



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
CENTRO REGIONAL DE CIÊNCIAS NUCLEARES DO NORDESTE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS
E NUCLEARES

João Emanuel Firmo Pinto

Implementação do ensaio cometa para quantificação de dano e reparo do DNA em linfócitos humanos expostos à radiação gama

Recife
2025

JOÃO EMANUEL FIRMO PINTO

Implementação do ensaio cometa para quantificação de dano e reparo do DNA em linfócitos humanos expostos a radiação gama

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares.

Área de concentração: Aplicação de Radioisótopos na Agricultura e Meio Ambiente.

Orientadora: Prof Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo.

Recife

2025

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Pinto, João Emanuel Firmo. Implementação do ensaio cometa para quantificação de dano e reparo do DNA em linfócitos humanos expostos à radiação gama / João Emanuel Firmo Pinto. - Recife, 2025. 70f.: il.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco,
Centro de Tecnologia e Geociências, Programa de Pós Graduação em
Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2025.

Orientação: Prof Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo.

1. Biodosimetria; 2. Ensaio cometa; 3. Radiação gama. I.

Melo, Ana Maria Mendonça de Albuquerque. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

JOÃO EMANUEL FIRMO PINTO

IMPLEMENTAÇÃO DO ENSAIO COMETA PARA QUANTIFICAÇÃO DE DANO E REPARO DO DNA EM LINFÓCITOS HUMANOS EXPOSTOS À RADIAÇÃO GAMA


A Dissertação Apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Tecnologias

Energéticas e Nucleares da Universidade


Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia
e Geociência - CTG, como requisito para a
obtenção do título de Mestre em Tecnologias
Energéticas e Nucleares. Área de
Concentração: Aplicações de Radioisótopos na
Agricultura e Meio-Ambiente.

Aprovado em: 26/08/2025


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **BRIGIDA GOMES DE ALMEIDA SCHIRMER**
Data: 26/08/2025 16:39:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Brígida Gomes de Almeida Schirmer (Examinadora Externa) Centro
Regional de Ciências Nucleares do Nordeste - CRCN/NE

Documento assinado digitalmente
 **MAIRA DE VASCONCELOS LIMA SAMPAIO**
Data: 26/08/2025 16:26:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Maíra de Vasconcelos Lima Sampaio (Examinadora Externa)
Departamento de Biofísica e Radiobiologia do Centro de Biociências da UFPE)

Documento assinado digitalmente
 **OSANA DINIZ FERREIRA**
Data: 25/08/2025 19:02:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Osana Diniz Ferreira (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Agradecimentos

Primeiramente à Deus, por ter me feito chegar até aqui, onde muitas vezes pensei em desistir.

À minha família, que nunca desistiu de mim e sempre me apoiou, não importando o que acontecesse.

À minha companheira Gabriela, que aguentou minhas crises, meus desabafos e sempre esteve comigo quando eu mais precisei.

À Dra. e professora Ana, por toda paciência e por não ter duvidado de mim em nenhum momento.

À Dewson, por todos os experimentos até tarde da noite no laboratório e conversas sem sentido.

Aos amigos do Laboratório de Radiobiologia, com vocês tudo ficava mais leve.

Ao Departamento de Energia Nuclear, por disponibilizar a infraestrutura para a pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE).

RESUMO

Embora a radiação ionizante seja amplamente aplicada em áreas como medicina e indústria, seu potencial de induzir danos expressivos ao DNA celular ressalta a importância do monitoramento biológico como estratégia de radioproteção. Dentre as técnicas biodosimétricas disponíveis, o ensaio cometa alcalino destaca-se pela sua sensibilidade na detecção de quebras no DNA a nível individual, embora sua eficácia dependa da padronização de protocolos para diferentes contextos experimentais. Diante disto, o presente trabalho teve como objetivo implementar a técnica do ensaio cometa para avaliar o dano e a cinética de reparo do DNA em linfócitos humanos expostos à radiação gama de cobalto-60 (Co-60), além de investigar danos oxidativos ao DNA por meio da utilização do ensaio cometa modificado. Para tal, linfócitos isolados de sangue periférico humano foram irradiados com doses absorvidas de 2 e 4 Gy numa fonte de Co-60 e analisados por meio do ensaio cometa. Os resultados indicaram um dano agudo e dose-dependente ao DNA. Para a dose de 2 Gy, o Índice de Dano (ID) médio reduziu de $29,58 \pm 5,55$ (tempo 0) para $11,17 \pm 4,23$ (60 min), enquanto para 4 Gy, a redução foi de $48,67 \pm 4,78$ para $26,00 \pm 3,36$ nos mesmos intervalos de tempo, sendo a dose de 2 Gy a que apresentou maior eficiência de reparo. A aplicação do ensaio cometa modificado utilizando a enzima FPG em amostras irradiadas com 4 Gy, demonstrou um aumento significativo de dano, confirmando a presença de lesões oxidativas não detectáveis pelo método padrão. Portanto, conclui-se que a metodologia implementada é reprodutível, sensível e adequada para detectar a cinética de reparo em curtos intervalos de tempo, e que o protocolo padronizado poderá ser aplicado em futuros estudos de radiosensibilidade, biomonitoramento ocupacional e avaliação de exposições ambientais à radiação ionizante.

Palavras-chave: Biodosimetria, ensaio cometa, radiação gama.

Abstract

The widespread use of ionizing radiation in fields such as medicine and industry contrasts with its potential to induce significant cellular DNA damage, making biological monitoring essential for radioprotection strategies. Among the available biodosimetric techniques, the alkaline comet assay stands out for its sensitivity in detecting DNA breaks at the individual cell level, although its effectiveness depends on the standardization of protocols for different experimental contexts. In this context, the present study aimed to implement the comet assay technique to evaluate DNA damage and repair kinetics in human lymphocytes exposed to gamma radiation (2 Gy and 4 Gy) at 0, 30, and 60 minutes post-exposure, in addition to investigating oxidative damage using the FPG enzyme, thereby consolidating an applicable protocol for the UFPE Radiobiology Laboratory. To this end, lymphocytes isolated from human peripheral blood were irradiated with a Cobalt-60 source and analyzed using the standard alkaline comet assay and a modified version with the FPG enzyme. The results indicated acute, dose-dependent DNA damage, followed by a significant reduction in damage indices over time, demonstrating cellular repair. For the 2 Gy dose, the mean Damage Index (DI) decreased from 29.58 ± 5.55 (at time 0) to 11.17 ± 4.23 (at 60 min), while for 4 Gy, the reduction was from 48.67 ± 4.78 to 26.00 ± 3.36 over the same intervals, with the 2 Gy dose showing greater repair efficiency. Furthermore, the application of the FPG enzyme to samples irradiated with 4 Gy and to a positive control with potassium bromate (KBrO_3) showed a significant increase in damage, confirming the presence of oxidative lesions. It is concluded that the implemented methodology proved to be reproducible and sensitive for detecting repair kinetics in short intervals, and the standardized protocol offers a robust experimental basis for future applications in studies of radiosensitivity and occupational and environmental biomonitoring.

Keywords: Biodosimetry. Comet assay. Gamma radiation

Lista de ilustrações

Figura 1 - Fontes de radiação para dose média anual	15
Figura 2 - Espectro eletromagnético.....	18
Figura 3 – Efeito Fotoelétrico.....	22
Figura 4 – Efeito Compton.....	22
Figura 5 – Formação de Pares	23
Figura 6 – Irradiador Gammacell 2020	34
Figura 7 - Categorias de dano ao DNA no ensaio cometa	36
Figura 8 - Gráfico da média do Índice de danos dos linfócitos irradiados ..	38
Figura 9 – Análise da frequência de danos	40
Figura 10 - Distribuição da frequência de cometas por classe de dano.	41
Figura 11 - Gráfico do ensaio cometa enzimático de linfócitos irradiados..	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVO GERAL	12
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1. RADIAÇÃO	13
3.1.1. CLASSIFICAÇÃO DAS RADIAÇÕES IONIZANTES	13
3.1.1.1. Partículas alfa (α).....	16
3.1.1.2. Partículas beta (β)	16
3.1.1.3. Raios gama.....	17
3.1.1.4. Raios-x.....	17
3.1.2. RADIAÇÃO GAMA E SUAS APLICAÇÕES	18
3.1.2.1. Esterilização	19
3.1.2.2. Agricultura.....	19
3.1.2.3. Medicina	20
3.1.3. INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA	21
3.1.3.1. Efeito Fotoelétrico	21
3.1.3.2. Efeito Compton	22
3.1.3.3. Produção de Pares	23
3.2. EFEITOS BIOLÓGICOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE	23
3.3. BIOMONITORAMENTO HUMANO	26
3.3.1 Linfócitos	27
3.4. TÉCNICAS BIODOSIMÉTRICAS	28
3.4.1 Ensaio cometa.....	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1. SELEÇÃO DO VOLUNTÁRIO E COLETA DE AMOSTRAS	32
4.2. VIABILIDADE CELULAR.....	32
4.3. IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS	33
4.4. ENSAIO COMETA	34
4.5. ENSAIO COMETA MODIFICADO	37
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	37

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6. CONCLUSÕES	46
7. PERSPECTIVAS FUTURAS	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXO A.....	68
ANEXO B.....	69

1. Introdução

A radiação nada mais é do que uma energia livre em trânsito que está presente desde o processo de formação do planeta, sendo o ser humano exposto a ela até os dias atuais. Estas exposições são oriundas dos raios cósmicos, que são produzidos no espaço sideral, ou de elementos naturais que podem ser encontrados na crosta terrestre (Restier-Verlet, 2021). Essa radiação natural representa apenas uma parte dessa exposição, podendo afetar os seres vivos presentes em regiões caracterizadas pela presença de Materiais Radioativos de Ocorrência Natural (NORM), como em Santa Quitéria, Ceará e Praia da Areia Preta, Espírito Santo (Rodrigues, 2015; Nadaleti et al., 2016; Aquino, 2020). Esses materiais radioativos podem ser encontrados em diversos compartimentos do ecossistema, como água, solo, ar e alimentos. Embora algumas exposições naturais normalmente acontecem em baixas doses, alguns locais do planeta apresentam níveis de radiação que podem representar riscos à saúde (Vaiserman, 2018). Em contrapartida, as fontes artificiais de radiação, são responsáveis por uma parcela significativa da exposição atual (Pearson, 2021). A radiação, de forma geral, pode ser classificada em não ionizante, quando não detém energia suficiente para ionizar moléculas, ou ionizante, quando consegue ionizar e até mesmo arrancar elétron (Okuno, 2018).

Sabe-se que a radiação ionizante tem sido bastante utilizada em áreas como medicina, indústria e geração de energia. No entanto, sua capacidade de interagir com organismos vivos podem desencadear efeitos adversos, principalmente a nível celular e molecular (Nikjoo, 2016). Quando a radiação interage com organismos biológicos, ela pode ionizar diretamente as moléculas biológicas ou, de forma indireta, gerar espécies reativas de oxigênio (ROS), por meio da radiólise da água (Marignac, 2019). Essas espécies químicas altamente reativas podem interagir com componentes celulares, principalmente o DNA, ocasionando lesões que variam de quebras de fitas simples e dupla a alterações nas bases nitrogenadas, entre outros danos estruturais (Carusillo; Mussolino, 2020). A conformação do DNA é essencial para a estabilidade do genoma e manter a homeostase do indivíduo, de modo que qualquer lesão não

reparada ou mal reparada, pode levar a mutações, apoptose ou até mesmo o desenvolvimento de câncer (Azqueta, 2019). Diante disso, surge a preocupação de monitorar os indivíduos expostos a esses agentes que causam danos ao DNA, principalmente a radiação ionizante, utilizando o biomonitoramento humano (BHM).

O BHM tem como princípio a análise de matrizes biológicas, como cabelo, unha, urina, leite materno, sangue, etc., com a finalidade de prevenir os danos causados pelos efeitos de substâncias tóxicas à saúde, por meio de metabólitos, produtos de reações químicas e danos ao DNA (Ladeira, 2016; Zuri, 2023). Dentre as matrizes citadas, o sangue é o mais avaliado, visto que é de fácil obtenção e está presente em todos os locais do corpo humano. Por essas razões, o BHM vem avançando muito nos últimos anos, sendo utilizado para validação de exposição e risco em saúde ambiental e ocupacional (Haines et al., 2017).

O estudo de Yunfei et al (2025), avaliou populações expostas à parabenos, que são substâncias presentes em nosso cotidiano capazes de causar efeitos adversos no sistema imune, nervoso e reprodutivo, utilizando amostras de sangue e urina. No estudo ficou claro que crianças e grávidas estão mais suscetíveis ao acúmulo de parabenos no corpo, devido ao metabolismo e capacidade de excreção. O estudo de Ingelido et al (2023) avaliou soro humano da população da Itália cronicamente exposta a substâncias perfluoroalquílicas e polifluoroalquiladas, que são substâncias químicas amplamente difundidas no meio ambiente, capazes de causar danos ao fígado, tireoide, problemas de fertilidade e câncer. Cenários de exposição e o sexo influenciam diretamente no acúmulo dessas substâncias no corpo, fornecendo informações importantes sobre o acúmulo dessas substâncias no corpo. Sendo assim, o biomonitoramento contribui para o desenvolvimento de programas e políticas públicas com o objetivo de proteger a saúde humana (Haines et al., 2017).

Dentre as técnicas utilizadas pelo BHM, existem as biodosimétricas, que são utilizadas para verificar exposições à radiação ionizante, avaliando os possíveis danos ao DNA do indivíduo. Por meio delas, é possível estimar uma dose absorvida no organismo. Algumas dessas técnicas são o micronúcleo, cromossomo dicêntrico e o ensaio cometa (IAEA, 2011; Zare Jeddi *et al.*, 2021).

O ensaio cometa é uma ferramenta muito útil para detectar danos e reparos ao DNA, podendo verificar a nível individual, destacando das demais (Ladeira *et al.*, 2019). É uma técnica simples, sensível, confiável e mais ágil quando comparada as demais (Azqueta, Langie, *et al.*, 2019).

Essa técnica utiliza células mononucleares do sangue, como linfócitos, devido a sua fácil obtenção e sua radiosensibilidade. Além de detectar danos ao DNA, o ensaio pode ser modificado para permitir a verificação de danos oxidativos causados pela radiação por meio da utilização de enzimas específicas (Collins, 2012; Azqueta *et al.*, 2019; Collins, Vettorazzi e Azqueta, 2020). No entanto, a aplicação eficaz do ensaio cometa exige rigorosa padronização metodológica, pois diversos fatores influenciam a sensibilidade e a reprodutibilidade dos resultados, incluindo o tipo de célula utilizada, condições de lise, eletroforese, bem como os tempos de incubação após a exposição ao agente genotóxico (Azqueta *et al.*, 2019).

A ausência de protocolos unificados compromete a comparabilidade entre estudos e limita seu uso em contextos de triagem clínica ou ambiental. Sendo assim, é necessário validar e otimizar protocolos específicos para diferentes contextos de exposição, doses e tempo de avaliação (Møller, 2020).

No Brasil, existem vários estudos utilizando o ensaio cometa, porém a maioria é voltada para verificar o grau de exposição à substâncias químicas, presente tanto em agrotóxicos, quanto em aquíferos que servem de consumo humano (Moura, 2018; Silva, 2021). Todavia, poucos são os trabalhos que implementem essa técnica para verificar o grau de exposição à radiação ionizante. Diante disso, surge a necessidade de implementar essa técnica no Laboratório de Radiobiologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), com a finalidade de colaborar com o crescimento da infraestrutura científica local e permitir que futuras análises na região sigam um protocolo aplicável na maioria dos laboratórios universitários.

Diante do exposto, o presente trabalho visa implementar o ensaio cometa alcalino para avaliação de dano e reparo do DNA em linfócitos humanos expostos à radiação gama, em diferentes intervalos de tempo. A proposta busca consolidar um protocolo aplicável ao contexto do Laboratório de

Radiobiologia da UFPE, contribuindo para a reprodutibilidade de análises genotóxicas em situações experimentais, clínicas ou ocupacionais.

2. Objetivo Geral

Implementar a técnica ensaio cometa alcalino para avaliar o dano e o reparo ao DNA em linfócitos humanos expostos à radiação gama, utilizando diferentes doses de radiação e intervalos de tempo, com foco em sua aplicabilidade no contexto laboratorial do Laboratório de Radiobiologia da UFPE.

2.1. Objetivos Específicos

- Avaliar o grau de dano ao DNA em linfócitos humanos irradiados com doses de 2 e 4 Gy de radiação gama, nos tempos de 0; 30 e 60 minutos.
- Analisar a frequência de células por classes de dano (graus 0 a 4);
- Aplicar a enzima FPG em amostras selecionadas para identificar os danos oxidativos ao DNA causados pela radiação ionizante;
- Fornecer subsídio experimentais para a aplicação do ensaio cometa em estudos de radiogenetotoxicidade ou biomonitoramento ocupacional no Laboratório de Radiobiologia do Departamento de Biofísica e Radiobiologia da UFPE.

3. Revisão de literatura

3.1. Radiação

Toda matéria no planeta é constituída por átomos, esses são formados por elétrons, nêutrons e prótons. Alguns átomos são nuclearmente instáveis devido ao desequilíbrio na quantidade do número de prótons e nêutrons ($Z > 83$). Com o aumento na força de repulsão nuclear, ocorre a desintegração espontânea (Okuno, 2018).

