuiu muito tanto para meu aspecto pessoal quanto profissional. Sem a sua atuação não entenderia o quanto o posso me desenvolver nesse mundo e nem ter coragem para explorá-lo.

Agradeço ao meu amigo, Lucas Sabino Luna, por todas as vezes que me acompanhou em meus estudos e essencialmente pelo seu apoio e incentivo. Através da sua amizade consegui realizar sonhos que nem se quer eu imaginaria.

Agradeço a Ana Livia Fernandes Santos, você foi além de uma amiga, mas uma mentora, tirou as minhas dúvidas e me ensinou muito não apenas sobre o acadêmico e não só sobre a vida, mas também sobre mim mesmo.

Agradeço a Gabriel Aubry Porto Costa, Danielle Almeida de Lima e Lucas Queiroz dos Santos que animaram minhas manhãs ao longo de cada ida à universidade. Vocês promoveram dias de extrema leveza.

Agradeço a Maria Emília Alves Tibúrcio, Addonai Teixeira de Oliveira e Pedro Eduardo Vieira Rêgo por todas as rodas de diálogos e por ofereceram espaços de acolhimento, segurança e principalmente por intervirem quando necessário.

Agradeço ao Instituto Internacional Despertando Vocações (IIDV) não só a minha gratidão a Erick Viana da Silva por promover um ambiente que de fato promove o amadurecimento profissional e pessoal das pessoas que estão dispostas a compor esse espaço. Extenso esse agradecimento a Mariana Almeida Ferreira Lima em você encontrei calma, segurança e sou grato por todos os momentos em que esteve disposta a contribuir para o meu desenvolvimento profissional.

**“Sucesso não é o final, falhar não é fatal: É
a coragem para continuar que conta”
Autor desconhecido**

Silva, Caio Victor Barros Gonçalves. **Avaliação do efeito radiomitigador *in vitro* do extrato de *Ginkgo biloba* em linfócitos do sangue periférico humano irradiado por meio do Ensaio de Cromossomos Dicêntricos**. 2024. 60 de folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

RESUMO

A ação genotóxica da radiação ionizante (RI) ocorre devido a sua ação direta e indireta no meio celular, que induz a formação de alterações cromossômicas instáveis. O Ensaio de Cromossomos Dicêntricos (DCA) é a técnica padrão ouro para identificação de indivíduos radioexpostos e quantificar a dose absorvida por meio do dano ocasionado no sistema biológico. Devido ao aumento de instalações radioativas em atividade, há a necessidade de identificar mecanismos para proteger ou mitigar o dano ocasionado pela radiação ionizante. A busca e estudos de radioprotetores e radiomitigadores de origem natural é de extrema importância, tendo em vista que os atuais medicamentos e o uso de substâncias sintéticas trazem efeitos colaterais aos indivíduos. Com isso, produtos naturais, como a *Ginkgo biloba*, apontam-se como opções devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, essenciais para a identificação de um potencial radiomitigador/radioprotetor. Assim, este estudo tem como objetivo avaliar o efeito radiomitigador *in vitro* de diferentes concentrações do extrato de *Ginkgo biloba* em linfócitos humanos irradiados com 2 Gy de radiação gama usando o Ensaio de Cromossomos Dicêntricos. A partir da seleção de um doador saudável, foram coletadas amostras de sangue periférico, sendo dividido em quatro grupos: um grupo controle não irradiado, um grupo irradiado sem tratamento e dois grupos irradiados tratados com as concentrações do extrato de *Ginkgo biloba* (Merck) de 0,025 µg/mL e 0,05 µg/mL. Os grupos irradiados foram expostos a uma dose absorvida de 2 Gy em uma fonte de ⁶⁰Co (irradiador Gammacell 220) localizada no Departamento de Energia Nuclear (DEN-UFPE). Os grupos seguiram para cultura de linfócitos humanos seguindo o protocolo pré-estabelecido pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), interrompendo o ciclo celular na fase metafásica. Posteriormente, foram confeccionadas as lâminas e coradas com Giemsa a 5% para a análise microscópica. As frequências de alterações cromossômicas encontradas foram submetidas a uma análise estatística por meio do teste U de Papworth para verificar se as alterações cromossômicas seguiam a distribuição de Poisson. Foi visto que extrato de *Ginkgo biloba* possui uma tendência radiomitigadora tendo em vista ter produzido uma redução da frequência de alterações cromossômicas na concentração de 0,025 g/ml. Com isso, o extrato de *Ginkgo biloba* demonstra tendência a ter um efeito radiomitigador podendo estar relacionado com o fato que suas moléculas antioxidantes conseguem mediar o estresse oxidativo, ocasionado pela radiação ionizante ou até mesmo estimular as vias de reparo de DNA através da sua ação anticlastogênica. É necessário prosseguir com as análises para uma quantidade maior de células, a fim de se poder confirmar de forma estatisticamente significativa que o extrato de *Ginkgo biloba* consegue oferecer um efeito radiomitigador para a dose absorvida utilizada.

Palavras-chave: Radiação Ionizante. Radiomitigador. *Ginkgo biloba*. Citogenética. Dosimetria Biológica.

Silva, Caio Victor Barros Gonçalves. **Evaluation of radiomitigating effect of *Ginkgo biloba* extract *in vitro* on irradiated human peripheral blood lymphocytes using the Dicentric Chromosome Assay.** 2024. 60 de folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

ABSTRACT

The genotoxic action of ionizing radiation (IR) occurs due to its direct and indirect action on the cell, which induces the formation of unstable chromosomal changes. The Dicentric Chromosome Assay (DCA) is the gold standard technique for identifying radio exposed individuals and quantifying the absorbed dose through the damage caused to the biological system. Due to the increase in active radioactive installations, there is a need to identify mechanisms to protect or mitigate the damage caused by ionizing radiation. The search for and actual studies of radioprotectors and radiomitigators of natural origin is indeed important, considering that current medications and the use of synthetic substances bring side effects to individuals. Therefore, natural products, such as *Ginkgo biloba*, are considered options due to their antioxidant and anti-inflammatory properties, essential for identifying radiomitigating/radioprotective potential. Thus, this study aims to evaluate the *in vitro* radiomitigation effect of different concentrations of *Ginkgo biloba* extract on human lymphocytes irradiated with 2 Gy of gamma radiation using the Dicentric Chromosome Assay. First, the selection of a healthy donor, peripheral blood samples were collected and divided into four groups: a non-irradiated control group, an irradiated group without treatment and two irradiated groups treated with concentrations of *Ginkgo biloba* extract (Merck) of 0.025 µg/mL and 0.05 µg/mL. The irradiated groups were exposed to an absorbed dose of 2 Gy in a 60Co source (Gammacell 220 irradiator) located at the Department of Nuclear Energy (DEN-UFPE). The different groups proceeded to culture human lymphocytes following the protocol pre-established by the International Atomic Energy Agency (IAEA), interrupting the cell cycle in the metaphase phase. Subsequently, slides were prepared and stained with 5% Giemsa for microscopic analysis. The frequencies of chromosomal alterations found were submitted to statistical analysis on Papworth U test to verify supposing the chromosomal alterations followed the Poisson distribution. It was given that *Ginkgo biloba* extract has a radiomitigating tendency by producing a reduction in the frequency of chromosomal alterations at a concentration of 0.025 g/ml. Therefore, *Ginkgo biloba* extract shows a propensity to have a radiomitigating effect, which may be related to the fact that its antioxidant effects are able to mediate the oxidative stress, caused by ionizing radiation or even stimulate DNA repair pathways through its action anticlastogenic. Therefore, It is extremely necessary to continue the analyzes for a larger quantity of cells, in order to confirm in a statistical significant way that the *Ginkgo biloba* extract can provide a radiomitigating effect for the absorbed dose.

Key words: Ionizing Radiation. Radiomitigador. *Ginkgo biloba*. Cytogenetics. Biological Dosimetry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Caracterização do efeito fotoelétrico	20
Figura 2 – Caracterização do efeito Compton	20
Figura 3 – Caracterização da produção de Pares	21
Figura 4 – Representação gráfica da relação entre RBE x LET	22
Figura 5 – Efeito direto e indireto da Radiação Ionizante	24
Figura 6 – Metáfases com alterações cromossômicas	29
Figura 7 – Mecanismo de radioproteção mediados por plantas	31
Figura 8 – Folhas de <i>Ginkgo biloba</i>	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação entre o limiar de dose absorvida e os sintomas da Síndrome Aguda da Radiação	25
Tabela 2 – Principais compostos fitoquímicos do extrato das folhas de <i>Ginkgo biloba</i>	33
Tabela 3 – Frequência e distribuição das alterações cromossômicas instáveis	40
Tabela 4 – Comparação das frequências de dicêntricos com a literatura	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APE1	Endonuclease Apurínica/Apirimidínica1
BER	Reparo Por Excisão de Base
CD	Clusters de Diferenciação
CNEN	Comissão Nacional de Energia Nuclear
CTH	Célula Tronco Hematopoiética
DA	Doença de Alzheimer
DCA	Ensaio de Cromossomos Dicêntricos
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DSB	Quebra de Fita Dupla
EC	Energia Cinética
FDA	Food and Drugs Administration
GSH	Glutathiona
Gy	Gray
HR	Recombinação Homóloga
IAEA	Agência Internacional de Energia Atômica
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
LET	Transferência Linear de Energia
MO	Medula Óssea
NER	Reparo Por Excisão de Nucleotídeos
NHEJ	União de Extremidades Não Homólogas
NK	Natural Killer
NO	Óxido Nítrico
RBE	Efetividade Biológica Relativa
RI	Radiação Ionizante
RNS	Espécie Reativa de Nitrogênio
ROS	Espécie Reativa de Oxigênio
SOD	Superóxido de Dismutase
SSA	Anelamento de Fita Simples
SSB	Quebra de Fita Simples
TNF-a	Fator de Necrose Tumoral Alfa

UV-C

Raio Ultravioleta C

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	RADIAÇÃO IONIZANTE	18
2.2	INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO IONIZANTE COM A MATÉRIA	19
2.2.1	TRANSFERÊNCIA LINEAR DE ENERGIA - LET	21
2.2.2	EFETIVIDADE BIOLÓGICA RELATIVA - RBE	22
2.2.3	DOSE ABSORVIDA E TAXA DE DOSE ABSORVIDA	23
2.3	EFEITOS BIOLÓGICOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE	23
2.3.1	EFEITOS ESTOCÁSTICOS E DETERMINÍSTICOS	25
2.3.2	VIAS DE REPARO AO DANO RADIOINDUZIDO	26
2.4	RADIOSENSIBILIDADE E RADIORRESISTÊNCIA	27
2.4.1	LINFÓCITOS	27
2.5	ENSAIO DE CROMOSSOMOS DICÊNTRICOS	28
2.6	RADIOPROTETORES E RADIOMITIGADORES	30
2.7	<i>GINKGO BILOBA</i>	31
3	OBJETIVOS	35
3	OBJETIVO GERAL	35
3	OBJETIVO ESPECÍFICO	35
4	METODOLOGIA	36
4.1	COMITÊ/COMISSÃO DE ÉTICA	36
4.2	SELEÇÃO DE DOADOR E COLETA DE AMOSTRAS	36
4.3	DILUIÇÃO DO EXTRATO DE <i>GINKGO BILOBA</i>	36
4.4	GRUPOS DE AMOSTRAS	37
4.5	IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS	37
4.6	CULTIVO DE CÉLULAS	38
4.7	PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS	38
4.8	ANÁLISE MICROSCÓPICA	38
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
6	CONCLUSÃO	44
	REFERÊNCIAS	45
	ANEXOS	51

ANEXO A – Parecer do comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da UFPE

ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido

ANEXO C – Modelo do questionário para seleção de doadores (anamnese)

1 INTRODUÇÃO

A propagação de energia no meio material em forma de onda ou partícula é conhecida como radiação, a qual pode ser classificada como não ionizante ou ionizante (Tauhata, *et al.*, 2014). A radiação não ionizante é uma energia que não possui a capacidade de ionizar átomos ou moléculas e interage com a matéria por meio do aquecimento e excitação molecular, como por exemplo a radiação infravermelha, ultravioleta, entre outras (Omer, 2021). A Radiação Ionizante (RI) possui energias mais elevadas, levando a ionização, ou seja, a remoção de um elétron do orbital de um átomo, onde essa radiação pode ser classificada como corpuscular com a emissão de partículas nucleares (radiação alfa, beta ou emissão de nêutrons) e eletromagnética (radiação gama e Raios X) (KudriÅShov, 2008).

A RI está empregada na sociedade em uma diversidade de setores, como na medicina por meio da radiologia e radioterapia, no setor energético com a produção de energia nuclear, no ramo industrial para o controle de qualidade, inspeção de materiais e esterilização de produtos e, até mesmo, na agricultura por meio da irradiação de alimentos (Byun; Jo; Lee, 2006; Okuno, 2018). Desta maneira, o seu manejo incorreto pode levar a cenários de incidentes ou acidentes radiológicos ou nucleares com radioexposições, acarretando danos ao organismo humano (Williams, 2008; Okuno, 2013).

