



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E
NUCLEARES

THÂMARA RAYSSA DA MOTA

**USO DE NANOPARTÍCULAS DE SULFETO DE COBRE (CuS) EM
BIODOSIMETRIA PARA AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE ESPÉCIES REATIVAS DE
OXIGÊNIO (ROS) EM PLASMA SANGUÍNEO IRRADIADO**

Recife

2022

THÂMARA RAYSSA DA MOTA

**USO DE NANOPARTÍCULAS DE SULFETO DE COBRE (CuS) EM
BIODOSIMETRIA PARA AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE ESPÉCIES REATIVAS DE
OXIGÊNIO (ROS) EM PLASMA SANGUÍNEO IRRADIADO**

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

Área de concentração: Dosimetria e Instrumentação Nuclear.

Orientador: Prof. Dr. Ademir de Jesus Amaral.

Coorientadora: Profa. Dra. Kátia Aparecida da Silva Aquino.

Recife

2022

Catálogo na fonte
Bibliotecário Gabriel Luz, CRB-4 / 2222

- M917u Mota, Thâmara Rayssa da.
 Uso de nanopartículas de sulfeto de cobre (CuS) em biodosimetria para
 avaliação dos níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) em plasma
 sanguíneo irradiado / Thâmara Rayssa da Mota, 2023.
 63 f.: il.
- Orientador: Prof. Dr. Ademir de Jesus Amaral.
 Coorientadora: Profa. Dra. Kátia Aparecida da Silva Aquino.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG.
 Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Recife,
 2023.
 Inclui referências.
1. Tecnologias energéticas e nucleares. 2. Nanopartículas de CuS.
 3. ROS. 4. Estresse oxidativo. 5. Radiossensibilidade. I. Amaral, Ademir de
 Jesus (Orientador). II. Aquino, Kátia Aparecida da Silva (Coorientadora). III.
 Título.

612.01448 CDD (22. ed.)

UFPE
BCTG / 2023 - 260

THÂMARA RAYSSA DA MOTA

**USO DE NANOPARTÍCULAS DE SULFETO DE COBRE (CUS) EM
BIODOSIMETRIA PARA AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE ESPÉCIES REATIVAS DE
OXIGÊNIO (ROS) EM PLASMA SANGUÍNEO IRRADIADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares. Área de concentração: Dosimetria e Instrumentação Nuclear.

Aprovada em: 29/04/2022.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Edvane Borges da Silva (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Simey de Souza Leão Pereira Magnata (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. André Maciel Netto (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho a todos aqueles que veem a radioatividade como um fenômeno encantador.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao grande amor da minha vida, minha mãe, Vitória Mota, por todo amor e dedicação. Ela foi a mulher mais incrível que habitou esse planeta.

Aos meus pais de coração, Maria de Fátima Mota e Francisco Mota, que sempre me auxiliaram incondicionalmente e contribuíram diretamente para minha formação educacional. Amo muito vocês!

Ao meu cabeludo, Victor Oliveira, por todo carinho, companheirismo, cuidado e amor. Ele sempre esteve comigo nessa trajetória acadêmica, ele é parte disso tudo. Te amo!

Aos meus orientadores Dr. Ademir Amaral e Dra. Kátia Aquino, pela confiança em delegar a mim a responsabilidade do desenvolvimento desse trabalho, além de toda paciência, incentivo e dedicação.

Agradeço a todos que fazem parte do GERAR, em especial, aos meus amigos Luciano Lucena e Amanda Iumatti, vocês foram fundamentais na realização desse trabalho e contribuíram muito na minha formação. Serei eternamente grata!

Aos funcionários do Departamento de Energia Nuclear, por todo auxílio nos momentos que precisei. Em especial, agradeço a Tia Lia por todo carinho e cuidado. A senhora é muito especial!

Agradeço a Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Energia Nuclear e ao Laboratório de Modelagem e Biodosimetria Aplicada (LAMBDA), por disponibilizarem estrutura física e intelectual para o desenvolvimento das atividades realizadas.

À FACEPE e a Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), por todo incentivo financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

"As equações não explodem." (Bertrand RUSSELL)

RESUMO

A interação da Radiação Ionizante (RI) com a matéria se traduz pela transferência de energia da radiação para o meio irradiado, resultando na ionização de átomos desse meio. Nos seres vivos, a RI é capaz de induzir alterações no Ácido Desoxirribonucleico (DNA, em inglês), molécula localizada no núcleo celular, que contém as informações essenciais ao desenvolvimento, funcionamento e transmissão de características hereditárias. Os efeitos da radiação sobre a molécula de DNA podem ser classificados em diretos e indiretos. No efeito direto, a radiação interage sobre a molécula de ácido desoxirribonucleico podendo causar quebras nas ligações das bases ou nas cadeias de sua estrutura. No chamado efeito indireto, a interação da radiação ionizante ocorre predominantemente com a molécula d'água, que é a mais abundante do corpo humano. Assim, esse fenômeno de interação, mais conhecido como radiólise da água, é significativamente importante na formação das Espécies Reativas de Oxigênio (ROS, em inglês) e fundamental para o entendimento dos riscos associados à exposição individual às radiações ionizantes (RIs). Uma vez que, quanto maior o nível de exposição humana às RIs, maior a formação de ROS no tecido, faz-se necessário o estabelecimento de uma metodologia de avaliação dos níveis de espécies reativas de oxigênio a fim de contribuir em ações para a atenuação dos efeitos radioinduzidos. Neste contexto, esta pesquisa investigou a viabilidade do uso de nanopartículas de Sulfeto de Cobre (CuS) como um nanobiossensor da resposta individual ao estresse oxidativo radioinduzido, a partir de amostras de sangue periférico humano. De cada voluntário, amostras com 9 mL foram coletadas e divididas em 3 alíquotas, sendo uma controle (não irradiada) e duas outras que foram irradiadas *in vitro*, separadamente, com doses de 3 e 5 Gy. Constatou-se diferenças nos níveis de absorbância da complexação entre as nanopartículas de CuS e as espécies reativas, no plasma sanguíneo, variando com a dose. Os resultados obtidos sugerem que a metodologia proposta nesta pesquisa poderá fornecer uma rápida avaliação da radiosensibilidade individual, possibilitando sua utilização na previsão da resposta de tecidos irradiados.

Palavras-chave: nanopartículas de CuS; ROS; estresse oxidativo; radiosensibilidade.

ABSTRACT

The interaction of Ionizing Radiation (IR) with matter translates into the transfer of energy from the radiation to the irradiated medium, resulting in the ionization of atoms in that medium. In living beings, IR can induce changes in Deoxyribonucleic Acid (DNA), a molecule located in the cell nucleus, which contains essential information for developing, functioning, and transmitting hereditary characteristics. The effects of radiation on the DNA molecule can be classified as direct and indirect. In a direct effect, the radiation interacts with the deoxyribonucleic acid molecule and can cause breaks in the bonds of the bases or the chains of its structure. In the so-called indirect effect, ionizing radiation interacts predominantly with the water molecule, which is the most abundant in the human body. Thus, this interaction phenomenon, better known as water radiolysis, is important in forming Reactive Oxygen Species (ROS) and fundamental for understanding the risks associated with individual exposure to Ionizing Radiation. The higher the level of human exposure to IR, the greater the formation of ROS in the tissue, it is necessary to establish a methodology for evaluating the levels of reactive oxygen species to contribute to actions to attenuate the radio-induced effects. In this context, this research investigated the feasibility of using Copper Sulfide nanoparticles (CuS) as a nanobiosensor of the individual response to radio-induced oxidative stress from human peripheral blood samples. From each volunteer, 9 mL samples were collected and divided into 3 aliquots, one control (non-irradiated), and two irradiated in vitro, with doses of 3 and 5 Gy. Differences in the absorbance levels of complexation between CuS nanoparticles and reactive species were found in blood plasma, varying with dose. The results suggest that the methodology proposed in this research may provide a quick assessment of individual radiosensitivity, enabling its use in predicting the response of irradiated tissues.

Keywords: CuS nanoparticles; ROS; oxidative Stress; radiosensitivity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação esquemática do mecanismo direto e indireto da radiação ao interagir com a molécula de DNA.....	19
Figura 2 –	Principais reações durante a radiólise da água.	20
Figura 3 –	Representação da cadeia transportadora de elétrons.	22
Figura 4 -	Cascada de formação das espécies reativas de oxigênio.....	25
Figura 5 -	Sonda emissora de ultrassom utilizada em sistemas sonoquímico.	30
Figura 6 –	Cavitação acústica transitória.....	31
Figura 7 –	Imagem obtida por MEV de nanocargas de CuO.	32
Figura 8 –	Micrografia por MEV das nanocargas de CuS enoveladas por halos.	33
Figura 9 –	Micrografia por MEV das NPs de CuS na escala de 250 a 900 nm.	34
Figura 10 –	Tempo de espectroscopia a luz visível (UV –Vis) e reação catalítica por nanopartículas de CuS (cor azul).	36
Figura 11 -	Diagrama de preparação das NPs de CuS.	38
Figura 12 –	Produto final do composto contendo NPs de CuS em microtubo.	39
Figura 13 –	Irradiador (Modelo Gammacell 220 Excel) pertencente do Departamento de Energia Nuclear da UFPE.	40
Figura 14 –	Configuração molecular do TMB.	41
Figura 15 –	Espectrofotômetro (Modelo Meter SP - 2000 UV) pertencente ao LAMBDA.	42
Figura 16 -	Fluxograma metodológico.....	42
Figura 17 –	Experimento 1 do Voluntário A: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma.	44
Figura 18 –	Experimento 2 do Voluntário A: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma.	44
Figura 19 –	Coloração azul obtida a partir da reação de TMB + NPs de CuS + ROS.	45
Figura 20 –	Experimento 1 do Voluntário B: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma.	47
Figura 21 –	Experimento 2 do Voluntário B: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma.	48
Figura 22 –	Voluntário C: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma.	50
Figura 23 –	Voluntário D: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma.	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Principais espécies reativas de oxigênio e suas características.	24
Tabela 2 -	Relação entre o número total de átomos em agregados e a porcentagem de átomos de superfície.....	28
Tabela 3 -	Características dos voluntários submetidos ao estudo.	43
Tabela 4 -	Diferença dos valores de doses obtidos no experimento 1 e 2 do Voluntário A.	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	<u>A</u> cquired <u>I</u> mmunode <u>f</u> iciency <u>S</u> yndrome (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)
ATP	<u>A</u> denosine <u>T</u> riphosphate (Trifosfato de Adenosina)
BAP	<u>B</u> iological <u>A</u> ntioxidant <u>P</u> otential (Potencial Antioxidante Biológico)
D	<u>D</u> ose <u>A</u> bsorvida
DEN	<u>D</u> epartamento de <u>E</u> nergia <u>N</u> uclear
DMSO	<u>D</u> imetil <u>s</u> ulfó <u>x</u> ido
DNA	<u>D</u> eoxyribo <u>n</u> ucleic <u>A</u> cid (Ácido Desoxirribonucleico)
DRX	<u>D</u> ifração de <u>R</u> aios- <u>X</u>
FTIR	<u>F</u> ourier <u>T</u> ransform <u>I</u> nfr <u>ar</u> ed (Infravermelho por Transformada de Fourier)
LAMBDA	<u>L</u> aboratório de <u>M</u> odelagem e <u>B</u> iodosimetria <u>A</u> plicada
LET	<u>L</u> inear <u>E</u> nergy <u>T</u> ransfer (Transferência Linear de Energia)
MEV	<u>M</u> icroscopia <u>E</u> letrônica de <u>V</u> arredura
nm	<u>N</u> anô <u>m</u> etro
NPs	<u>N</u> anopartículas
PBS	<u>P</u> hosphate <u>B</u> uffered <u>S</u> aline (Solução Tampão de Fosfato)
RI	<u>R</u> adiação <u>I</u> onizante
RI _s	<u>R</u> adiações <u>I</u> onizantes
RL _s	<u>R</u> adicaís <u>L</u> ivres
ROS	<u>R</u> eactive <u>O</u> xygen <u>S</u> pecies (Espécies Reativas de Oxigênio)
SI	<u>S</u> istema <u>I</u> nternacional
SPV	<u>S</u> angue <u>P</u> eriférico <u>V</u> enoso
TMB	<u>T</u> etrametilbenzidina
UFPE	<u>U</u> niversidade <u>F</u> ederal de <u>P</u> ernambuco
UV-Vis	Espectroscopia no <u>U</u> ltravioleta <u>V</u> ísivel