Esse processo de desintegração está relacionado a emissão de radiação, definida como transferência de energia de um ponto a outro, por meio de partículas ou ondas eletromagnéticas (Okuno, 2018). Quando alguns núcleos de elementos químicos precisam se estabilizar, eles emitem radiação, transformando-se em outro elemento estável ou ainda instável, que continuará emitindo radiação e se transmutando em outro elemento até atingir a estabilidade. Esse processo é denominado decaimento radiativo (Murray; Holbert, 2020; Radvanyi; Villain, 2017).

No processo de decaimento há liberação de radiação que pode ser classificada em ionizante e não ionizante. A radiação não ionizante, não detém energia suficiente para ionizar as partículas com as quais interagem e são pouco prejudiciais ao organismo, como é o caso da luz óptica e da corrente elétrica, porém tem energia suficiente para excitar os átomos do meio (Karmarker, 2021). A radiação ionizante é capaz de ionizar moléculas, arrancando elétrons dos átomos. São compostas por ondas eletromagnéticas com alta energia nuclear e por partículas, sendo capazes de alterar a matéria. Como exemplo os raios γ as partículas alfa e beta e a radiação gama (Pino, 2016; Okuno, 2018).

3.1.1. Classificação das radiações ionizantes

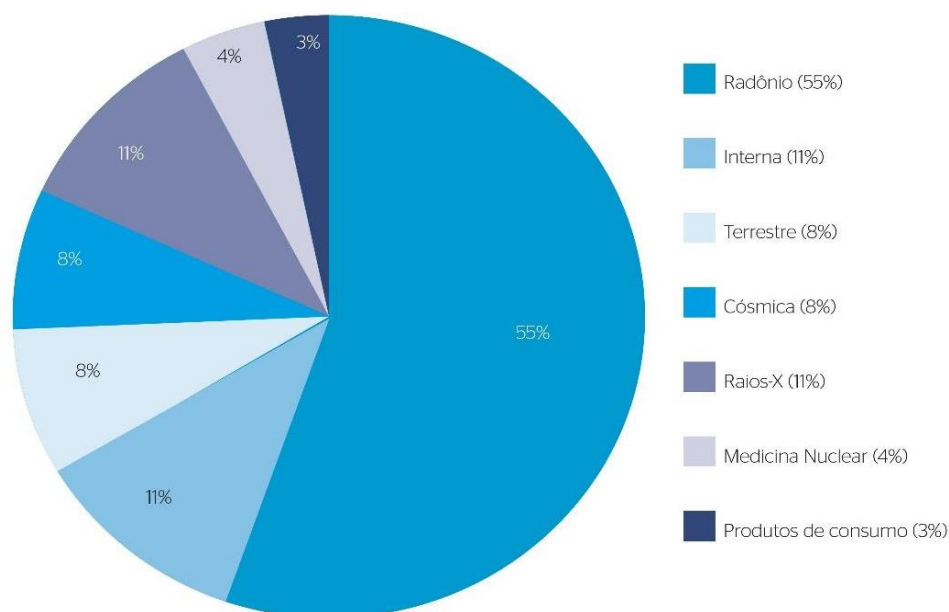
Em relação as fontes das radiações, elas podem ser divididas em dois tipos: natural e artificial (UNSCEAR, 2016). A radiação natural é aquela encontrada diretamente na natureza, por exemplo pode-se citar os radionuclídeos encontrados em regiões com NORM (Materiais Radioativos de Ocorrência Natural), os quais os seres humanos podem ser naturalmente

expostos. Estes radionuclídeos podem ser encontrados em vários compartimentos do ecossistema como água, solo, ar, alimentos e até mesmo no próprio corpo humano (Nadaleti *et al.*, 2016; UNSCEAR, 2016). Outra fonte de radiação natural são aquelas provenientes dos raios cósmicos.

Os raios cósmicos interagem com a atmosfera terrestre, dando origem aos radionuclídeos cosmogênicos. Esses em contato com o ser humano, contribuem com a média anual de exposição à radiação natural (0,39 mSv/ano) (Jha, 2024). A radiação cósmica é expressivamente maior em altas altitudes, portanto quanto maior a altitude, maior a sua incidência de radiação cósmica, (Marov, 2020).

Além dos raios cósmicos, existem alguns materiais radioativos naturais, dentre eles, podemos destacar o U^{238} (urânio) e Th^{232} (tório), ambos com longo tempo de meia-vida. A meia vida física é o tempo que dado material radioativo leva para ter sua atividade inicial reduzida à metade. A meia-vida física do Th^{232} é de 14 bilhões de anos e U^{238} é de 4,5 bilhões de anos (Santos, 2010; Radvanyi; Villain, 2017). A maioria dos radionuclídeos encontrados na natureza que contribuem com a dose média de radiação natural são originados de três séries radioativas naturais: a serie radioativa do U^{238} , do Th^{232} e do U^{235} (actínio). A partir de sucessivas transformações esses elementos originam cerca de 40 radionuclídeos filhos, onde merece destaque entre eles o radônio (Rn^{222}), que contribui com cerca de 55% da dose de exposição anual (Figura 1) (Nadaleti *et al.*, 2016; UNSCEAR, 2008).

Figura 1 - Fontes de radiação para dose média anual.



Fonte: Adaptado de UNSCEAR, 2000.

Além da radiação natural, existe também a radiação artificial, produzida por atividades humanas e aplicada em diferentes contextos, como geração de energia, desenvolvimento bélico e uso médico, seja para diagnósticos ou tratamento de doenças (Pearson, 2021). Esse tipo de radiação é também conhecido por radiação induzida ou radiação tecnogênica. Podendo ser proveniente de fontes radioativas artificiais ou de equipamentos que geram radiação ionizante. Esse tipo de radiação se origina a partir do bombardeamento com diferentes partículas (nêutrons, pósitron, próton, alfa e beta) em núcleos de elementos naturais estáveis. Trata-se portanto, de uma, transmutação nuclear induzida, na qual um átomo é convertido em outro elemento por processos artificiais que não ocorreriam espontaneamente na natureza (Buonocore, 2019).

A primeira transformação artificial foi realizada por Rutherford, em 1919, a qual bombardeou nitrogênio com partículas alfa e criou o oxigênio artificial. Outros elementos também foram criados pelo homem por meio deste método, como Astado (At); Frâncio (Fr); Amerício (Am); Fluor (F-18), entre outros (Ozofor, 2018). Os raios-x também merecem destaque entre as radiações de

origem artificial. Na indústria, são utilizados em ensaios não – destrutivos, modificação de materiais poliméricos, preservação e desinfestação de produtos alimentícios e esterilização de produtos farmacêuticos, médicos e cirúrgicos (El Mesery et al., 2019). Na medicina os raios-x são utilizados principalmente em diagnósticos por imagem e para tratamento de patologias como câncer (Hussain, 2022). A principal fonte de exposição dos seres humanos à radiação artificial é justamente essa, diagnósticos por imagem e tratamentos contra câncer (Bunocore, 2019).

As radiações ionizantes podem ser classificadas em diretamente ionizantes, como as partículas alfa (α), beta menos (β^-) e pósitrons (β^+), que interagem diretamente com os átomos da matéria, e em indiretamente ionizantes, como os fótons de raios-x, raios gama e os nêutrons, que promovem ionização por meio da geração de partículas carregadas secundárias (Karmaker, et al., 2021).

3.1.1.1. Partículas alfa (α)

As partículas alfa apresentam maior carga e são mais pesadas, em virtude disso, são menos penetrantes que as radiações beta e gama. Elas são constituídas de dois prótons e dois nêutrons, semelhante ao nuclídeo hélio. A trajetória desta partícula é bastante linear e seu alcance é muito pequeno (Okuno, 2018).

A partícula alfa não consegue atravessar a camada de células mortas da pele do ser humano, pois ela é facilmente barrada. Sendo assim, uma partícula alfa originada fora do corpo de um ser humano não oferece risco algum, porém se o material radioativo for ingerido ou inalado, ele será uma das fontes mais danosas de exposição à radiação ionizante (Okuno, 2018; Klosowski, 2020).

3.1.1.2. Partículas beta (β)

As partículas betas também são emitidas por decaimentos de radionuclídeos. São divididas em partículas β^- , que são semelhantes aos elétrons, e partículas β^+ , que são exatamente iguais ao elétron, porém com carga elétrica positiva (Karmaker, 2021). Por terem a mesma massa de um elétron, essas partículas movimentam-se muito mais rápido e tem grande poder

de penetração em qualquer material, sendo bloqueada por uma camada de alumínio, vidro ou acrílico (Klosowski, 2020).

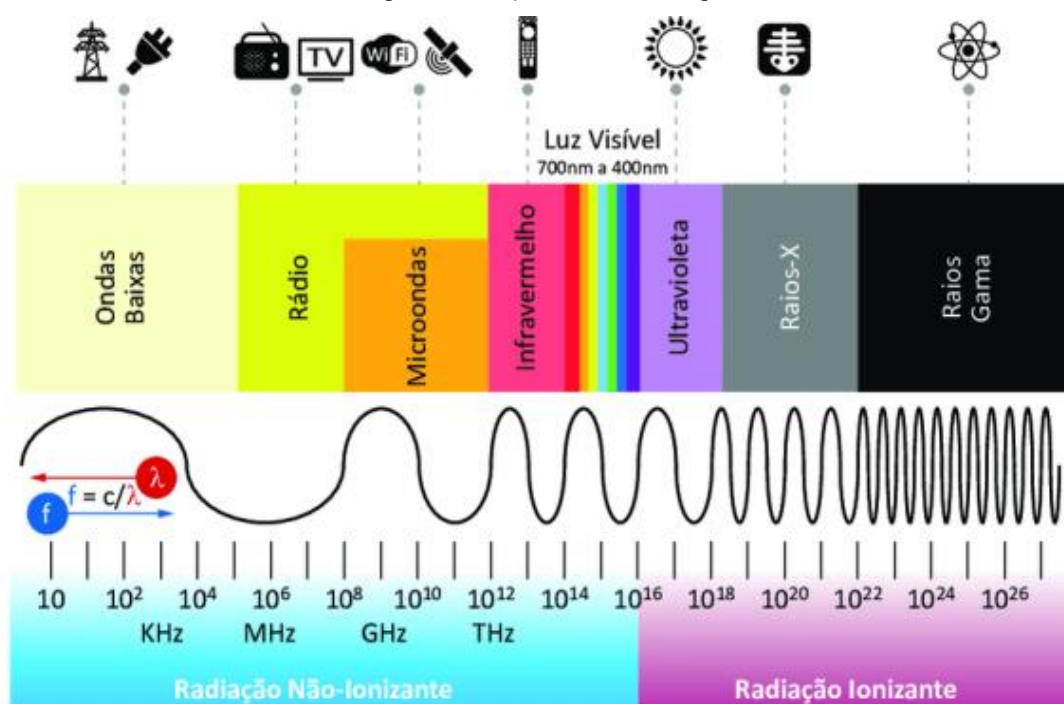
3.1.1.3. Raios gama

Os raios gama não tem massa e nem carga, e por isso são altamente penetrantes, podendo atravessar grandes distâncias no ar e atravessar quase todos os tipos de materiais (Klosowski, 2020). A radiação gama é um tipo de radiação eletromagnética, assim como as ondas de rádio, a luz e as micro-ondas. Esse tipo de radiação se diferencia entre si pelo comprimento e frequência de onda (Thukral, 2020) (Figura 2).

3.1.1.4. Raios-x

Os raios-x são ondas eletromagnéticas de pequeno comprimento e com alta frequência. São extremamente penetrantes sendo absorvidos por materiais como o chumbo, concreto ou barita (Apte, 2024). A maioria dos equipamentos utilizados na área industrial e medica produzem raios-x artificiais. Esses raios artificiais são formados por meio da colisão de um feixe de elétrons contra um alvo de metal, que quando se chocam, sofrem desaceleração e liberam energia na forma de calor e raios-x (Apte, 2024).

Figura 2 - Espectro eletromagnético



Fonte: Adaptado de Coutinho, 2020.

A principal diferença entre a radiação gama e os raios-x é a sua origem: a radiação gama é emitida a partir de transições nucleares durante o decaimento radioativo de um radionuclídeo, enquanto os raios-x resultam de interações na eletrosfera atômica, como a desaceleração de elétrons ou transições eletrônicas internas. Ambos, contudo, são tipos de radiação eletromagnética com energia suficiente para ionizar átomos e moléculas. (Mendonça, 2017).

3.1.2. Radiação gama e suas aplicações

A radiação gama foi descoberta em 1900 pelo físico francês Paul Villard enquanto estudava uma amostra de rádio. A radiação emitida pela amostra refletia numa chapa fotográfica recoberta por uma camada de chumbo, bloqueando as partículas alfa (Kamat, 2020). Posteriormente, Villard detectou que duas radiações atravessavam a camada de chumbo e que elas seriam diferentes. Uma delas era defletida quando em contato com o campo magnético (radiação β^-), enquanto que a outra não sofria deflexão e tinha um poder de

penetração muito superior as partículas descobertas anteriormente (Kardamakis, 2023). Somente em 1903, Ernest Rutherford deu seguimento a pesquisa de Villard que a identificou como o terceiro tipo de radiação oriunda de decaimento radiativo e nomeou-a radiação gama (Okuno, Yoshimura, 2010; Baldaconi, 2017). Devido ao seu alto poder de penetração e à capacidade de ionizar a matéria, a radiação gama encontra ampla aplicação em setores como medicina, agricultura, indústria e pesquisas científicas (Saleh, et al., 2024).

3.1.2.1. Esterilização

O uso da radiação gama para esterilização vem sendo estudado desde o começo do século XX. O conceito de esterilidade de algum produto está ligado a ausência de microrganismos incapazes de se reproduzir, porém é praticamente impossível atingir essa condição, visto que a inativação de microrganismo é uma função exponencial. Atualmente, esse processo com radiação gama pode ser obtido em fontes proveniente de Cobalto-60 (Porto, 2017).

A radiação gama diminui a quantidade de microrganismos por meio da ação indireta e direta da radiação. A ação indireta resulta da formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), responsáveis por provocar alterações em diferentes componentes celulares, enquanto a ação direta consiste no dano imediato às estruturas biológicas, principalmente ao DNA (Porto, 2017). A dose de esterilização é determinada por meio de uma dose mínima necessária para atingir a esterilidade ou o desejado nível de garantia. Esse nível de segurança é chamado de SAL (Sterility Assurance Level, tradução livre: Nível de Garantia de Esterilidade), que define a chance de um microrganismo viável estar presente numa unidade de produto (Moldenhauer, 2023). Dessa forma, é possível esterilizar alimentos, acervos de livros, obras de arte, equipamentos médicos e materiais de higiene (Hammad, 2008; Baldaconi, 2017).

3.1.2.2. Agricultura

A radiação gama é um dos agentes mutagênicos mais utilizados em plantas, pois induz alta variabilidade genética. O crescimento populacional, a crescente demanda de alimentos, o uso excessivo de recursos não renováveis

e as mudanças climáticas levaram a busca por novos usos e melhoramento genético de vegetais pouco utilizados (Riviello–Flores, 2022). Essas espécies são uma opção para substituir culturas com grande valor comercial. Embora sejam espécies com pouco valor comercial, são uma opção potencial para a diversificação da dieta, devido a possibilidade de processamento, adaptação ao ambiente e melhoramento (Hernandez–Muñoz, 2019).

A indução de mutações por agentes físicos, como a radiação gama, permite obter variações genéticas em culturas que não são facilmente encontradas na natureza. As alterações causadas por esse tipo de radiação, promove mudanças metabólicas e estruturais nas plantas. Embora essa geração de novas plantas seja aleatória, elas podem ser identificadas e selecionadas em pouco espaço de tempo. Quando comparado a outros processos, este método é mais eficiente (Riviello–Flores, 2022).

3.1.2.3. Medicina

A partir de 1960 houve um crescimento exponencial nas áreas de instrumentação e dos radiofármacos, tornando a medicina nuclear um dos métodos de diagnósticos mais importantes nos dias atuais, principalmente por ter exatidão, precisão e precocidade no processo de diagnóstico de doenças como o câncer. Além disso, alguns radiofármacos têm ganhado importância em aplicações terapêuticas, baseadas principalmente em radioisótopos emissores de partículas alfa ou beta, enquanto radioisótopos emissores de fótons gama como o tecnécio-99m(^{99m}Tc) e pósitrons, como o fluor-18(^{18}F), permanecem fundamentais no diagnóstico por imagem (Faria, 2011).

Além de ser bastante utilizada para diagnósticos por imagem, a radiação gama vem sendo aplicada abundantemente na área de radiocirurgias, como por exemplo, a radiocirurgia estereotáxica (Trifiletti et al, 2021). A radiocirurgia estereotáxica é uma técnica não invasiva que utiliza radiação em alta dose para tratar tumores e lesões cerebrais localizadas (Vellayappan et al., 2024). Sendo assim, o objetivo principal desta técnica é aplicar altas doses de radiação sobre o tumor, diminuindo a ação sobre os tecidos saudáveis (Kondziolka, Flickinger, Maitz, 2017; Wanjari et al., 2024).