A RI interage com o sistema biológico por meio de duas vias principais: via direta e indireta. Na via direta ocorre a interação da energia da radiação com o ácido desoxirribonucleico (DNA), resultando em quebras de fita simples (SSB) e de fita dupla (DSB), uma vez que as bases pirimídicas, como a timina e a citosina, serem radiosensíveis, o que pode resultar em ruturas (Dowlath, *et al.* 2021). Na via indireta ocorre a radiólise da molécula de água levando a produção de radicais livres que irão se estabilizar através da interação com outras biomoléculas fundamentais, o que resulta em danos para as principais moléculas celulares, como, proteínas, lipídios e novamente ao DNA (Le Caër, 2011).

Em casos de acidentes envolvendo RI, a estimativa de dose absorvida e a extensão do dano podem ser baseadas na análise de marcadores biológicos sensíveis e específicos à radiação, que reflitam os danos biológicos causados. O Ensaio de Cromossomos Dicêntricos (DCA) é considerado a técnica padrão ouro para esta análise uma vez que se mostra um bioindicador específico da RI. Após as quebras

das fitas de DNA e por meio de um reparo incorreto nessa molécula, é gerado um cromossomo com dois centrômeros (IAEA, 2011; Ludovici, *et al.*, 2021).

Os radioprotetores são agentes que possuem a capacidade de minimizar os efeitos biológicos ocasionados pela RI, onde a minimização desses efeitos ocorrem de acordo com o momento em que são administrados podendo ser antes e após o contato com este agente (Raviraj, *et al.*, 2014). Os radioprotetores profiláticos são utilizados de forma preventiva, ou seja, antes do contato com a RI, enquanto os radioprotetores terapêuticos possuem o efeito radioprotetor ao ser administrado após a radioexposição (Szejka; Kołodziejczyk-Czepas; Żbikowska, 2016). Dessa maneira, essas substâncias atuam estimulando a via de reparo do DNA e realizando a captação dos radicais livres formados através de uma ação antioxidante. Assim, os efeitos ocasionados direta e indiretamente pela RI são minimizados (Yi, *et al.*, 2021). Entretanto, os radioprotetores comercializados na atualidade são isolados químicos que apresentam alto potencial citotóxico e não podem ser utilizados por muito tempo pelo fato de serem prejudiciais ao organismo humano (Ots, *et al.*, 2004).

A *Ginkgo biloba* é uma planta endêmica da Ásia oriental pertencente à família da *Ginkgoaceae*, onde a sua datação a caracteriza como um fóssil vivo pelo fato dessa espécie de planta permanecer praticamente inalterada por vários períodos geológicos. O extrato das folhas de *Ginkgo biloba* são popularmente conhecidos pelo fato de possuírem propriedades anti-inflamatória, antioxidante, entre outras (Šamec, *et al.*, 2022). Além disso, a comercialização do extrato de suas folhas ocorre pelo fato de ser bem caracterizada a sua ação neuroprotetora, a qual atua prevenindo ou retardando os efeitos de doenças neurodegenerativas (Singh *et al.*, 2019). Dessa forma, pelo fato de ocorrer poucos registros científicos identificando a sua ação antioxidante diante da RI, o extrato das folhas das *Ginkgo biloba* desperta o interesse de estudos que explorem o seu uso como potencial radioprotetor.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RADIAÇÃO IONIZANTE

A radiação é caracterizada como a propagação de energia em forma de ondas eletromagnéticas ou partículas. Dessa maneira, a radiação é classificada de acordo com sua capacidade de ionizar átomos, sendo a RI aquela que possui energia suficiente para remover elétrons dos átomos, enquanto a radiação não ionizante, por possuir menor grau energia, não tem esta capacidade. (Tauhata, *et al.*, 2014). Desta forma, a radiação não ionizante é uma forma de energia que não possui a capacidade de ionizar átomos, interagindo com a matéria principalmente por meio de aquecimento e excitação molecular. Exemplos dessa radiação incluem a radiação infravermelha, micro-ondas e ondas de rádio. Embora a radiação ultravioleta também seja não ionizante, algumas de suas faixas, como os raios UV-C, podem causar danos biológicos significativos (Omer, 2021). Enquanto, A RI possui energia suficiente para ionizar átomos, removendo um elétron de seu orbital ao interagir com a matéria. Com isso, essa radiação pode ser classificada em corpuscular, quando composta de partículas nucleares, a exemplo da radiação alfa, beta ou emissão de nêutrons, e em eletromagnética, que inclui radiação gama e raios X (KudriAshov, 2008).

A emissão da RI ocorre devido ao fenômeno da radioatividade, o qual está diretamente ligado a instabilidade nuclear, relacionando-se com a proporção entre prótons e nêutrons presente no núcleo de um elemento químico. Dessa forma, a instabilidade leva à emissão de partículas, como as partículas alfa, para tentar estabilizar o núcleo. Essa estabilização pode ocorrer de duas formas, por meio da emissão de partículas alfa e beta ou através da liberação da radiação eletromagnética, como a radiação gama. Com isso, as radiações alfa e beta são consideradas primárias, enquanto a radiação gama é secundária, ocorrendo após a emissão dessas partículas. Assim, após o núcleo instável emitir uma partícula, transforma-se em outro elemento, que posteriormente pode liberar energia novamente na forma de radiação gama para atingir a sua estabilidade nuclear (Cardoso, 2000; Tauhata, *et al.*, 2014).

As radiações corpusculares e eletromagnéticas possuem características diferentes, as quais estão diretamente ligadas com a sua forma de interação com a

matéria e, conseqüentemente, com a sua Transferência Linear de Energia (LET) (IAEA, 2011). A radiação corpuscular é caracterizada por partículas altamente ionizantes, mas possuem baixa capacidade de penetração; enquanto a radiação eletromagnética, como a radiação gama e os raios X, não possuem massa, possui uma menor capacidade de ionização, porém maior poder de penetrância. Ademais, enquanto a radiação gama é emitida naturalmente por núcleos instáveis, com um comprimento de onda muito curto, os raios X são produzidos artificialmente, sendo gerados na eletrosfera ou pelo freio de partículas carregadas no campo eletromagnético próximo ao núcleo atômico ou aos elétrons (Okuno, 2013; Pereira, 2014).

2.2 INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO IONIZANTE COM A MATÉRIA

A capacidade de transferir energia para um meio está diretamente ligada à forma como a RI interage com a matéria, e esses processos estão relacionados ao poder de ionização, no qual o átomo adquire carga elétrica positiva ao perder um ou mais elétrons. Dessa maneira, as radiações corpusculares (alfa e beta) possuem um maior poder de ionização em comparação com as radiações eletromagnéticas (radiação gama e raios-X) (KudriÅShov, 2008).

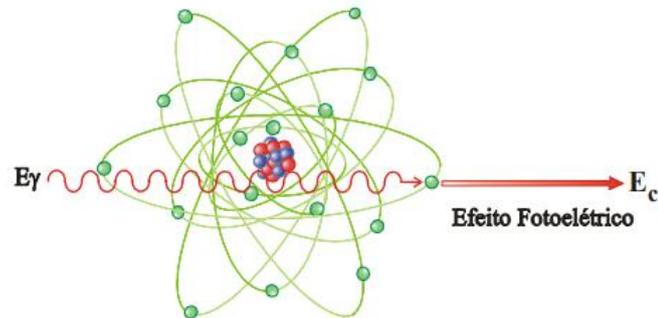
A partícula alfa, ao encontrar um átomo, provoca a ionização do meio pela remoção de elétrons de suas camadas eletrônicas. A partícula beta pode interagir com o átomo de diferentes maneiras, dependendo de sua carga: o nêgatron, por possuir a mesma carga e massa que o elétron, repele-o do orbital, causando sua expulsão e, conseqüentemente, ionizando o átomo; já o pósitron, por possuir a mesma massa, mas carga oposta ao elétron, interage com este, ocasionando a aniquilação de matéria e resultando na emissão de fótons na forma de radiação gama (Yoshimura, 2009).

As radiações eletromagnéticas (radiação gama e Raios-X) interagem com a matéria de três formas principais que são por meio do efeito fotoelétrico, efeito Compton e formação de pares, dependendo da quantidade de energia transportada pelo fóton e da forma de sua interação com os elétrons presentes nos átomos do meio (Lima, 2014).

O efeito fotoelétrico ocorre quando um fóton de radiação eletromagnética transfere toda a sua energia para um elétron, geralmente presente em camadas mais internas do átomo, causando sua ionização (Figura 01). O elétron ejetado é chamado

de fotoelétron, e ele é emitido com uma determinada Energia Cinética (EC), que pode, por sua vez, ionizar outros átomos (Braunn; Larsen, 2019; Tauhata, *et al.*, 2014).

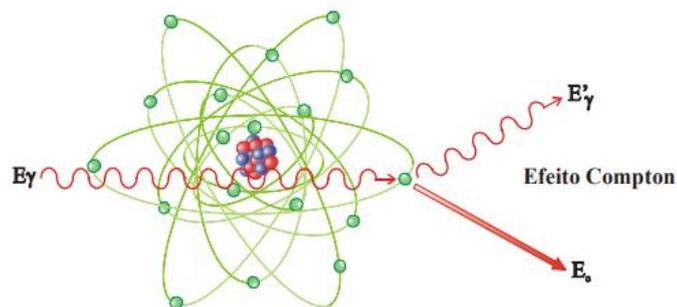
Figura 1 – Caracterização do efeito fotoelétrico.



Fonte: Tauhata, *et al.*, 2014.

O efeito Compton ocorre quando um fóton de radiação eletromagnética colide com um elétron da camada mais externa de um átomo (Figura 02). Nesse processo, o elétron absorve parte da energia do fóton, sendo expulso da camada. O fóton remanescente, com menos energia, continua a se propagar e pode interagir com outros elétrons do mesmo átomo ou de outro átomo (Silva; Freire Jr, 2014; Tauhata, *et al.*, 2014).

Figura 2 – Caracterização do efeito Compton.

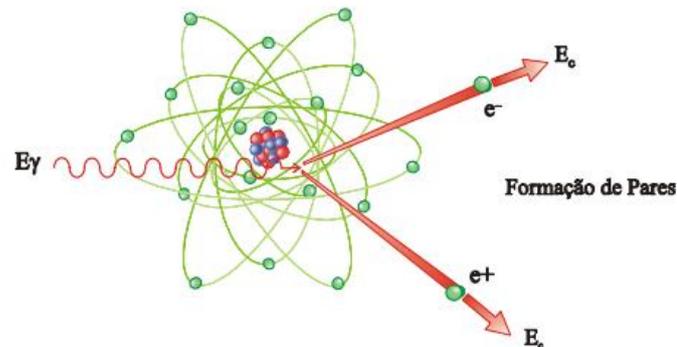


Fonte: Tauhata, *et al.*, 2013.

A formação de pares acontece quando um fóton de radiação eletromagnética passa próximo ao núcleo e interage com seu campo eletromagnético, transformando sua energia em massa (Figura 3). Esse processo resulta na criação de um par partícula-antipartícula (um elétron e um pósitron). Entretanto, para que esse fenômeno

ocorra, é necessário que o fóton tenha uma energia mínima de 1,02 MeV (Tauhata, *et al.*, 2014).

Figura 3 – Caracterização da produção de Pares.



Fonte: Tauhata, *et al.*, 2013.

2.2.1 TRANSFERÊNCIA LINEAR DE ENERGIA - LET

Um dos principais fatores que influenciam a ação da RI sobre o sistema biológico está relacionado à forma como a energia é transferida para o meio. A LET é definida como a quantidade de energia cedida por unidade de comprimento percorrido, medida em keV/ μ m. A energia entregue por unidade de comprimento é explicada pela densidade linear de todas as formas de energia transferida, seja por excitação ou ionização de elétrons. Durante a passagem da RI por um sistema biológico, essa energia é gradualmente perdida ao longo de sua trajetória e a taxa desta perda depende do tipo de radiação e da densidade do material (IAEA, 2011).

A LET é classificada de acordo com o poder de ionização gerado pela RI, sendo que radiações corpusculares (como partículas alfa e nêutrons) possuem altos valores de LET, enquanto radiações eletromagnéticas (como raios-X e raios gama) apresentam baixos valores de LET. Radiações de alto LET atuam de forma mais concentrada e menos dispersa sobre o tecido biológico, resultando em uma distribuição não randômica de alterações citogenéticas, onde regiões específicas apresentam muitas alterações, enquanto outras permanecem inalteradas (IAEA, 2011; Rodrigues 2015).

Por outro lado, radiações de baixo LET interagem com o material biológico de maneira randômica, já que a energia é distribuída de forma menos concentrada e mais

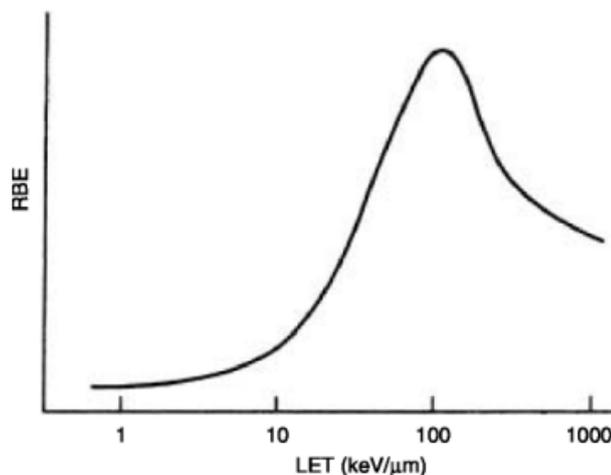
dispersa. Como resultado, todas as regiões do tecido possuem a mesma probabilidade de serem atingidas por um ou vários fótons, gerando uma distribuição randômica de alterações citogenéticas (IAEA, 2011; Milian, 2006).