LISTA DE SÍMBOLOS

$O_2^{\circ-}$	Superóxido de Oxigênio
H_2O^+	Molécula de Água em Estado Excitado
H_3O^+	Molécula de Hidroxônio
OH^-	Hidroxila
H_2O_2	Peróxido de Hidrogênio
CuS	Sulfeto de Cobre ou Sulfeto de Cobre II
Z	Número Atômico
O_2	Oxigênio Molecular
H_2O	Molécula de Água
$\Delta\psi$	Potencial Eletrônico
OH_2^-	Hidroperoxil
O_2°	Oxigênio Diatômico Excitado
Fe^{+3}	Íon Férrico
Fe^{+2}	Íon Ferroso
Cu^{+2}	Íons Cuproso
DA	Dose Absorvida
dE	Quantidade de energia depositada em dado ponto de interesse
dm	Quantidade de massa encerrada em dado ponto de interesse
dL	Quantidade de comprimento em dado ponto de interesse
MoS_2	Sulfeto de Molibdênio
CuO	Óxido de Cobre
S	Enxofre
H_2S	Sulfeto de Hidrogênio
Cu_2S	Sulfeto de Cobre I
$CuSO_4$	Sulfato de Cobre I
$CuCl_2$	Cloreto de Cobre II
CH_3CSNH_2	Tioacetamida
$EtOH\ PA$	Álcool Etílico Absoluto
C_3H_6O	Acetona

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	OBJETIVO	16
1.1.1	Objetivos Específicos	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	RADIAÇÃO IONIZANTE.....	17
2.1.1	Radiobiologia	18
2.1.2	Mecanismo de ação das radiações ionizantes em meios biológicos	18
2.2	RADICAIS LIVRES	20
2.3	ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ROS)	22
2.3.1	PRINCIPAIS ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO	23
2.4	DOSIMETRIA DAS RADIAÇÕES IONIZANTES	26
2.4.1	Dosimetria biológica (Biodosimetria)	27
2.5	NANOTECNOLOGIA	27
2.5.1	Caracterização de Nanopartículas de Sulfeto de Cobre II	32
2.6	APLICAÇÕES DA NANOTECNOLOGIA NA CIÊNCIA BIOMÉDICA.....	34
3	MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1	ASPECTOS ÉTICOS	37
3.1.1	Seleção da população.....	37
3.1.2	Preparação das nanocargas de sulfeto de cobre II	37
3.1.3	Caracterização das nanocargas de CuS.....	38
3.1.4	Obtenção das amostras (amostragem).....	39
3.2	IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS <i>IN VITRO</i>	39
3.3	OBTENÇÃO E CONFECÇÃO DO PLASMA	40
3.4	ANÁLISE DAS AMOSTRAS	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	43
4.1	VOLUNTÁRIOS	43
4.1.1	Voluntário A.....	43
4.1.2	Voluntário B	46
4.1.3	Voluntário C.....	49
4.1.4	Voluntário D.....	51
5	CONCLUSÃO.....	53
	REFERÊNCIAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

As interações das radiações ionizantes (RIs) com a matéria se traduzem pela transferência de energia da radiação para o meio irradiado, resultando ionização ou ativação do núcleo de átomos e moléculas desse meio. Na ionização os elétrons são removidos de átomos ou moléculas, resultando em elétrons de altas energias, radicais livres ou íons positivos. Por outro lado, no processo de ativação do núcleo, radiações com energia superior à energia de ligação dos nucleons com um material, pode provocar reações nucleares, resultando num núcleo residual e emissão de radiação (OKUNO; CALDAS; CHOW, 1986; YOSHIMURA, 2009).

Em humanos, as interações das RIs podem resultar em alterações de biomoléculas. Neste caso, as interações com as moléculas de ácido desoxirribonucleico (DNA – *Deoxyribonucleic acid*) são significativamente importantes, uma vez que esse biocomplexo molecular contém as informações essenciais ao desenvolvimento, funcionamento e transmissão de características hereditárias (OKUNO; CALDAS; CHOW, 1986). Do ponto de vista biológico, os efeitos da radiação sobre a molécula de DNA podem ser classificados em diretos e indiretos. No efeito direto, a radiação interage diretamente sobre a molécula podendo resultar em quebras nas ligações das bases ou nas cadeias da estrutura. Nos chamados efeitos indiretos, a interação ocorre predominantemente com a molécula de água, que é a mais abundante no corpo humano, chegando a 70% no meio intracelular. Assim, nesse fenômeno de interação, mais conhecido como radiólise, existe a formação de espécies reativas que incluem radicais livres, os quais, possuem papel fundamental nos riscos associados à exposição individual às RIs (FERNANDES; LOYD; AMARAL, 2008; MURIEL, 2006).

Entre as espécies químicas reativas independentes, contendo elétrons desemparelhados, formadas durante a radiólise, destacam-se às espécies reativas de oxigênio (ROS – *Reactive Oxygen Species*); a exemplo de: $O_2^{\bullet-}$, H_2O^+ , H_3O^+ . Essas estruturas moleculares são instáveis e por sua vez formam outros radicais como o radical hidroxila (OH^{\bullet}), que se caracteriza pelo seu alto poder de reatividade, sendo bastante prejudicial ao organismo e precursor do estresse oxidativo (YEUM *et al.*, 2004). Ao longo da interação da radiação com os tecidos, podem ainda ser formadas outras espécies químicas, dentre elas destaca-se o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que possui maior estabilidade devido à ausência de elétrons desemparelhados. Embora seja uma molécula com estrutura apolar, ela apresenta um alto poder oxidante, reagindo fortemente com grupamentos sulfidrilas existentes em várias moléculas biológicas, dentre elas o DNA que na maioria das vezes participa das reações orgânicas deletérias (APEL; HIRT, 2004).

A grandeza física fundamental na avaliação dos efeitos biológicos radioinduzidos é a dose absorvida (ou simplesmente dose), definida como a quantidade de energia depositada pela

radiação por unidade de massa do volume irradiado. Aliada à dosimetria física, a dosimetria biológica (biodosimetria) conduz uma avaliação de variações quantitativas de parâmetros biológicos (bioindicadores), uma vez que quanto maior a dose, maior será a formação das ROS no organismo (PINTO; SANTOS; AMARAL, 2010).

Diante dessas implicações, é indispensável buscar compreender os fenômenos bioquímicos associados à interação das RIs com a matéria humana. Com isso, a procura por novas tecnologias tem ganhado destaque na literatura científica das diferentes áreas do conhecimento, dentre elas, está o uso de nanopartículas (NPs). Formada de estruturas com dimensões variando de 1 a 100 nanômetro (nm), as NPs possuem elevada superfície de contato, atribuindo-lhes propriedades representativas. Vistas como moléculas, elas apresentam estruturas significativamente grandes, proporcionando-lhes acesso a propriedades com comportamento quântico que não são acessíveis de outra maneira. Já na perspectiva material, são tão pequenas que exibem características que não são observadas em estruturas maiores. Dentre os nanomateriais, destacam-se as nanocargas magnéticas e as formadas por sulfetos que atualmente são de grande interesse nas aplicações industriais, meio-ambiente e biomédica (MARTINS; SILVA; DE ANDRADE, 2010; ZANONI *et al.*, 2019).

Em 2013, Dutta e colaboradores publicaram um estudo onde foi apresentada a utilização de NPs de sulfeto de cobre (CuS) como peroxidase simulada para mensurar os níveis de glicose no sangue humano. Considerando que ela é uma enzima presente no plasma sanguíneo, sua concentração indica o nível de estresse ao qual o organismo está submetido, pois ela atua diretamente na reação química que tem como produto moléculas de H_2O_2 . Nesse trabalho, as nanocargas exibiram excelentes propriedades catalíticas, equilíbrio e dispersibilidade em comparação a outras nanoestruturas. Elas também foram utilizadas com sucesso na determinação quantitativa de H_2O_2 como biomiméticos da enzima peroxidase para detecção colorimétrica dos valores de glicose (DUTTA *et al.*, 2013).

De modo geral, as espécies reativas reagem rapidamente com diversos compostos. A consequência desse fato são os efeitos imediatos e tardios resultantes das interações das RIs com o tecido biológico. Sendo assim, observa-se a importância de estudos que avaliem a correlação da resposta individual ao estresse oxidativo (BUTTERWORTH *et al.*, 2013). Nesse contexto, o presente trabalho investiu na aplicação de uma metodologia rápida e de baixo custo, com intuito de obter uma melhor compreensão aos fenômenos orgânicos associados ao estresse oxidativo radioinduzido.

1.1 OBJETIVO

Avaliar o uso de Nanopartículas de Sulfeto de Cobre como um nanobiossensor da resposta individual ao estresse oxidativo induzido pela exposição às radiações ionizantes em sangue periférico.

1.1.1 Objetivos Específicos

- Otimizar os parâmetros metodológicos de concentração de plasma sanguíneo, NPs de CuS na definição de tempo e de análise dos níveis de absorbância das reações.
- Avaliar os níveis de absorbância das reações entre as NPs de CuS com as espécies reativas resultantes da irradiação in vitro de amostras de sangue periférico com diferentes doses.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RADIAÇÃO IONIZANTE

Radiação é um processo físico de emissão e de propagação de energia por meio de partículas ou de ondas eletromagnéticas em movimento. Consideram-se radiações partículas atômicas ou subatômicas energéticas, como exemplo: partículas alfas, elétrons, pósitrons, prótons e nêutrons, chamadas radiações corpusculares, e as ondas eletromagnéticas, conhecidas como radiações ondulatórias (OKUNO, 2013).

Estudos de Max Planck, Albert Einstein e, posteriormente, de Louis de Broglie, mostraram que uma onda eletromagnética se propaga através de pequenos pacotes de energia denominados fótons, mostrando assim a característica dual da luz ao correlacionar a partícula com a onda. Partindo dessa lógica, qualquer tipo de radiação pode interagir com a matéria, inclusive com a matéria humana e como consequência haverá o depósito de energia no meio. Porém, a forma de interação será dependente da energia da radiação e da natureza do meio absorvedor (OKUNO, 2013; YOSHIMURA, 2009b). Se a energia depositada em um meio for maior que a energia de ligação do elétron ao átomo ou molécula, ela será capaz de arrancar elétrons de átomos ou moléculas presentes neste meio, num processo conhecido como ionização. As RIs são classificadas em dois grupos: radiações diretamente ionizantes e radiações indiretamente ionizantes (YOSHIMURA, 2009b).

As radiações diretamente ionizantes são constituídas de partículas com massa e carga, como elétrons, partículas alfas e fragmentos de fissão nuclear, e atuam por meio do seu campo elétrico, transferindo sua energia para átomos simultaneamente (TONNESSEN; POUNDS, 2011). Partículas que não possuem massa e/ou carga, como os fótons e nêutrons, fazem parte do grupo das radiações indiretamente ionizantes, pois elas interagem de modo individual transferindo sua energia para elétrons que, ao serem arrancados da eletrosfera, irão promover novas ionizações. Estas radiações têm propriedades de percorrer espessuras consideráveis no interior de um material, sem interagir com ele (SIMENELA, 2012). Todas as partículas frutos da dissociação de átomos e moléculas são capazes de interagir, no entanto, a palavra interação é aplicada aos meios cuja energia e/ou direção da radiação é alterada. Ambos os processos são randômicos e por isso, só é possível falar da probabilidade de ocorrência desse evento (OKUNO, 2013; TAUAHATA, LUIZ; SALATI, IVAN; PRINZIO, RENATO DI; PRINZIO, 2013).

2.1.1 Radiobiologia

Os primeiros efeitos biológicos atribuídos às interações das RIs com a matéria orgânica foram observados após a descoberta dos raios-X, por Röntgen, e da radioatividade natural, apresentada por Becquerel, nos anos de 1895 e 1896, respectivamente (FERNANDES, 2005). Em virtude da exposição à radiação, eles verificaram a presença de radiodermite, além do surgimento de câncer radioinduzido em indivíduos que foram expostos as aplicações dos raios-X, com o objetivo de obter imagens do interior do corpo humano (AMARAL, 2005).

A radiobiologia pode ser definida como o ramo da ciência que estuda os efeitos biológicos das RIs, tendo como marco a lei de Bergonie e Tribondeau, datada de 1906, segundo a qual, células imaturas indiferenciadas, como: camada basal da pele, células tronco das mucosas do trato gastrointestinal são mais radiosensíveis (VOGIN; FORAY, 2013), enquanto que, células maduras e bem diferenciadas são consideradas mais radiorressistentes (DÖRR, 2015).

Após a exposição à radiação, o organismo possui mecanismos de reparo ao dano, porém existe um período latente antes de qualquer resposta observável, período este que pode levar décadas, para doses mais baixas, e minutos ou horas, para altas exposições. Para a compreensão dos efeitos biológicos radioinduzidos, os mecanismos de ação da RI se dividem em direto e indiretos (BOLUS, 2017; IAEA, 2008; LOMAX; FOLKES; O'NEILL, 2013).