Atualmente, existem diversas técnicas de radiocirurgia que variam em precisão aplicação e tecnologia. Existe a radiocirurgia GammaKnife (CKRS), o Acelerador Linear de Partículas (LINAC) e o CyberKnife (Albani, 2021; Dharnipragada, 2024). Todas essas técnicas são amplamente utilizadas e apresentam segurança e precisão. O que irá definir a melhor a técnica a ser utilizada e a radiação a ser escolhida será a conduta terapêutica do paciente e seu prognóstico. Isto se deve ao fato que as radiações interagem de maneiras diferentes de acordo com o meio material, podendo provocar ionização, excitação e ativação do núcleo (Albani, 2021; Dharnipragada, 2024).

Todas essas aplicações contribuem para um maior risco de exposição de trabalhadores e pacientes. Portanto, métodos rápidos e eficiente são de grande importância para o seu biomonitoramento (Vinnikov; Belyakov, 2020; Baudin, 2021).

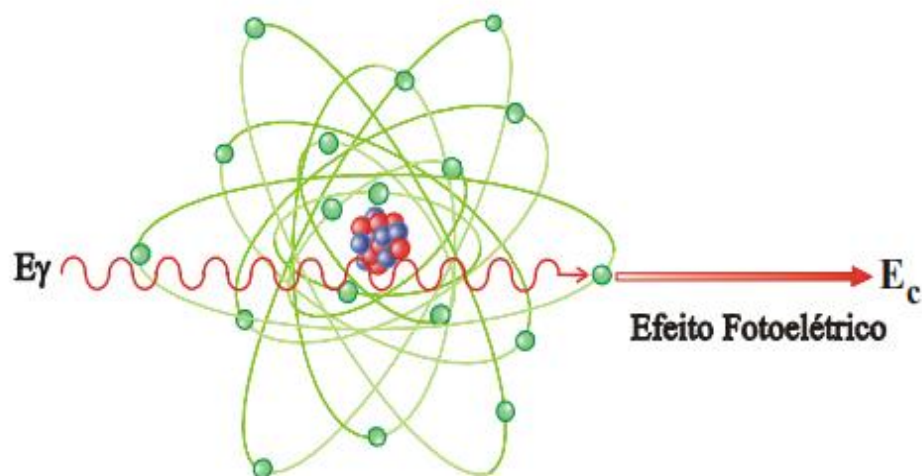
3.1.3. Interação da radiação com a matéria

Ao interagir com a matéria, a radiação pode sofrer 5 tipos diferentes de interação: Efeito Compton, Efeito fotoelétrico, Produção de Pares, Espalhamento Coerente e Fotodesintegração. Entre os cinco, são mais comuns ocorrer o Efeito Compton, Fotoelétrico e Produção de Pares (Carvalho, 2017).

3.1.3.1. Efeito Fotoelétrico

O efeito fotoelétrico acontece com mais probabilidade para fótons de baixa energia que incide em materiais com números atômicos elevados. Fótons são partículas de radiação indiretamente ionizante, pois não possuem carga elétrica. Ao atravessarem a matéria, interagem com átomos e transferem sua energia a partículas carregadas, geralmente elétrons, que passam então a depositar essa energia no meio por meio de processos de excitação e ionização (Pathak, 2023). Sendo assim, o efeito fotoelétrico ocorre com a interação entre um fóton e um elétron ligado a um átomo de um meio absorvedor, no qual o fóton irá transferir toda a sua energia ao elétron. Como resultado dessa interação, ocorre expulsão de um elétron, geralmente da camada K do material absorvedor, o átomo fica em um estado excitado, emitindo uma radiação característica (Figura 3) (Sá, 2017; Pathak, 2023).

Figura 3 – Efeito Fotoelétrico

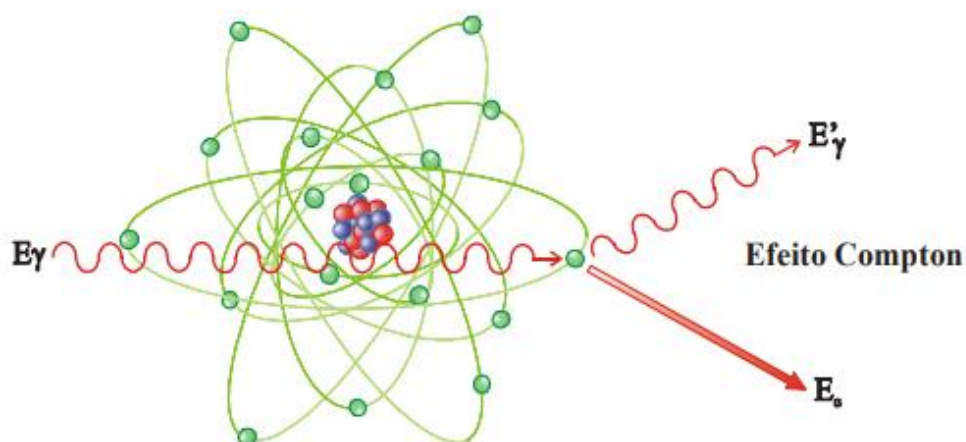


Fonte: Tauhata (2003, p.82)

3.1.3.2. Efeito Compton

O efeito Compton ocorre quando um fóton interage com um elétron fracamente ligado de uma camada externa do átomo, transferindo-lhe parte de sua energia cinética. Esse processo resulta na ejeção do elétron (elétron Compton) e na deflexão do fóton incidente, que continua seu percurso em outra direção, porém com menor energia (Figura 4) (Carvalho, 2017).

Figura 4 – Efeito Compton

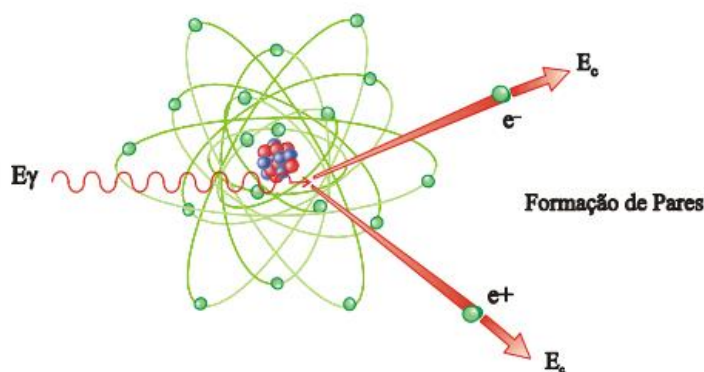


Fonte: Tauhata (2003, p.82)

3.1.3.3. Produção de Pares

A Produção de Pares é uma das formas mais dominantes de absorção de radiação eletromagnética de alta energia. Fótons com energia maior que 1,022 MeV, passam perto de núcleos com número atômico elevado, interagindo com o forte campo elétrico nuclear. Desta interação, como o próprio nome diz, o fóton é transformado em massa, ou seja, surge um pósitron (β^+) e uma partícula β^- . Após algum tempo, o pósitron volta a interagir com o elétron do meio e dá origem a dois fótons, cada um com energia de 511 keV (Figura 5) (Cardoso, 2017; Binjola, 2019).

Figura 5 – Formação de Pares



Fonte: Tauhata (2003, p.79)

3.2. Efeitos biológicos da radiação ionizante

Quando a radiação ionizante interage com o sistema biológico, o primeiro efeito das ações da radiação é causado pela transferência de sua energia aos componentes celulares fundamentais, formando íons conforme interage com a matéria, arrancando elétrons de moléculas importantes no organismo, como a água e o DNA (Okuno, 2013). Por conseguinte, essa interação entre as moléculas pode causar uma desestabilização e consequente quebra. A transferência de energia vai variar dependendo do tipo de radiação. Radiações eletromagnéticas, como raios-x e raios gama são muito penetrantes, pois percorrem longos percursos até depositarem toda sua energia, as radiações particuladas como, as alfas, partículas β^- e pósitrons são pouco penetrantes, pois tem trajetos mais reduzidos, porém apresentam alto poder

de ionização, sendo extremamente danosas quando internalizadas (Botelho, 2004; Okuno, 2013).

Os efeitos das radiações ionizantes em indivíduos vão depender do tipo de radiação, da dose absorvida (baixa ou alta), da forma como o indivíduo foi exposto (localizada / corpo inteiro) e do tecido atingido (Mattos, 2016). A Transferência Linear de Energia (Linear Energy Transfer, LET) mede a quantidade de excitação e ionização da radiação por unidade de comprimento de percurso (Baldacchino et al, 2019). A LET pode ser dividida em alta LET e baixa LET. O dano causado por radiações de alto LET são muito maiores do que aqueles gerados por radiações de baixo LET, visto que o tecido vivo consegue reparar mais facilmente os danos causados por radiação espalhados em uma área maior do que os danos concentrados em uma única área (Saygusa et al., 2025). Raios-x e raios gama são exemplos de radiação de baixo LET, enquanto que as partículas α , prótons e nêutrons são exemplos de radiação de alto LET (Botelho, 2004; Sittoni, 2019).

Por conseguinte, a partir do momento que a radiação ionizante interage com o organismo vivo acontecerão alguns processos que serão divididos em estágios. Os estágios são uma cascata de eventos que ocorrem em questão de segundos dentro do organismo (Okuno, 2018). Primeiro ocorre o efeito físico da radiação, que consiste em excitação ou ionização de átomos, isto ocorre em um espaço muito curto de tempo, na ordem de quatrilionésimo de segundo. Em consequência do efeito físico, ocorre o efeito físico-químico, no qual há produção de íons pela radiação, formação de radicais livres e ruptura de ligações químicas entre as moléculas, este estágio acontece em cerca de um milionésimo de segundo (Okuno, 2018). Após o efeito físico-químico, ocorre o efeito bioquímico, neste os radicais livres e íons formados pela radiação, começam a se ligar com moléculas vitais do nosso corpo como proteínas, enzimas, DNA e RNA, algo que ocorre em segundos. Por último, acontece o efeito biológico, no qual acontece alterações morfológicas e funcionais na célula, podendo ser clinicamente observados, ocorre em questão de segundos, dias, semanas ou anos (Tauhata *et al.*, 2013, Okuno, 2018;).

Em relação aos mecanismos de ação, podemos classificar em diretos e indiretos. O mecanismo direto consiste naquele em que a radiação interage

diretamente com uma molécula vital do corpo humano, tal como DNA, podendo causar mutações genéticas ou morte celular (Okuno, 2013). Já o mecanismo indireto consiste em interações com moléculas de água promovendo a formação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROS), que por sua vez afetam as moléculas de DNA (Perry *et al.*, 2023). ROS são moléculas que contém oxigênio e elétrons não pareados, como por exemplo OH, H₂O₂, O², etc. Essas moléculas são altamente reativas e são capazes de se unir a moléculas biológicas, por isso podem ser nocivas ao organismo. Como o corpo humano é formado por 70% de água, o efeito indireto tem maior chance de acontecer (Okuno, 2013; Smith *et al.*, 2017; Perry *et al.*, 2023;).

Os efeitos biológicos decorrentes da radiação ionizante podem ser classificados em determinísticos ou estocásticos, ou imediatos e tardios. Os efeitos determinísticos são resultados de morte celular induzida por radiação, que, quando ocorre em taxas muito altas, pode prejudicar a integridade e comprometer a função de órgãos e tecidos (Chang *et al.*, 2021). Neste efeito é necessário um limiar de dose para que seja clinicamente observável, a extensão do dano vai depender do tipo de radiação, da taxa de dose e da dose absorvida. Sendo assim, a gravidade do efeito aumenta de acordo com o aumento da dose. Alguns tipos de exemplos são sintomas gastrointestinais (diarreia hemorrágica), depleção da medula óssea, eritema e depilação (Kamiya *et al.*, 2015).

Quanto aos efeitos estocásticos, eles ocorrem quando a dose não é alta suficiente para causar um grande número de mortes celulares e o mecanismo de reparo é eficaz, porém é suficiente para causar dano ao material genético das células. Ou seja, a morte celular pode não causar dano, mas a sua modificação pode induzir um câncer, por exemplo. Esse tipo de efeito é caracterizado pela probabilidade. Quanto maior a dose, maior a probabilidade de dano e não há aumento da severidade. Os efeitos estocásticos não necessitam de um limiar de dose (Kamiya *et al.*, 2015).

Os efeitos gerados pela radiação, principalmente os estocásticos que causam danos ao DNA, podem ser estudados por meio da utilização de células sanguíneas para avaliar a genotoxicidade, sendo chamados de biomonitoração toxicogenética (Ceppi *et al.*, 2023).

3.3. Biomonitoramento humano

O biomonitoramento humano (BHM) tem como princípio a análise de amostras biológicas, sendo utilizado para prevenir os danos causados pelos efeitos de substâncias tóxicas a saúde (Lukovnikova et al., 2020). É definido como a mensuração repetida e controlada de marcadores químicos e/ou bioquímicos em fluidos ou tecidos de indivíduos expostos a fatores de risco químicos, físicos ou biológicos tanto em local de trabalho, quanto no ambiente em geral (Viegas et al, 2020).

O BHM é cada vez mais utilizado para indicar e quantificar a exposição a produtos químicos ambientais, mensurando os produtos químicos e seus produtos de biotransformação. Essas substâncias químicas ou físicas são encontradas em diversos locais do ecossistema como no solo, no ar, na água e nos alimentos, podendo entrar em contato com o ser humano por meio de inalação, ingestão e contato com a pele (Zuri et al., 2023).

Para essa avaliação, o BHM utiliza algumas moléculas biológicas, também chamadas de “biomarcadores”. Estes são definidos como qualquer processo, substância ou estrutura que possa ser verificado em tecidos ou fluidos com o objetivo de avaliar a incidência ou comportamento biológico de alguma doença, podendo até mesmo prever os resultados (Ahmad; Imran; Ahsan, 2023). Para isso, utiliza-se algumas matrizes biológicas como leite materno, sangue, urina, cabelo, unha e fezes. O procedimento de coleta dos biomarcadores deve ser não invasivo, não destrutivo e de baixo custo (Ladeira; Viegas, 2016; Khaled et al., 2023). Os biomarcadores são classificados em três tipos: exposição, susceptibilidade e de resposta ou efeito (Zare Jeddi et al., 2021).

Indicadores biológicos de exposição são utilizados para identificar e medir resíduos químicos em tecidos ou fluidos corporais ou respostas biológicas que ocorrem como resultado da exposição (Zare Jeddi *et al.*, 2021). Um biomarcador de susceptibilidade é capaz de refletir fatores genéticos ou adquiridos que podem influenciar na resposta de um organismo a uma determinada exposição química, indicando quais fatores podem aumentar ou diminuir o risco individual no desenvolvimento da resposta do organismo exposto à agentes químicos ambientais (Rodrigues, 2015).

Os biomarcadores de efeitos, fornecem informações entre a exposição interna e, principalmente, efeitos precoces à saúde. Estes biomarcadores podem ajudar na identificação de efeitos precoces em humanos em doses baixas, estabelecer limites dose-resposta e também são capazes de refletir alterações sub-clínicas antes do início da doença (Rodrigues, 2015). Também é por meio dos biomarcadores de efeito que é possível determinar alterações moleculares (genotoxicidade) de determinada substância e avaliar os possíveis riscos para o indivíduo (Zare Jeddi *et al.*, 2021).

Muitos estudos que avaliam a genotoxicidade, utilizam as células sanguíneas como matriz biológica, visto que elas são de fácil obtenção e circulam por todo corpo, além de serem capazes de refletir a exposição sofrida pelo organismo (Ladeira *et al.*, 2019). Dentre essas células, destacam-se as mononucleares como os linfócitos. Os linfócitos acabam prevalecendo, pois têm uma população celular mais abrangente. Essas células são escolhidas por serem mais homogêneas e ter uma vida útil maior quando comparada aos demais leucócitos (Ladeira *et al.*, 2019).

3.3.1 Linfócitos

Quando um indivíduo é exposto à radiação, é comum encontrar linfócitos em alguns tecidos que foram expostos de forma aguda ou crônica, estes linfócitos vão estar envolvidos em diversas cascatas inflamatórias atuando para manter a homeostase do organismo (Schaue; McBride, 2012). Exposições a radiação com doses de 2 a 3 Gy de corpo inteiro, desencadeiam a síndrome hematopoiética, que procede em apoptose celular com depleção das células sanguíneas. As primeiras células a decaírem, são os linfócitos (López; Martín, 2011). A depleção das células mediante exposição à radiação ionizante segue o princípio da lei da radiosensibilidade, formada por Bergonié e Tribondeau, esta afirma que a radiosensibilidade de uma célula está diretamente ligada à sua taxa de proliferação, ou seja, as células imaturas são as mais radiosensíveis, visto que são altamente proliferativas. Em compensação, as células mais maduras são mais radiorresistentes. Entretanto, uma célula foge desta regra, o linfócito, sendo uma célula madura e radiosensível (Christensen *et al.*, 2014; Diniz, 2022).

Além de serem radiosensíveis, os linfócitos humanos são células capazes de armazenar os danos oriundos da radiação ionizante por um intervalo de tempo de até 3 anos, isso se deve ao fato destas células serem encontradas frequentemente na fase pré-síntese de DNA do ciclo celular (IAEA, 2001). Sendo assim, mediante as propriedades radiosensíveis e a capacidade de refletir a média de dano no DNA das demais células do sangue, além de serem células de fácil obtenção por meio do sangue, os linfócitos têm sido amplamente utilizados em técnicas biodosimétricas após exposição a radiação. Algumas dessas técnicas são o cromossomo dicêntrico, o micronúcleo e o ensaio cometa, sendo a última uma ferramenta muito útil para detecção e avaliação de danos ao DNA (IAEA, 2001, 2011).