2.2.2 EFETIVIDADE BIOLÓGICA RELATIVA - RBE

A razão existente entre uma dose absorvida de uma radiação de referência (geralmente raios X de 250kVp) e uma dose absorvida de uma radiação em estudo que venha a produzir o mesmo efeito é chamada Efetividade Biológica Relativa (RBE) (IAEA, 2011).

A RBE é influenciada por vários fatores, dentre eles o principal é a LET uma vez que quanto maior for esta transferência de energia maior será a RBE, onde o seu pico ótimo é atingido em aproximadamente 100 keV/μm (Figura 04). Neste ponto ótimo, as ionizações estão ocorrendo de forma a produzir lesões nas duas fitas do DNA, e as conseqüentes alterações cromossômicas, sem “desperdiçar” energia. Acima deste valor, serão geradas mais ionizações do que as necessárias para produzir danos e, conseqüentemente, gerar as alterações, resultando numa redução da RBE (IAEA, 2011; Rodrigues 2014).

Figura 4 – Representação gráfica da relação entre RBE x LET.



Fonte: IAEA, 2011.

Outros fatores que influenciam são a dose absorvida total, a taxa de dose absorvida, o fracionamento desta dose, o tipo de célula ou tecido exposto, a fase do

ciclo celular, a concentração de oxigênio, as condições fisiológicas e nutricionais, a temperatura e o tipo de lesão induzida (Campos, *et al.*, 2017).

2.2.3 DOSE ABSORVIDA E TAXA DE DOSE ABSORVIDA

A energia média depositada pela RI na matéria é definida como dose absorvida. Assim, a taxa de dose absorvida é a energia média absorvida no meio em um determinado intervalo de tempo (IAEA, 2011).

Em situações de exposição envolvendo baixa taxa de dose, o tecido biológico tem maior capacidade de reparar os danos. Isto se dá, no caso de radiações de baixa LET, porque as lesões necessárias para produzir a alteração são consequência de trajetórias distintas. Assim, é possível que a lesão produzida pela primeira trajetória seja reparada antes que a zona de interação seja atravessada pela segunda trajetória e se produza uma segunda lesão, não resultando em uma alteração cromossômica. Por outro lado, no caso de uma exposição à alta taxa de dose, o tempo uma trajetória e outra é menor, favorecendo a formação das alterações (IAEA, 2011; Silva; Da Costa; Dos Santos, 2015).

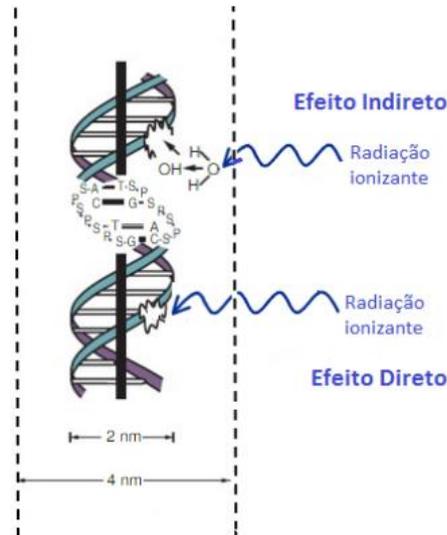
O sistema biológico não absorve toda a energia transferida pela RI. Portanto, quantificar a dose absorvida é de extrema importância. O cálculo da dose absorvida é feito dividindo-se a energia absorvida, medida em joules, pela massa do material em quilogramas, resultando na dose absorvida em gray (Gy). Uma vez que o dano biológico está diretamente relacionado à dose absorvida e não à quantidade total de energia pela qual o indivíduo foi exposto (IAEA, 2011; Pedroso, 2011).

2.3 EFEITOS BIOLÓGICOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE

A interação RI com o organismo humano ocorre por meio de duas vias, sendo estas a via direta e indireta (Figura 05) (Elgazzar; Kazem, 2006). A via direta ocorre quando RI interage com as moléculas do sistema biológico, depositando a sua energia e levando a desestabilização das ligações químicas, sendo seu efeito mais prejudicial as rupturas de fita simples (SSB) e de fita dupla (DSB) na molécula de DNA (Santivasi; Xia, 2014). A via indireta ocorre por meio da radiólise da molécula de água, onde essa biomolécula, que corresponde a 70% do organismo humano, são hidrolisadas e os radicais livres formados tendem a se estabilizar através da interação com outras

biomoléculas fundamentais que conseqüentemente serão degradadas (Le Caër, 2011; Okuno, 2013).

Figura 5 – Efeito direto e indireto da Radiação Ionizante.



Fonte: Adaptada de Hall, *et al.*, 2006.

Nesta via indireta, devido à radiólise da água, há a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que são radicais livres altamente reativos e instáveis devido à energia armazenada. O mesmo ocorre com o nitrato, nitrito e óxido nítrico, que são naturalmente produzidos no organismo e ao interagirem com a RI resultam na formação do radical peroxinitrito, que é uma espécie reativa de nitrogênio (RNS). Diferentemente dos íons, os radicais livres possuem elétrons desemparelhados e, devido à sua produção desordenada e instabilidade, não são facilmente neutralizados pelos seus carreadores dentro do organismo. Como resultado, esses radicais tendem a se estabilizar por meio de danos às moléculas biológicas (Dowlath, *et al.*, 2021; Hall *et al.*, 2006).

A produção de estresse oxidativo é prejudicial ao organismo, pois os radicais livres tendem a se estabilizar ao interagir com a membrana plasmática, resultando em peroxidação lipídica ou até mesmo no desarranjo da estrutura dessa membrana. A interação com proteínas e enzimas pode levar à modificação de grupos funcionais ou até mesmo à desnaturação dessas moléculas. O principal dano ocorre quando os radicais livres interagem com o DNA, o qual também pode ter sido afetado pela via direta da radiação (Aggarwal, 2014; Dowlath, *et al.*, 2021).

Como consequência dos danos gerados após a radioexposição, os indivíduos

expostos podem apresentar efeitos biológicos determinísticos ou estocásticos (Akushevich, *et al.*, 2010; Baverstock; Karotki, 2011).

2.3.1 EFEITOS ESTOCÁSTICOS E DETERMINÍSTICOS

A carcinogênese é definida como o processo pelo qual células saudáveis sofrem mutações genéticas que podem resultar em câncer. O efeito estocástico está diretamente relacionado ao câncer radioinduzido, que ocorre de forma aleatória e probabilística. Esse tipo de câncer pode surgir com baixas doses de radiação, pois não ocorre um limiar mínimo de dose bem definido. A probabilidade de desenvolvimento do câncer está diretamente ligada com o aumento da dose, mas o efeito é imprevisível e não depende de uma dose específica para ocorrer (Costa; Do Val Ietsugu; 2024).

Os efeitos determinísticos ou não estocásticos estão relacionados a taxa de morte celular, quando ultrapassa o limite de compensação do organismo humano. Está relacionado a um limiar de dose, onde podem aparecer de forma imediata (até 60 dias após a exposição) ou não com diferentes sintomas, tais como eritemas cutâneos, náuseas, vômitos, diarreia, fadiga, entre outros que podem ser identificados na Síndrome Aguda da radiação por meio da Tabela 1 (Navarro, *et al.*, 2008; Okuno, 2013).

Tabela 1 – Relação entre o limiar de dose absorvida e os sintomas da Síndrome Aguda da Radiação.

Dose Absorvida (Gy)	Síndrome Aguda da Radiação
0,1 - 0,5	Alterações hematológicas leves (queda temporária nos linfócitos)
1,0 - 2,0	Náuseas, fadiga, dor de cabeça, redução significativa dos linfócitos
2,0 - 5,0	Síndrome hematopoiética: leucopenia, trombocitopenia, infecções
5,0 - 7,0	Síndrome gastrointestinal: diarreia, vômitos, desidratação
5,0 - 7,0	Danos graves ao sistema gastrointestinal, potencialmente letais
> 10,0	Síndrome neurovascular: danos irreversíveis ao sistema nervoso, coma, morte dentro de horas a dias

Fonte: Adaptada de Okuno, 2013.

2.3.2 VIAS DE REPARO AO DANO RADIOINDUZIDO

A morte celular programada, ou apoptose, é o último recurso utilizado pela célula quando o dano ocasionado pela RI na molécula de DNA é irreparável (Verheij; Bartelink, 2000). Dessa forma, antes que esse estado ocorra, o organismo humano utiliza diferentes mecanismos para reparar o dano radioinduzido nessa molécula. Esses mecanismos de reparo dependem do tipo de dano e da fase do ciclo celular em que a célula se encontra (Nepomuceno, *et al.* 2017).

A ação de radicais livres provenientes da molécula de água juntamente com a ação da direta que age principalmente sobre as bases pirimídicas pode levar o aparecimento de sítios apúricos ou apirimídicos. Dessa forma, o reparo por excisão de base (BER) é um mecanismo importante para minimização deste efeito uma vez que leva a formação de sítios púricos e pirimídicos. Esse mecanismo ocorre por meio de processos multienzimáticos, o qual atua substituindo a base nitrogenada danificada (Lutz, 2017).

A ação da via direta é mais significativa em levar alterações que modificam a estrutura da molécula de DNA, que em geral resultam na produção de dímeros de timina e consequente distorção dessa molécula. Dessa forma, a ação do reparo por excisão de nucleotídeos (NER), onde o dano é reconhecido pela junção incorreta das fitas de DNA, ocorrendo também a formação de um fragmento acêntrico, porque as partes do DNA que não possuem centrômero são excisadas e separadas do restante do cromossomo. Assim, a DNA helicase atua recortando a dupla hélice de DNA e permitindo que enzimas nucleares realizem a excisão da molécula danificada. Após esse processo, a DNA polimerase atua produzindo o nucleotídeo devido para o local de excisão. Por fim, a DNA ligase atuará conectando o seguimento produzido com a fita (Cortez, 2018; Sharma, Dianov, 2007).

A formação de DSB durante a via direta pode ser reparada por meio de três vias, que ocorrem durante o ciclo celular, sendo elas: a união de extremidades não homólogas (NHEJ), a recombinação homóloga (HR) e o anelamento de fita simples (SSA). Vale ressaltar que a HR e o SSA ocorrem nas fases S e G2 do ciclo celular, necessitando de suas extremidades homólogas, enquanto a NHEJ ocorre durante a fase G1 e início da fase S (Huang; Zhou, 2021).

Dos mecanismos mencionados, o HR é o mecanismo de reparo capaz de restaurar totalmente a molécula de DNA por meio de sua cromátide irmã (Huang;

Zhou, 2021; Isbir, *et al.*, 2015). Entretanto, os mecanismos SSA e NHEJ resultam em reparos incorretos, formando as alterações anel cromossômico e cromossomo dicêntrico. O SSA ocorre por meio de grandes deleções que resultam em sequências repetitivas que se anelam formando uma estrutura complementar. A NHEJ ocorre pelo reconhecimento da quebra através da proteína Ku70/Ku80, as quais se ligam às extremidades quebradas do DNA e, como essas extremidades possuem nucleases compatíveis e por meio da DNA ligase, ocorre uma união que resulta num cromossomo com dois centrômeros (Huang; Zhou, 2021; Zhao *et al.*, 2020).

2.4 RADIOSENSIBILIDADE E RADIORRESISTÊNCIA

A Lei de Bergonie & Tribondeau ou Lei da Radiossensibilidade foi descrita em 1906, estabelece critérios para a identificar os prováveis comportamentos das células humanas ao serem irradiadas. Dessa forma, a radiossensibilidade de uma célula está ligada ao tipo de tecido, taxa de proliferação da célula, atividade metabólica e a sua capacidade de diferenciação. Ou seja, a sensibilidade à radiação é diretamente proporcional com o seu processo de diferenciação ou estado de maturidade (Vogin; Foray, 2013).

Com isso, células que ainda se encontram indiferenciadas, apresentam alta taxa de proliferação celular e alta atividade metabólica, irão apresentar um comportamento radiossensível. Enquanto células mais especializadas e diferenciadas serão mais radioresistentes. Isso ocorre para a maioria das células, entretanto, ocorrem exceções, exemplo disso é visto em melanomas, onde apresentam células com alta taxa de proliferação e alta atividade metabólica, porém apresentam-se radorresistentes. Ademais, outras células que fogem a esse comportamento são os linfócitos que mesmo sendo células especializadas ou diferenciadas apresentam um comportamento de radiossensibilidade (Trappetti, *et al.*, 2021; Vogin; Foray, 2013).