2.1.2 Mecanismo de ação das radiações ionizantes em meios biológicos

- **Mecanismo direto**

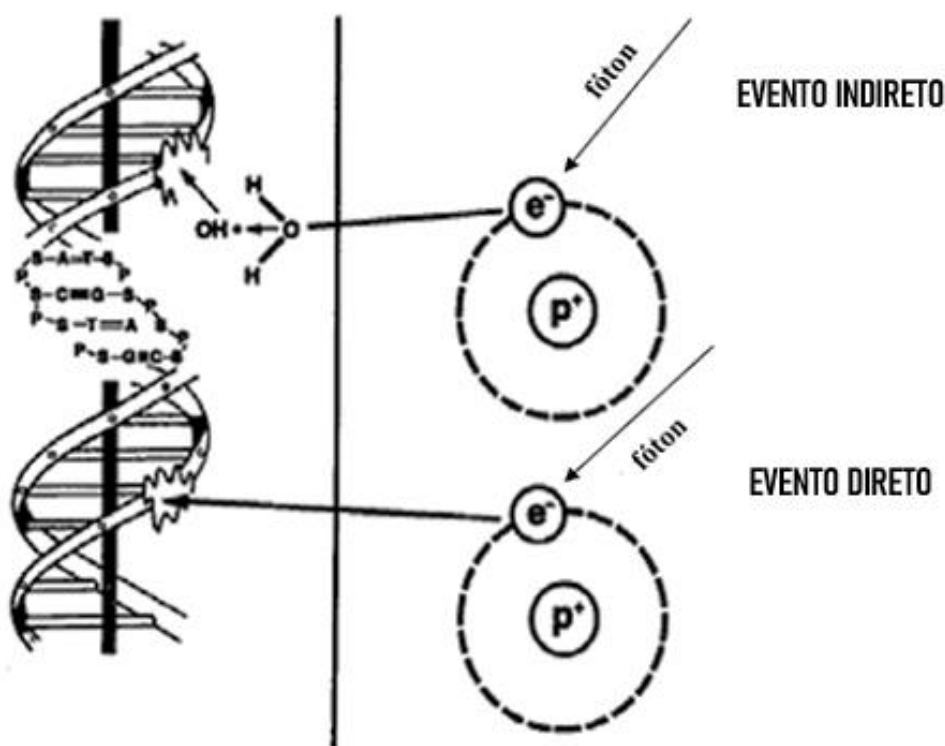
No evento direto, a radiação atinge diretamente a molécula de DNA, danificando a estrutura molecular. Essa mudança estrutural leva a danos na célula ou até a morte dela, condição denominada de apoptose. As células danificadas que sobrevivem podem posteriormente induzir carcinogênese ou outras anormalidades (DURANTE; FORMENTI, 2018; IAEA, 2010).

- **Mecanismo indireto**

Quando a RI interage com a célula, ocorre o depósito de energia da radiação no meio celular. A energia transferida reagirá com as moléculas de água, presente em maior abundância no organismo (PÉREZ-JUSTE; FAZA, 2015). Vale ressaltar que esse efeito é dominante, ou seja, ocorre em maior frequência, pois há uma maior absorção de energia e como produto desse

evento decorrerá uma série de alterações físico-químicas cuja consequência será o desequilíbrio na produção de radicais livres e outras espécies reativas (HENRIQUE RONSINI; COLENCI, 2017; UNGER, 2014). A Figura 1 ilustra o mecanismo de interação da radiação com a matéria.

Figura 1 - Representação esquemática do mecanismo direto e indireto da radiação ao interagir com a molécula de DNA



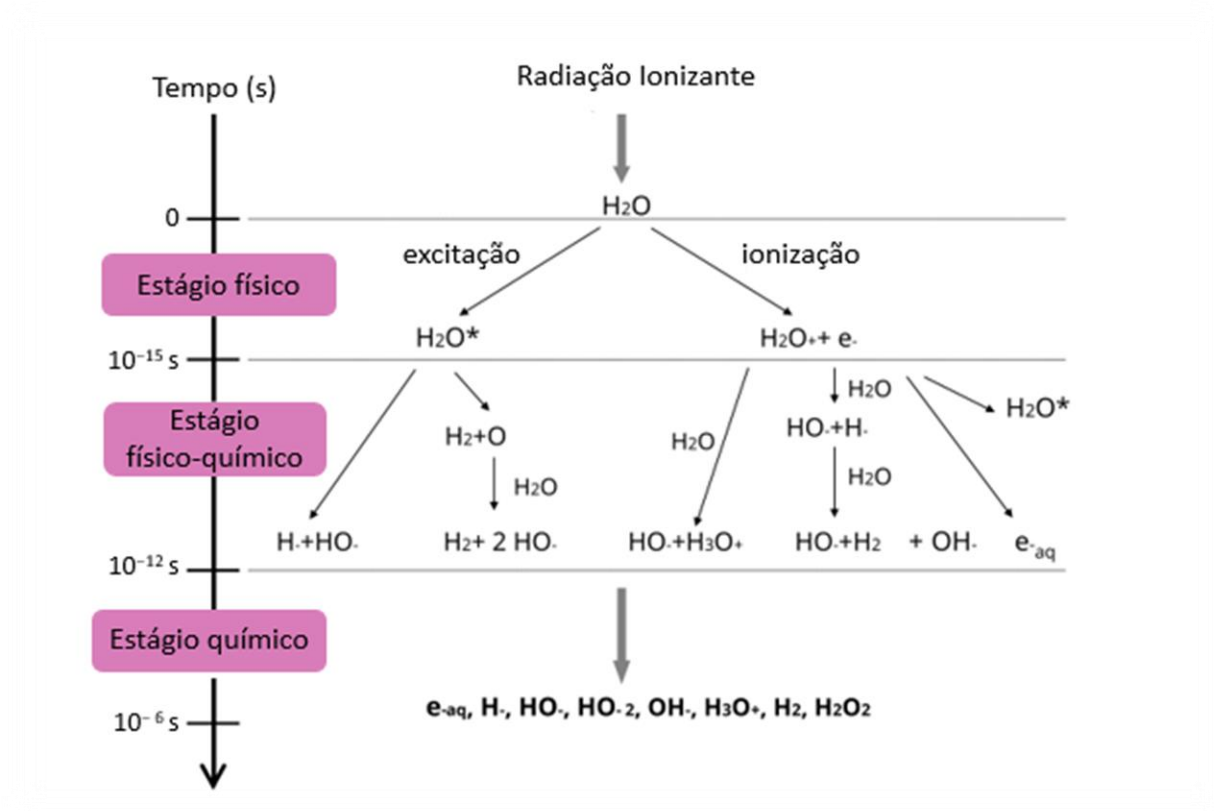
Fonte: Adaptado de HALL; GIACCIA (2012).

A radiólise da molécula de água consiste na quebra das ligações de hidrogênio que compõe sua estrutura molecular. A primeira percepção desse fenômeno ocorreu quando um pesquisador chamado Giesel observou a liberação de dihidrogênio e dioxigênio a partir de uma solução aquosa contendo brometo de rádio. Anos depois, a cientista Marie Curie chamou esse evento de eletrólise de elétrons sem eletrodos ao observar a produção de peróxido de hidrogênio a partir da decomposição das pontes de hidrogênio por ação da RI.

O fenômeno de radiólise acarreta sucessivas reações químicas em cascata a partir da geração de radicais livres no meio aquoso, essas espécies químicas são instáveis e por isso promovem interruptas novas reações (CAËR, 2011). Normalmente, os eventos radiolíticos ocorrem em três estágios principais. O primeiro é o palco físico que acontece cerca de uma fração de segundo após a deposição de energia da radiação seguido do processo de repouso rápido. Isso leva a geração de água ionizada (H_2O^+), água em estado excitado (H_2O^*) e elétrons excitados (e^-) propensos a novas reações. Em seguida, ocorre a fase físico-química (10^{-15} -

10^{-12} s), que resulta na reação entre íons e moléculas, autoionização de estados excitados, solvatação de elétrons, entre outros. Por fim, o estado químico (10^{-12} - 10^{-6} s), onde há a produção de várias espécies químicas que reagem entre si e desse modo, o rastro dessas partículas se expande por consequência da difusão de radicais e suas reações químicas subsequentes (CAËR, 2011). Essas três etapas encontram-se resumidas na Figura 2.

Figura 2 – Principais reações durante a radiólise da água



Fonte: Adaptado de CAËR (2011)

2.2 RADICAIS LIVRES

A estrutura de um átomo é composta por elétrons que orbitam ao redor do núcleo, essa região é conhecida por eletrosfera e ela é composta por um grupo de orbitais atômicos. Dentre eles, há o orbital de valência que é a última camada de distribuição eletrônica do átomo, são neles que existem a máxima probabilidade de se encontrar elétrons, (AVELLO; SUWALSKY, 2006).

Considerando que cada orbital comporta até dois elétrons, quando não há estabilidade (pareamento eletrônico), esses átomos ou moléculas se comportam de modo altamente reativos, justamente pela natureza de buscar o equilíbrio eletrônico. Sabendo disso, define-se Radicais Livres (RLs) como toda espécie química que possui um ou mais de um elétron desemparelhado no orbital de valência (HALLIWELL, 2006; LAMOUREUX; OGILVIE, 2021). Por essa razão,

a ausência do pareamento eletrônico retrata sua elevada instabilidade e, conseqüentemente, em intervalo de tempo, a vida média dos RLs é de milissegundos, visto que, logo após sua geração essas partículas reagem fortemente com elétrons de outros átomos, íons ou moléculas presentes no meio (PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015).

Historicamente, os RLs foram identificados pela primeira vez em 1900, por Moisés Gomberg, nascido no antigo império russo. Na época, a sociedade científica acreditava que esses compostos químicos não existiam em sistemas biológicos, pois eles são capazes de existir de modo independente (LUSHCHAK, 2014). No início dos estudos houve diversos debates em relação a existência dessas estruturas em sistemas biológicos e sua descoberta acarretou diversas críticas importantes no âmbito da ciência, que buscava compreender a presença dessas substâncias em organismos vivos (AVELLO; SUWALSKY, 2006; LUSHCHAK, 2014).

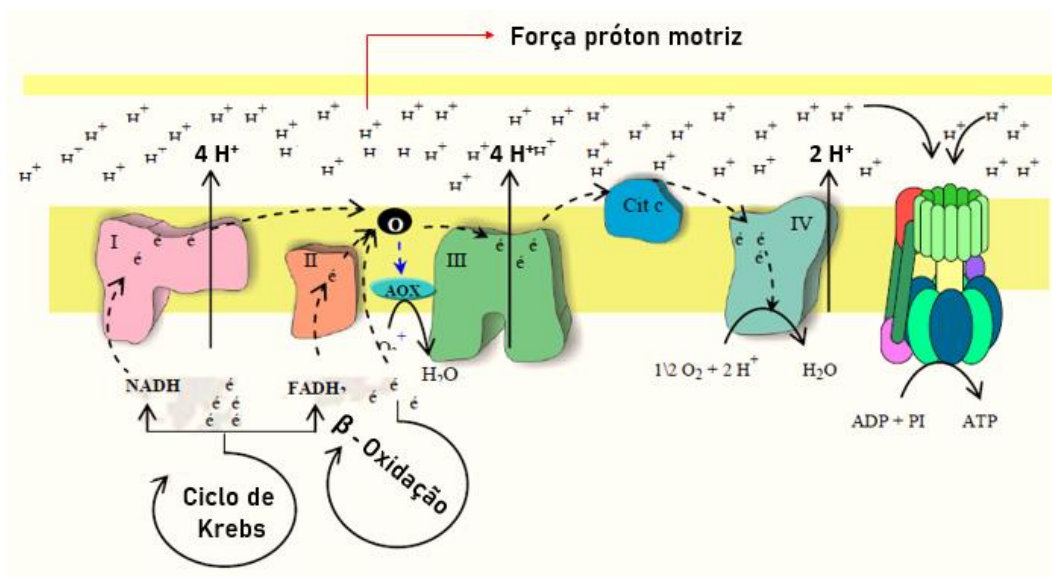
A formação de RLs advém de estruturas celulares, como as membranas das células, especialmente a mitocôndria, que é a principal fonte geradora dessa espécie. Nela, por meio da cadeia transportadora de elétrons, os organismos aeróbicos metabolizam cerca de 85% a 90% do oxigênio absorvido, os demais 10% a 15% são aproveitados por enzimas que participam de reações químicas de oxido-redução direta. Ambos os mecanismos de produção são favorecidos pelos íons de cobre e ferro (BARBOSA *et al.*, 2010; PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015).

Na mitocôndria, o O₂ passa por redução tetravalente, sendo a enzima responsável por catalisar essa reação a citocromo oxidase, também conhecida por complexo IV presente na cadeia transportadora de elétrons. No fragmento final da cadeia, essa enzima oxida quatro moléculas de citocromo *c* e remove um elétron de cada um, esses são acrescentados ao O₂ para formar água (H₂O). A ação do citocromo oxidase comanda a geração de RLs, impedindo sua formação excessiva, porém, em torno de 2% a 5% do O₂ metabolizado são desviados para outra via metabólica e reduzidos de modo proporcional (LOBO *et al.*, 2010; SCHNEIDER; DE OLIVEIRA, 2004).