3.4. Técnicas biodosimétricas

A utilização de técnicas biodosimétricas, ou biodosimetria, consiste em estimar a dose de radiação ionizante recebida por um indivíduo durante uma exposição acidental por meio de um biomarcador. Esta estimativa é muito relevante caso haja incerteza sobre o evento ou ausência de dosimetria física. Fundamenta-se na existência prévia de uma curva dose-resposta entre os indicadores biológicos e as doses recebidas, além de complementar a dosimetria clínica realizada nas primeiras horas e dias após a exposição à radiação. A biodosimetria registra diversos sinais clínicos e a evolução dos mesmos nos pós exposição (Herate e Sabatier, 2020). Contagem diária de células circulantes no sangue periférico, funcionamento do sistema nervoso central, alopecia, vômitos e diarreia, são alguns dos sinais registrados (Herate e Sabatier, 2020).

Sendo assim, para a realização da biodosimetria são utilizados alguns biomarcadores de exposição à radiação como mutações, expressão genética, análises citogenéticas, modificações proteicas, intermediários metabólicos e assinaturas proteômicas (Raavi et al., 2021; Escalona et al., 2022;). Os biomarcadores citogenéticos são considerados os mais sensíveis e confiáveis entre os indicadores biológicos utilizados para quantificar uma dose de radiação absorvida (Anderson, 2019). Esta radiação absorvida pode induzir a quebras na cadeia de DNA, que vão ser reparadas pelo próprio sistema de reparo do DNA celular (Herate; Sabatier, 2020).

Os danos citogenéticos podem ser avaliados com a utilização dos biomarcadores por meio de técnicas como o cromossomo dicêntricos, o ensaio de micronúcleo e o ensaio cometa (Ludovici et al., 2021). O ensaio de cromossomos dicêntricos é um método bem estabelecido para estimar doses de exposição a radiação ionizante. São considerados específicos à exposição a radiação ionizante, pois poucos fármacos tem capacidade de induzir resultados nessa técnica. Esta técnica permite detectar doses tão baixas quanto 0.1 Gy, por conta disso é considerada padrão ouro na biodosimetria (Galloway; Coetzer; Muller, 2020). O ensaio do micronúcleo com bloqueio de citocinese (CBMN) identifica anomalias cromossômicas resultantes da exposição a agentes genotóxicos, como a radiação ionizante, mediada pela quebra de fitas duplas do DNA. Nesse procedimento, as células são induzidas a proliferação in vitro, seguidas pelo bloqueio da citocinese, enriquecendo a amostra com células mitoticamente ativas (Carpaccio et al., 2021).

O ensaio cometa, é uma técnica baseada em eletroforese em gel e que tem como princípio a detecção de quebras de fitas únicas de DNA em células individuais. É uma técnica bastante sensível que pode ser modificada para detectar quebras de fitas duplas de DNA, ligações cruzadas, danos de base e núcleos apoptóticos (Olive; Banáth, 2006; Herate; Sabatier, 2020; Correggio et al., 2021;).

3.4.1 Ensaio cometa

O ensaio cometa ou eletroforese em gel de célula única, é uma técnica relativamente simples, sensível, confiável, rápida e de baixo custo quando comparada as outras técnicas de dosimetria biológica. Por meio desse ensaio é possível detectar diferentes tipos de quebras de DNA (Jiang et al., 2023). Para detectar quebras de fitas duplas do DNA utiliza-se o gel de eletroforese em pH neutro, e para a detecção de quebras de fitas simples utiliza-se o gel em pH alcalino (Azqueta, Langie, et al., 2019; Xiao et al., 2020).

O ensaio cometa foi descrito pela primeira vez por Östling e Johanson em 1984, utilizando o pH neutro. Nesse estudo foram utilizadas lâminas recobertas por um gel de agarose, o qual as células foram incorporadas e assim foi realizado a lise das membranas celulares e a extração das proteínas da matriz celular, utilizando soluções altamente salinas e detergentes não iônicos

(Møller, 2018). Desta forma, foi possível observar algumas estruturas muito parecidas com um núcleo, as quais foram chamadas de “nucleóides”. Estes nucleóides eram cercados por um contorno visível que só era possível observar quando irradiados com raios-x ou incubado com algum corante. Somente em 1988, quatro anos depois, a versão neutra foi adaptada para a versão alcalina por Singh et al, sendo a versão mais utilizada até hoje (Valverde; Rojas, 2009; Møller, 2018;).

Embora o ensaio cometa alcalino tenha sido desenvolvido para medir o nível de dano ao DNA, por meio dele também é possível mensurar mecanismos de reparo (Collins et al., 2023). O ensaio cometa padrão é capaz de detectar quebras nas fitas das cadeias de DNA a nível de células individuais, sendo feito da seguinte forma: as células são postas sobre um gel de agarose, colocadas em uma lâmina microscópica e, em seguida, em uma solução de lise para remover membranas e componentes solúveis, deixando somente os nucleóides (Collins, 2012).

Posteriormente, os nucleóides são expostos a eletroforese em pH alcalino e caso haja quebras no DNA, os fragmentos irão migrar em direção ao ânodo da cuba de eletroforese. Por último, o DNA é corado por um corante fluorescente e visualizado em microscopia de fluorescência, revelando no microscópio imagens semelhantes a cometas. Posto isto, quanto mais quebras houverem, mais DNA irá migrar para o ânodo, aumentando o tamanho da cauda do cometa, que será avaliado de acordo com alguns parâmetros, dentre eles, estão o DNA da cauda, o tamanho da cauda e o momento da cauda (Azqueta, Langie, *et al.*, 2019).

Sendo assim, alguns métodos são utilizados para essa avaliação, um deles é o “visual scoring”. Nesse método os cometas são classificados visualmente em 5 categorias de dano, classificado de acordo com a intensidade da cauda e cabeça do cometa, variando de 0 a 4; 0 para cometas que não apresentam danos ao DNA e 4 para cometas totalmente danificados. Os resultados são expressos por meio de unidades arbitrárias (UA), que é calculada usando a média ponderada dos cometas lidos, geralmente essa pontuação fica na faixa de 0 a 400 UA, ou é utilizado a percentagem de dano (%) (Azqueta, Langie, *et al.*, 2019).

Além do protocolo padrão, o ensaio cometa pode ser realizado com pequenas alterações, ampliando a variedade de uso do teste, sendo utilizado para avaliar danos oxidativos nas bases nitrogenadas das fitas de dupla hélice. Algumas dessas modificações abrangem o uso de enzimas específicas de lesão, que permitem a detecção de danos em base oxidadas, seja em bases púricas (FPG- Formamidopirimidina DNA Glicosilase) e bases pirimídicas (ENDO III - Endonuclease III). Por esta razão, o ensaio cometa vem tendo diversas aplicações nas áreas da saúde médica e ambiental, sendo utilizado principalmente em estudos de biomonitoramento humano em populações expostas a agentes genotóxicos, avaliação de dano oxidativo relacionado a doenças e avaliação de danos e reparos ao DNA (Collins; Azqueta, 2012; Azqueta, et al., 2019; Collins, et al., 2020; Ladeira, 2024).

O ensaio cometa é bastante útil para quantificar danos ao DNA de populações expostas a vários tipos de agentes genotóxicos que podem modificar sua estrutura. Essas alterações estruturais podem assumir diversas formas: quebras na estrutura açúcar fosfato, afetando uma ou as duas fitas, ou seja, quebras de fita simples e quebras de fita dupla, oxidação e alquilação de bases, bases emparelhadas incorretamente, etc. Estas lesões de DNA podem afetar o processo de transcrição, porém se não forem reparadas ou forem mal reparadas antes do processo de replicação, podem causar mutações. Algumas dessas mutações estão envolvidas no desenvolvimento de câncer e de outras doenças degenerativas (Valverde; Rojas, 2009; Azqueta, et al., 2019).

Portanto, este trabalho reforça a importância de implementar o ensaio cometa no laboratório de Radiobiologia para auxiliar em estudos de biomonitoramento humano em nossa região.

4. Materiais e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Radiobiologia, do Departamento de Biofísica e Radiobiologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco. Este trabalho faz parte do projeto intitulado: Avaliação do potencial radioprotetor de lectinas extraídas de extratos vegetais, que foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco (CEP-UFPE), número CAAE 50965221.5.0000.5208 (Anexo A).

4.1. Seleção do voluntário e coleta de amostras

Foram selecionado dois voluntários saudáveis e não fumantes após realização da anamnese por meio do preenchimento de questionário (Anexo B), utilizando como critérios de exclusão ter sido exposto à radiação por tratamento ou diagnóstico, doente oncológico ou ter feito quimioterapia. Após a seleção, houve a assinatura do termo livre e esclarecido pelo voluntário.

Foram coletadas 2 amostras de 8 mL de sangue periférico de cada indivíduo por meio de punção venosa a vácuo com tubos heparinizados Vacutainer®. As amostras foram cobertas com papel alumínio para evitar exposição à luz. Em cada amostra de sangue foi adicionado 4 mL de PBS (pH 7,4) e 4 mL de Ficoll® em tubos Falcon® de 15 mL. Posteriormente as amostras foram centrifugadas (Vision® Micro High Speed Refrigerated Centrifuge) por 10 minutos a 2500 RPM para a separação dos linfócitos.

4.2. Viabilidade celular

Antes da irradiação, foi realizado um teste de viabilidade celular, no qual foi utilizado uma adaptação do método padronizado por Louis e Siegel (2011). Amostras de linfócitos de sangue humano (20 µL) foram misturadas a uma solução azul de Tripán (Gibco) a 0,04%, na proporção 1:2, em microtubos com capacidade de 1,5 mL (Eppendorf® Lobind microcentrifuge tubes). Em seguida 15 µL da solução formada, foi aplicada ao hemocítômetro (Câmara de

Neubauer Espelhada, Bright-Line). Após a adição das células, a amostra permaneceu em repouso por 3 minutos em temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$).

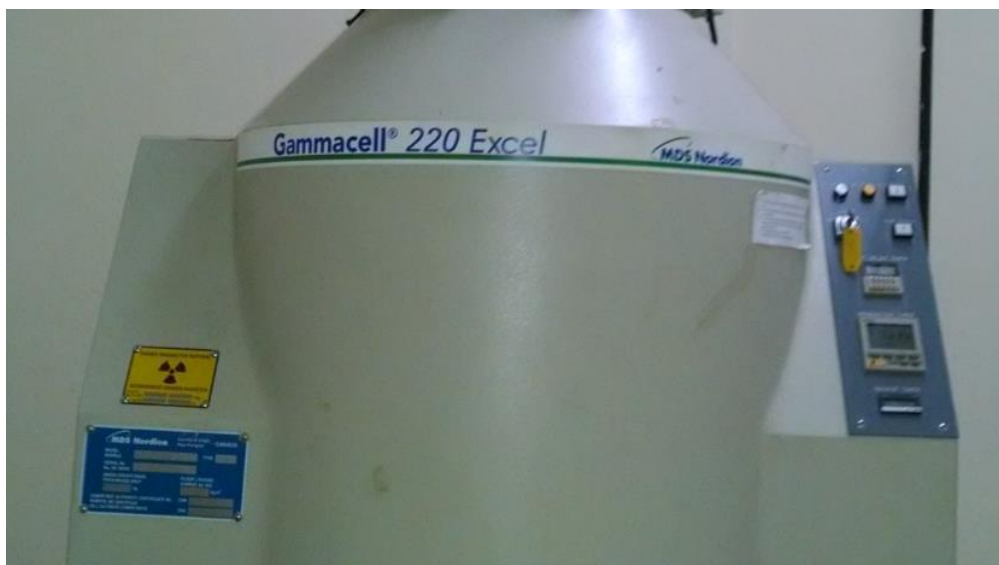
Posteriormente, os linfócitos foram quantificados e analisados quanto ao número de células viáveis e inviáveis. A leitura na câmara de Neubauer foi realizada em quatro quadrantes (A, B, C e D) destinados para a contagem e avaliação de células. As células coradas foram classificadas como inviáveis e as células sem coloração identificadas como viáveis. O número de células viáveis deve ser acima de 80%, abaixo disso compromete a acurácia dos resultados (Chan; Rice; Qiu, 2020). Em nosso estudo, 100% das células foram viáveis antes da exposição à radiação. A média das leituras dos quatros quadrantes foi calculada e multiplicada por 10^4 e por dois (referente a diluição de 1:2) para obtenção do número de células por mL da amostra aplicada no hemocitômetro.

As células foram centrifugadas por mais duas vezes, para retirada do Ficoll® e outros componentes residuais. Após isso, as células foram ressuspensas em PBS(pH 7,4) para garantir que todas as células recebam a radiação de forma homogênea. Em seguida, os linfócitos obtidos de sangue periférico humano foram levados para a irradiação.

4.3. Irradiação das amostras

Cada amostra de sangue foi separada em três alíquotas de 2 mL, uma, considerada grupo controle, não irradiada e mantida à temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$), outras expostas a radiação gama de Co^{60} com doses absorvidas de 2 e 4 Gy. As amostras foram acondicionadas em caixa térmica a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ no Laboratório de radiobiologia e transportadas até o irradiador Gammacell 220 (MDS Nordion, Ottawa, Canadá, taxa de dose = $0,822\text{ KGy/H}$), localizado no Laboratório de Radiação Gama (GAMALAB), do Departamento de Energia Nuclear (DEN) da UFPE (Figura 6).

Figura 6 – Irradiador Gammacell 2020 (MDS Nordion, Ottawa, Canadá) taxa de dose = 0,822 KGy/H.



Fonte: Laboratório de Radiação Gama – GAMALAB, 2025

As alíquotas de linfócitos do grupo controle foram mantidas nas mesmas condições térmicas das amostras irradiadas. A amostra de 2 Gy ficou cerca de 4,43 segundos no irradiador, enquanto que a de 4 Gy ficou cerca de 13,01 segundos. Após a irradiação, as amostras foram transportadas ao Laboratório de Radiobiologia, onde foram colocadas em estufa a 37 °C. Durante todo o processo, as amostras eram mantidas em PBS (pH 7,4) Em seguida foram coletados cerca de 130 µL nos tempos de 0 (assim que a amostra chegou ao laboratório de Radiobiologia após a irradiação), 30 e 60 minutos de cada alíquota. À medida que as amostras foram coletadas, eram imediatamente colocadas na geladeira a 4 °C, para interromper o processo de reparo celular e lá permaneciam até a realização do ensaio cometa (Palyvoda, 2003). Em seguida, as amostras foram submetidas ao ensaio cometa para verificação do dano ao DNA e capacidade de reparo nos tempos de 0, 30 e 60 minutos.

4.4. Ensaio cometa

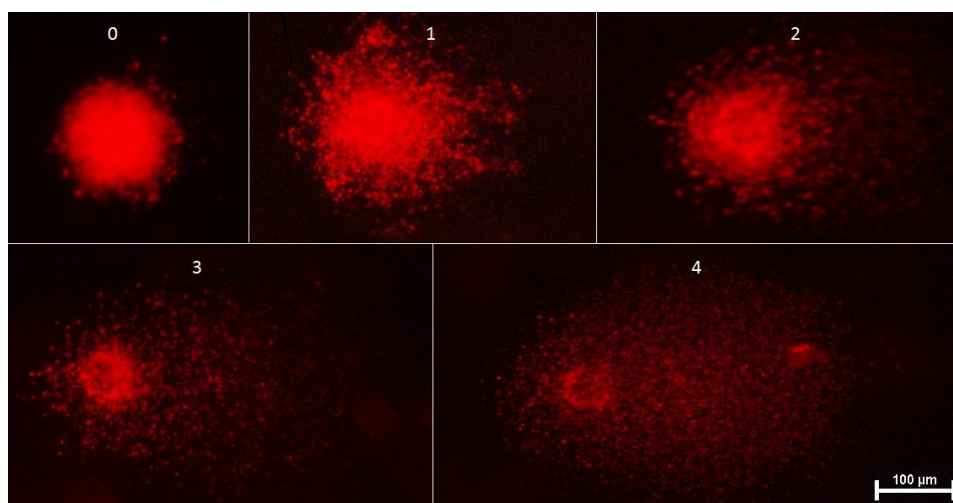
Foi realizado o ensaio cometa alcalino como descrito por Singh et al., (1988), com modificações. Cerca de 100 µL de Células Mononucleares de Sangue Periférico (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC) foi coletado e

homogeneizado em 100 µL de agarose de baixo ponto de fusão 0,5% (Sigma-aldrich) dissolvido em PBS a pH 7,4. Imediatamente, este homogenato foi colocado sobre uma lâmina de microscópio, previamente coberta com uma camada de agarose de ponto de fusão normal 1,5% (Sigma-aldrich) dissolvida em PBS (pH 7,4) coberto com lamínula e mantido a 4 °C (10 minutos).

Em seguida, as lamínulas foram retiradas e incubadas em solução de lise (NaCl 2,5 M, EDTA 100 mM, Tris 10 mM, Triton-X 100 1% e DMSO 10%, pH 10,0) por 12 horas a 4 °C. Após o processo de lise, as lâminas foram colocadas em uma cuba de eletroforese horizontal contendo solução de tampão alcalino, pH 13,0 (EDTA 1 mM e NaOH 300 mM), por 20 minutos. Posteriormente, a eletroforese foi iniciada durante 20 min (4 °C) a 0,74 V/cm e 300 mA. Ao final, as lâminas foram neutralizadas com tampão Tris 0,4 M (pH 7,5) por 15 minutos e fixadas com álcool absoluto por 10 minutos.