2.4.1 LINFÓCITOS

A Célula Tronco Hematopoiética (CTH) é responsável pela produção dos linfócitos, que se dividem em três grupos, sendo eles o Natural-Killer (NK), B e T. Cada tipo de linfócito apresenta um processo de especialização, onde os linfócitos B e NK compartilham do mesmo progenitor linfóide e são produzidos e maturados na medula

óssea. Durante a maturação, os linfócitos B expressam receptores de células B (BCR) na membrana plasmática, que são imunoglobulinas essenciais para o reconhecimento de antígenos. Além disso, eles expressam várias proteínas de superfície, conhecidas como Clusters de Diferenciação (CD), como o CD19, que são importantes para sua identificação e função. O linfócito T sai da Medula Óssea (MO) durante sua fase de maturação e ao entrar em contato o timo, transforma-se em tímócito e irá passar pelo seu processo de diferenciação até os clusters CD4 ou CD8 (Moreira, 2014).

Em geral, os linfócitos humanos desempenham papel fundamental no sistema imunológico e compõem tanto a imunidade inata quanto a imunidade adaptativa. Compõem a imunidade inata por meio dos linfócitos NK que realizam o controle de células que são próprias ou impróprias ao organismo, e são especialmente eficazes no combate a células neoplásicas e células infectadas por vírus. Já os linfócitos B e T são fundamentais na imunidade adaptativa. Os linfócitos B são responsáveis pela produção de anticorpos e aumentam em número quando ativados. Os linfócitos T são encontrados em maior concentração no sangue em comparação aos linfócitos B. Isto se deve à diversidade de funções desempenhadas pelos linfócitos T no sistema imunológico, como a destruição de células infectadas e a coordenação da resposta imune. Os linfócitos T possuem duas classes principais, os CD4+ (linfócitos T auxiliares) e os CD8+ (linfócitos T citotóxicos), que desempenham papéis complementares na defesa do organismo (Mesquita, *et al.*, 2010).

Os linfócitos compõem de 20% a 40% das células leucocitárias presentes na corrente sanguínea e desempenham um papel fundamental na dosimetria biológica. Embora essas células sejam altamente diferenciadas e se encontrem na fase G0 do ciclo celular, os linfócitos são radiosensíveis, sendo uma exceção da Lei de Bergonié e Tribondeau sobre a radiosensibilidade, que prevê maior sensibilidade em células com alta taxa de divisão. Além disso, devido à sua alta concentração na corrente sanguínea, a sua sensibilidade à RI e facilidade na coleta, os linfócitos são as células de escolha para estimar a dose absorvida em indivíduos expostos à radiação (IAEA, 2011, Moreira, 2014; Paganetti, 2023).

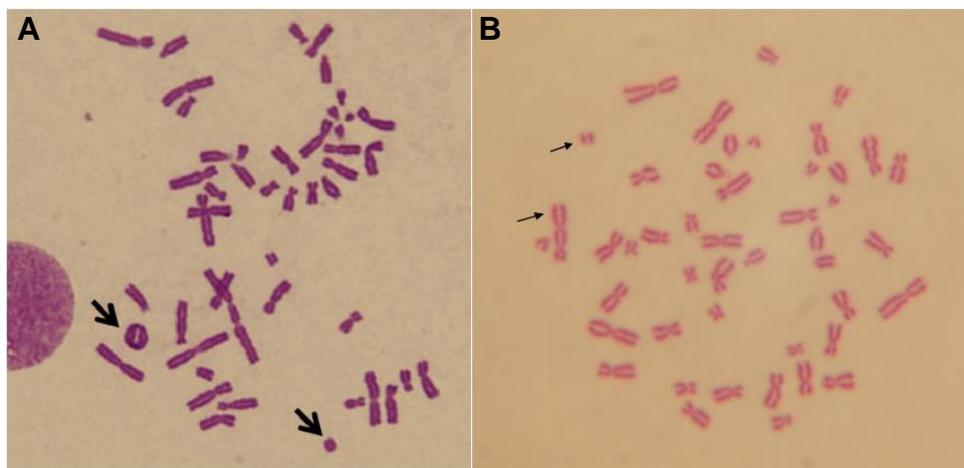
2.5 ENSAIO DE CROMOSSOMOS DICÊNTRICOS

Os cromossomos são caracterizados por estruturas filamentosas espiraladas compostas de DNA e proteínas histonas, que ajudam a compactar o DNA dentro do

núcleo. Morfologicamente, os cromossomos são formados por duas cromátides irmãs, que são cópias idênticas do material genético, unidas por uma região central chamada centrômero. A posição do centrômero é um critério para realizar a classificação dos cromossomos em diferentes tipos, os quais são divididos em metacêntrico, submetacêntrico, acrocêntrico e telocêntrico (Nicodemi; Pombo, 2014).

A RI possui a capacidade de induzir quebras de fita simples (SSB) e de fita dupla (DSB) no DNA, as quais associadas ao mecanismo de reparo incorreto pode resultar na formação de alterações cromossômicas instáveis, como cromossomo dicêntrico, anéis cromossômicos e fragmentos acêntricos (Figura 06A). Entre estas alterações, o cromossomo dicêntrico é o marcador específico da RI, sendo capaz de confirmar que um indivíduo foi radioexposto. Esse tipo de cromossomo é formado pela associação de uma extremidade cromossômica rompida com a de outro cromossomo, formando um cromossomo com dois centrômeros, estando geralmente acompanhado de um fragmento acêntrico (Figura 06B) (Hlatky, *et al.*, 2002; IAEA, 2011).

Figura 6 – Metáfases com alterações cromossômicas. **A:** Metáfase com um anel e seu fragmento. **B:** Metáfase com um cromossomo dicêntrico e seu fragmento.



Fonte: IAEA, 2011.

A dosimetria biológica utiliza marcadores citogenéticos para quantificar a dose absorvida por um indivíduo. O padrão ouro para a estimativa de dose absorvida de indivíduos radioexpostos é o cromossomo dicêntrico. Esta técnica utiliza a lectina fitohemaglutinina, derivada do feijão vermelho, *Phaseolus vulgaris*, para estimular o ciclo celular dos linfócitos humanos, fazendo com que eles saiam da fase G0 e entrem em mitose. Durante a divisão celular, é utilizado o alcalóide colchicina, derivado de

Colchicum autumnale, um antimitótico utilizado para interromper o ciclo celular na fase de metáfase. É nesta fase que os cromossomos se encontram em sua maior condensação, facilitando, assim, a identificação dessas alterações cromossômicas durante as análises microscópicas (IAEA, 2011).

2.6 RADIOPROTETORES E RADIOMITIGADORES

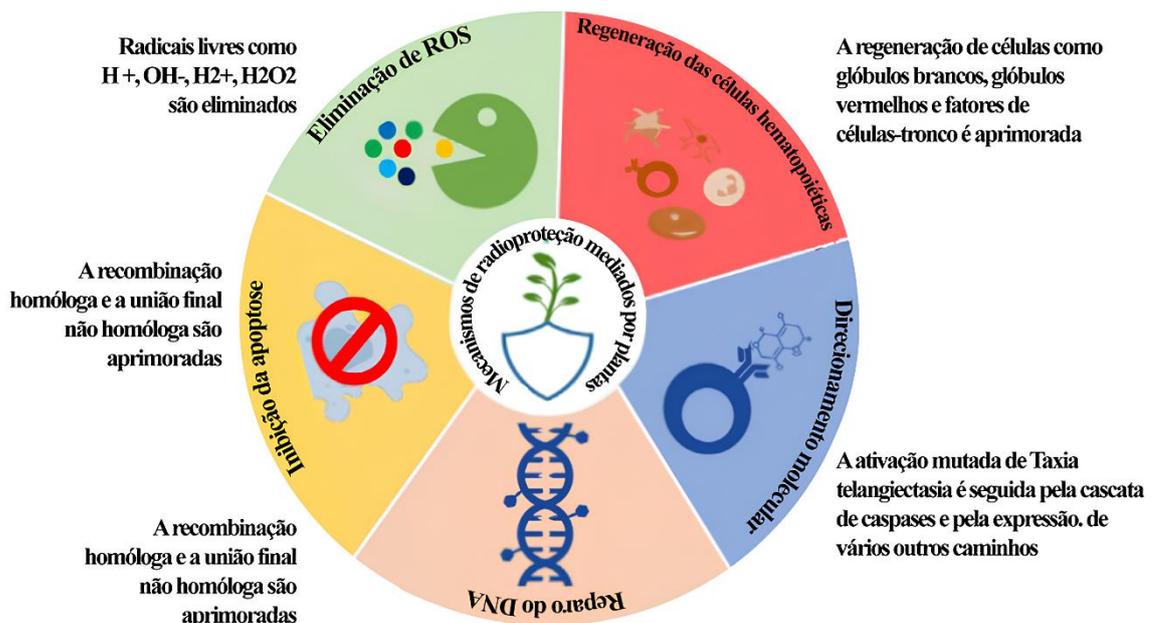
A RI possui uma diversidade de aplicações e a Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) registrou, em 2020, cerca de 6.148 instalações radioativas licenciadas no Brasil, das quais 3.499 estavam ativas, operando em diversos setores da sociedade (CNEN, 2020). No campo médico, essa energia é usada em radioexposições terapêuticas intencionais, como na radioterapia, onde são planejadas aplicações de doses absorvidas necessárias e controladas para eliminar tumores. Devido a este grande número de instalações, há a probabilidade de ocorrer radioexposições acidentais, com níveis elevados de dose absorvida (Byun; Jo; Lee, 2006; Carvalho, 2012). Diante do exposto, a utilização de radioprotetores e radiomitigadores se torna fundamental para proteger indivíduos e minimizar os danos causados pela ação dessa energia (Jagetia, 2007; Raviraj, *et al.*, 2014).

A utilização de radioprotetores e radiomitigadores ocorre devido à capacidade dessas substâncias de minimizar os danos causados pela RI. Os radioprotetores são administrados antes da exposição à radiação, atuando na prevenção dos efeitos da RI no sistema biológico. Em contrapartida, os radiomitigadores são substâncias que reduzem os danos após o contato da radiação com o material biológico, auxiliando na recuperação celular e mitigando os efeitos negativos pós-exposição (Obrador, *et al.*, 2020).

Neste contexto, a amifostina (WR-2721) é a única droga aprovada pela Food and Drug Administration (FDA), como agente radioprotetor e radiomitigador, sendo uma substância química capaz de realizar a proteção de tecidos saudáveis que entraram em contato com a RI ao mesmo tempo que não minimiza os seus efeitos contra células cancerosas (Jit; *et al.*, 2023). Entretanto, o uso prolongado desse fármaco está associado à promoção de náuseas e vômitos, podendo ocasionar hipotensão, erupções cutâneas, reações alérgicas, xerostomia, tonturas e fadiga (Cairnie, 1983). Com isso, tem-se uma crescente nos estudos do potencial radioprotetor e radiomitigador de produtos naturais, como, plantas e ervas.

Alguns produtos naturais têm mostrado ação antioxidante, captando os radicais livres formados por ROS e RNS. Além disso, estimulam a produção endógena dos carreadores de radicais livres do próprio sistema biológico, como a glutatona (GSH), superóxido dismutase (SOD) e a catalase. A ação da via direta é minimizada ao reduzir a apoptose, estimulando o reparo da molécula de DNA, onde ocorre a produção de proteínas da Endonuclease Apurínica/Apirimidínica 1 (APE1) no mecanismo BER. Além disso, ocorre um maior estímulo para a transcrição da p53, proteína fundamental para o reparo do DNA. Por meio da mediação dessas, o tecido hematopoiético é regenerado com a produção de células sanguíneas (Figura 8) (Dowlath, *et al.*, 2021; Jagetia, 2007). Desta forma, estes produtos naturais podem apresentar potencial radioprotetor e/ou radiomitigador.

Figura 8 – Mecanismo de radioproteção mediados por plantas.



Fonte: Adaptado de Dowlath, *et al.*, 2021

2.7 GINKGO BILOBA

A fitoterapia é uma prática que se utiliza de plantas e seus derivados no tratamento e prevenção de doenças. Por possuírem em sua composição compostos bioativos que conseguem agir durante processos patológicos, seja por meio da eliminação de microrganismos, seja reduzindo processos inflamatórios ou reforçando

o sistema imunológico (Msomi; Simelane, 2019). Desta forma, os fitoterápicos podem ser utilizados como radioprotetores e radiomitigadores por possuírem a capacidade de mediar o estresse oxidativo por meio de moléculas antioxidantes, reduzir processos inflamatórios, como radiodermites, por meio de mecanismos de ação das prostaglandinas e citocinas (Chaughule; Barve, 2024; Stickel; Schuppan, 2007).

Dentre as plantas fitoterápicas, encontra-se a *Ginkgo biloba*. Planta pertencente à família da *Ginkgoaceae*, que compõe o grupo das gimnospermae que possui este nome pelo fato de suas folhas possuírem dois lóbulos. Sendo originária do leste asiático, mais especificamente na China, foi cultivada em outros países, havendo seus registros na Europa e na América do Norte. Esta planta é descrita como um fóssil vivo pelo fato desta espécie de planta permanecer praticamente inalterada por vários períodos geológicos. Isto pode estar relacionado com seus compostos bioativos o que permite a sua existência há mais de 200 milhões de anos (Jacobs; Browne, 2000; Šamec, *et al.*, 2022).

Figura 9 – Folhas de *Ginkgo biloba*.



Fonte: Šamec, *et al.*, 2022.