Os radicais derivados da fosforilação oxidativa, processo que usa a oxidação de coenzimas (NADH e FADH), responsáveis pelo transporte de elétrons, formam uma diferença de potencial eletrônico ($\Delta\psi$) na parte interna e externa da membrana mitocondrial. À medida que ocorre o transporte de elétrons, a energia dissipada através da ejeção de prótons para o espaço intramembranoso origina uma força motriz (DAVIES, 1995). Levando em conta que o oxigênio é um importante agente oxidante, torna-se praticamente impossível afastar reações secundárias, ou seja, aquelas que não estão relacionadas diretamente com a obtenção de energia em forma de trifosfato de adenosina (ATP - *Adenosine Triphosphate*). Em diversos pontos da cadeia de citocromo, elétrons derivados dessa reação têm potencial para reagir fortemente com

o O_2 , originando espécies fruto do oxigênio reativo (SCHNEIDER; REISCHAK DE OLIVEIRA, 2004). A Figura 3 retrata a posição dos prótons no espaço intramembranoso, traduzindo a força motriz presente no meio. Sua concentração busca igualar o gradiente eletroquímico, por meio da bomba que faz a síntese de ATP. Pode-se observar que o bombardeio de prótons provenientes do átomo de hidrogênio ocorre nos complexos I, II e IV.

Figura 3 – Representação da cadeia transportadora de elétrons



Fonte: Adaptado de PINTO *et al.* (2015)

2.3 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ROS)

Espécies reativas de oxigênio são estruturas moleculares formadas em diversos sistemas orgânicos, elas surgem tanto em eventos de caráter fisiológicos quanto patológicos. Considerando que a molécula diatômica de oxigênio é a mais prevalente na crosta terrestre, quase todos os organismos vivos utilizam O_2 como fonte para produzir energia, exceto um pequeno número de bactérias anaeróbicas (MAGDER, 2006). O sentido principal da metabolização desse composto na espécie humana implica em sua completa redução na molécula de H_2O . Quando ocorre redução do O_2 com número menor de elétrons, haverá a produção de ROS e essa estrutura química poderá se apresentar como um átomo, íon ou molécula (SILVA; GONÇALVES, 2010).

Toda forma de vida aeróbica produz esses grupos químicos em seu metabolismo normal e sua produção ocorre nas mesmas estruturas de geração dos RLs, porém tratando-se do ser humano, as ROS possuem importantes funções bioquímicas, como na geração de energia, regulação do crescimento celular, imunidade, fagocitose de agentes estranhos e síntese de substâncias biológicas (HALLIWELL, 2006; LAMOUREUX; OGILVIE, 2021). É importante recordar, que elas possuem um período de meia vida muito curto e a produção desordenada

dessas espécies provoca danos na estrutura celular, desde as membranas lipídicas até mesmo lesões no DNA (BARBOSA *et al.*, 2010; POPRAC *et al.*, 2017).

Vários eventos poderão induzir a produção irregular de ROS, por exemplo, práticas de atividades físicas intensas, lesões teciduais causadas por traumas, algumas infecções causadas por vírus, bactérias ou parasitoses, síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS - *Acquired Immunodeficiency Syndrome*), doenças cardiovasculares, doenças autoimunes, neoplasias, exposição a agentes químicos de alta toxicidade, radiações ionizantes e diabetes mellitus (MURPHY, 2009).

A hiperglicemia (presente em indivíduos portadores de diabetes mellitus) causa uma série de mudanças patológicas no tecido, em pequenos vasos, artérias e nervos periféricos. As células que compõem o endotélio vascular tornam-se alvos dos danos hiperglicêmicos, pois o fluxo contínuo de glicose através deles ativa a via dos polióis, que são grupamentos de álcool com múltiplos grupos hidroxila (LOPES; BECKER, 2012; FORGIARINI JUNIOR *et al.*, 2009). O estímulo dessa estrutura química eleva a produção de sorbitol, que é um poliálcool que provém da glicose por redução. Essa substância possui baixa absorção intestinal e, por essa razão, na diabetes não controlada a concentração de glicose no sangue é bastante alta e esse aumento ocasiona o estresse oxidativo, que é um estado de desequilíbrio entre a capacidade antioxidante endógena, produção de RLs e espécies reativas (REIS *et al.*, 2008; ROCHA *et al.*, 2006). No estresse oxidativo, essas moléculas, íons ou átomos, apresentam elevada instabilidade e reatividade, podendo reagir com qualquer outra estrutura, sendo os lipídios os mais susceptíveis a estas interações (REIS *et al.*, 2008).

2.3.1 Principais espécies reativas de oxigênio

As ROS são geradas em diferentes processos de caráter endógeno e exógeno, a exemplo: atividade mitocondrial, produção de leucócitos polimorfonucleares, funcionamento enzimático. Essas moléculas distribuem-se em dois grandes grupos, os radicais: hidroxila (OH^\bullet), superóxido (O_2^\bullet), hidroperóxil (OH_2^\bullet), e os não-radicais: oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A Tabela 1 expõe um resumo das principais espécies reativas provenientes do oxigênio.

Tabela 1 - Principais espécies reativas de oxigênio e suas características.

Espécie química	Estrutura plana	Descrição
Radical superóxido	$O_2^{\circ-}$	Radical poderoso na indução ao dano celular.
Radical hidroxila	OH°	Espécie com maior potencial reativo.
Radical hidroperoxil	$OH_2^{\circ-}$	Protonado a partir da ligação com o $O_2^{\circ-}$.
Oxigênio diatômico excitado	O_2°	Molécula de oxigênio excitada; não é um radical livre, porque não possui elétrons desemparelhados na última camada.
Peróxido de hidrogênio	H_2O_2	Molécula que apresenta maior estabilidade; também não é um radical livre, pois não possui elétrons desemparelhados na camada de valência.

Fonte: Adaptada de OLIVEIRA & SCHOFFEN (2010).

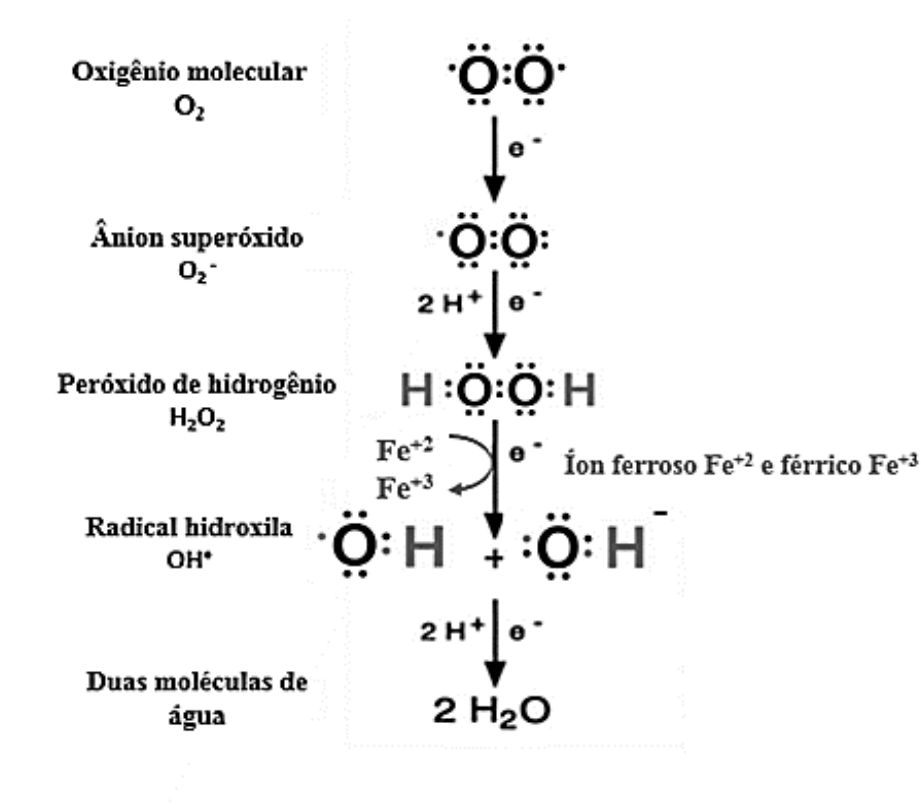
O radical ânion $O_2^{\circ-}$, diferente da maioria dos RLs, encontra-se inativo em meio aquoso. Sua principal reação é a dismutação, onde é produzida uma molécula de H_2O_2 e uma de O_2 . Esse composto participa de atividades químicas importantes no contexto fisiológico, como no auxílio na produção do radical OH° , por meio do íon férrico (Fe^{+3}), formando o íon ferroso (Fe^{+2}) por redução (POPRAC *et al.*, 2017).

O radical OH° é o mais deletério no organismo humano, devido ao seu tempo de meia-vida, o que dificulta o seu sequestro *in vivo* por causa da sua instabilidade. Ele provém no organismo por dois mecanismos: reação do H_2O_2 com metais de transição e radiólise da água por exposição a RI, ocasionando danos ao DNA, membranas celulares, proteínas e lipídios. O radical pode reagir com proteínas e aminoácidos de caráter enzimático, gerando perda da atividade enzimática, dificuldades no transporte ativo através das membranas, citólise e morte celular (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006a).

Na ausência de metais de transição, o H_2O_2 é pouco reativo em comparação às moléculas orgânicas. Porém, essa espécie química exerce um importante papel no estresse oxidativo, por ter a capacidade de atravessar facilmente as membranas da célula e gerar o OH° . Os metais de transição mais importantes para a etapa dessa reação são os íons cuproso e ferroso (Cu^{+2}) e (Fe^{+2}), respectivamente. O Fe^{+2} é o mais importante devido a sua maior biodisponibilidade no organismo, ele encontra-se complexado a proteínas de transporte, como a transferitina, e de armazenamento, como a ferritina (GIGLIOTTI, 2012; GROTTTO, 2010).

O peróxido pode ser encontrado em bebidas como café e chás e rapidamente ele se difunde por meio das células da cavidade oral e do trato gastrointestinal. Além do mais, ele pode ser produzido por bactérias da microbiota natural, sendo utilizado pela peroxidase salivar para oxidar algumas substâncias que são tóxicas a esses microrganismos. O H_2O_2 também é utilizado por fagócitos e na produção de ácidos hipoalogenosos, que são agentes oxidantes bastantes efetivos no combate a bactérias, vírus e outros corpos estranhos. No entanto, apresentam fins danosos quando expostos às moléculas biológicas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006a). A Figura 4 retrata a cascata de formação das principais ROS.

Figura 4 - Cascata de formação das espécies reativas de oxigênio.



Fonte: Adaptada de GOMES (2017).

Nesse contexto, constata-se que os níveis de RLs e ROS encontraram-se aumentados quando ocorre alguma exposição a agentes químicos ou físicos, inclusive as RIs. Observa-se que incidentes e acidentes envolvendo RIs têm sido uma fonte valiosa na observação dos efeitos e na resposta do organismo diante desses eventos. Em vista disso, foram criados parâmetros com o objetivo de mensurar a dose em que essas pessoas foram expostas. A grandeza física primordial nesta avaliação é a dose absorvida, princípio fundamental para o surgimento da Dosimetria Física, que é a ferramenta essencial da Proteção Radiológica (AUGUSTA; SILVA, 1997; IAEA, 2014).

2.4 DOSIMETRIA DAS RADIAÇÕES IONIZANTES

A dose absorvida (D) é definida como sendo a quantidade de energia depositada à matéria (dE) por unidade de massa (dm), num ponto de interesse. Deste modo, a unidade de medida será *ergs/g* ou *Joule/Kg*. No Sistema Internacional (SI) considera-se o *gray* (Gy) (SOARES; PEREIRA; FLÔR, 2011)

Sendo; $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J.kg}^{-1}$; cuja equação 1 é:

$$D = \frac{dE}{dm} [\text{J/kg ou Gy}] \quad (1)$$

Essa grandeza física é a mais importante para avaliar a resposta biológica potencial como fruto da exposição à radiação. Entretanto, o conceito de dose possui algumas limitações para avaliar o efeito radioinduzido, pois a referência de deposição de energia nos tecidos a nível celular varia de acordo com o tipo de RI. O conceito de transferência linear de energia (LET – *linear energy transfer*) foi introduzido em 1940 por Raymond R. Zirkle, que definiu LET como sendo a energia transferida a um material por unidade de comprimento de percurso da radiação, à medida que a intensidade da ionização aumenta, maior será a probabilidade de transferência de energia, e conseqüentemente, maior será o dano na matéria orgânica. Logo, doses iguais absorvidas de diferentes formas de radiação não demandam o mesmo nível de reação celular (AMARAL, 2002; PAGANETTI, 2014)

LET encontra-se definida matematicamente na equação 2, onde é expressa como energia da radiação em keV (dE) por unidade de comprimento em μm (dL) (ICRP, 2007).

$$LET = \frac{dE}{dL} [\text{KeV}/\mu\text{m}] \quad (2)$$

O maior objetivo da Proteção Radiológica é fornecer ao homem um padrão adequado contra os efeitos nocivos das RIs. Dentro dessa finalidade, o conhecimento dos níveis de dose é um passo importante para avaliar os riscos ao organismo. Em vista disso, para reduzir a exposição às RIs, autoridades internacionais de segurança contra radiação propõem limites de dose para trabalhadores e público geral. Porém, em casos de acidentes e incidentes nucleares, a dosimetria física não é capaz de estimar a dose individual, bem como, o dano ao organismo. Diante desse problema, indicadores biológicos (bioindicadores) têm sido propostos como alternativa de análise do efeito radioinduzido, dando surgimento a uma área científica intitulada de Biodosimetria (AMARAL, 2002; IAEA, 2014).