As lâminas foram coradas com 50 µL de uma solução de SYBR safe (Invitrogen) (1:500 diluído em água destilada). Foram analisadas 100 células por lâmina, em quadruplicata, utilizando um microscópio de fluorescência (Nikon H550L) com aumento de 400x, filtro de excitação de 450-490 nm, filtro de emissão de 500-550 e um filtro de barreira de 495 nm. A análise visual dos danos ao DNA foi realizada de acordo com a metodologia de Collins et al., 2008. Os núcleos foram divididos em 5 categorias de dano ao DNA (0 – 4), dependendo da extensão do dano. A categoria 0 indica que não ocorreu danos, as categorias de 1 a 4 indicam danos em níveis crescentes sobre o material genético, como mostra a Figura 7.

Figura 7 - Categorias de dano ao DNA no ensaio cometa



Fonte: O autor, 2025.

A avaliação do dano genético foi realizada utilizando dois parâmetros: Índice de dano (ID) e Frequência de Dano (FD%).

O ID foi calculado multiplicando o nível de dano pela quantidade de cometas correspondente ao mesmo, como descrito na Equação 1 abaixo:

Equação 1:

$$ID = 0 \times (n0) + 1 \times (n1) + 2 \times (n2) + 3 \times (n3) + 4 \times (n4) \quad (1)$$

Onde:

ID = índice de danos

n = Número de cometas quanto a classe

A FD% foi calculada como o valor percentual de todos os cometas com dano ao DNA (nível 1 a 4) em relação ao número total de cometas nível (0 – 4), de acordo com a Equação 2 abaixo:

Equação 2:

$$FD\% = \frac{[(N^{\circ} \text{ total de cometas} - N^{\circ} \text{ de cometas 0}) \times 100]}{N^{\circ} \text{ total de cometas}} \quad (2)$$

Onde:

FD (%) = Frequência de danos;

4.5. Ensaio cometa modificado

Esta técnica combina a técnica do ensaio do cometa com a ação de enzimas específicas, como a FPG, que reconhecem e atuam em determinados tipos de lesões oxidativas no DNA (Collins et al., 2023). O ensaio cometa seguiu conforme descrito no item 4.4 , porém somente com a dose de 4 Gy e após o processo de lise celular, as lâminas foram lavadas por três vezes com solução tampão (40 mM HEPES, 100 mM KCL, 0,5 nM EDTA, 0,2 mg/mL BSA, pH 8,0). Em seguida, as lâminas foram secas em ambiente abrigado de luz e incubadas com a enzima FPG (70 µl, 35° C, 30 min) de acordo com as recomendações do fabricante (New England Biolabs Inc., EUA) (Møller et al., 2023).

Para o controle positivo, uma alíquota foi incubada com o Brometo de Potássio (KBrO₃) por cerca de 60 minutos a 37 °C, um agente oxidante, para verificar a sensibilidade da enzima a agentes oxidantes. (Møller,2018). Enquanto isso as alíquotas irradiadas ficaram na geladeira até o término do tempo de incubação.

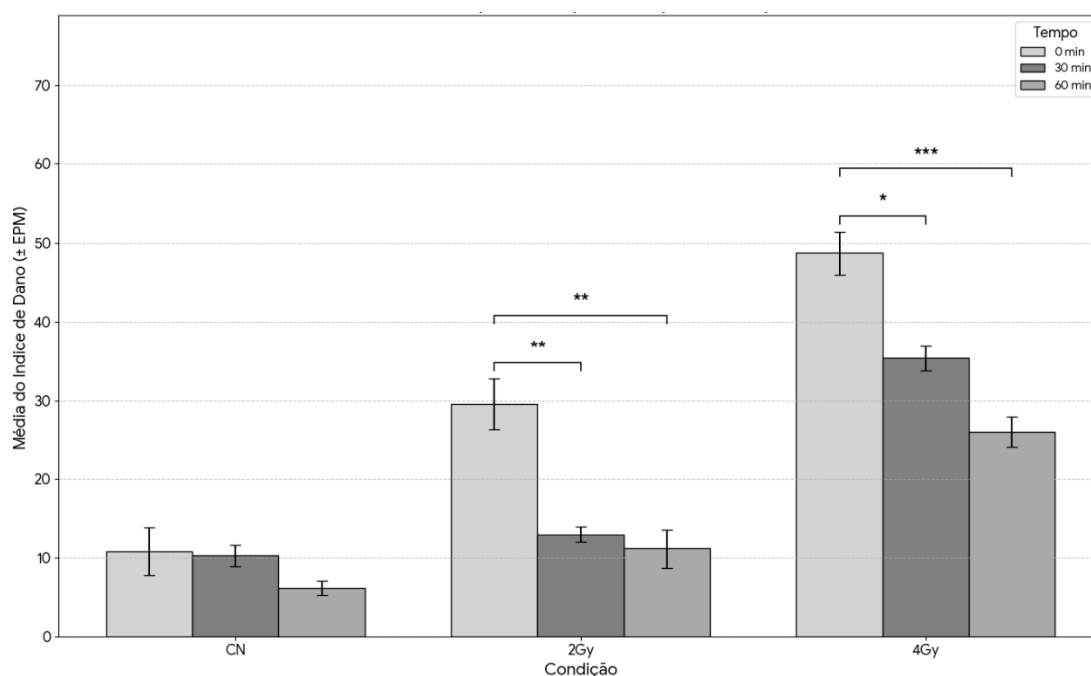
4.6. Análise estatística

A análise estatística do ensaio cometa foi realizada comparando os grupos controle e expostos a radiação ionizante por meio da Análise de Variância (ANOVA) e do teste de post-hoc de Bonferroni com a utilização do aplicativo GraphPad Prism versão 5.0 (Graphpad Prism, San Diego, Califórnia, USA). As diferenças foram significativas quando $p < 0,5$.

5. Resultados e Discussão

A análise dos danos sobre o DNA foi observada por meio do ensaio cometa alcalino em linfócitos de sangue periférico humano submetidas a diferentes condições experimentais (Controle Negativo (CN), 2 e 4 Gy) e com avaliação nos tempos de 0, 30 e 60 minutos. A figura 8 apresenta as médias do Índice de Dano para cada condição experimental.

Figura 8 - Gráfico da média do Índice de danos dos linfócitos irradiados e analisados no tempo de 0, 30 e 60 minutos.



As barras representam a média do Índice de Dano \pm Erro de Padrão da Média (EPM). As comparações foram feitas entre os tempos dentro de cada condição. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Fonte: O autor, 2025.

Para a condição do CN, não foi observada diferença estatisticamente significativa no ID dos tempos avaliados. Os valores de dano permaneceram estáveis durante o período de até 60 minutos.

No grupo dos linfócitos irradiados com 2 Gy pode-se observar uma redução significativa do dano ao longo do tempo. O ensaio cometa revelou que o índice de Dano no tempo 0 ($29,58 \pm 5,55$) foi significativamente maior do que o

observado nos tempos 30 ($13,00 \pm 1,75$) e 60 minutos ($11,17 \pm 4,23$). Não houve diferença estatística significativa entre os tempos de 30 e 60 minutos.

No gráfico da Figura 8 também pode-se observar que os linfócitos irradiados com 4 Gy apresentaram Índices de danos maiores que o do grupo irradiado com 2 Gy e o CN. No entanto, ao observar o grupo irradiado com 4Gy pode-se observar que o comportamento foi semelhante ao encontrado no grupo dos linfócitos irradiados com 2 Gy, pois o ensaio cometa apresentou o índice de danos no tempo 0 iguais a $48,67 \pm 4,78$, onde observa-se danos significativamente superior ao dos tempos 30 ($35,33 \pm 2,75$) e 60 minutos ($26,00 \pm 3,36$). Não houve, diferença significativa entre os tempos de 30 e 60 minutos, dados semelhantes aos encontrados no grupo de linfócitos irradiados com 2 Gy.

Os resultados do ensaio cometa encontrados no atual estudo revelaram um padrão esperado de indução de dano agudo, seguido por uma redução gradual ao longo do tempo, especialmente para a dose de 2Gy. O dano agudo causado pela radiação ionizante é caracterizado por lesões imediatas ao DNA, incluindo quebras de fitas simples e duplas. Essas lesões ocorrem como consequência direta da interação direta da radiação com o material genético ou indiretamente pela formação de ROS (Wei, 2019). Esses resultados sugerem ativação de mecanismos de reparo celular, tendo maior eficiência na menor dose.

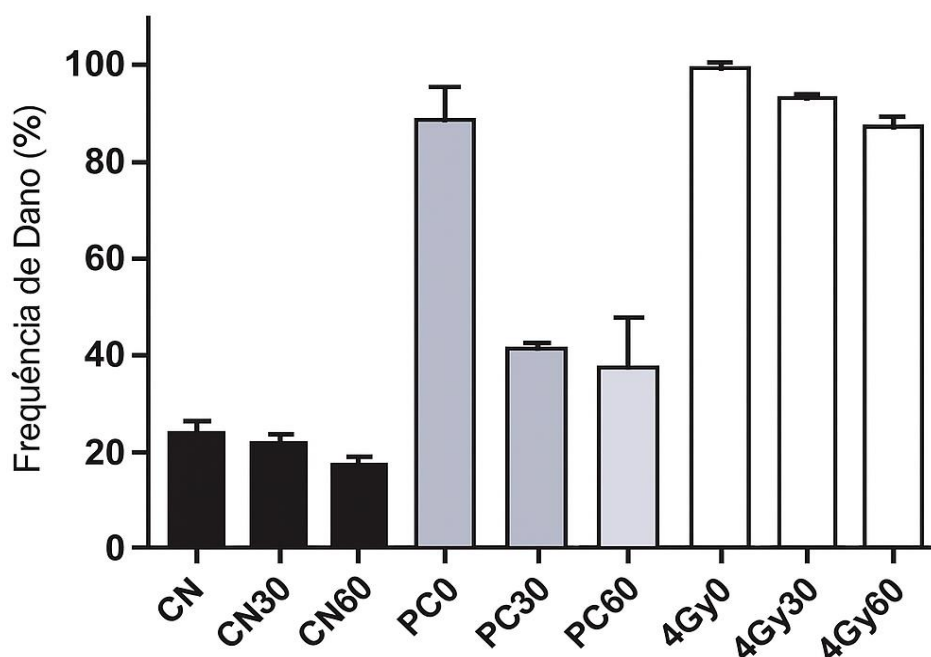
Também foi realizado uma análise da frequência de danos (Figura 9) nas mesmas condições anteriores, tempos de 0, 30 e 60 minutos após exposição a radiação gama. Os linfócitos foram divididos em controle negativo (CN), linfócitos irradiados com 2 Gy (Controle Positivo, PC) e linfócitos irradiados com 4 Gy.

Nos linfócitos do grupo controle negativo, não foram observados variações estatísticas significativas nos valores da frequência de dano ao longo do tempo. A média se manteve em torno de 20%, sugerindo a ausência de agressão genotóxica espontânea durante o período de análise e estabilidade das condições basais do experimento.

Nos linfócitos irradiados com 2 Gy, houve um aumento expressivo da frequência de dano após a exposição. Contudo, após 30 minutos observou-se

uma redução acentuada, com frequência de dano próxima a 40%, e aos 60 minutos, reduziu ainda mais, para cerca de 35%.

Figura 9 – Análise da frequência de danos.



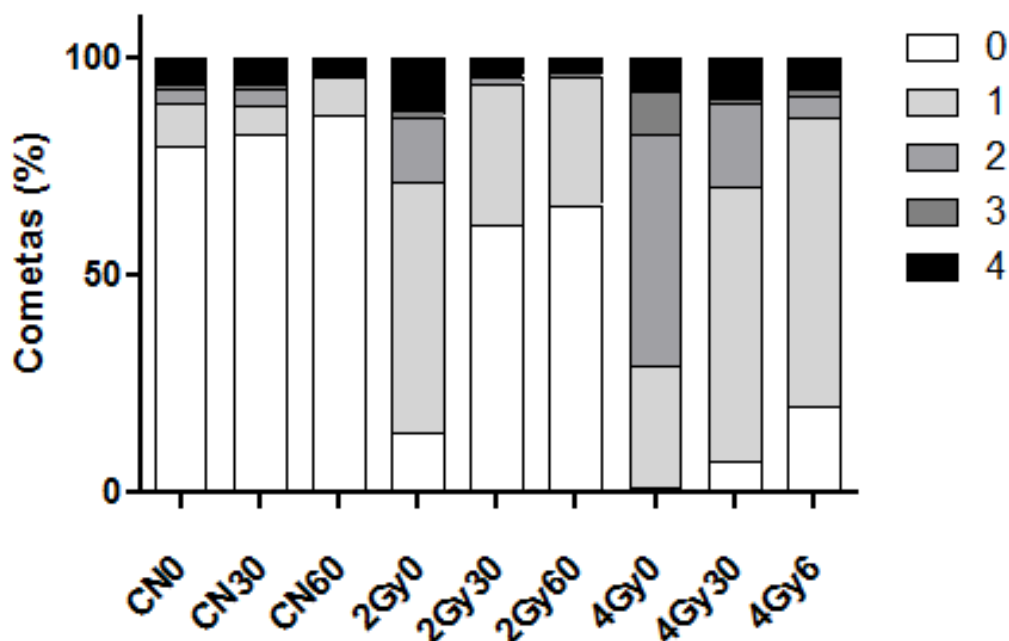
As barras representam a média da frequência de Dano \pm Erro de Padrão da Média (EPM). As comparações foram feitas entre os tempos dentro de cada condição. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Fonte: O autor, 2025.

Por sua vez, os linfócitos irradiados com 4 Gy, apresentaram uma frequência de dano continuamente elevada em todos os tempos analisados. No tempo 0, valores foram cerca de 95%, e embora tenha reduzido com o passar do tempo, a frequência de dano ainda se manteve elevada. Isso indica que, apesar da indução dos mecanismos de reparo, a dose de 4 Gy, resultou em um nível de dano mais complexo e difícil de ser corrigido pelas células no tempo de intervalo avaliado.

Para complementar a análise do ID e a frequência de dano, foi avaliada a distribuição da frequência de células em diferentes classes de dano (Graus 0, 1, 2, 3 e 4), conforme ilustrado na Figura 10.

Figura 10 - Distribuição da frequência de cometas por classe de dano.



As barras representam a porcentagem de células classificadas em cada grau de dano (0 a 4) para as condições controle negativo (CN), 2Gy e 4Gy nos tempos 0,30 e 60 minutos.

Fonte: O autor, 2025.

Nos linfócitos do grupo controle (CN), observa-se que em todos os tempos (0, 30 e 60 min), 80% das células se concentrou nas classes de danos mais baixas, ou seja, predominantemente Grau 0 (sem danos) e Grau 1 (dano leve). Isso indica danos genotóxicos menores quando comparados com os grupos expostos a radiação ionizante.

No grupo dos linfócitos irradiados com 2 Gy, tempo 0, houve uma notável diminuição na frequência de células Grau 0 e um aumento significativo na frequência de células com maiores graus de dano, como Grau 2 e Grau 3, em comparação com o controle. Ao longo do tempo, observa-se um deslocamento dessa distribuição, nos tempos 30 e 60 minutos, a frequência de células com dano severo (Grau 3 e 4) diminui, enquanto a frequência de células com dano leve (Grau 1) e sem danos (Grau 0) aumenta progressivamente. Este comportamento sugere a ocorrência de reparo do DNA, com as células migrando de classes de danos mais altas para classes mais baixas.

Esse efeito foi ainda mais significativo no grupo dos linfócitos irradiados com 4 Gy. No tempo 0, a distribuição de danos foi drasticamente deslocada pra as

classes mais altas, com uma frequência elevada de células Grau 3 e Grau 4. Nos tempos subsequentes, a frequência dessas células com dano severo diminuiu acentuadamente, acompanhada por um aumento correspondente na frequência de células de Grau 1 e 2. Isso demonstra que o ensaio cometa consegue captar os danos imediatos da radiação ionizante sobre o DNA de linfócitos humanos, sendo capaz de detectar o processo de reparação do DNA.

Os dados obtidos corroboram com os resultados de Wang et al. (2013), que quantificaram o dano por quebras de fitas duplas no DNA em linfócitos humanos irradiados com Césio-137 (Cs^{137}) (1 – 6 Gy). Os autores demonstraram utilizando o ensaio cometa neutro a cinética de dano e reparo ao longo de 72 horas, com um reparo eficiente nas primeiras 24 horas. Embora o atual estudo tenha utilizado o ensaio cometa alcalino e apenas 60 minutos, os resultados obtidos demonstraram uma eficiência de reparo semelhante, especialmente na dose de 2 Gy. Isso sugere que, mesmo com abordagens diferentes, o ensaio cometa pode fornecer dados confiáveis para estimativa de dose e avaliação funcional de reparo em situações reais de exposição.