As folhas de *Ginkgo biloba* são aplicadas em vários estudos por conta de sua alta quantidade em compostos fitoquímicos, onde as principais podem ser divididas em terpenóides, sesquiterpenos, flavonoides, ácidos fenólicos, ácidos orgânicos e biflavonoides (tabela 2) (Singh, *et al.*, 2008).

Tabela 2 – Principais compostos fitoquímicos do extrato das folhas de *Ginkgo biloba*.

Grupos fitoquímicos	Moléculas	Ação
Terpenóides	Ginkgolídeos A, B, C, J	Melhoram a circulação sanguínea, protegem as células nervosas
Sesquiterpenos	Bilobalídeo	Neuroproteção, efeito antioxidante
Flavonoides	Quercetina, Kaempferol, Isorhamnetina	Ação antioxidante, proteção dos capilares
Ácidos fenólicos	Ginggóis, Cardanol, Anacárdico	Efeitos antioxidantes, proteção contra radicais livres
Ácidos Orgânicos	Ácido Ascórbico, Ácido Quínico	Antioxidante, protege contra estresse oxidativo
Biflavonoides	Amentoflavona, Ginkgetina	Proteção das células, prevenção de danos celulares

Fonte: Adaptado de Singh, *et al.*, 2008.

As folhas de *Ginkgo biloba* podem apresentar um efeito radiomitigador pelo fato de possuírem ação antioxidante e anti-inflamatória, mas principalmente pelo fato de conseguirem realizar a preservação celular das células cerebrais, o qual possui várias evidências do seu efeito neuroprotetor (Singh, *et al.*, 2019).

Zeng, *et al.* (2018) avaliaram o extrato de *Ginkgo biloba* e observaram que o mesmo possui a capacidade de mediar o estresse oxidativo e inflamatório ao mimetizar o microambiente cerebral formado na Doença de Alzheimer (DA). Além disso, evidenciou a promoção da neurogênese e a preservação do hipocampo e do córtex pré-frontal.

Shao, *et al.* (2021) observaram a capacidade do ginkgolídeos B em mediar a ação inflamatória dos mediadores químicos TNF- α (Fator de Necrose Tumoral Alfa), IL-1 (Interleucina-1) e IL-6 (Interleucina-6), o qual trouxe proteção das células neuronais com preservação da cognição.

Eisvand; Razavi; Hosseinzadeh (2020) evidenciaram que a *Ginkgo biloba* é capaz de preservar o dano ocasionado nos vasos sanguíneos ao estimular a produção de Óxido Nítrico (NO) e realizar a vasodilatação, permitindo reduzir a pressão arterial e contribuindo para resistência e preservação da função vascular.

Emerit, *et al.* (1985a) evidenciaram que o extrato das folhas de *Ginkgo biloba* conseguiu reduzir os danos cromossômicos em indivíduo radioexpostos no acidente

de Chernobyl e em sobreviventes da bomba atômica, onde apresentou ação anticlastogênica. Além disso, Emerit, *et al.* (1985b) comparou o seu efeito antioxidante com a ação do SOD, o qual é uma molécula fundamental para mediação do estresse oxidativo, entretanto sua administração geralmente ocorre por via intravenosa para garantir a eficácia da enzima. Dessa maneira o extrato se torna mais vantajoso por poder ser administrado pela via oral.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito radiomitigador *in vitro* do extrato de *Ginkgo biloba* em linfócitos do sangue periférico humano expostos a radiação ionizante através do Ensaio de Cromossomos Dicêntricos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a frequência de cromossomos dicêntricos em linfócitos do sangue periférico humano expostos a uma dose absorvida de 2 Gy de radiação gama tratado com diferentes concentrações do extrato de *Ginkgo biloba*.
- Avaliar se o extrato de *Ginkgo biloba* apresenta ação radiomitigadora.
- Indicar qual concentração apresentou maior efeito radiomitigador.

4 METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Dosimetria Biológica (LDB) do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CRCN-NE).

4.1 COMITÊ/COMISSÃO DE ÉTICA

Este trabalho faz parte do projeto intitulado "Investigação do potencial radioprotetor do extrato de espécimes medicinais por meio de ensaios citogenéticos em linfócitos do sangue periférico", tendo sido aprovada sob o Certificado de Apresentação de Apreciação Ética sob o número 77151723.6.0000.5208 emitido pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCS-UFPE) (**Anexo A**).

4.2 SELEÇÃO DE DOADOR E COLETA DE AMOSTRAS

Um voluntário saudável, não fumante foi selecionado, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**Anexo B**). Seguindo os critérios utilizados por Gajendiran, *et al.* (2001), onde foi realizada uma anamnese do voluntário por meio de questionário (**Anexo C**) a fim de verificar se, nos últimos seis meses antes da coleta, o voluntário não foi exposto à radiação ionizante, seja com fins terapêuticos ou diagnósticos, vacinações virais ou consumo de drogas, uma vez que a utilização/consumo desses agentes podem levar a alterações cromossômicas que podem influenciar nos resultados do experimento. Posterior a este questionário, foram coletadas amostras de sangue periférico (5 ml cada), por coleta de sangue a vácuo contendo heparina.

4.3 DILUIÇÃO DO EXTRATO DE *GINKGO BILOBA*

O liofilizado do extrato das folhas de *Ginkgo biloba* (Merck, Alemanha) é ressuspenso em 5 ml de Dimetilsulfóxido (DMSO) e confeccionada uma solução principal, onde dessa solução será removida 1 ml que será diluída novamente em 99 ml de DMSO (Merck, 2024).

4.4 GRUPOS DE AMOSTRAS

As amostras de sangue periférico coletadas foram distribuídas em 4 grupos, conforme especificados na sequência:

Grupo 1: amostra não irradiada e não tratada com o extrato de *Ginkgo biloba* (Merck) para verificar o nível de *background* da frequência de alterações cromossômicas.

Grupo 2: amostra irradiada e não tratada com o extrato de *Ginkgo biloba* (Merck) para analisar a frequência de alterações cromossômicas produzidas pela radiação ionizante na dose absorvida 2Gy.

Grupos 3 e 4: amostras irradiadas e tratadas com o extrato de *Ginkgo biloba* (Merck) nas concentrações de 0,025 e 0,05 µg/ml do extrato de *Ginkgo biloba* para avaliar o seu potencial radiomitigador do extrato, respectivamente. Onde, essas concentrações são utilizadas seguindo a metodologia de Silva (2023) pelo fato de possuírem menor efeito de citotoxicidade através do teste do MTT.

4.5 IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS

Cada amostra de sangue foi separada em alíquotas de 5ml, exposta a uma fonte de ^{60}Co (irradiador Gammacel 220) localizada no Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco (DEN-UFPE) (temperatura da sala de $\sim 22\text{ }^{\circ}\text{C}$). Uma barreira de polietileno de 4 mm foi utilizada para assegurar o equilíbrio eletrônico das amostras irradiadas.

As amostras dos grupos 2, 3 e 4 foram irradiadas em Kerma no ar e os valores foram convertidos em dose absorvida de forma a resultar nas amostras um valor de dose absorvida de 2 Gy. Vale ressaltar que o fator de conversão de Kerma no ar para dose absorvida em tecido mole é a razão entre os coeficientes de massa de absorção de energia. Numericamente, isso será obtido pela multiplicação do valor de Kerma no ar por 1,10 para raios γ de fontes de ^{60}Co . Há também uma diferença entre os fatores de conversão de tecidos moles para o sangue, entretanto, para radiação de baixa LET, essa diferença é desprezível (IAEA, 2011).

4.6 CULTIVO DE CÉLULAS

As preparações citológicas para as análises cromossômicas foram obtidas a partir de cultura de linfócitos humanos. Após a irradiação das amostras nos tubos (grupo 2, 3 e 4) permanecem na estufa por 2 horas para que os mecanismos de reparo celular ocorram e assim, seja possível mimetizar cenários de radioexposições. Em continuidade, foram ser adicionadas 0,5 ml de sangue total nos frascos de cultura contendo 4 ml de meio RPMI 1640 (Gibco, EUA) suplementado com 1 ml de soro bovino fetal (Gibco, EUA), 0,1 ml de fitohemaglutinina (Sigma, EUA), 0,6 ml de estreptomicina (Sigma, EUA) e a administração do extrato de *Ginkgo biloba* (grupo 3 e 4). Em seguida, os frascos foram mantidos na estufa 37 °C, por 48 horas. Faltando 2 horas para finalizar o tempo de cultura, foi adicionado 0,1 ml de Colcemid (Sigma, EUA). Ao complementar o tempo de cultivo, o material foi centrifugado por 10 minutos a 1500 RPM, o sobrenadante desprezado e foi adicionado 8 ml de cloreto de potássio (KCl) para que ocorresse o choque hipotônico. Em seguida, os tubos foram novamente centrifugados por 10 minutos a 1500 RPM o sobrenadante foi retirado e adicionado o fixador metanol e ácido acético na proporção 3:1. Foram realizadas várias centrifugações e trocas de fixador até que o conteúdo da cultura estivesse transparente.

4.7 PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS

As lâminas foram confeccionadas a partir do precipitado de células ressuspenso em 0,5 ml de solução fixadora. Este precipitado foi gotejado a 1m de distância em dois pontos na lâmina e a mesma colocada para secar a temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida, as lâminas foram coradas com Giemsa a 5% durante 7 minutos para posterior análise microscópica.

4.8 ANÁLISE MICROSCÓPICA

A análise de metáfases foi realizada diretamente no microscópio óptico (Leica DM500), onde objetivou-se contabilizar, no mínimo, 500 metáfases viáveis para cada grupo. As metáfases viáveis são aquelas células que possuem 46 centrômeros, sem sobreposição, onde é possível verificar alterações cromossômicas instáveis mais

comuns, como, cromossomos dicêntricos, fragmentos acêntricos isolados e os anéis cromossômicos (IAEA, 2011).

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a análise microscópica, foram realizados os cálculos estatísticos, onde se deve verificar a distribuição de cromossomos dicêntricos se ajustam à distribuição de Poisson utilizando o teste u de Papworth (IAEA, 2011). A estatística do teste U é uma unidade normalizada do índice de dispersão (σ^2/y), onde valores de U superiores a 1,96 indicam sobredispersão significativa e os valores de U inferiores a -1,96 indicam a subdispersão significativa (IAEA, 2011). Onde, para a avaliação do comportamento radiomitigador está associado a uma diminuição nessa frequência (Dardano, *et al.*, 2007 e Georgieva, *et al.*, 2013).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 171 metáfases linfocitárias, onde dessas 111 referem-se ao grupo não irradiado e não tratado com o extrato e 60 referem-se aos grupos irradiados com e sem o tratamento do extrato conforme especificado na tabela 3.

Tabela 3 – Frequência e distribuição das alterações cromossômicas instáveis.

Dose (Gy)	Conc. (µg/ml)	Total de células	Total de Dic	Y	0 Dic	1 Dic	2 Dic	3 Dic	u
0	0	111	0	0,000	111	0	0	0	-
2	0,025	7	1	0,143	6	1	0	0	- 0,408
2	0,05	6	5	0,833	3	2	0	1	- 2,236
2	0	47	12	0,255	36	10	1	0	- 2,294

Legenda: Conc. = Concentração do extrato de *Ginkgo biloba*; Dic = Dicêntrico; Y = Frequência de alterações; u = Teste U de PapWorth

A tabela 3 mostra que a distribuição das alterações celulares não obedecem uma distribuição de Poisson, pois, pelo teste u de Papworth, o valor de U encontram-se fora do intervalo de $\pm 1,96$, com exceção do grupo irradiado e tratado com 0,025 µg/ml., apresentando uma subdispersão significativa.

Além disso, observa-se que a frequência de alterações no grupo irradiado e tratado com 0,025 µg/ml apresentou uma redução de 44% na frequência de alterações quando comparado ao grupo irradiado não tratado, parecendo que o extrato tenha um potencial radiomitigador. Entretanto, ao comparar o grupo irradiado tratado com 0,05 µg/ml com o não tratado, a frequência de alterações se apresenta superior. Isto, provavelmente, se deu por conta do reduzido número de células analisadas, onde a proposta é, no mínimo, 500 metáfases por grupo, conforme orientado pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, 2011).

Silva (2023) utilizou a mesma técnica, concentrações e dose absorvida, porém com um indivíduo diferente. Observou-se o potencial radiomitigador do extrato de *Ginkgo biloba* em ambas as concentrações após a análise de 781 metáfases. Esse potencial foi estatisticamente comprovado, com o teste de Tukey revelando uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o grupo irradiado e tratado com ambas as concentrações e o grupo irradiado e não tratado.

Na tabela 04, estão dispostas as frequências de dicêntricos de outros estudos que avaliaram, as ações radioprotetora e radiomitigadora de diferentes produtos

naturais, com exceção do diclofenato de sódio.

Tabela 4 – Comparação das frequências de dicêntricos com a literatura.