2.4.1 Dosimetria biológica (Biodosimetria)

Investigar o dano biológico correlacionado ao nível de dose absorvida é fundamental na definição da terapia adequada em situações nas quais indivíduos recebem doses de corpo inteiro superiores a 1 Gy, bem como na avaliação de efeitos tardios em pessoas expostas a doses mais baixas (inferiores a 1 Gy). A biodosimetria corresponde a um conjunto de técnicas que utiliza efeitos biológicos radioinduzidos cujas alterações podem ser relacionadas a diferentes níveis de exposição às radiações ionizantes (IAEA, 2011; PINTO; SANTOS; AMARAL, 2010). As aberrações cromossômica radioinduzidas em linfócitos do sangue periférico humano são os marcadores biológicos (biomarcadores) mais utilizados em biodosimetria, sendo a análise da frequência de aberrações instáveis (cromossomos dicêntricos, anéis, fragmentos acêntricos) considerada padrão-ouro (DE LIMA; AMARAL; FERNANDES, 2017).

Ao ocorrer a interação da RI, de forma direta ou indireta, com o sítio-alvo da molécula de DNA advêm modificações estruturais na cadeia molecular. O dano mais severo e responsável por grande parte dos efeitos biológicos produzidos pela radiação é a quebra da dupla fita do DNA (PINTO; AMARAL, 2011). No entanto, essa metodologia possui algumas limitações, dentre elas: o tempo de cultivo celular, as análises dos resultados, a necessidade de especialistas e o custo para a implantação da técnica. Assim, é evidente a importância de investigações objetivando a identificação de métodos mais acessíveis em biodosimetria (IAEA, 2011).





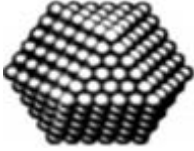

2.5 NANOTECNOLOGIA

Um novo tema atraente na ciência e tecnologia é a compreensão de materiais em nanoescala. Essas estruturas podem apresentar novos comportamentos e propriedades diferentes das que geralmente apresentam em proporção macroscópica. Ao ramo científico que estuda esses novos materiais foi atribuído o nome de nanociência ou, mais comumente, nanotecnologia (ZANONI *et al.*, 2019).

O prefixo nano deriva da palavra grega *vávoç*, que significa “anão”. Na interpretação moderna dessa palavra, nano é um termo utilizado para designar a unidade de medida de nanômetro (nm), que representa um bilionésimo de um metro (m) ou um milionésimo de um milímetro. Por exemplo, $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$, que é aproximadamente a distância ocupada em torno de 5 a 10 átomos, organizados de maneira a formar uma linha. Atualmente, o termo se aproxima mais da definição de Eric Drexler, que caracteriza a nanociência como uma manipulação envolvendo átomo por átomo. Sendo assim, essa área do conhecimento se refere aos estudos de sistemas físicos que contribuem significativamente em diversos âmbitos da ciência e tecnologia, em virtude da nanoescala (FERREIRA; RANGEL, 2009).

Os nanocompósitos são estruturas híbridas, ou seja, pelo menos um de seus componentes tem dimensões nanométricas. A principal razão que corrobora para as vantagens desses compostos é sua elevada área superficial, resultando em uma forte interação entre a matriz na qual estão inseridos. Isso corresponde ao aumento do percentual de átomos na superfície desses materiais que possuem alta capacidade para interagir e participar dos sistemas físico-químicos (TJONG; CHEN, 2004).

Nanopartículas podem ser sintetizadas de diferentes formas e, a partir disso, suas estruturas e propriedades internas se diferenciam. Desse modo, elas exibem uma alta reatividade e forte tendência a formar aglomerações, devido ao extenso número de átomos na superfície e de seu tamanho ultrapequeno que fazem com que as NPs apresentem propriedades distintas do seu volume. Elas costumam ser formadas por meio de várias camadas aglomeradas de átomos com estrutura hexagonal ou cúbica. Esse sistema pode ser construído a partir de um átomo central rodeado por outras camadas. A Tabela 2 exhibe em uma escala a relação entre o número de átomos e a superfície de contato das nanopartículas (ASSIS *et al.*, 2012; TJONG; CHEN, 2004).

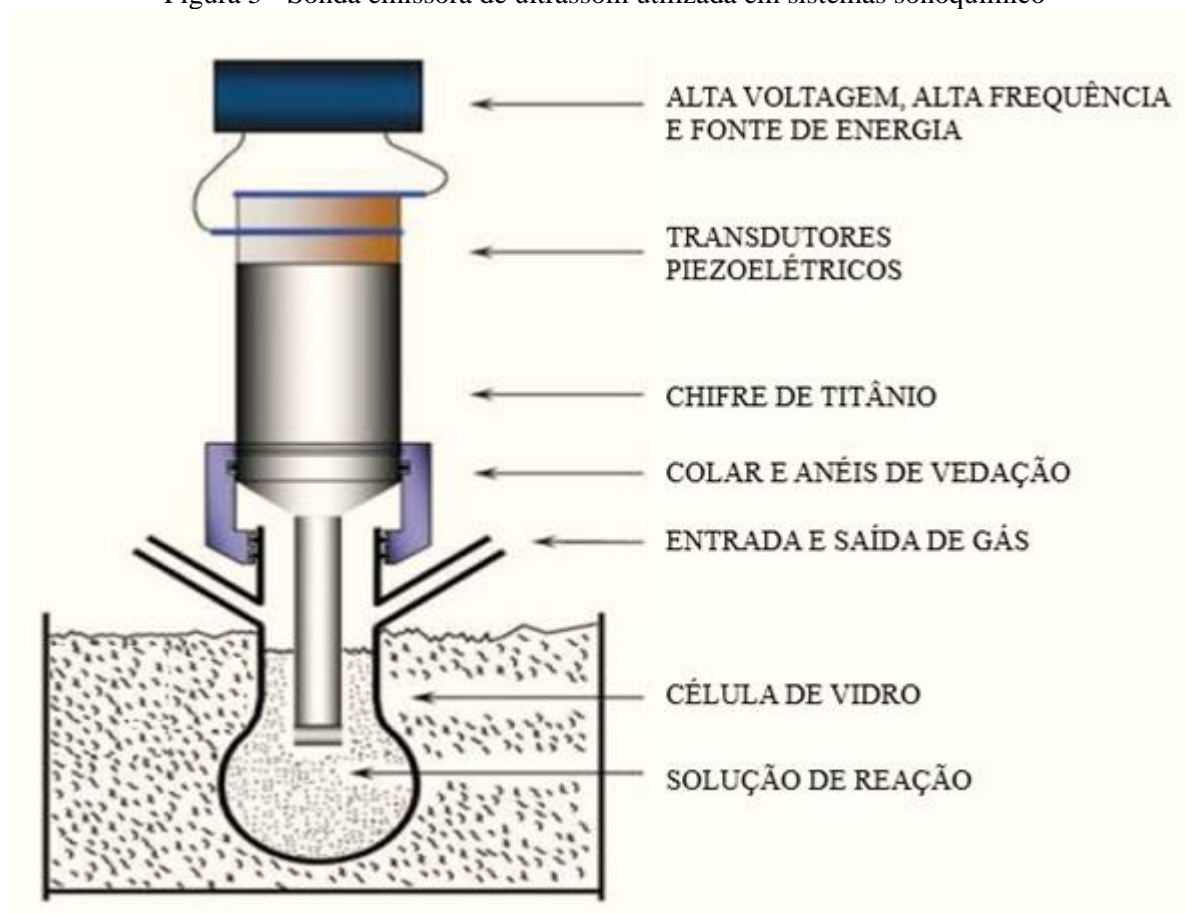
Tabela 2 - Relação entre o número total de átomos em agregados e a porcentagem de átomos de superfície		
Geometria	Nº total de átomos	Átomos na superfície (%)
	13	92
	55	76
	147	63
	309	52
	561	45
	1415	35

A nanotecnologia é considerada por alguns autores como a base para a próxima revolução industrial. Ela aborda materiais e sistemas cujas estruturas e componentes exibem propriedades físicas, químicas e biológicas, consideravelmente novas cujas variações dependem de sua escala. O manejo dessa grandeza é capaz de alterar propriedades como tamanho, condutividade, cor, reatividade, ponto de fusão, entre outras, gerando novas aplicações para esses nanocomponentes. A redução de modo controlado das dimensões dessas estruturas conduzirá a propriedades únicas como as dos nanotubos de carbono, fios quânticos, compostos baseados nas moléculas de DNA, emissores laser, e assim por diante. Essa tecnologia é de caráter multidisciplinar com aplicações em diversos setores e precursora de uma idade revolucionária para a ciência (MURRAY, C. B., KAGAN.R., 2006; RESCH; FARINA, 2015).

A utilização do ultrassom em sínteses químicas, área conhecida como sonoquímica, tem chamado atenção de vários pesquisadores por conter inúmeras vantagens, demonstrando ser um meio versátil e promissor para a criação de diversos materiais em escala nanométrica. Nesta metodologia se estuda a influência das ondas ultrassônicas nos sistemas químicos e nos materiais por ele obtidos, viabilizando o processo de interesse (DENG *et al.*, 2011). A fim de que o ultrassom seja gerado, uma corrente elétrica cíclica de alta frequência é aplicada a um material conectado ao componente metálico, geralmente de titânio, e devido à transmissão de energia, significativos efeitos de característica físico-química ocorrem. O método sonoquímico é regido por meio de parâmetros que incluem amplitude, frequência do campo sonoro, temperatura, pressão, densidade da solução, além da geometria e qualidade da sonda emissora da irradiação (LOURENÇO *et al.*, 2010; MARTINES; DAVOLOS; JAFELICCI, 2000).

Os sons de alta intensidade (20 KHz a 15 MHz) são gerados quando há o emprego de uma corrente elétrica, que possui a finalidade de causar um movimento de uma superfície sólida, como uma cerâmica piezoelétrica. Assim, os materiais expandem-se e contraem-se quando é aplicado um campo elétrico e para que seja gerado o ultrassom, uma corrente de alta frequência (alternada), é aplicada a um objeto piezoelétrico conectado a parede de um contentor de titânio (BANG; SUSLICK, 2010). A Figura 5 representa esquematicamente um sistema sonoquímico.

Figura 5 - Sonda emissora de ultrassom utilizada em sistemas sonoquímico



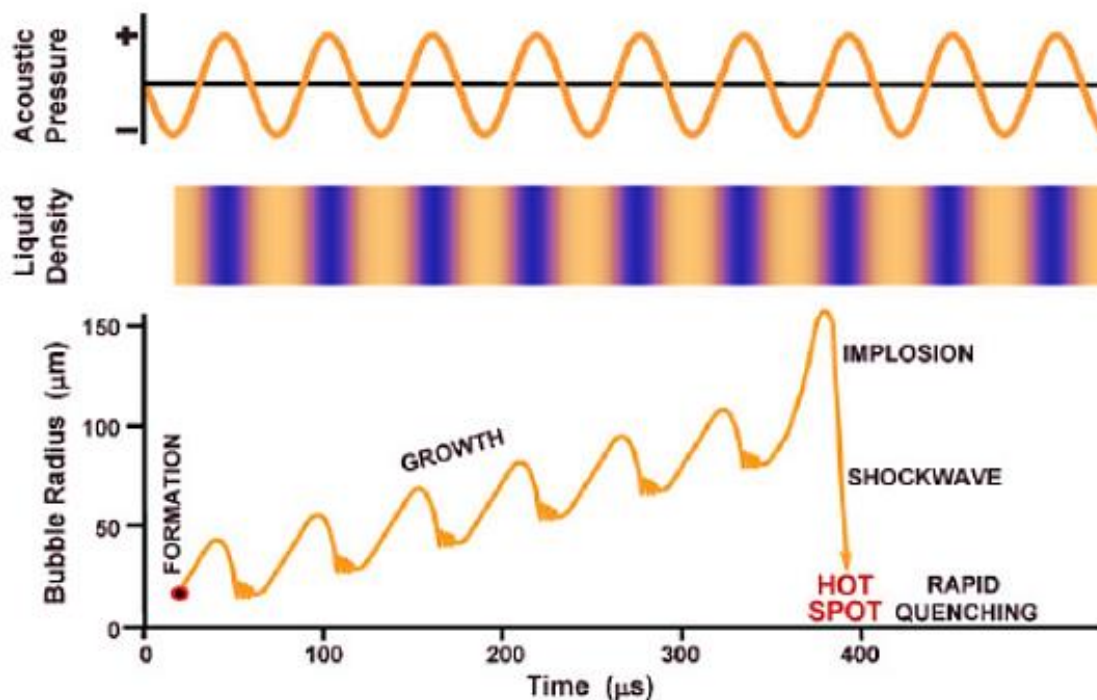
Fonte: Adaptado de BANG; SULISCK (2010).