Os resultados encontrados corroboram com os resultados encontrados por Liswoska et al. (2010) que analisaram a indução e o reparo de quebras de fitas simples de DNA em diferentes subpopulações de linfócitos após exposição *in vitro* à radiação gama, utilizando o ensaio cometa alcalino. O estudo incluiu tanto indivíduos saudáveis, quanto indivíduos com câncer de mama, revelando que, mesmo entre grupos clinicamente distintos, houve diminuição do índice de dano após 60 minutos de incubação, refletindo a ativação de vias de reparos do DNA. Entre as principais vias envolvidas nesse processo, destacam-se a excisão de base (BER) e a união de extremidades homólogas (NHEJ). A via BER corrige, principalmente, lesões oxidativas e quebras de fitas simples, sendo rápida e altamente eficiente em células normais. Já a NHEJ, é a principal via de reparo de quebras de fitas duplas, sendo fundamental nas respostas imediatas causadas por exposição à radiação ionizante (Van de Kamp, 2021). A concordância com os resultados apresentados, reforça que, mesmo em janelas temporais curtas o ensaio cometa é sensível suficiente para detectar alterações na integridade do DNA. Essa técnica é especialmente relevante para análises agudas, em que a resposta celular inicial ao estresse genotóxico é crítica para determinar a eficácia

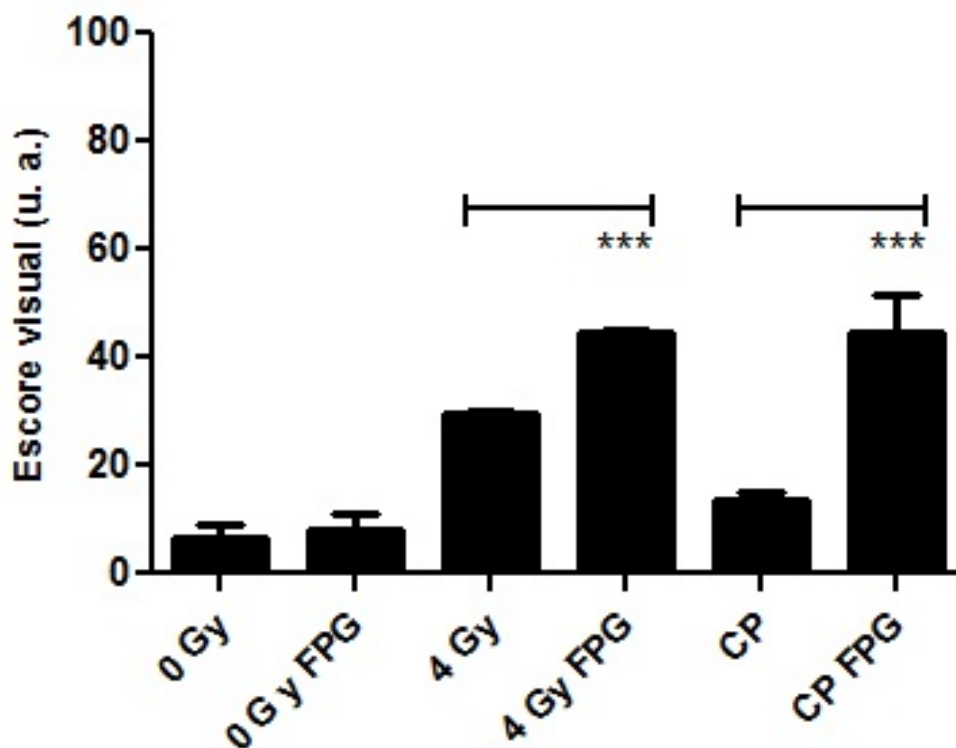
dos mecanismos de reparo e para estimar a gravidade da exposição (Azqueta, 2013).

Por fim, estudo de Trigo (2025) avaliou linfócitos expostos ao Radônio-222 (Rn^{222}), que é um emissor alfa, in vitro por meio do ensaio cometa alcalino, avaliando tanto o índice de dano quanto o número de cometas por classe de dano. Os resultados do ensaio cometa mostraram que as concentrações de radônio foram suficientes para causar dano genotóxico nas células, similar ao nosso estudo. Apesar deste trabalho avaliar exposição a um radionuclídeo natural com emissão de radiação alfa, os resultados sugerem que o ensaio cometa pode ser utilizado de diferentes formas, tanto para avaliar exposição in vitro, in vivo e até mesmo em situações de biomonitoramento ocupacional em indivíduos constantemente expostos a pequenas doses de radiação natural.

De forma geral, os resultados obtidos reforçam o potencial do ensaio cometa como ferramenta sensível para detectar não somente danos causados por exposição à radiação ionizante, mas também a capacidade de reparo celular nos períodos iniciais após a exposição. A implementação do protocolo em condições controladas demonstrou a viabilidade técnica e reprodutibilidade em curto intervalo de tempo. Essa aplicação inicial contribui para estruturar uma base metodológica no contexto do Laboratório de Radiobiologia no Departamento de Biofísica e Radiobiologia da UFPE, com potencial de expansão para futuras análises de biomonitoramento e avaliação de exposição humana ocupacional e/ou ambiental.

Com o objetivo de analisar danos oxidativos em DNA de linfócitos irradiados, foi realizado o ensaio cometa modificado, ou ensaio cometa enzimático. Esta técnica combina a técnica do ensaio do cometa com a ação de enzimas específicas, como a FPG, que reconhecem e atuam em lesões oxidativas no DNA. Na figura 11 pode-se observar linfócitos irradiados com dose absorvida de 4 Gy e analisados por meio do ensaio cometa enzimático.

Figura 11 - Gráfico do ensaio cometa enzimático de linfócitos irradiados com dose absorvida de 4 Gy.



As barras representam o índice de dano de cada grupo irradiado. 0Gy = Grupo controle negativo; 0GyFPG = Controle negativo ensaio cometa enzimático; 4 Gy = Linfócitos irradiados com 4 Gy; 4 Gy FPG = Linfócitos irradiados e ensaio cometa enzimático ; CP = Controle positivo com KBrO₃; CP = Controle positivo e ensaio cometa enzimático.

Fonte: O autor, 2025

Os resultados demonstraram que no grupo dos linfócitos sem irradiação, a utilização da FPG não resultou em alteração significativa nos níveis de dano, confirmando a ausência de lesões oxidativas sob condições basais. No entanto, nos linfócitos irradiados com 4Gy quanto o do grupo Controle positivo, a adição da enzima elevou significativamente o grau de dano ao DNA em relação aos grupos sem enzima ($p < 0,001$). Esse aumento indica a presença de lesões oxidativas específicas que não são detectadas na análise padrão sem enzima, uma vez que a enzima FPG reconhece e remove bases nitrogenadas modificadas por oxidação (Kowalik; Groszyk, 2023). Após a remoção das bases, a FPG promove quebras na fita de DNA, no local da lesão, aumentando o tamanho da cauda no ensaio cometa. Isso permite diferenciar os danos oxidativos dos demais

tipos de danos causados pela radiação, ampliando a sensibilidade da técnica para avaliação do estresse oxidativo (Azqueta et al., 2019; Møller et al., 2020;).

Esses achados sugerem que a aplicação da FPG, otimiza a sensibilidade do ensaio cometa, permitindo apenas não quantificar quebras de fita, mas também identificar danos oxidativos relacionados com a radiação ionizante.

Os resultados encontrados neste trabalho foram compatíveis com os de Miklos et al. (2009), que avaliaram o dano ao DNA em linfócitos humanos irradiados com 0,1 Gy e 4 Gy de radiação gama, utilizando tanto a versão alcalina quanto a versão modificada por enzima FPG. A versão com FPG foi mais sensível, detectando lesões oxidativas significativas mesmos na dose mais baixa (0,1 Gy), enquanto o protocolo padrão só detectou aumento expressivo de dano na dose de 4 Gy.

Além disso, os achados do presente estudo encontram respaldo na literatura voltada ao biomonitoramento ocupacional, como demonstrado por Gaetani et al (2018), que avaliaram profissionais da medicina nuclear cronicamente expostos à radiação ionizante. Utilizando o ensaio cometa alcalino com e sem enzima FPG. Os autores observaram um aumento significativo nos níveis de dano oxidativo ao DNA em comparação ao grupo controle não exposto. Os resultados reforçam a sensibilidade da técnica para detectar não apenas quebras de fitas simples, mas também lesões oxidativas específicas, como referenciado anteriormente. Estas evidências sustentam a viabilidade da aplicação do protocolo implementado em contextos de avaliação ocupacional, mesmo com janelas experimentais curtas, contribuindo para futuras investigações sobre radiosensibilidade e saúde ambiental.

6. Conclusões

O presente trabalho demonstrou que o ensaio cometa é viável, sensível e adequado para avaliar danos ao DNA de linfócitos irradiados. Portanto os experimentos contribuíram para a implementação desta técnica no laboratório de radiobiologia que poderá ser utilizada em futuras pesquisas em radiogenética e biomonitorização humana. Por meio deste estudo também foi possível concluir que:

- A técnica foi implementada com sucesso, revelando um padrão esperado de dano agudo logo após a irradiação e redução progressiva ao longo do tempo. Os resultados demonstraram que o protocolo é capaz de detectar a cinética de reparo em períodos curtos, validando sua utilidade para análises experimentais rápidas e eficazes.
- A análise por classes de danos revelou uma mudança significativa dos graus ao longo do tempo, com redução dos graus 3 e 4 e aumento dos graus 1 e 2. Essa abordagem auxilia o índice de dano e reforça a eficiência da metodologia em detectar mudanças no perfil celular frente ao reparo do DNA.
- A adição da enzima FPG revelou um aumento significativo no dano em grupos irradiados com 4 Gy e no controle positivo tratado com KBrO_3 , indicando presença de lesões oxidativas não detectadas pela metodologia convencional. Isso demonstra a relevância do uso de enzimas na ampliação da sensibilidade do ensaio cometa para diferentes tipos de lesões ao DNA.
- Os dados obtidos reforçam que o ensaio cometa alcalino e o ensaio cometa enzimático oferecem base experimental para futuras aplicações em contextos de biomonitoramento radiológico, avaliação e radiosensibilidade individual e pesquisa translacional em radioproteção, sobretudo em situações que exijam análise rápida e precisa da resposta ao estresse genotóxico.

Dessa forma, conclui-se que o ensaio cometa, conforme implementado neste trabalho, é uma ferramenta adequada para avaliar o dano e o reparo do DNA em linfócitos submetidos a radiação gama, sendo úteis tanto para estudos de base quanto para aplicações clínicas e ocupacionais.

7. Perspectivas futuras

- Estudos futuros com maior número de amostras e inclusão de análises complementares (como o uso de enzimas específicas ou tempos mais longos de recuperação) poderão ampliar ainda mais a aplicabilidade e robustez do protocolo desenvolvido.
- Realizar os experimentos com grupo amostral de residentes de regiões de ocorrência natural de materiais radioativos (NORM) da area metropolitana do Recife.

Referências

- AHMAD, A.; IMRAN, M.; AHSAN, H. Biomarkers as biomedical bioindicators: approaches and techniques for the detection, analysis, and validation of novel biomarkers of diseases. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 6, p. 1630, 2023.
- AHMAD, N. et al. An overview of radon concentration in Malaysia. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 10, n. 4, p. 327–330, 2017.
- AKYIL, S. et al. Activity concentration of radium-226 in agricultural soils. **Journal of radioanalytical and nuclear chemistry**, v. 254, n. 1, p. 9-14, 2002.
- ALBANO, L. et al. Gamma knife radiosurgery for pituitary tumors: a systematic review and meta-analysis. **Cancers**, v. 13, n. 19, p. 4998, 2021.
- ALHARBI, S. **Measurement and Monitoring of Naturally Occurring Radioactive Materials for Regulation**. 2016.
- ALI, M.; KUMAR, A.; PANDEY, B. N. Thorium induced cytoproliferative effect in human liver cell HepG2: Role of insulin-like growth factor 1 receptor and downstream signaling. **Chemico-Biological Interactions**, v. 211, p. 29–35, 2014.
- ALMEIDA, L. M. de; PELEGRINELI, S. Q.; SILVA FILHO, W. S. da. REVISÃO TEÓRICA DA RADIOATIVIDADE EM ÁGUA POTÁVEL: PRINCIPAIS ISÓTOPOS RADIOATIVOS ENCONTRADOS, SEUS EFEITOS À SAÚDE HUMANA E MÉTODOS DE REDUÇÃO. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 62932–62938, 2020.
- AMARAL, D. S. do. **Radônio-222 e radionuclídeos associados em águas de poços e solos em áreas do fosforito uranífero da Região Metropolitana do Recife**. 2018. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.
- AMARAL, F. do. **Investigação da ação mutagênica em pacientes expostos à radiação: análise da associação do dano genético e polimorfismos dos genes de reparo**. 2014. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
- AMARAL, R. et al. EVALUATION OF 226,228Ra LEVELS FROM PUBLIC DRINKING WATER SUPPLIES IN THE AREA OF GREATER RECIFE, BRAZIL. In:

INTERNATIONAL CONGRESS OF THE INTERNATIONAL RADIATION PROTECTION ASSOCIATION, 11., 2004, Madrid. **Anais...** Madrid: [s.n.], 2004.

ANDERSON, R. M. Cytogenetic biomarkers of radiation exposure. **Clinical Oncology**, v. 31, n. 5, p. 311-318, 2019.

ANSOBORLO, E. et al. Actinide speciation in relation to biological processes. **Biochimie**, v. 88, n. 11, p. 1605–1618, 2006.

APTE, K.; BHIDE, S. Basics of radiation. In: **Advanced radiation shielding materials**. Elsevier, 2024. p. 1-23.

ASHTON, N. Physiology of red and white blood cells. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 8, n. 5, p. 203–208, 2007.

ASIC, A. et al. Chemical toxicity and radioactivity of depleted uranium: the evidence from in vivo and in vitro studies. **Environmental research**, v. 156, p. 665-673, 2017.

AZQUETA, A.; COLLINS, A. R. The essential comet assay: a comprehensive guide to measuring DNA damage and repair. **Archives of toxicology**, v. 87, n. 6, p. 949-968, 2013.

AZQUETA, A.; LANGIE, S. A. S. et al. DNA repair as a human biomonitoring tool: Comet assay approaches. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 781, p. 71–87, 2019.

AZQUETA, A.; MURUZABAL, D. et al. Technical recommendations to perform the alkaline standard and enzyme-modified comet assay in human biomonitoring studies. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 843, p. 24–32, 2019.

BAIN, B. J. Structure and function of red and white blood cells and platelets. **Medicine**, v. 49, n. 4, p. 183–188, 2021.

BALDACCHINO, G. et al. Importance of radiolytic reactions during high-LET irradiation modalities: LET effect, role of O₂ and radiosensitization by nanoparticles. **Cancer Nanotechnology**, v. 10, n. 1, p. 3, 2019.

BALDAONI, R. H.; COSTA, F. E. da. **Unidade autônoma de monitoramento, sinalização e registro para o sistema de segurança do irradiador multipropósito**

de Cobalto-60. 2017. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

BAUDIN, Clémence et al. Biomarkers of genotoxicity in medical workers exposed to low-dose ionizing radiation: systematic review and meta-analyses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, p. 7504, 2021.

BECQUEREL, A.; RIBEIRO, D. REVISTA DE CIÊNCIA ELEMENTAR. **Revista de Ciência Elementar**, 2014.

BINJOLA, A. Interaction of radiation with matter. In: BINJOLA, A. (org.). **Practical Radiation Oncology**. Singapore: Springer Singapore, 2019. p. 3-11.

BOTELHO, M. F. Bioterrorismo. Etiopatogenia da agressão por radiações. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, v. 10, n. 1, p. S91-S103, 2004.

BOURDON, B. et al. Introduction to U-series geochemistry. **Reviews in mineralogy and geochemistry**, v. 52, n. 1, p. 1-21, 2003.

BUONOCORE, T. C. C. et al. Energia das radiações: radioatividade natural e artificial, radiações ionizantes e excitantes. **Unisanta BioScience**, v. 8, n. 4, p. 447-457, 2019.

BURILLE, F. et al. Detection of radium in water by x-ray fluorescence using Monte Carlo simulations. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 167, p. 108374, 2020.

CAPACCIO, C. et al. CytoRADx: A high-throughput, standardized biodosimetry diagnostic system based on the cytokinesis-block micronucleus assay. **Radiation Research**, v. 196, n. 5, p. 523-534, 2021.

CARUSILLO, A.; MUSSOLINO, C. DNA Damage: From Threat to Treatment. **Cells**, v. 9, n. 7, p. 1665, 2020.

CARVALHO, R. M. de et al. **Espectrometria de raios X: princípios básicos**. 2017. Monografia (Graduação) - [Nome do Curso e Instituição, se disponível], 2017.

CEPPI, M. et al. Genotoxic effects of occupational exposure to glass fibres - A human biomonitoring study. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 885, p. 503572, 2023.

CHAN, L. L.-Y.; RICE, W. L.; QIU, J. Observation and quantification of the morphological effect of trypan blue rupturing dead or dying cells. **PLoS one**, v. 15, n. 1, p. e0227950, 2020.

CHANG, D. S. et al. Stochastic, deterministic, and heritable effects (and some radiation protection basics). In: **Basic Radiotherapy Physics and Biology**. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 337-348.

CHATTERJEE, N.; WALKER, G. C. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 58, n. 5, p. 235–263, 2017.

CHAUDHURY, D. et al. Thorium promotes lung, liver and kidney damage in BALB/c mouse via alterations in antioxidant systems. **Chemico-Biological Interactions**, v. 363, p. 109977, 2022.