Trabalhos	Dose (Gy)	Extrato/Diluyente	Concentração	Y
Este estudo	2	DMSO + <i>Ginkgo biloba</i>	0 µg/ml	0,255
			0,025 µg/ml	0,143
			0,05 µg/ml	0,833
Sebastià, et al., 2011	2	Etanólico de Curcumina (Rizoma de <i>Curcuma longa</i>)	0 µg/ml	0,296
			5 µg/ml	0,140
			50 µg/ml	0,192
			500 µg/ml	0,167
		Etanólico de Resveratrol	0 µg/ml	0,296
			0,5 µg/ml	0,142
			5 µg/ml	0,223
			50 µg/ml	0,216
Montoro, et al., 2011	2	Etanólico de Própolis	0 µg/ml	0,33
			20 µg/ml	0,23
			40 µg/ml	0,22
			120 µg/ml	0,21
			250 µg/ml	0,20
			500 µg/ml	0,19
			750 µg/ml	0,18
			1000 µg/ml	0,16
Siqueira, et al., 2019	2,5	Metanol + Quercetina	0 µM	0,092
			37,5 µM	0,028
Alok, et al., 2020	2	Água deionizada + Diclofenato de sódio	0 µM	0,15
			10 µM	0,13
			100 µM	0,14
			1 mM	0,06
Faraji, et al., 2024	2	DMSO + Crocin (Flor de <i>Crocus sativus</i>)	0 µg/ml	0,30
			5 µg/ml	0,16
			50 µg/ml	0,18
			100 µg/ml	0,14
			200 µg/ml	0,16
			400 µg/ml	0,20
			800 µg/ml	0,16
		Etanólico de Resveratrol	0 µg/ml	0,30
			5 µg/ml	0,24
			50 µg/ml	0,14
			100 µg/ml	0,10
			200 µg/ml	0,12
			400 µg/ml	0,18
		Combinação dos extratos	800 µg/ml	0,26
			0 µg/ml	0,30
5 + 5 µg/ml	0,28			
			50 + 50 µg/ml	0,08

			100 + 100 µg/ml	0,10
			200 + 200 µg/ml	0,12
			400 + 400 µg/ml	0,16
			800 + 800 µg/ml	0,12

Legenda: Y = Frequência de alterações citogenéticas.

Como observado, os estudos demonstram o mesmo padrão encontrado nesta pesquisa ao comparar as amostras irradiadas tratadas com as que não receberam tratamento. É evidente que os extratos estudados como possíveis radioprotetores/radiomitigadores se revelaram capazes de reduzir a frequência de danos intracelulares, por meio da diminuição do aparecimento de cromossomos dicêntricos nas amostras.

Sebastià, *et al.* (2011) avaliaram ação radioprotetora da curcumina, uma molécula polifenólica extraída dos rizomas de *Curcuma longa* (açafrão da terra), e do resveratrol, uma molécula pertencente ao grupo funcional fitoalexina extraído da casca de uvas e frutas vermelhas. Ambas as moléculas foram selecionadas para o estudo devido as suas capacidades antioxidantes, anti-inflamatórias e, principalmente, pelo fato de atuarem inibindo os três estágios da carcinogênese. Ademais, essas moléculas são apolares e conseguem adentrar a membrana plasmática, reduzindo a ação indireta da RI. Eles observaram que o efeito máximo de radioproteção produzido pela curcumina foi com a concentração de 5 µg/ml, levando a uma redução de 52,7% na frequência de alterações citogenéticas. Enquanto, o resveratrol apresentou o seu efeito máximo na concentração de 0,5 µg/ml, induzindo uma redução de 52,03%.

Montoro, *et al.* (2011) avaliaram as ações radioprotetora e radiomitigadora do extrato etanólico de própolis que é rico em compostos fenólicos com ação imunomoduladoras, antioxidantes, anti-inflamatórias e antitumorais. A concentração de 1000 µg/ml do extrato apresentou o maior efeito radioprotetor com uma redução de 51,52% da frequência de dicêntricos. Entretanto, com o aumento da concentração do extrato não houve um aumento no efeito radioprotetor. Este extrato não apresentou ação radiomitigadora com relevância estatística.

Siqueira, *et al.* (2019) avaliaram a ação radiomitigadora da quercetina, um flavonoide que pode ser isolado em vegetais e frutas, com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. No referido trabalho, o composto foi utilizado em duas concentrações, sendo elas 37,5 e 75 µM. Entretanto, a concentração de 75 µM

apresentou alto potencial citotóxico inviabilizando a cultura de linfócito, enquanto a concentração de 37,5 μM conseguiu reduzir a frequência de dicêntricos em 69,57%.

Já o trabalho de Alok, *et al.* (2020) avaliou a ação radioprotetora e radiomitigadora do diclofenato de sódio, um anti-inflamatório não esteroide com propriedade antioxidante. Eles observaram uma ação radiomitigadora de maior relevância estatística na concentração de 1mM, o que resultou numa redução de 50% na frequência de dicêntricos. As demais concentrações estudadas (10 μM e 100 μM) não conseguiram mitigar o dano genotóxico ocasionado pela radiação ionizante.

Faraji, *et al.* (2024) avaliaram a ação radioprotetora da crocina, um caroteno extraído da Flor de *Crocus sativus* (açafrão crocus ou crocus de outono) que possui ação antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral. Eles também avaliaram a ação do resveratrol em maiores concentrações do que as avaliadas por Sebastião *et al.* (2011). No referido estudo, foi evidenciado que a concentração que ofereceu o maior efeito radioprotetor tanto da crocina quanto do resveratrol foi 100 $\mu\text{g/ml}$ com uma redução da frequência de dicêntricos de 53,33% e 66,67%, respectivamente. Esta redução aumentou para 73,33% quando a concentração ao administrar 50 μM de ambos os compostos na mesma cultura.

6 CONCLUSÃO

O extrato de *Ginkgo biloba* apresentou indícios que pode levar uma redução na frequência de alterações cromossômicas nos linfócitos do sangue periférico após serem irradiados com uma dose absorvida de 2 Gy na concentração 0,025 µg/ml. Com isso, o extrato de *Ginkgo biloba* demonstra tendência a ter um efeito radiomitigador podendo estar relacionado com o fato que suas moléculas antioxidantes conseguem mediar o estresse oxidativo ocasionado pela radiação ionizante ou até mesmo ocorrer o estímulo das vias de reparo de DNA através da sua ação anticlastogênica. Portanto, é necessário prosseguir com as análises para uma quantidade maior de células, a fim de se poder confirmar de forma estatisticamente significativa que o extrato de *Ginkgo biloba* consegue oferecer um efeito radiomitigador para a dose absorvida utilizada.

REFERÊNCIAS

- ALOK, Amit; AGRAWALA, Paban K. Repurposing sodium diclofenac as a radiation countermeasure agent: A cytogenetic study in human peripheral blood lymphocytes. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 856, p. 503220, 2020.
- AKUSHEVICH, Igor V. et al. Modeling deterministic effects in hematopoietic system caused by chronic exposure to ionizing radiation in large human cohorts. **Health physics**, v. 99, n. 3, p. 322-329, 2010.
- BAVERSTOCK, Keith; KAROTKI, Andrei V. Towards a unifying theory of late stochastic effects of ionizing radiation. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 718, n. 1-2, p. 1-9, 2011.
- BRAUNN, Ricardo Almeida; LARSEN, Gabriel. Efeito Fotoelétrico. **Enaproc**, v. 1, n. 1, 2019.
- BYUN, Myung-Woo; JO, Cheorun; LEE, Ju-Woon. Potential applications of ionizing radiation. **Food irradiation research and technology**, p. 249-262, 2006.
- CAIRNIE, A. B. Adverse effects of the radioprotector WR2721. **Radiation research**, v. 94, n. 1, p. 221-226, 1983.
- CAMPOS, Vera Maria Araujo de et al. **Avaliação da eficiência biológica relativa (RBE) de raios X de baixa energia**. 2017.
- CARDOSO, ELIEZER DE MOURA et al. Radioatividade. **Comissão Nacional de Energia Nuclear-CNEN**, 2000.
- CARVALHO, Joaquim Francisco de. O espaço da energia nuclear no Brasil. **estudos avançados**, v. 26, p. 293-308, 2012.
- CHAUGHULE, Ramesh S.; BARVE, Rajesh S. Role of herbal medicines in the treatment of infectious diseases. **Vegetos**, v. 37, n. 1, p. 41-51, 2024.
- Comissão Nacional de Energia Nuclear. **Instalações Radiativas Áreas e Práticas**. Disponível em: <<http://antigo.cnen.gov.br/images/cnen/documentos/drs/cgmi/Instalacoes-Radiativasv4.pdf>>. Acesso em: 19 set. 2024.
- CORTEZ, Carizy Ranna Sousa Aquino et al. **Os mecanismos de reparo do DNA face à mutação proposta por fatores endógenos e exógenos: revisão integrativa de literatura**. 2018.
- COSTA, Yago Arbex Parro; DO VAL IETSUGU, Marjorie; BOLOGNESI, Leandro. EFEITOS BIOLÓGICOS DA RADIAÇÃO E SÍNDROME AGUDA DAS RADIAÇÕES. **Tekhne e Logos**, v. 15, n. 1, p. 121-136, 2024.
- DA COSTA, Alexandre André Balieiro Anastácio. **Alteração da via da recombinação homóloga de reparo de DNA no câncer epitelial de ovário**. 2016.

DARDANO, ANGELA et al. Anticlastogenic effect of Ginkgo biloba extract in Graves' disease patients receiving radioiodine therapy. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 11, p. 4286-4289, 2007.

DE SIQUEIRA, Williams Nascimento et al. Study of the potential radiomitigator effect of quercetin on human lymphocytes. **Inflammation**, v. 42, p. 124-134, 2019.

DOWLATH, Mohammed Junaid Hussain et al. Effects of radiation and role of plants in radioprotection: A critical review. **Science of the Total Environment**, v. 779, p. 146431, 2021.

EISVAND, Farhad; RAZAVI, Bibi Marjan; HOSSEINZADEH, Hossein. The effects of Ginkgo biloba on metabolic syndrome: A review. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 8, p. 1798-1811, 2020.

ELGAZZAR, Abdelhamid H.; KAZEM, Nafisah. Biological effects of ionizing radiation. In: **The Pathophysiologic Basis of Nuclear Medicine**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2006. p. 540-548

ELGAZZAR, Abdelhamid H.; KAZEM, Nafisa. Biological effects of ionizing radiation. In: **The pathophysiologic basis of nuclear medicine**. Cham: Springer International Publishing, 2014. p. 715-726.

EMERIT, I. et al. Clastogenic factors in the plasma of Chernobyl accident recovery workers: anticlastogenic effect of Ginkgo biloba extract. **Radiation research**, v. 144, n. 2, p. 198-205, 1995. (a)

EMERIT, I. et al. Radiation-induced clastogenic factors: anticlastogenic effect of Ginkgo biloba extract. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 18, n. 6, p. 985-991, 1995. (b)

FARAJI, Shahab et al. Radioprotective Effect of Resveratrol, Crocin, and Their Combination on Cytogenetic Alterations in Human Lymphocytes. **Journal of Biomedical Physics & Engineering**, v. 14, n. 3, p. 255, 2024.

GAJENDIRAN, Natarajan, et al. "Neutron-induced Adaptive Response Studied in Go Human Lymphocytes Using the Comet Assay". **Journal of Radiation Research**, vol. 42, n° 1, 2001, p. 91–101.

GEORGIEVA, Svetlana; POPOV, Borislav; BONEV, Georgi. Radioprotective effect of Haberlea rhodopensis (Friv.) leaf extract on gamma-radiation-induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant levels in rabbit blood. **Indian J Exp Biol**, v. 51, n. 1, p. 29-36, 2013.

HALL, Eric J. et al. **Radiobiology for the Radiologist**. 2006.

HLATKY, Lynn et al. Radiation-induced chromosome aberrations: insights gained from biophysical modeling. **Bioessays**, v. 24, n. 8, p. 714-723, 2002.

HUANG, Ruixue; ZHOU, Ping-Kun. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 6, n. 1, p. 254, 2021.

IAEA, **Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies**, IAEA-EPR, Vienna, 2011.

JACOBS, Bradly P.; BROWNER, Warren S. Ginkgo biloba: a living fossil. **The American journal of medicine**, v. 108, n. 4, p. 341-342, 2000.

JAGETIA, Ganesh C. Radioprotective potential of plants and herbs against the effects of ionizing radiation. **Journal of clinical biochemistry and nutrition**, v. 40, n. 2, p. 74-81, 2007.

Jl, Lihua et al. Advances of amifostine in radiation protection: Administration and delivery. **Molecular Pharmaceutics**, v. 20, n. 11, p. 5383-5395, 2023.

JIT, Bimal Prasad et al. Phytochemicals: A potential next generation agent for radioprotection. **Phytomedicine**, v. 106, p. 154188, 2022.

KUDRIĀSHOV, IŪriĭ Borisovich. **Radiation Biophysics (Ionizing Radiations)**. Nova Publishers, 2008.

LE CAËR, Sophie. Water radiolysis: influence of oxide surfaces on H₂ production under ionizing radiation. **Water**, v. 3, n. 1, p. 235-253, 2011.

LIMA, Luís Spencer. Radiação gama. **Revista de Ciência Elementar**, v. 2, n. 4, 2014.

LUDOVICI, Gian Marco et al. Cytogenetic bio-dosimetry techniques in the detection of dicentric chromosomes induced by ionizing radiation: A review. **The European Physical Journal Plus**, v. 136, n. 5, p. 482, 2021.

LUTZ, Bruna Schwengber. **Análise da expressão dos genes de reparo do DNA no carcinoma papilar da tireoide**. 2017.