As ondas ultrassônicas situam-se no espectro sonoro em frequências maiores do que aquelas que o ouvido humano pode detectar, ou seja, acima de 20 kHz. Com isso, inúmeras teorias têm sido criadas com a finalidade de explicar como essa frequência é capaz de quebrar uma ligação química, e, também, por serem mecânicas, as ondas podem ser transmitidas por diversos estados da matéria (sólido, líquido e gasoso). Em especial, quando substâncias líquidas são expostas a irradiações ultrassônicas de alta intensidade, o ciclo de expansão das ondas exerce uma pressão negativa no líquido, isso faz com que as moléculas presentes no meio se afastem uma das outras. Quando o ultrassom é muito intenso, o ciclo de expansão criará cavidades no meio líquido e uma vez formadas, essas bolhas gasosas irradiadas absorverão a energia da onda sonora e consequentemente elas irão crescer (BANG; SUSLICK, 2010; CAMACHO; CAMACHO; MANCIO, 2018).

Em decorrência de todo processo citado, as cavidades de baixas e altas intensidades sônicas, não poderão absorver energia de modo eficiente, então o líquido das bolhas vizinhas vai exercer uma pressão que provocará a implosão da cavidade, isso irá fornecer condições necessárias para a ocorrência de reações físico-químicas, esse fenômeno é denominado de

cavitação acústica. A Figura 6 ilustra o processo de cavitação acústica (CAMACHO; CAMACHO; MANCIO, 2018; GEDANKEN, 2004).

Figura 6 – Cavitação acústica transitória



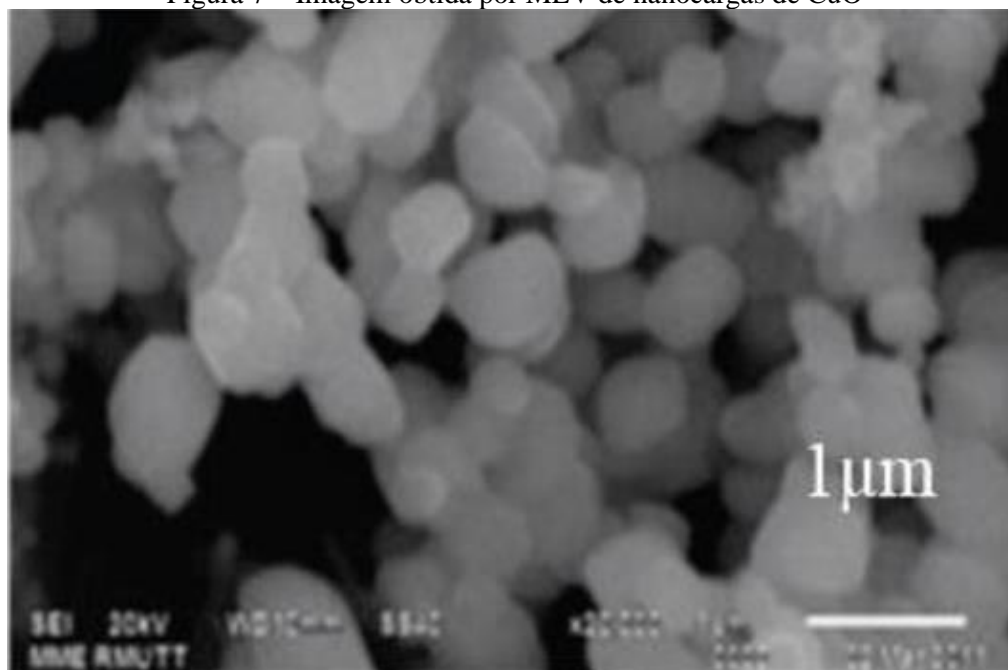
Fonte: BANG; SUSLICK (2010)

Os efeitos decorrentes do fenômeno de cavitação afetam diversas regiões, pois temperaturas muito altas, em torno de, 500 – 2500 K (Kelvin) são obtidas após o colapso das bolhas e isso ocorre em um milésimo de segundo. Além disso, a alta taxa de resfriamento, superior a 1011 K/s (Kelvin por segundo) também é obtida. Esse valor no resfriamento dificulta a organização e cristalização das estruturas, por esse motivo, nas situações em que precursores voláteis na fase gasosa são predominantes NPs amorfas são obtidas. Porém, se o precursor não for um composto volátil a reação se dá em um anel em torno da vesícula, neste caso, a reação sonoquímica acontece na fase líquida (DA SILVA FREITAS *et al.*, 2017; MASON; PANIWNKY; LORIMER, 1996).

Diversos estudos vêm sendo publicados salientando as vantagens da técnica sonoquímica em relação a outros métodos, frutos das condições únicas alcançadas ao longo do fenômeno de cavitação acústica, sendo essa metodologia bastante eficiente na produção de nanocargas de óxidos e sulfetos. Mdleleni, Hyeon e Suslick (1998) sintetizaram sulfeto de molibdênio (MoS_2) nanoestruturado e Wongpisutpaisan et al (2011) sintetizaram nanopartículas de óxido de cobre (CuO) através do método sonoquímico seguido da calcinação a 700°C. Ambos caracterizaram as partículas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e, com isso, observaram a otimização do tamanho das partículas, bem como a regularidade de

sua geometria. A Figura 7 mostra a imagem obtida por MEV das NPs de CuO, após o tempo de 30 minutos de reação (WONGPISUTPAISAN et al., 2011).

Figura 7 – Imagem obtida por MEV de nanocargas de CuO



Fonte: Adaptado de WONGPISUTPAISAN et al., (2011).

Vários trabalhos sobre a síntese sonoquímica de sulfetos foram retratados na literatura (WONGPISUTPAISAN et al., 2011). Entre eles, NPs de sulfeto de cobre II (CuS) têm recebido considerável atenção devido às suas aplicações na tecnologia, incluindo ótica, elétrica, física, química e também em aplicações biotecnológicas (DHASADE *et al.*, 2012).

2.5.1 Caracterização de Nanopartículas de Sulfeto de Cobre II

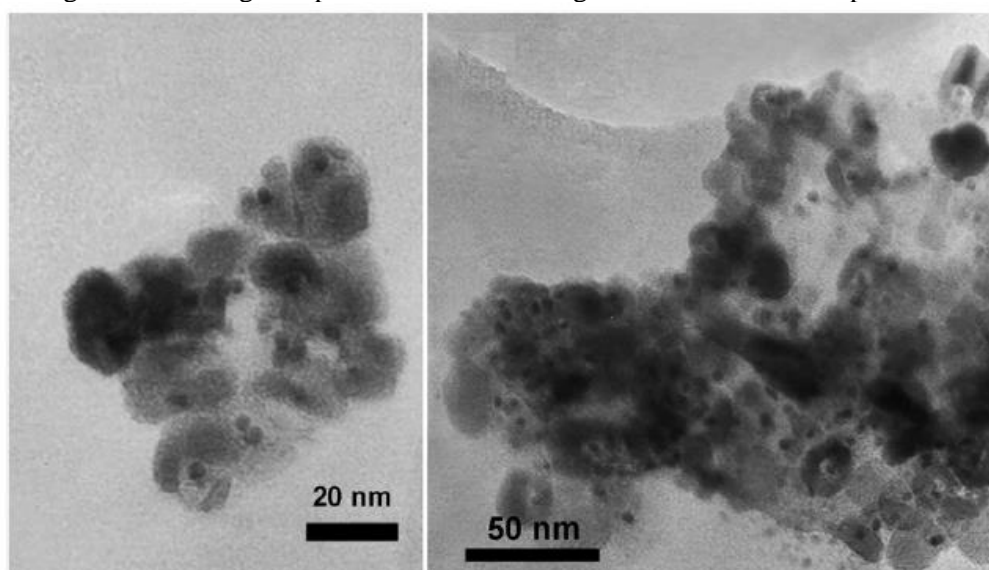
Em química, sulfetos são compostos inorgânicos binários formados pelo enxofre (S) em combinação com diversos outros elementos, sendo o S o mais eletronegativo. Eles são obtidos por fontes naturais ou através de processos sintéticos. Em temperatura ambiente, estes compostos se encontram no estado sólido e são conhecidos, de modo geral, pela sua baixa solubilidade em meio aquoso (MARTINS; SILVA; DE ANDRADE, 2010).

O CuS é um mineral encontrado na natureza na cor azul índigo, mais conhecido como covelita, sendo formado como um precipitado quando ocorre a reação do sulfeto de hidrogênio (H₂S) com sais de cobre II. Esse composto pode ser produzido sinteticamente por diversos métodos físicos e químicos, entre eles: através da passagem gasosa de H₂S em uma solução contendo sal de cobre, outro modo é a partir de uma solução anidra de CuS com anidro de etanol, e também, por precipitação com H₂S. O trabalho de Hosseini et al (2012) relata a síntese biológica da nanoestrutura de sulfeto de cobre I (Cu₂S) a partir do sulfato de cobre (CuSO₄)

através de uma metodologia simples e de baixo custo usando o fungo *Fusarium oxysporum* (HOSSEINI *et al.*, 2012; TUGAROVA; KAMNEV, 2017).

A caracterização das NPs de CuS foi realizada por Hosseni e colaboradores (2012) através da espectroscopia ultravioleta (UV-Vis), fluorescência e infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), evidenciando a existência das nanocargas através da síntese biológica. De acordo com as imagens obtidas por MEV, a geometria das partículas é esférica e com tamanho em torno de, 2-5 nm. Além disso, elas foram enoveladas por halos de coloração clara com cerca de 20 nm de diâmetro, conforme Figura 8 (HOSSEINI *et al.*, 2012).

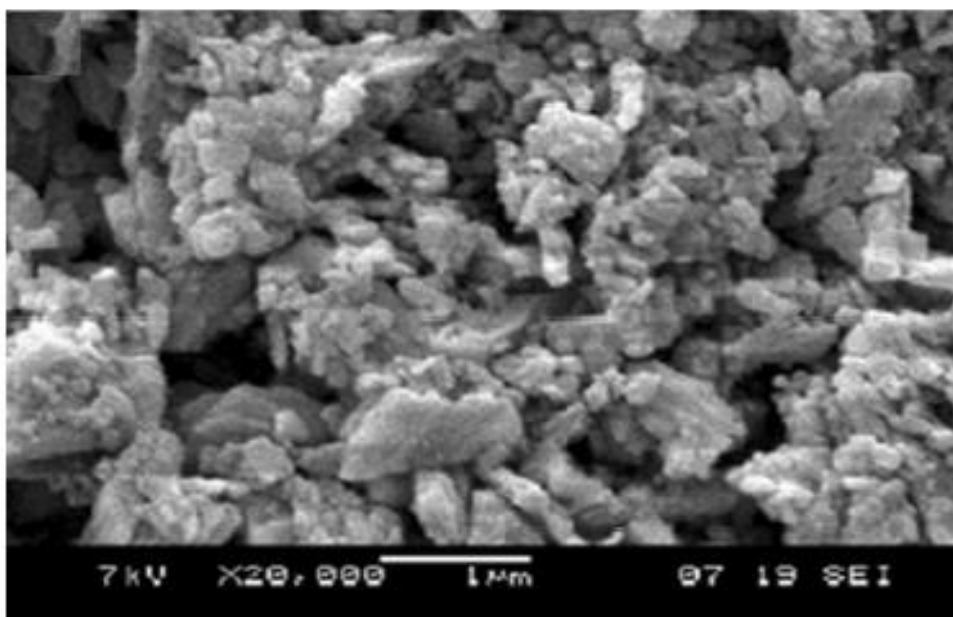
Figura 8 – Micrografia por MEV das nanocargas de CuS enoveladas por halos.



Fonte: Adaptada de HOSSEINI *et al.* (2012).

Freitas e colaboradores (2017) sintetizaram e caracterizaram por MEV as nanocargas de CuS com tamanho variando de 250 a 900 nm e diâmetro médio por volta de 10 a 30 nm (Figura 9). Eles relataram a formação de agregados irregulares, porém esse fato é esperado devido à elevada superfície de contato. Outro fator responsável por promover sua aglomeração é que as NPs de CuS se atraem inclusive a longas distâncias. Além disso, o estudo evidenciou que o CuS atua como um capturador de radical e esse fato corrobora na hipótese que é devido a este mecanismo que as nanocargas possuem comportamento estável (DA SILVA FREITAS *et al.*, 2017).

Figura 9 – Micrografia por MEV das NPS de CuS na escala de 250 a 900 nm



Fonte Adaptada de DA SILVA FREITAS *et al.* (2017).

Em vista da relevância da nanotecnologia, novas técnicas no desenvolvimento de sensores químicos e biológicos têm permitido avanços significativos na ciência. Um dos mais importantes foi o desenvolvimento de sensores com dimensões na escala nanométrica (nanossensores), por exemplo: eletroquímicos, ópticos, piezelétricos, mecânicos, entre outros. A nanopartícula de CuS possui ótimas características físicas e químicas que a torna viável para essa utilização, além disso, um grande número de métodos tem sido explorado para introduzir nanossensores em estruturas biológicas (nanobiossensor) (NETO, 2013). Um estudo realizado no Departamento de Química da Universidade de Engenharia e Ciência localizada no estado de Bengala, leste da Índia, corrobora na importância da nanociência em sistemas biológicos. A seção a seguir irá abordar o emprego da nanotecnologia como uma ferramenta Biomédica, tendo como base o trabalho de Dutta e colaboradores (2013).