CHRISTENSEN, D. M. et al. Management of ionizing radiation injuries and illnesses, part 3: Radiobiology and health effects of ionizing radiation. **Journal of the American Osteopathic Association**, v. 114, n. 7, p. 556–565, 2014.

COLLINS, A. et al. The comet assay as a tool for human biomonitoring studies: The ComNet Project. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 759, p. 27–39, 2014.

COLLINS, A. et al. Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols. **Nature protocols**, v. 18, n. 3, p. 929-989, 2023.

COLLINS, A.; VETTORAZZI, A.; AZQUETA, A. The role of the enzyme-modified comet assay in in vivo studies. **Toxicology Letters**, v. 327, p. 58–68, 2020.

COLLINS, A. R.; AZQUETA, A. Chapter 4 - Single-Cell Gel Electrophoresis Combined with Lesion-Specific Enzymes to Measure Oxidative Damage to DNA. In: CONN, P. M. (Ed.). **Laboratory Methods in Cell Biology**. [s.l.] Academic Press, 2012. v. 112, p. 69–92.

CORRÊA, J. N. et al. Monitoramento da radioatividade alfa relacionada ao radônio-222 em águas de poços da região metropolitana de Curitiba (PR). **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 20, n. 2, p. 243–250, abr. 2015.

CORREGGIO, K. S. da et al. DNA damage analysis in newborns and their mothers related to pregnancy and delivery characteristics. **Placenta**, v. 115, p. 139–145, 2021.

COUTINHO, J. V. da S. **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA EMITIDA PELAS AREIAS MONAZÍTICAS SOBRE O SISTEMA BIOLÓGICO DE**

RATAS WISTAR. 2020. Dissertação (Mestrado) - [Nome do Programa e Instituição, se disponível], 2020.

DE AQUINO, Reginaldo Ribeiro; PECEQUILLO, Brigitte Roxana Soreanu. Avaliação da radioatividade natural em areias de regiões anômalas do Espírito Santo. *Revista Brasileira de Geociências*, v. 29, n. 2, p. 261–266, 2020.

DE LA CRUZ, T. E. et al. The genus *Chenopodium*: A potential food source. In: **Biotechnology of Neglected and Underutilized Crops**. Dordrecht: Springer, 2013. p. 3–31.

DE OLIVEIRA SILVA, R. A. et al. Genotoxicidade do uso de agrotóxicos em horticultores da região metropolitana de Goiânia-GO, Brasil. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 12, n. 5, p. 188-198, 2021.

DHARNIPRAGADA, R. et al. Comparison of Gamma Knife (GK) and Linear Accelerator (LINAC) radiosurgery of brain metastasis resection cavity: a systematic review and proportional meta-analysis. **Clinical & Experimental Metastasis**, v. 41, n. 1, p. 1-8, 2024.

DINIZ, E. C. REVISÃO NARRATIVA: RADIOSENSIBILIDADE, RADIOTERAPIA E POTENCIAIS BIOMARCADORES. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 8, n. 1, p. 197–205, 31 jan. 2022.

DINOCOURT, C. et al. The neurotoxicology of uranium. **Toxicology**, v. 337, p. 58–71, 2015.

DIZDAROGLU, M. Base-excision repair of oxidative DNA damage by DNA glycosylases. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 591, n. 1-2, p. 45-59, 2005.

DNA DAMAGE produced by ionizing radiation in mammalian cells identities, mechanism of formation and reparability. **Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology**, v. 35, p. 95-125, 1998.

DNA REPAIR as a human biomonitoring tool: Comet assay approaches. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 781, p. 71-87, 2019.

DUGGAL, V.; SHARMA, S.; MEHRA, R. Risk assessment of radon in drinking water in Khetri Copper Belt of Rajasthan, India. **Chemosphere**, v. 239, p. 124782, 2020.

EL-MESERY, Hany S.; MAO, Hanping; ABOMOHR, Abd El-Fatah. Applications of non-destructive technologies for agricultural and food products quality inspection. **Sensors**, v. 19, n. 4, p. 846, 2019.

ESCALONA, M. B.; RYAN, T. L.; BALAJEE, A. S. Current developments in biodosimetry tools for radiological/nuclear mass casualty incidents. **Environmental Advances**, v. 9, p. 100265, 2022.

FARIA, D. de P. et al. Avaliação dos custos para realização de controles de qualidade de radiofármacos marcados com [99mTc] tecnécio em serviços de medicina nuclear no Brasil. **Radiologia Brasileira**, v. 44, p. 47-51, 2011.

FARIAS, E. E. G. de. **Exalação de radônio-222 em solos: parâmetros para modelagem e métodos de determinação**. 2016. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

FARLEY, A.; HENDRY, C.; MCLAFFERTY, E. Blood components. **Nursing Standard**, v. 27, n. 13, p. 35–42, 28 nov. 2012.

GALLOWAY, S.; COETZER, J.; MULLER, N. Image processing-based identification of dicentric chromosomes in slide images. In: INTERNATIONAL SAUPEC/ROBMECH/PRASA CONFERENCE, 2020. **Anais... IEEE**, 2020. p. 1-6.

GARAJ-VRHPVAC, V. et al. Application of the alkaline Comet assay in biodosimetry: assessment of in vivo DNA damage in human peripheral leukocytes after gamma radiation incident. **Radiation Protection Dosimetry**, v. 98, n. 4, p. 407–416, 2002.

GAVRILESCU, M.; PAVEL, L. V.; CRETESCU, I. Characterization and remediation of soils contaminated with uranium. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, n. 2, p. 475–510, 2009.

GIUSSANI, A. et al. Eurados review of retrospective dosimetry techniques for internal exposures to ionising radiation and their applications. **Radiation and Environmental Biophysics**, v. 59, n. 3, p. 357–387, 1 ago. 2020.

GORDEN, A. E. V et al. Rational Design of Sequestering Agents for Plutonium and Other Actinides. **Chemical Reviews**, v. 103, n. 11, p. 4207–4282, 2003.

GRZĄDZIEL, D. et al. The influence of air conditioning changes on the effective dose due to radon and its short-lived decay products. **Nukleonika**, v. 61, n. 3, p. 239–244, 2016.

GUIMARÃES, A. C. et al. Cytogenetic biomonitoring of inhabitants of a large uranium mineralization area: the municipalities of Monte Alegre, Prainha, and Alenquer, in the State of Para, Brazil. **Cell biology and toxicology**, v. 26, p. 403-419, 2010.

HAINES, D. A. et al. An overview of human biomonitoring of environmental chemicals in the Canadian Health Measures Survey: 2007–2019. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 220, n. 2, Part A, p. 13–28, 2017.

HAMMAD, A.A. Microbiological aspects of radiation sterilization. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Trends in radiation sterilization of health care products**. Viena: IAEA, 2008. p. 119-128.

HERATE, C.; SABATIER, L. Retrospective biodosimetry techniques: Focus on cytogenetics assays for individuals exposed to ionizing radiation. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 783, p. 108287, 2020.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, S. et al. Mutagenesis in the improvement of ornamental plants. **Revista Chapingo. Serie horticultura**, v. 25, n. 3, p. 151-167, 2019.

HUMPHRY, E.; ARMSTRONG, C. E. Physiology of red and white blood cells. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 23, n. 2, p. 118–122, 2022.

HUSSAIN, Shah et al. Modern diagnostic imaging technique applications and risk factors in the medical field: a review. **BioMed research international**, v. 2022, n. 1, p. 5164970, 2022.

IAEA. **Cytogenetic analysis for radiation dose assessment**. Viena: IAEA, 2001.

IAEA. **IAEA SAFETY RELATED PUBLICATIONS**. Viena: IAEA, 2004. (Safety Guides).

INGELIDO, Anna Maria et al. Ten years of PFOS and PFOA human biomonitoring in Italy: Exposure levels and determinants of exposure. **Chemosphere**, v. 376, p. 144297, 2025.

IPEN. **Noções Básicas de Proteção Radiológica**. São Paulo: Instituto Nacional de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 2022.

JHA, S. K. et al. Natural radiation and environment. In: JHA, S. K. (org.). **Handbook on Radiation Environment, Volume 1: Sources, Applications and Policies**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2024. p. 27-72.

JI, Y.-Y. et al. Analytical evaluation of natural radionuclides and their radioactive equilibrium in raw materials and by-products. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 97, p. 1–7, 2015.

JIANG, N. et al. An overview of comet assay application for detecting DNA damage in aquatic animals. **Agriculture**, v. 13, n. 3, p. 623, 2023.

KAMAT, V. A. **Studies on composite materials for ionizing radiation shielding**. 2020. Dissertação (Mestrado) – Centre for Application of Radioisotopes and Radiation Technology (CARPT), Mangalore University, Mangalore, 2020.

KAMIYA, K. et al. Long-term effects of radiation exposure on health. **The Lancet**, v. 386, n. 9992, p. 469–478, 2015.

KANO, H.; SHIRATO, H. Stereotactic radiosurgery for brain tumors. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 57, n. 3, p. 217-226, 2002.

KARDAMAKIS, D. et al. History of radiation biology. In: KARDAMAKIS, D. et al. (org.). **Radiobiology textbook**. Cham: Springer International Publishing, 2023. p. 1-24.

KARMAKER, N. et al. Fundamental characteristics and application of radiation. **GSC Advanced Research and Reviews**, v. 7, n. 1, p. 64-72, 2021.

KEITH, S.; WOHLERS, D.; INGERMAN, L. **Toxicological profile for thorium**. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2019.

KHALED, R. et al. Human biomonitoring of environmental contaminants in Gulf Countries – current status and future directions. **Environmental Research**, v. 236, p. 116650, 2023.

KLOSOWSKI, A. et al. **O ensino da interação da radiação com a matéria-curva de Bragg**. 2020.

KOLO, M. T. et al. Radon in groundwater sources of Bosso Community in North Central Nigeria and concomitant doses to the public. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 203, p. 110611, 2023.

KONDZIOŁKA, D. et al. Stereotactic radiosurgery for brain tumors: a review. **Journal of Neurosurgery**, v. 126, n. 3, p. 607-623, 2017.

KOWALIK, Sylwia; GROSZYK, Jolanta. Profiling of barley, wheat, and rye FPG and OGG1 genes during grain germination. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 15, p. 12354, 2023.

KOWALSKI, J. B. et al. Field evaluations of the VDmax approach for substantiation of a 25 kGy sterilization dose and its application to other preselected doses. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 64, p. 411-416, 2002.

LADEIRA, C. et al. The comet assay for human biomonitoring: Effect of cryopreservation on DNA damage in different blood cell preparations. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 843, p. 11–17, 2019.

LADEIRA, C. et al. The comet assay as a tool in human biomonitoring studies of environmental and occupational exposure to chemicals—a systematic scoping review. **Toxics**, v. 12, n. 4, p. 270, 2024.

LADEIRA, C.; VIEGAS, S. Human Biomonitoring – An overview on biomarkers and their application in Occupational and Environmental Health. **Biomonitoring**, v. 3, n. 1, 20 dez. 2016.

LAUGHLIN, J. M. An historical overview of radon and its progeny: Applications and health effects. **Radiation Protection Dosimetry**, v. 152, n. 1–3, p. 2–8, nov. 2012.

LAZAROWSKI, A. Chapter 6 - ABC-transporters and drug efflux in hematologic cancers. In: SOSNIK, A.; BENDAYAN, R. (Eds.). **Drug Efflux Pumps in Cancer Resistance Pathways: From Molecular Recognition and Characterization to Possible Inhibition Strategies in Chemotherapy**. [s.l.] Academic Press, 2020. v. 7, p. 149–195.

LEE, J. S.; KIM, K. H.; MOON, D. S. Radium isotopes in the Ulsan Bay. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 82, n. 2, p. 129–141, 2005.

LEE, W. H. et al. DNA damage-associated biomarkers in studying individual sensitivity to low-dose radiation from cardiovascular imaging. **European heart journal**, v. 37, n. 40, p. 3075-3080, 2016.

LIAO, Yunfei et al. Assessment of human parabens exposure and health risk based on global biomonitoring data. **Environmental Research**, p. 122461, 2025.

LÓPEZ, M.; MARTÍN, M. Medical management of the acute radiation syndrome. **Reports of Practical Oncology & Radiotherapy**, v. 16, n. 4, p. 138–146, 2011.

LUDOVICI, G. M. et al. Adaptation to Ionizing Radiation of Higher Plants: From Environmental Radioactivity to Chernobyl Disaster. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 222, p. 106375, 2020.

LUDOVICI, G. M. 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.

LUKOVNIKOVA, L. V. et al. Biomonitoring system of chemical pollution and assessment of toxicants' effects on human health: problems and solutions. **Bulletin of Education and Science Development of the Russian Academy of Natural Sciences**, v. 4, p. 111-124, 2020.

LUNA FILHO, R. L. C. de. **Investigação do efeito genotóxico sobre *Drosophila Melanogaster* em águas de poços em municípios de Pernambuco e Paraíba influenciados por ocorrências de urânio natural**. 2020. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

MA, M. et al. Emerging health risks and underlying toxicological mechanisms of uranium contamination: Lessons from the past two decades. **Environment International**, v. 145, p. 106107, 2020.

MA, M.; WANG, R.; XU, M. Thorium(IV) triggers ferroptosis through disrupting iron homeostasis and heme metabolism in the liver following oral ingestion. **Journal of Hazardous Materials**, v. 452, p. 131217, 2023.

MANCINI, L. H.; BONOTTO, D. M. CONTRIBUTION OF NATURAL URANIUM ISOTOPES TO THE STUDY OF GROUNDWATER FLOW. **Derbyana**, v. 42, 2021.

MARIGNAC, V. M.; MONDRAGON, L.; FAVANT, J. Sources of ionizing radiation and their biological effects: an interdisciplinary view, from the physics to cell and molecular biology. **Clinical Cancer Investigation Journal**, v. 8, n. 4-2019, p. 129-138, 2019.

MAROV, M. Y. Radiation and space flights safety: An insight. **Acta Astronautica**, v. 176, p. 580-590, 2020.

MARTINS, G.; BARBOZA, I.; BREVE, A. **Monografia Sobre o Experimento de Raios Gama**. [S.l.: s.n.], [s.d.].

MASIERO PEREIRA, C. **DESENVOLVIMENTO DE UM OBJETO SIMULADOR PARA CONTROLE DE QUALIDADE EM RADIOCIRURGIA UTILIZANDO DOSIMETRIA FRICKE XILENOL GEL POR MEIO DE ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS**. 2023. Tese (Doutorado) - [Nome do Programa e Instituição, se disponível], 2023.

MATTOS, M. de. **DESENVOLVIMENTO DE EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL PARA BLINDAGEM DA RADIAÇÃO BETA NO CRISTALINO**. 2016. Dissertação (Mestrado) - [Nome do Programa e Instituição, se disponível], 2016.

MESQUITA JÚNIOR, D. 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.

MIKLOŠ, M.; GAJSKI, G.; GARAJ-VRHOVAC, V. Usage of the standard and modified comet assay in assessment of DNA damage in human lymphocytes after exposure to ionizing radiation. **Radiology and Oncology**, v. 43, n. 2, p. 97–107, 2009.

MILLER, A. C.; STEWART, M.; RIVAS, R. DNA methylation during depleted uranium-induced leukemia. **Biochimie**, v. 91, n. 10, p. 1328–1330, 2009.

MOLDENHAUER, J. Sterilization Methods. In: **Smart Food Industry: The Blockchain for Sustainable Engineering**. Boca Raton: CRC Press, 2023. p. 75-110.

MØLLER, P. The comet assay: Ready for 30 more years. **Mutagenesis**, v. 33, n. 1, p. 1-8, 2018.

MØLLER, P. et al. Searching for assay controls for the Fpg-and hOGG1-modified comet assay. **Mutagenesis**, v. 33, n. 1, p. 9-19, 2018.

MØLLER, P. et al. Minimum Information for Reporting on the Comet Assay (MIRCA): recommendations for describing comet assay procedures and results. **Nature protocols**, v. 15, n. 12, p. 3817-3826, 2020.

MØLLER, Peter et al. Long-term cryopreservation of potassium bromate positive assay controls for measurement of oxidatively damaged DNA by the Fpg-modified comet assay: results from the hCOMET ring trial. **Mutagenesis**, v. 38, n. 5, p. 264-272, 2023.

MONICA C. CRISTINA B. et al. The micronucleus assay as a biological dosimeter in hospital workers exposed to low doses of ionizing radiation. **Mutation Research**, v. 747, p. 7–13, 2012.

MORAIS, E. N. de L. **Dose de radiação ambiental em área habitada na região urano-fostática de Pernambuco**. 2013. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

MORAIS, V. H. T. et al. Use of *Biomphalaria glabrata* as a bioindicator of groundwater quality under the influence of NORM. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 242, p. 106791, 2022.

MORENO DE SOUZA, E. **Estratigrafia da seqüência clástica inferior (andares coniaciano-maastrichtiano inferior) da Bacia da Paraíba e suas implicações paleoestratigráficas**. 2006. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

MOURA, D. C. et al. Avaliação da qualidade da água de nascentes da Bacia do Arroio Andréas, RS, Brasil, com base em ensaios ecotoxicológicos e genotoxicológicos com *Daphnia magna* (Straus, 1820). **Caderno de Pesquisa**, v. 30, n. 1, p. 13-21, 2018.

NADALETI, W. C. et al. CINÉTICA E EQUILÍBRIO SECULAR DAS PRINCIPAIS SÉRIES RADIOATIVAS E SUAS IMPLICAÇÕES AMBIENTAIS. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, v. 2, n. 2, p. 1–9, 9 dez. 2016.