Merck. **Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico de Ginkgo biloba (leaves)**. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/sds/sial/nist3246?userType=anonymous>>. Acesso em: 20 set. 2024.

MESQUITA JÚNIOR, Danilo et al. Sistema imunitário-parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, p. 552-580, 2010.

MILIAN, Felix Mas. Estudo in vitro dos efeitos radiobiológicos no DNA plasmidial com radiações ionizantes de baixo LET. **Universidade de São Paulo. Instituto de Física**, 2006.

MOREIRA, Catarina. **Revista de Ciência Elementar**. 2015.

MONTORO, Alegría et al. Concentration-Dependent Protection by Ethanol Extract of Propolis against γ -Ray-Induced Chromosome Damage in Human Blood Lymphocytes. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, n. 1, p. 174853, 2011.

MSOMI, Nontokozo Z.; SIMELANE, Mthokozisi BC. Herbal medicine. **InTech: Rijeka, Croatia**, p. 215-227, 2019.

NAVARRO, Marcus Vinicius Teixeira et al. Controle de riscos à saúde em radiodiagnóstico: uma perspectiva histórica. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 15, p. 1039-1047, 2008.

NEPOMUCENO, Leandro et al. Mecanismos de reparo aos danos no DNA nos pontos de checagem do ciclo celular. **Enciclopédia Biosfera**, v. 14, n. 25, 2017.

NICODEMI, Mario; POMBO, Ana. Models of chromosome structure. **Current opinion in cell biology**, v. 28, p. 90-95, 2014.

OBRADOR, Elena et al. Radioprotection and radiomitigation: from the bench to clinical practice. **Biomedicines**, v. 8, n. 11, p. 461, 2020.

OKUNO, Emico. Efeitos biológicos das radiações ionizantes: acidente radiológico de Goiânia. **Estudos avançados**, v. 27, p. 185-200, 2013.

OKUNO, Emico. **Radiação: efeitos, riscos e benefícios**. Oficina de Textos, 2018.

OMER, Hiba. Radiobiological effects and medical applications of non-ionizing radiation. **Saudi journal of biological sciences**, v. 28, n. 10, p. 5585-5592, 2021.

OTS, Pilar et al. Síndrome de Stevens-Johnson probablemente asociado a tratamiento con amifostina durante la radioterapia. **Clinical & Translational Oncology**, v. 6, n. 9, 2004.

PAGANETTI, Harald. A review on lymphocyte radiosensitivity and its impact on radiotherapy. **Frontiers in Oncology**, v. 13, p. 1201500, 2023.

PEDROSO, Fabiano Anderson et al. Estimativa da dose absorvida de radiação x em fetos para exames de tomografia computadorizada em gestantes: uma revisão bibliográfica. **Revista HCPA. Porto Alegre**, 2011.

PEREIRA, Alexandre Marcelo. A FÍSICA DAS RADIAÇÕES EM SALA DE AULA: DO PROJETO À PRÁTICA. **Mestre em ensino de Física Dissertação**, 2014.

RAVIRAJ, Jayam et al. Radiosensitizers, radioprotectors, and radiation mitigators. **Indian Journal of Dental Research**, v. 25, n. 1, p. 83-90, 2014.

RODRIGUES, Sane Simone Oliveira Fonseca et al. **Estudo das distribuições de LET, QF e RBE para feixes de fótons de baixa energia em meios biológicos usando o método de Monte Carlo**. 2014.

ŠAMEC, Dunja et al. Biflavonoids: Important contributions to the health benefits of Ginkgo (Ginkgo biloba L.). **Plants**, v. 11, n. 10, p. 1381, 2022.

SANTIVASI, Wil L.; XIA, Fen. Ionizing radiation-induced DNA damage, response, and repair. **Antioxidants & redox signaling**, v. 21, n. 2, p. 251-259, 2014.

SEBASTIÀ, Natividad et al. Assessment in vitro of radioprotective efficacy of curcumin and resveratrol. **Radiation measurements**, v. 46, n. 9, p. 962-966, 2011.

SHAO, Li et al. Ginkgolide B protects against cognitive impairment in senescence-accelerated P8 mice by mitigating oxidative stress, inflammation and ferroptosis. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 572, p. 7-14, 2021.

SHARMA, Ricky A.; DIANOV, Grigory L. Targeting base excision repair to improve cancer therapies. **Molecular aspects of medicine**, v. 28, n. 3-4, p. 345-374, 2007.

SILVA, Julio César Gomes da. Estudo da propriedade radioprotetora in vitro do extrato de Ginkgo biloba através da análise citogenética de linfócitos humanos do sangue periférico irradiado. 2023. **Dissertação (Mestrado em Morfotecnologia) – Universidade Federal de Pernambuco**, Recife, 2023.

SILVA, Indianara; FREIRE JR, Olival. A descoberta do efeito Compton: De uma abordagem semiclássica a uma abordagem quântica. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 36, p. 1601, 2014.

SILVA, Rafael Araújo; DA COSTA, Pryscila R.; DOS SANTOS, Raquel Gouvea. Avaliação dos efeitos da radiação gama de alta taxa de dose sobre glioma humano. In: **International Nuclear Atlantic Conference-INAC**. 2015. p. 4-9.

SINGH, Bikram, et al. Biology and Chemistry of Ginkgo Biloba. **Fitoterapia**, vol. 79, nº 6, setembro de 2008, p. 401–18.

SINGH, Sandeep Kumar et al. Neuroprotective and antioxidant effect of Ginkgo biloba extract against AD and other neurological disorders. **Neurotherapeutics**, v. 16, n. 3, p. 666-674, 2019.

STICKEL, Felix; SCHUPPAN, D. Herbal medicine in the treatment of liver diseases. **Digestive and liver disease**, v. 39, n. 4, p. 293-304, 2007.

SZEJK, Magdalena; KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, Joanna; ŻBIKOWSKA, Halina Małgorzata. Radioprotectors in radiotherapy—advances in the potential application of phytochemicals. **Advances in Hygiene and Experimental Medicine**, v. 70, p. 722-734, 2016.

TAUHATA, L., Salati, I. P. A., Di Prinzio, R., Di Prinzio, M. A. R. R. **Radioproteção e Dosimetria: Fundamentos**. 10ª revisão abril/2014. Rio de Janeiro. IRD/CNEN. 2014.

TRAPPETTI, Verdiana et al. Microbeam radiotherapy—a novel therapeutic approach to overcome radioresistance and enhance anti-tumour response in melanoma. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 14, p. 7755, 2021.

UCHOA, Elza Maria Gonçalves Santos et al. **Césio 137: revisão integrativa do biomonitoramento genético de pessoas expostas à radiação ionizante no acidente radiológico de Goiânia, no período de 1988 a 2021**. 2021.

VERHEIJ, Marcel; BARTELINK, Harry. Radiation-induced apoptosis. **Cell and tissue research**, v. 301, n. 1, p. 133-142, 2000.

VOGIN, Guillaume; FORAY, Nicolas. The law of Bergonié and Tribondeau: a nice formula for a first approximation. **International journal of radiation biology**, v. 89, n. 1, p. 2-8, 2013.

WILLIAMS, Dillwyn. Radiation carcinogenesis: lessons from Chernobyl. **Oncogene**, v. 27, n. 2, p. S9-S18, 2008.

YI, Juanjuan et al. Potential of natural products as radioprotectors and radiosensitizers: Opportunities and challenges. **Food & Function**, v. 12, n. 12, p. 5204-5218, 2021.

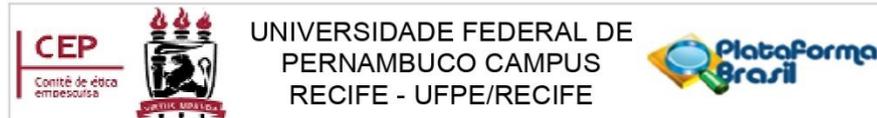
YOSHIMURA, Elisabeth Mateus. Física das Radiações: interação da radiação com a matéria. **Revista Brasileira de Física Médica**, v. 3, n. 1, p. 57-67, 2009.

ZENG, Kuan et al. Ginkgo biloba extract EGb761 attenuates hyperhomocysteinemia-induced AD like tau hyperphosphorylation and cognitive impairment in rats. **Current Alzheimer Research**, v. 15, n. 1, p. 89-99, 2018.

ZHAO, Lei et al. The determinant of DNA repair pathway choices in ionising radiation-induced DNA double-strand breaks. **BioMed Research International**, v. 2020, n. 1, p. 4834965, 2020.

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da UFPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL RADIOPROTETOR DO EXTRATO DE ESPÉCIMES MEDICINAIS POR MEIO DE ENSAIOS CITOGENÉTICOS EM LINFÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO

Pesquisador: Fabiana Farias de Lima Guimarães

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 77151723.6.0000.5208

Instituição Proponente: COMISSAO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR

Patrocinador Principal: COMISSAO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.702.069

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa básica com fins de produção científica, que visa investigar o uso de radioprotetores em proteção radiológica diante do crescente uso das radiações ionizantes em diversos setores da sociedade, e dos riscos de acidentes nucleares e outras exposições. O projeto visa investigar radioprotetores naturais, como de espécies de *Allium cepa*, *Ginkgo biloba*, *Punica granatum* e *Schinus terenbinthifolia*, na formação de danos cromossômicos induzidos pelas radiações, a exemplo dos dicêntricos e dos micronúcleos em linfócitos.

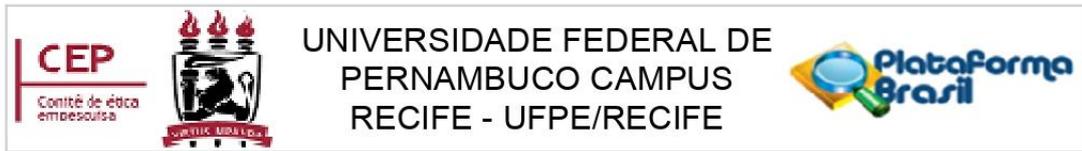
Objetivo da Pesquisa:

O objetivo da pesquisa é avaliar a atividade radioprotetora do extrato de *Allium cepa*, *Ginkgo biloba*, *Punica granatum* e *Schinus terenbinthifolia*, em linfócitos do sangue periférico humano irradiados *in vitro* e não irradiados, e comparar as alterações citogenéticas induzidas por diferentes doses de radiação ionizantes em ambas as amostras, para avaliar se estes extratos (ou quais deles) são radioprotetores e protegem os cromossomos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há risco algum de exposição a agentes radioativos ou às radiações ionizantes. Os benefícios diretos são os dados, caso os voluntários assim desejem, de tomarem

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 6.702.069

conhecimentos de suas amostras, e os indiretos são os estudos que possam identificar substâncias protetoras das radiações ionizantes. Os riscos são qualquer constrangimento com questionários, ou os inerentes às coletas de sangue por punção venosa, como o surgimento de hematomas. Mas é informado que as coletas serão realizadas por pessoas qualificadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante para busca de radioprotetores naturais.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos foram devidamente apresentados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foram seguidas as recomendações do CEP, tanto em carta de resposta quanto em tarja amarela no corpo dos documentos.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Protocolo foi avaliado na reunião do CEP e está APROVADO, com autorização para iniciar a coleta de dados. Conforme as instruções do Sistema CEP/CONEP, ao término desta pesquisa, o pesquisador tem o dever e a responsabilidade de garantir uma devolutiva acessível e compreensível acerca dos resultados encontrados por meio da coleta de dados a todos os voluntários que participaram deste estudo, uma vez que esses indivíduos têm o direito de tomar conhecimento sobre a aplicabilidade e o desfecho da pesquisa da qual participaram.