2.6 APLICAÇÕES DA NANOTECNOLOGIA NA CIÊNCIA BIOMÉDICA

Entre as aplicações biológicas de maior importância estão as biomédicas *in vivo* e *in vitro*. Estes mecanismos permitem detectar diversas patologias, além de facilitar estudos envolvendo fármacos e outras substâncias. O biossensor tem permitido avanços significativos nas pesquisas biomédicas, podendo ser caracterizado como um instrumento agregado que é capaz de fornecer uma informação analítica de caráter quantitativo ou semiquantitativo, por via da combinação de um elemento de reconhecimento biológico e um transdutor, que é um dispositivo utilizado para mensuração (SINGH *et al.*, 2016).

Sensores biológicos são uma ferramenta que possui boa especificidade, reduzido tempo de análise e geralmente de baixo custo, por ser um sistema que envolve a transdução do fruto da atividade metabólica em um sinal quantitativo. O componente orgânico (células, enzimas, micro-organismos, organelas e diversas moléculas) é crucial para a qualidade do material, pois oferece a especificidade analítica (ROSATTO *et al.*, 2001; SALGADO; JACOBY; PAULA, 2015).

A implementação de biossensores constituídos por materiais nanoestruturados promoveu o advento da Nanotecnologia Biomédica que na atualidade é bastante plausível e produz avanços significativos no diagnóstico, terapêutica, bioengenharia e na biologia molecular (SINGH *et al.*, 2016). No trabalho de Dutta e colaboradores (2013), NPs de CuS foram sintetizadas e caracterizadas, em seguida, elas foram utilizadas como peroxidases simuladas para estimar colorimetricamente o nível de glicose em sangue periférico humano (DUTTA *et al.*, 2013).

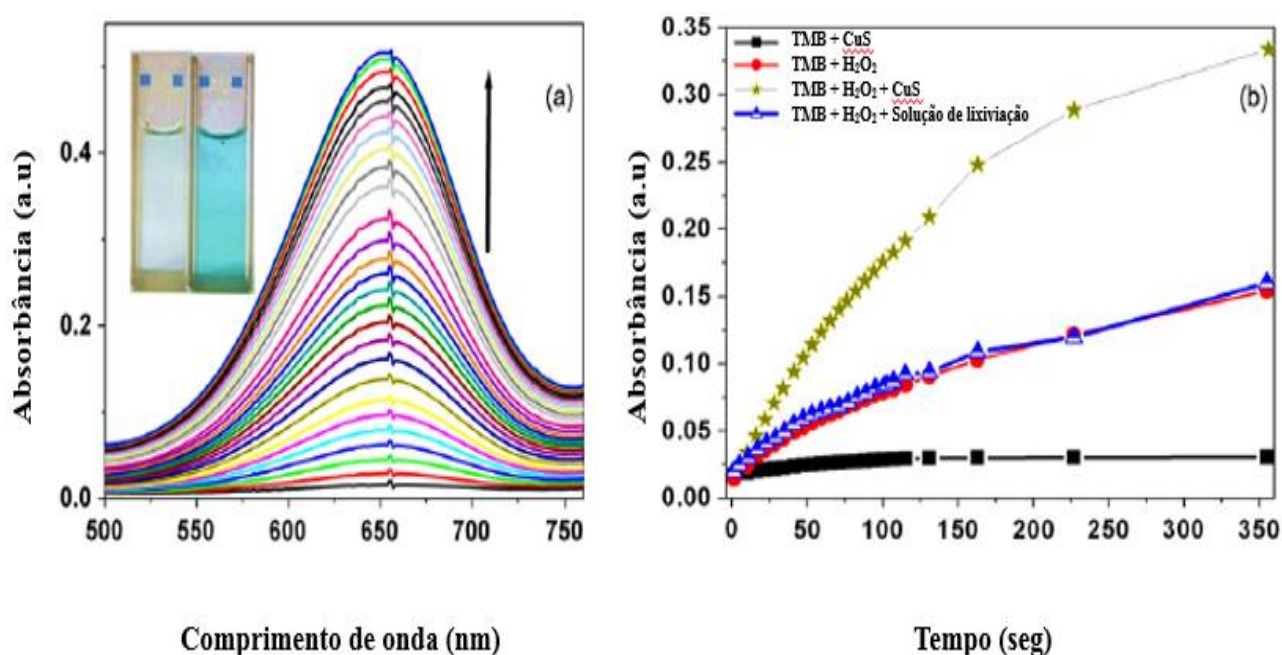
A peroxidase é uma enzima encontrada no reino animal e vegetal que faz parte do grupo das oxidoredutases, que oxidam substratos orgânicos, tendo o H_2O_2 como molécula receptora de elétrons, com importante função na desintoxicação celular ao eliminar o peróxido de hidrogênio (ANDRADE DE FREITAS *et al.*, 2008; ZERAIK *et al.*, 2008). Como foi abordado nessa revisão, é sabido que os níveis de H_2O_2 aumentam com a elevação dos níveis de glicose no organismo, o método mais utilizado para medir os valores de glicemia no sangue é o colorimétrico que é uma técnica empregada para determinar a concentração de compostos multicoloridos. O dispositivo utilizado (colorímetro) faz a mensuração de absorbância em um dado comprimento de onda, no espectro de luz visível de um analítico em solução, neste caso, a peroxidase (CORDOVA *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Em vista disso, o estudo de Dutta e colaboradores (2013) sintetizou e caracterizou a nanocarga de CuS, onde a caracterização ocorreu por MEV e difração de raios X (DRX). A medição da atividade semelhante à peroxidase de NPs de CuS foi examinada através da oxidação catalítica do substrato de tetrametilbenzidina (TMB), que na presença de H_2O_2 produz uma reação de cor azul. Para avaliar a capacidade da nanocarga de CuS se comportar como catalizador da oxidação do TMB, foi dissolvido dimetilsulfóxido (DMSO) em tampão acetato. É importante destacar que todas as reações foram observadas espectrofotometricamente no comprimento de onda de 653 nm. A pesquisa evidenciou que a nanoestrutura de CuS exibe comportamento semelhante à peroxidase e sua atividade enzimática pode derivar dos íons de Cu^{2+} e Fe^{3+} que, ao interagir com o H_2O_2 resulta em um produto de reação com cor.

Resultados de controle adicionais mostram graficamente, na Figura 10, que a absorbância a 653 nm do complexo TMB - CuS - H_2O_2 foi consideravelmente mais elevada que

a do TMB - H_2O_2 no tempo de 350 segundos de execução. O sistema TMB - CuS não apresentou absorbância em 653 nm. (DUTTA et al., 2013). Em resumo, o trabalho concluiu que as NPs de CuS, além de exibirem atividade característica semelhante à enzima peroxidase, serviram para determinar quantitativamente a concentração de peróxido de hidrogênio.

Figura 10 – Tempo de espectroscopia a luz visível (UV –Vis) e reação catalítica por nanopartículas de CuS (cor azul)



Fonte: Adaptada de DUTTA et al. (2013).

Perante o exposto, foi levantada a hipótese que, da mesma maneira que essas nanocargas podem mensurar os níveis de H_2O_2 quando sintetizadas com o sangue humano, também poderão medir os níveis de outras espécies reativas provindas do oxigênio em sangue periférico irradiado. É conhecido que o efeito indireto da interação da radiação ionizante com a matéria tem como produto o aumento dos níveis de radicais livres e espécies reativas de oxigênio, do mesmo modo que os valores de glicose no organismo estão diretamente ligados com os níveis dessas espécies químicas (DUTTA et al., 2013; LOMAX; FOLKES; O'NEILL, 2013; NETTO et al., 2007).

Objetivando o que foi abordado, o resultado do trabalho de Dutta e colaboradores (2013) corrobora para a hipótese empregada no presente trabalho, a qual, com mais estudos, dará origem a uma técnica que contribuirá significativamente na avaliação da resposta particular ao estresse oxidativo radioinduzido, permitindo investigações sobre sua correlação com a radiosensibilidade individual.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

Esta pesquisa foi do tipo experimental analítica, executada no Laboratório de Modelagem e Biodosimetria Aplicada (LAMBDA), localizado no Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco - DEN/UFPE. O estudo da viabilidade desta metodologia é parte da pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde - CCS/UFPE, parecer nº: 2.838.697.

3.1.1 Seleção da população

Os indivíduos analisados nesta pesquisa seguiram os seguintes critérios de inclusão:

- Indivíduos sem doenças pré-existentes e que não tenham sido expostos a agentes químicos;
- Indivíduos com idade entre 20 e 30 anos. Neste intervalo de idade há uma maior estabilidade das funções orgânicas, de modo geral, pode-se dizer que o processo de envelhecimento do corpo humano tanto intrínseco, quanto extrínseco ocorre a partir dos 30 anos (BIANCHI, 2015).

Critérios de exclusão:

- Recusa do indivíduo quanto à participação nesta pesquisa;
- Qualquer circunstância que viole os critérios de inclusão.

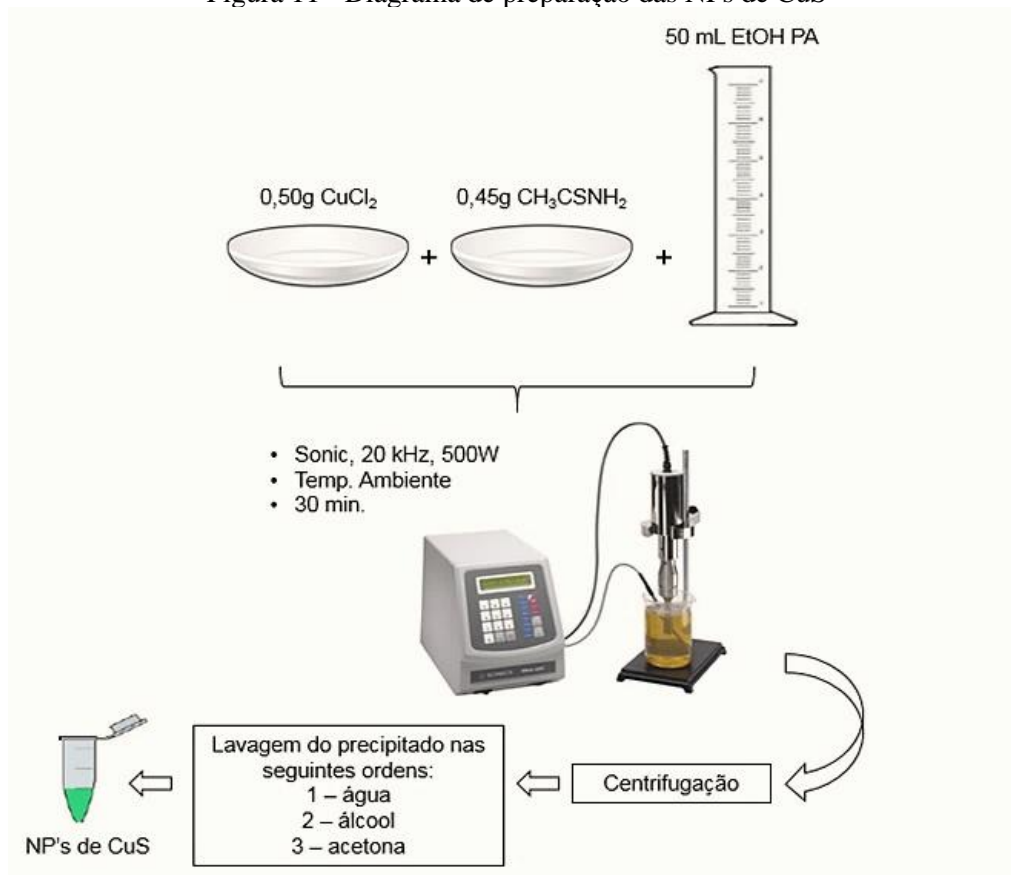
Este trabalho utilizou amostras de 4 indivíduos dentro dos critérios estabelecidos.

3.1.2 Preparação das nanocargas de sulfeto de cobre II

O método utilizado para obter as nanocargas de CuS foi o sonoquímico. Resumidamente, nesse método, a partir de um béquer de 250 mL (longo) são misturados 0,50 g de cloreto de cobre II (CuCl_2), 0,45 g de Tioacetamida (CH_3CSNH_2) e 100 mL de álcool etílico absoluto (EtOH PA). Em seguida, a mistura em solução é exposta a uma sonda de ultrassom de alta intensidade (Sonic, 20 kHz, 500 W) imersa diretamente na solução com amplitude de 70% em temperatura ambiente e por 30 minutos. Ao término da reação, o precipitado obtido é separado pelo processo de centrifugação (3 minutos a 3900 rpm), logo após, é lavado com álcool, água destilada (H_2O) e acetona ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), nesta ordem.

Na lavagem, o precipitado é colocado junto com o solvente EtOH PA e centrifugado por 3 minutos. Ao término, o sobrenadante é descartado e o segundo solvente H₂O é adicionado ao precipitado e nova centrifugação é realizada. Todo processo é repetido com adição de C₃H₆O e o precipitado colocado em placa de Petri e levado a um dissecador. A Figura 11 apresenta o esquema de preparação das NPs de CuS. Através método sonoquímico, é possível obter cristais de CuS com tamanho médio de 250 nm (FREITAS, 2014).