NASCIMENTO, P. A. et al. Evaluation of radioinduced damage and repair capacity in blood lymphocytes of breast cancer patients. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 165-176, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Health risks from exposure to low levels of ionizing radiation: BEIR VII Phase 2**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2006.

NAYAK, T. et al. A systematic review on groundwater radon distribution with human health consequences and probable mitigation strategy. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 247, p. 106852, 2022.

NEFF, J. M. Chapter 11 - Radium Isotopes in the Ocean. In: NEFF, J. M. (Ed.). **Bioaccumulation in Marine Organisms**. Oxford: Elsevier, 2002. p. 191–201.

NIKJOO, H. et al. Radiation track, DNA damage and response—a review. **Reports on Progress in Physics**, v. 79, n. 11, p. 116601, 2016.

NTARISA, A. V. et al. Novel technique for simultaneous detecting three naturally occurring radon isotopes (^{222}Rn , ^{220}Rn and ^{219}Rn). **Radiation Physics and Chemistry**, v. 200, p. 110202, 2022.

OKUNO, E. **Radiação: efeitos, riscos e benefícios**. 1. ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2018.

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

OKUNO, E.; YOSHIMURA, E. M. **Física das radiações**. São Paulo: Oficina de Textos, 2010.

OLIVE, P. L.; BANÁTH, J. P. The comet assay: A method to measure DNA damage in individual cells. **Nature Protocols**, v. 1, n. 1, p. 23–29, jun. 2006.

OLIVEIRA, M. L. et al. Radônio-222 em águas de poços em áreas do fosforito uranífero da região metropolitana do Recife. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, p. 3920–3926, 2019.

OSMANLIOĞLU, A. E. 11 - Technologically enhanced naturally occurring radioactive materials. In: RAHMAN, R. O. A.; HUSSAIN, C. M. (Eds.). **Handbook of Advanced Approaches Towards Pollution Prevention and Control**. [s.l.] Elsevier, 2021. p. 221–243.

ÖSTLING, O.; JOHANSON, K. J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 123, p. 291–298, 1984.

OZOFOR, N. M. NUCLEAR THREATS: TECHNOLOGICAL ADVANCES AND POSSIBLE SURVIVAL STRATEGIES. **Godfrey Okoye University**, 2018.

PAIVA, A. C. de. **Dispersão e mobilidade de radionuclídeos no aquífero Beberibe, Olinda (PE)**. 2019. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

PALYVODA, O. et al. DNA damage and repair in lymphocytes of normal individuals and cancer patients: studies by the comet assay and micronucleus tests. **Acta Biochimica Polonica**, v. 50, n. 1, p. 181–190, 2003.

PANTELIĆ, G. et al. Qualitative overview of indoor radon surveys in Europe. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 204, p. 163–174, 2019.

PAPADOPOULOS, A. et al. Radioactive secular equilibrium in ^{238}U and ^{232}Th series in granitoids from Greece. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 75, p. 95–104, 2013.

PATHAK, A. Interaction of radiation with matter. In: PATHAK, A. (org.). **Tools and techniques in radiation biophysics**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. p. 75-92.

PEARSON, D. D. et al. Modern sources of environmental ionizing radiation exposure and associated health consequences. In: **Genome stability**. Academic Press, 2021. p. 603-619.

PERRY, C. C. et al. DNA condensation by cysteine containing tetra-arginine ligands as a model for ionizing radiation damage to chromatin. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 213, p. 111216, 2023.

PESSOA CARVALHO SANTOS, F. de. **RADIONUCLÍDEOS NATURAIS EM ÁGUA MINERAIS COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE RECIFE-PE**. [S.l.: s.n.], [s.d.].

PINO, E. S.; GIOVEDI, C. Radiação ionizante e suas aplicações na indústria. **UNILUS Ensino e Pesquisa**, v. 2, n. 2, p. 47-52, 2013.

PINTO, I. et al. **Radioatividade: Apostila educativa**. [S.l.]: CNEN, [s.d.]. Disponível em: [URL, se disponível].

POLACHOVA, A. et al. Biomonitoring of 89 POPs in blood serum samples of Czech city policemen. **Environmental Pollution**, v. 291, p. 118140, 2021.

RAAVI, V.; PERUMAL, V.; F.D. PAUL, S. Potential application of $\gamma\text{-H2AX}$ as a biodosimetry tool for radiation triage. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 787, p. 108350, 2021.

RADVANYI, P.; VILLAIN, J. The discovery of radioactivity. **Comptes Rendus Physique**, v. 18, n. 9-10, p. 544-550, 2017.

RAYMOND L. MURRAY; KEITH E. HOLBERT. **Nuclear energy: an introduction to the concepts, systems, and applications of nuclear processes**. 8. ed. [s.l.] Elsevier, 2020.

RESTIER-VERLET, J. et al. Radiation on earth or in space: what does it change? **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 7, p. 3739, 2021.

RIVIELLO-FLORES, M. de la L. et al. Use of gamma radiation for the genetic improvement of underutilized plant varieties. **Plants**, v. 11, n. 9, p. 1161, 2022.

RODRIGUES, F. A. R. **Biomonitoramento toxicogenético como indicador de risco à saúde por exposição ao urânio de residentes que habitam as proximidades da maior reserva de urânio do Brasil, no município de Santa Quitéria–Ceará**. 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

SÁ, J. R. et al. Interação da Física das Radiações com o Cotidiano: uma prática multidisciplinar para o Ensino de Física. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 39, n. 1, p. e1503, 2017.

SAAD, S. **Economic aspects of the uranium extraction connected to phosphates found in Brazil**. Rio de Janeiro: Comissão Nacional de Energia Nuclear do Brasil, 1974.

SAIGUSA, Y. et al. Biological effects of high-LET irradiation on the circulatory system. **International Journal of Radiation Biology**, v. 101, n. 5, p. 429-452, 2025.

SALEH, Hosam M.; HASSAN, Amal I. Introductory Chapter: Exploring the Multifaceted Applications of Gamma Rays in Science and Technology. In: **Gamma Rays-Current Insights**. IntechOpen, 2024.

SALIM, L. A. **Uso do RAD7 para a caracterização do torônio em águas de estâncias hidrominerais**. 2013. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2013.

SANTOS AMARAL, R. dos et al. Risk survey for the population of Recife and neighboring cities due to the occurrence of radium in groundwater. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 247, p. 106868, 2022.

SANTOS JÚNIOR, J. A. dos. **Avaliação radiométrica do U-238, Ra-226, Th-232 e K-40 em uma área anômala do agreste de Pernambuco**. 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

SAVABIEASFAHANI, M.; BASHER AHAMADANI, F.; MAHDAVI DAMGHANI, A. Living near an active U.S. military base in Iraq is associated with significantly higher

hair thorium and increased likelihood of congenital anomalies in infants and children. **Environmental Pollution**, v. 256, p. 113070, 2020.

SAWAYA, R. et al. Stereotactic Radiosurgery for Brain Metastases: A Review. **Journal of Clinical Oncology**, v. 34, n. 26, p. 3174-3181, 2016.

SCHAUE, D.; MCBRIDE, W. T lymphocytes and normal tissue responses to radiation. **Frontiers in Oncology**, v. 2, 2012.

SHUCK, S. C.; SHORT, E. A.; TURCHI, J. J. Eukaryotic nucleotide excision repair, from understanding mechanisms to influencing biology. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, n. 19, p. 3065-3080, 2008.

SILVA FILHO, C. A. et al. Radioactive risk evaluation of mineral water in the Metropolitan Region of Recife, Northeastern Brazil. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 295, n. 2, p. 1215–1220, fev. 2013.

SITTONI, M. Y. **Modelagem estocástica dos efeitos biológicos de radiação ionizante de baixa intensidade**. 2019. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

SMITH, T. A. et al. Radioprotective agents to prevent cellular damage due to ionizing radiation. **Journal of Translational Medicine**, v. 15, n. 1, p. 232, 2017.

SUKANYA, S.; NOBLE, J.; JOSEPH, S. Factors controlling the distribution of radon (^{222}Rn) in groundwater of a tropical mountainous river basin in southwest India. **Chemosphere**, v. 263, p. 128096, 2021.

TAUHATA, L. et al. **Radioproteção e dosimetria: fundamentos**. Rio de Janeiro: CBPF, 2003.

TAUHATA, L. et al. **RADIOPROTEÇÃO E DOSIMETRIA: FUNDAMENTOS**. 9. ed. Rio de Janeiro: IRD/CNEN, 2013.

TETTEY-LARBI, L. et al. Natural radioactivity levels of some medicinal plants commonly used in Ghana. **SpringerPlus**, v. 2, p. 1-9, 2013.

THABAYNEH, K. M.; GHARAYBEH, A. E. Determination of the radiation dose from radon ingestion and inhalation in different types of drinking water samples collected from Bethlehem province –Palestine. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 200, p. 110972, 2023.

THAKUR, P.; WARD, A. L.; GONZÁLEZ-DELGADO, A. M. Optimal methods for preparation, separation, and determination of radium isotopes in environmental and biological samples. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 228, p. 106522, 2021.

THIELEN, H. The Fukushima Daiichi nuclear accident—an overview. **Health physics**, v. 103, n. 2, p. 169-174, 2012.

THUKRAL, R. et al. Effects of different radiations of electromagnetic spectrum on human health. In: IEEE INTERNATIONAL STUDENTS' CONFERENCE ON ELECTRICAL, ELECTRONICS AND COMPUTER SCIENCE (SCEECS), 2020. **Anais...** IEEE, 2020. p. 1-6.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Princípios De Anatomia E Fisiologia**. 16. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023.

TRIFILETTI, D. M. et al. The evolution of stereotactic radiosurgery in neurosurgical practice. **Journal of neuro-oncology**, v. 151, n. 3, p. 451-459, 2021.

TRIGO, L. A. Í. S. S. et al. In vitro analysis of the suitability of different biodosimetric techniques for the study of human biomonitoring with low concentrations of Radon-222. **Applied Radiation and Isotopes**, p. 111918, 2025.

UNSCEAR. **Sources and effects of ionizing radiation: United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation: UNSCEAR 2008 report to the General Assembly, with scientific annexes**. Nova York: United Nations, 2008.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME. **Radiation: effects and sources**. Tradução do Instituto de Radioproteção e Dosimetria da Comissão Nacional de Energia Nuclear do Brasil. Nairobi: United Nations Environment Programme, 2016. Disponível em: https://www.unscear.org/docs/publications/UNEP_Radiation_Effects_PT.pdf. Acesso em: 05 ago. 2025.

VAISERMAN, A. et al. Health impacts of low-dose ionizing radiation: current scientific debates and regulatory issues. **Dose-Response**, v. 16, n. 3, p. 1559325818796331, 2018.

VALVERDE, M.; ROJAS, E. Environmental and occupational biomonitoring using the Comet assay. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 681, n. 1, p. 93–109, 2009.

VAN DE KAMP, G. et al. DNA double strand break repair pathways in response to different types of ionizing radiation. **Frontiers in Genetics**, v. 12, p. 738230, 2021.

VELLAYAPPAN, B. et al. A systematic review informing the management of symptomatic brain radiation necrosis after stereotactic radiosurgery and international stereotactic radiosurgery society recommendations. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics***, v. 118, n. 1, p. 14-28, 2024.

VIEGAS, S. et al. Biomonitoring as an underused exposure assessment tool in occupational safety and health context—challenges and way forward. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 16, p. 5884, 2020.

VINNIKOV, Volodymyr A.; BELYAKOV, Oleg. Radiation exposure biomarkers in the practice of medical radiology: cooperative research and the role of the International Atomic Energy Agency (IAEA) Biodosimetry/Radiobiology Laboratory. **Health Physics**, v. 119, n. 1, p. 83-94, 2020.

WANG, Y. et al. Evaluation of the comet assay for assessing the dose-response relationship of DNA damage induced by ionizing radiation. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 11, p. 22449-22461, 2013.

WANG, Tian et al. Sensitive detection of FPG based on 8-oxoG modified chimeric peptide-DNA enzyme for oxidative damage evaluation. **Talanta**, v. 283, p. 127118, 2025.

WANJARI, M.; MITTAL, G.; PRASAD, R. RETRACTED ARTICLE: Precision in focus: the evolving role of stereotactic radiosurgery in modern neurosurgery. **Neurosurgical Review**, v. 47, n. 1, p. 532, 2024.

WEI, J. et al. Radiation-induced normal tissue damage: oxidative stress and epigenetic mechanisms. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, n. 1, p. 3010342, 2019.

WHITAKER, A. M. et al. Base excision repair of oxidative DNA damage: from mechanism to disease. **Frontiers in bioscience (Landmark edition)**, v. 22, p. 1493, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Les radiations ionisantes dans les domaines de la medecine et de la sante publique**. Genebra: WHO, 1959.

WUFUER, R. et al. A survey of uranium levels in urine and hair of people living in a coal mining area in Yili, Xinjiang, China. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 189, p. 168–174, 2018.

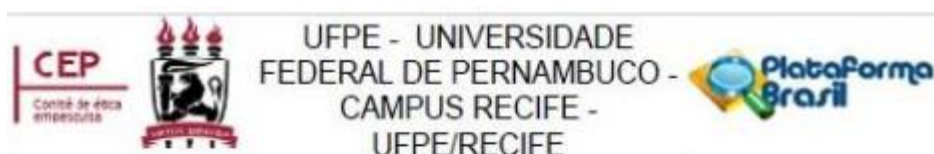
XIAO, C. et al. Research progress on biodosimeters of ionizing radiation damage. **Radiation Medicine and Protection**, v. 1, n. 3, p. 127–132, 2020.

YU, L. et al. Thorium inhibits human respiratory chain complex IV (cytochrome c oxidase). **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, p. 127546, 2022.

ZARE JEDDI, M. et al. Towards a systematic use of effect biomarkers in population and occupational biomonitoring. **Environment International**, v. 146, p. 106257, 2021.

ZURI, G.; KARANASIOU, A.; LACORTE, S. Human biomonitoring of microplastics and health implications: A review. **Environmental Research**, v. 237, p. 116966, 2023

ANEXO A



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL RADIOMODIFICADOR E IMUNODULADOR DE LECTINAS EXTRAÍDAS DE EXTRATOS VEGETAIS

Pesquisador: OSANA DINIZ FERREIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 50965221.5.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.024.293

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de tese da Doutoranda OSANA DINIZ FERREIRA sob a orientação da Professora ANA MARIA MENDONÇA DE ALBUQUERQUE MELO vinculada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). O projeto será realizado no Laboratório de Radiobiologia do Departamento de Biofísica e Radiobiologia da UFPE. A proposta consiste basicamente na análise da hipótese: As lectinas SteLL, MoFTI e MvFL obtidas de extratos vegetais apresentam atividades radioprotetoras e/ou imunomodulatórias in vitro e in vivo. Para este fim realizar-se-á um estudo com 20 participantes voluntários saudáveis, de ambos os sexos e com faixa etária de 18 a 55 anos. De cada um dos participantes voluntários serão coletadas amostras de 10 ml de sangue. Posteriormente cada amostra sanguínea será processada com metodologia adequada para isolamento e cultivo das células mononucleares. As células mononucleares serão utilizadas para avaliação da citotoxicidade e efeito radioprotetor das lectinas. Os critérios de inclusão e exclusão dos voluntários estão devidamente delineados. Os dados serão analisados estatisticamente empregando o programa STATA v.12. Adicionalmente todos os dados serão mantidos em sigilo e armazenados por um período de 5 anos, sob a responsabilidade da pesquisadora principal.

O presente trabalho faz parte do trabalho intitulado neste parecer, portanto recebemos autorização para utilizá-lo.

ANEXO B

Questionário de Anamnese

I-DADOS PESSOAIS

Nº do Voluntário: _____

Sexo: M ☐ F ☐ Idade: _____ Data de hoje _/ _/ _

Estado civil: Solteiro ☐; Casado ☐; Viúvo ☐; Divorciado ☐; Outros ☐

Cargo: _____

Grau de Instrução(escolaridade):

☐ Não estudou/Primário Incompleto

☐ Primário Completo/Ginasial Incompleto

☐ Ginásio Completo/Colegial Incompleto

☐ Colegial Completo/Superior Incompleto

☐ Superior Completo / Pós-Graduação Incompleta

☐ Pós-Graduação Completa

Total de Pessoas na Família: [_____]

II-INDICADORES GERAIS DE SAÚDE

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

☐ Nunca fumei ☐ fumo de dez a vinte cigarros por dia

☐ parei de fumar há mais de dois anos ☐ fumo mais que vinte cigarros por dia

☐ parei de fumar a menos de dois anos ☐ só fumo charuto ou cachimbo

☐ fumo menos de dez cigarros por dia

Quanto "drinques" você toma **POR SEMANA?** (um drink = 1/2 garrafa de cerveja, um copo de vinho ou uma dose de destilado).

☐ nenhum ☐ menos que três ☐ cinco a dez ☐ mais que dez

O Sr(a) foi submetido a qualquer procedimento envolvendo o uso de radiação nos últimos seis meses? Sim ☐ Não ☐

O Sr(a) apresentou algum sintoma da COVID-19?

Qual(is)? _____

O Sr(a) recebeu qualquer tipo de vacinação nos últimos seis meses? Sim ☐ Não ☐

Qual(is)? _____