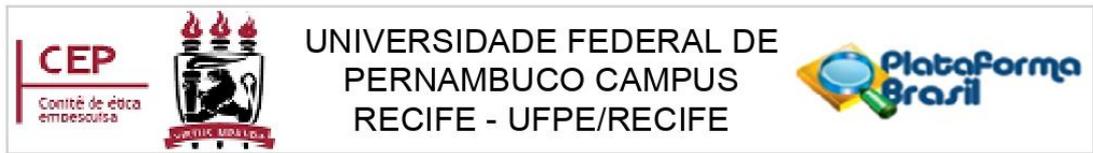
Informamos que a aprovação definitiva do projeto só será dada após o envio da NOTIFICAÇÃO COM O RELATÓRIO FINAL da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final disponível em www.ufpe.br/cep para enviá-lo via Notificação de Relatório Final, pela Plataforma Brasil. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado. Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada com a devida justificativa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

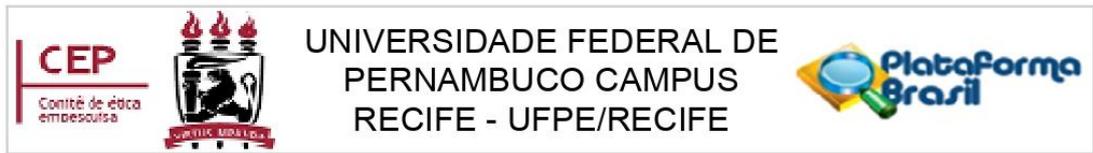
Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 6.702.069

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2261286.pdf	30/01/2024 09:38:42		Aceito
Outros	Carta_de_resposta_pendencias_assinado.pdf	30/01/2024 09:33:02	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_Confidencialidade_assinado.pdf	30/01/2024 09:32:18	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_completo_corrigido_marcado.pdf	30/01/2024 09:31:15	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2261286.pdf	11/12/2023 10:36:34		Recusado
Outros	LattesCaioVictor.pdf	11/12/2023 10:32:58	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesThiagoNapoleao.pdf	11/12/2023 09:30:43	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesRonaldMendes.pdf	11/12/2023 09:19:39	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesLarissaVitoria.pdf	11/12/2023 09:17:47	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesJulioCesar.pdf	11/12/2023 09:16:53	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesEvelinMirelle.pdf	11/12/2023 09:16:06	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesEduardaSantos.pdf	11/12/2023 09:15:37	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesAnaMelo.pdf	11/12/2023 09:14:15	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesRaquelCordeiro.pdf	11/12/2023 09:13:46	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	11/12/2023 09:13:07	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesLaisMelo.pdf	11/12/2023 09:06:59	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesSuyHwang.pdf	11/12/2023 09:06:09	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesMarianaMendes.pdf	11/12/2023 09:05:48	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Outros	LattesFabianaLima.pdf	11/12/2023 09:05:27	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_maiores18anos.pdf	11/12/2023 08:59:57	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_maiores18anos.pdf	11/12/2023 08:59:57	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Recusado

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde**Bairro:** Cidade Universitária**CEP:** 50.740-600**UF:** PE**Município:** RECIFE**Telefone:** (81)2126-8588**Fax:** (81)2126-3163**E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 6.702.069

Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartaAnuenciaCRCN.pdf	11/12/2023 08:59:23	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_completo.pdf	11/12/2023 08:58:52	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_completo.pdf	11/12/2023 08:58:52	Fabiana Farias de Lima Guimarães	Recusado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 14 de Março de 2024

Assinado por:
VÂNIA PINHEIRO RAMOS
(Coordenador(a))

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br

ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa Implantação do protocolo combinado no CRCN-NE para triagem e estimativa de dose absorvida em casos de acidentes radiológicos, que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) Fabiana Farias de Lima Guimarães, Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste, Av. Professor Luiz Freire, 200, CDU, 50730-120, Recife/PE - Fone: (81) 3797-8014/ Email: fabiana.farias@cnen.gov.br.

Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Raquel Cordeiro de Oliveira, telefone para contato: (81) 979038111 e e-mail: raquel.cordeiro0@gmail.com; Suy Ferreira Hwang, telefone para contato: (81) 3797-8050 e e-mail: suy.hwang@cnen.gov.br, e Mariana Esposito Mendes, telefone para contato: (81) 3797-8021 e e-mail: mariespositomendes@gmail.com.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

O (a) senhor (a) estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- **Descrição da pesquisa e esclarecimento da participação:** O presente estudo tem o objetivo de avaliar a atividade radioprotetora do extrato de plantas medicinais, em linfócitos humanos do sangue periférico cultivados, comparando a frequência de alterações citogenéticas em diferentes doses absorvidas de radiação gama. Tal pesquisa é necessária, pois, diariamente, sejam por motivos médicos ou ocupacionais, a população é cada vez mais exposta às radiações, sendo necessário um estudo mais aprofundado que forneça mecanismos de radioproteção aos indivíduos. Sua participação nessa pesquisa consistirá em fornecer 4 amostras de sangue (10 ml) em diferentes meses que serão coletadas por simples punção venosa em tubos de vacutainers contendo heparina, após assinatura deste termo. Seu material será usado exclusivamente para efeito desta pesquisa e a pesquisa não está avaliando o seu estado de saúde. Serão utilizadas as amostras do seu sangue para expor fora do corpo à radiação e assim avaliar as alterações cromossômicas que acontecem nelas devido a estas exposições. O(a) Sr(a). também responderá um questionário para verificação do seu estado geral de saúde, apontando se nos últimos seis meses antes da coleta houve alguma exposição à radiação terapêutica ou raios X diagnóstico; aplicação de vacinas; ou consumo de drogas ilícitas. Essas informações são necessárias, pois os fatores citados podem alterar os resultados.
- **RISCOS:** Os riscos inerentes à sua participação podem ser: (1) o constrangimento em não saber ou não querer responder a algum item do questionário, caso sua amostra irá contribuir para a elaboração das curvas de calibração dose-resposta; (2) durante a coleta, que obedecerá aos requisitos de segurança e assepsia, você poderá sentir uma ardência local e, eventualmente, após coleta, poderá se formar um hematoma, que desaparecerá em poucos dias. Esses riscos podem ser minimizados (1), realizando o questionário de forma individual e privada; e (2) utilizando compressa de gelo logo após a coleta. Ressaltamos que, em momento algum, o(a) senhor(a) será exposto(a) a quaisquer fontes radioativas
- **BENEFÍCIOS diretos/indiretos** para os voluntários: O seu benefício é que será dada a opção de se fornecer a informação quanto aos níveis espontâneos das alterações cromossômicas que o Sr(a) possui.

Essa informação poderá ser enviada pós-análise aos doadores, se assim desejar, por meio de um documento/carta padrão via correio ou e-mail. No caso dos benefícios indiretos, destacamos o potencial uso dos extratos estudados como radioprotetores, fornecendo um meio seguro para proteção em casos de acidentes radiológicos e exposições programadas à radiação.

Esclarecemos que os participantes dessa pesquisa têm plena liberdade de se recusar a participar do estudo e que esta decisão não acarretará penalização por parte dos pesquisadores. Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa ficarão armazenados em pastas de arquivo sob a responsabilidade da pesquisadora Fabiana Farias de Lima Guimarães, no endereço acima informado pelo período de mínimo 5 anos após o término da pesquisa. Da mesma forma, as culturas das células provenientes de suas amostras de sangue ficarão armazenadas em freezer no laboratório sob a responsabilidade da pesquisadora principal no endereço da instituição e serão destruídas ao final desta pesquisa. Vale ressaltar que, mesmo estando sob a responsabilidade da pesquisadora principal, o Sr (a) é o proprietário(a) de suas próprias amostras e será avisado no momento de serem destruídas.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação).

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, o (a) senhor (a) poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cephumanos.ufpe@ufpe.br.**

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo “Implantação do protocolo combinado no CRCN-NE para triagem e estimativa de dose absorvida em casos de acidentes radiológicos” como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

Impressão
digital
(opcional)

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

ANEXO C – Modelo do questionário para seleção de doadores (anamnese)

Modelo do Questionário de Seleção de Doadores

I - DADOS PESSOAIS

1.2 N° do Voluntário: _____

1.3 Sexo: M [0] F [1] 1.4 Data de Nascimento ___/___/___ 1.5 Data de hoje ___/___/___

1.6 Estado civil:

Solteiro[0]; Casado[1]; Viúvo[2]; Divorciado[3]; Separado[4];
Outros [5]

1.7 Cargo: _____ Função: _____

1.8 Grau de Instrução (escolaridade):

[1] não estudou / Primário Incompleto

[2] primário Completo / Ginásial Incompleto

[3] ginásio Completo / Colegial Incompleto

[4] colegial Completo / Superior Incompleto

[5] superior Completo / Pós-Graduação Incompleta

[6] pós-Graduação Completa

1.9 Indique nos espaços abaixo a **QUANTIDADE** de itens que existem em sua residência:

Quantos

Quantos

Quantos

[] automóvel

[] rádio

[] máquina de lavar roupa

[] banheiro

[] videocassete

[] empregada mensalista

[] aspirador de pó

[] geladeira

[] TV em cores

Total de Pessoas na Família: []

II - INDICADORES GERAIS DE SAÚDE

2.1 Com relação ao fumo, marque a resposta apropriada para o seu caso:

[1] nunca fumei

[5] fumo de dez a vinte cigarros por dia

[2] parei de fumar há mais de dois anos

[6] fumo mais que vinte cigarros por dia

[3] parei de fumar a menos de dois anos

[7] só fumo charuto ou cachimbo

[4] fumo menos de dez cigarros por dia

2.2 Quantos "drinques" você toma **POR SEMANA**: (um drinque = 1/2 garrafa de cerveja, um copo de vinho ou uma dose de destilado)

[1] nenhum
mais que dez

[2] menos que três

[3] cinco a dez

[4]

2.3 Com que frequência você consegue dormir "bem" (7 - 8 horas por noite):

[1] sempre [3] tenho dificuldade para dormir "bem"

[2] maioria das vezes [4] raramente consigo dormir "bem"

2.4 Você acorda descansado?

[1] sim [2] não

2.5 No final da jornada de trabalho você se sente (física e mentalmente)?

[1] bem [2] cansado [3] pouco cansado

2.6 Você está satisfeito com o seu peso?

[1] sim [2] não (gostaria de aumentar) [3] não (gostaria de diminuir)

III - ATIVIDADE FÍSICA HABITUAL

Para cada questão, responda somente **UMA** alternativa.

ATIVIDADES OCUPACIONAIS DIÁRIAS

3.1 Eu geralmente vou e volto do trabalho caminhando ou de bicicleta (pelo menos 800 metros cada percurso):

[1] sim [2] não

3.2 Eu geralmente vou e volto do trabalho de carro: [1] sim [2] não

3.3 Eu geralmente uso escadas ao invés do elevador: [1] sim [2] não

3.4 Minhas atividades físicas diárias podem ser descritas como:

[1] Passo a maior parte do tempo sentado(a) e, quando muito, caminho de um lugar próximo para o outro.

[2] Na maior parte do dia realizo atividades físicas moderadas, como caminhar rápido, executar tarefas que requerem movimentação.

[3] Diariamente executo atividades físicas intensas por várias horas (trabalho pesado, como jardinagem, construção, limpeza, transporte de cargas, esportes, etc...)

IV - QUESTIONÁRIO DE SAÚDE FÍSICA

4.1 Como você classificaria seu estado de saúde atual?

Ruim	1	Regular	2	Bom	3	Excelente	4
------	---	---------	---	-----	---	-----------	---

4.2 Queixa Principal: _____ []

Antecedentes Pessoais:

	nunca	Já sofreu antes	sofre atualmente	Desde há ANOS / MESES	Sob Tratamento SIM NÃO
--	-------	-----------------	------------------	-----------------------	------------------------

4.6 Gastrite/Ulcera	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.7 Bronquite/Asma	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.9 Dor no peito aos esforços	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.10 Infarto/Revascularização/Angioplastia	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.11 Hipertensão	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.12 AVC (derrame)	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.13 DST - Dça. sexualmente transmissível	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.14 Infecções urinárias de repetição	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.16 Incontinência urinária	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.20 Dores ou rigidez articulares	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.21 Diabetes mellitus	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.22 Alergias	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.23 Convulsões	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
4.24 Depressão	0	1	2	<u> a m</u>	3	4
425 Câncer	0	1	2	<u> a m</u>	3	4

7.27 Cáries a tratar ? Sim [1] Não [2]

7.28 História Familiar:

Possui na família PAI, MÃE ou IRMÃOS que apresentam ou apresentaram:

[1] Angina, Infarto ou morte súbita antes dos 50 anos []

[2] Angina, Infarto ou morte súbita após os 50 anos [] [3] Diabetes []

[4] Pressão alta ou AVC [] [5] Não sabe [6]

Nenhum

[7]Outros: _____

O Srº(a) foi submetido a qualquer procedimento envolvendo o uso de radiação nos últimos seis meses? Sim [1] Não [2]

O Sr^o(a) recebeu qualquer tipo de vacinação nos últimos seis meses? Sim [1] Não [2]

Qual? _____

V - QUESTIONÁRIO DE ESTRESSE FISIOLÓGICO

Os sintomas físicos do estresse são excelentes indicadores numa avaliação. O seguinte questionário nos ajudará a ter uma idéia da severidade do estresse que você está experimentando na sua vida diária, gerando alterações no funcionamento normal de seu organismo. Responda cada número entre 0 e 5, usando a escala abaixo:

0 = nunca 1 = uma a 2 vezes ao ano

2 = quase todos os meses 3 = quase todas as semanas

4 = uma ou mais vezes por semana 5 = diariamente

SINTOMAS CARDIOVASCULAR	SINTOMAS DA PELE
___ taquicardia	___ acne
___ batidas vigorosas e descompassadas do coração	___ caspa
___ mãos suadas e frias	___ transpiração
___ dores ou pontadas na cabeça	___ ressecamento excessivo da pele ou cabelo
SINTOMAS RESPIRATÓRIOS	SINTOMAS IMUNOLÓGICOS
___ respiração rápida ou irregular, ou curta	___ coceira/ardência
___ falta de ar	___ resfriado
___ ataque de asma	___ gripes fortes
___ dificuldade de falar, por pouco controle da respiração	___ rachaduras na pele
SINTOMAS GASTROINTESTINAIS	SINTOMAS METABÓLICOS
___ indisposição estomacal, náuseas e vômitos	___ aumento do apetite
___ constipação	___ aumento da ansiedade por fumo e doces
___ diarréia	___ preocupação generalizada e dificuldade para dormir
___ dor abdominal aguda	
SINTOMAS MUSCULARES	
___ dor de cabeça (dor contínua)	
___ tremores musculares e das mãos	
___ artrites	