Figura 11 - Diagrama de preparação das NPs de CuS



Fonte: Adaptada de FREITAS (2014).

3.1.3 Caracterização das nanocargas de CuS

Nesta pesquisa, a caracterização das nanocargas de CuS foi previamente realizada através de microscopia eletrônica de varredura (MEV). O equipamento utilizado foi o JEOL JSM- 5900. As amostras em pó foram inicialmente metalizadas com ouro em um equipamento de Íon Sputer, modelo JFC 1100. Além disso, a técnica de DRX foi utilizada para analisar a natureza cristalina das nanopartículas de CuS. O equipamento utilizado foi o Siemens D5000 do Departamento de Física da UFPE. Intervalo angular: 20° a 70°, taxa de varredura: 0,02°, voltagem: 40 KV, corrente: 30 KV. A Figura 12 exhibe a imagem final obtida do composto contendo NPs de CuS.

Figura 12 – Produto final do composto contendo NPs de CuS em microtubo



Fonte: A autora (2022)

3.1.4 Obtenção das amostras (amostragem)

Foram coletados dois tubos, cada um contendo 9 mL de Sangue Periférico Venoso (SPV) de cada voluntário do estudo. Antes da coleta foi realizada prévia assepsia do local com álcool etílico a 70%. O SPV foi coletado em tubos a vácuo contendo anticoagulante de heparina sódica. As amostras estavam devidamente identificadas e divididas em 3 alíquotas de 3 mL cada.

3.2 IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS *IN VITRO*

Segundo a Comissão Internacional de Proteção Radiológica 118, de 2012, dose limiar é definida como dose estimada que causará danos teciduais em 1% dos tecidos irradiados. Este limiar para indução ao dano foi determinado no valor de 0,5 Gy, isso vale para exposições agudas e crônicas (OKUNO, 2013). Este valor também foi proposto como limiar de dose para doenças circulatórias, no que diz respeito à morbidade e mortalidade.

Para o presente estudo, as doses escolhidas para cada condição do experimento, foram de 3 e 5 Gy. Esses valores de doses asseguram que haverá dano. Partindo dessa lógica, a pesquisa visa avaliar a resposta individual radioinduzida.

As alíquotas foram irradiadas com raios gama a partir de uma fonte de Cobalto-60 de alta atividade (Modelo Gammacell 220 Excel), e taxa de dose de 1,8 kGy/h, pertencente ao

Departamento de Energia Nuclear da UFPE (Figura 13). Uma das alíquotas não foi irradiada, servindo como controle para o experimento.

Figura 13 – Irradiador (Modelo Gammacell 220 Excel) pertencente do Departamento de Energia Nuclear da UFPE



Fonte: A autora (2022).

3.3 OBTENÇÃO E CONFECÇÃO DO PLASMA

As amostras irradiadas e a amostra controle foram submetidas a centrifugação com rotação de 3500 rpm por 10 minutos para a obtenção do sobrenadante (plasma), em seguida, todo o plasma foi diluído na proporção de 1:6 em solução tampão de fosfato (PBS - *Phosphate Buffered Saline*), com concentração de 0,01M e pH 7,0 com o objetivo de reduzir a complexidade da matriz. Das soluções obtidas para cada condição do experimento, foram retiradas alíquotas de 220 μ L, as quais foram condicionadas em tubos falcon. Nestes foram

adicionados na seguinte ordem: 3,3',5,5' - Tetrametilbenzidina (TMB), Nanopartículas de Sulfeto de Cobre (CuS NPs) e Tampão Acetato, nas seguintes quantidades.

- 2,4 µL de Tetrametilbenzidina (TMB) / concentração: 0,125 M;
- 20 µL NPs de CuS / concentração: 5mg/mL;
- 2 mL de Tampão Acetato / concentração: 0,1 M e pH: 4,0.

É importante destacar que como controle de qualidade de leitura do espectrofotômetro, foi utilizada uma solução branca, composta de: 2 mL de tampão acetato + 220 µL de plasma diluído. Posteriormente, o material foi incubado a 40°C por 15 minutos, em banho-maria.

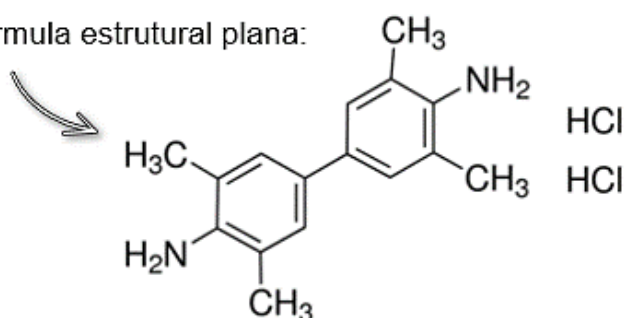
A motivação para o uso do TMB se dá por seu caráter cromogênico (aquele que promove uma reação de cor), bastante utilizado em ensaios imunoenzimáticos e imunohistoquímicos. Ele é fotossensível, por isso, deve ser armazenado em ambiente fora da luz solar direta e de lâmpadas fluorescentes, geralmente conduz na reação um tom amarelo e/ou azul-esverdeado que pode ser lido espectrofotometricamente no comprimento de onda entre 370 – 660 nm) (MA et al., 2017). Na Figura 14 é possível observar a configuração química da molécula de TMB.

Figura 14 – Configuração molecular do TMB.

3,3',5,5' - Tetrametilbenzidina

▪ Fórmula: $C_{16}H_{20}N_2$

▪ Fórmula estrutural plana:



Fonte: A autora (2022)

3.4 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

O material foi analisado em um espectrofotômetro cujo modelo é: Spectrum SP – 2000 UV (Figura 15), foi utilizado o comprimento de onda de 653 nm para mensurar a absorbância. O tempo considerado para a leitura do material foi de 2 em 2 minutos até completar 20 minutos e em seguida de 5 em 5 minutos até completar 65 minutos.

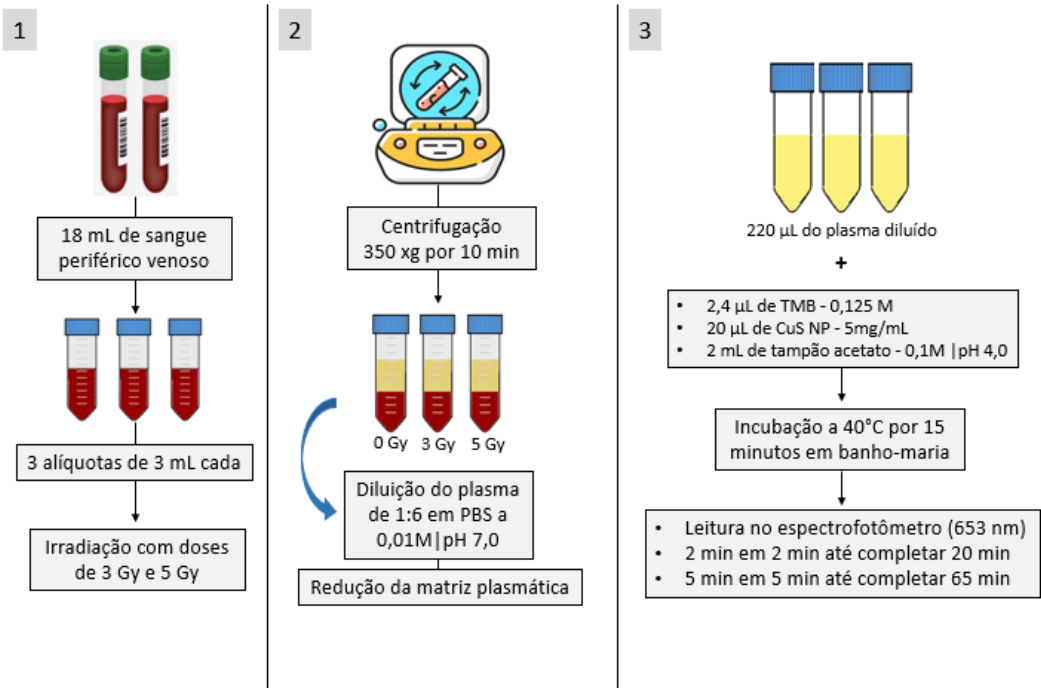
Figura 15 – Espectrofotômetro (Modelo Meter SP - 2000 UV) pertencente ao LAMBDA



Fonte: A autora (2022)

A Figura 16 apresenta um diagrama resumindo a metodologia aplicada a este trabalho

Figura 16 - Fluxograma metodológico.



Fonte: A autora (2022).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 VOLUNTÁRIOS

A pandemia causada pelo novo Coronavírus (COVID 19) acarretou dificuldades em obter um número expressivos de participantes aptos para o presente estudo. Assim, esta pesquisa utilizou quatro indivíduos que atendiam aos critérios de inclusão estabelecidos, sendo duas mulheres e dois homens. A média de idade desses voluntários foi de 26 anos para o sexo feminino e 26,5 anos para o sexo masculino. Vale ressaltar que todos assinaram previamente o termo de consentimento para participar deste projeto. A Tabela 3 apresenta os indivíduos enquadrados nos critérios de inclusão.

Tabela 3 - Características dos voluntários submetidos ao estudo					
VOLUNTÁRIOS	SEXO	IDADE	DOENÇAS	Nº DE ANÁLISES	DOSES
A	MASCULINO	28	NÃO	2	3 e 5 Gy
B	MASCULINO	25	NÃO	2	3 e 5 Gy
C	FEMININO	26	NÃO	1	3 e 5 Gy
D	FEMININO	26	NÃO	1	3 e 5 Gy

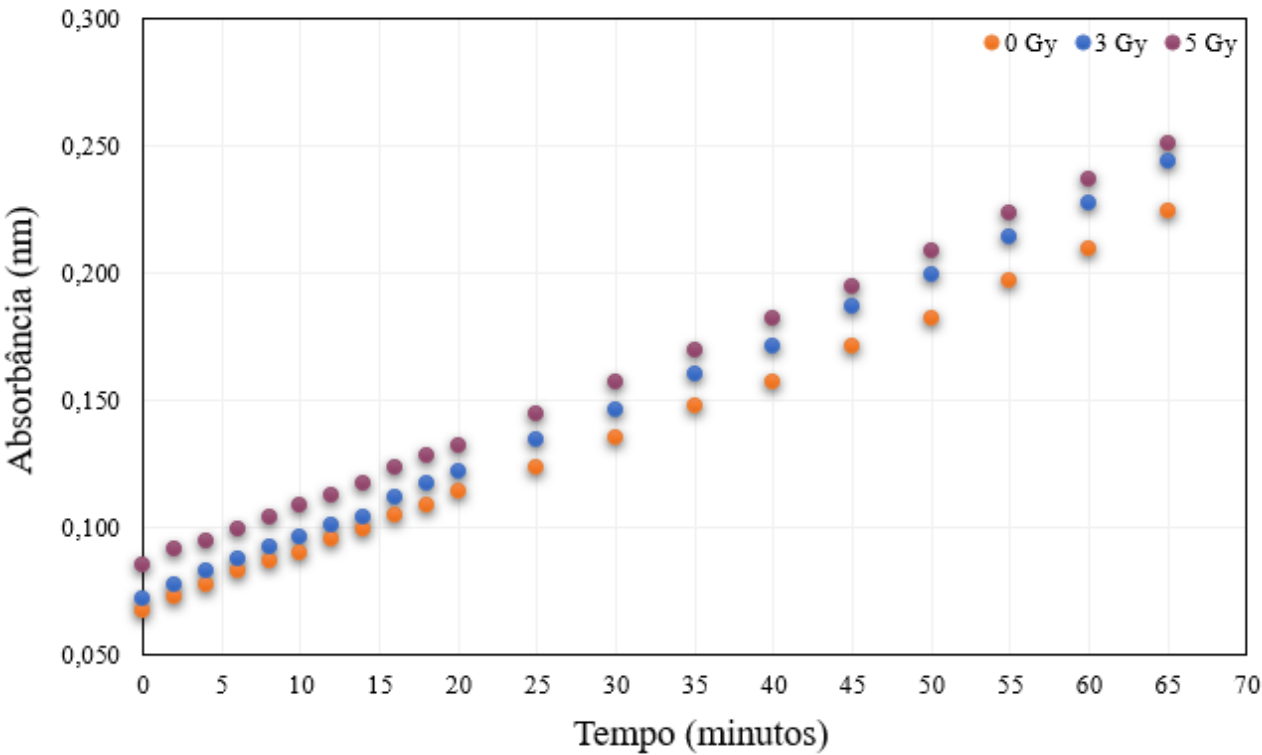
Fonte: A autora (2022)

Não foi possível realizar o mesmo número de análise com todos os indivíduos em consequência das objeções da pandemia causada pelo novo coronavírus. Além disso, vale ressaltar que a técnica empregada nesse trabalho é inédita, e em virtude disso, há pouca disponibilidade de referências que façam alusão a esta metodologia.

4.1.1 Voluntário A

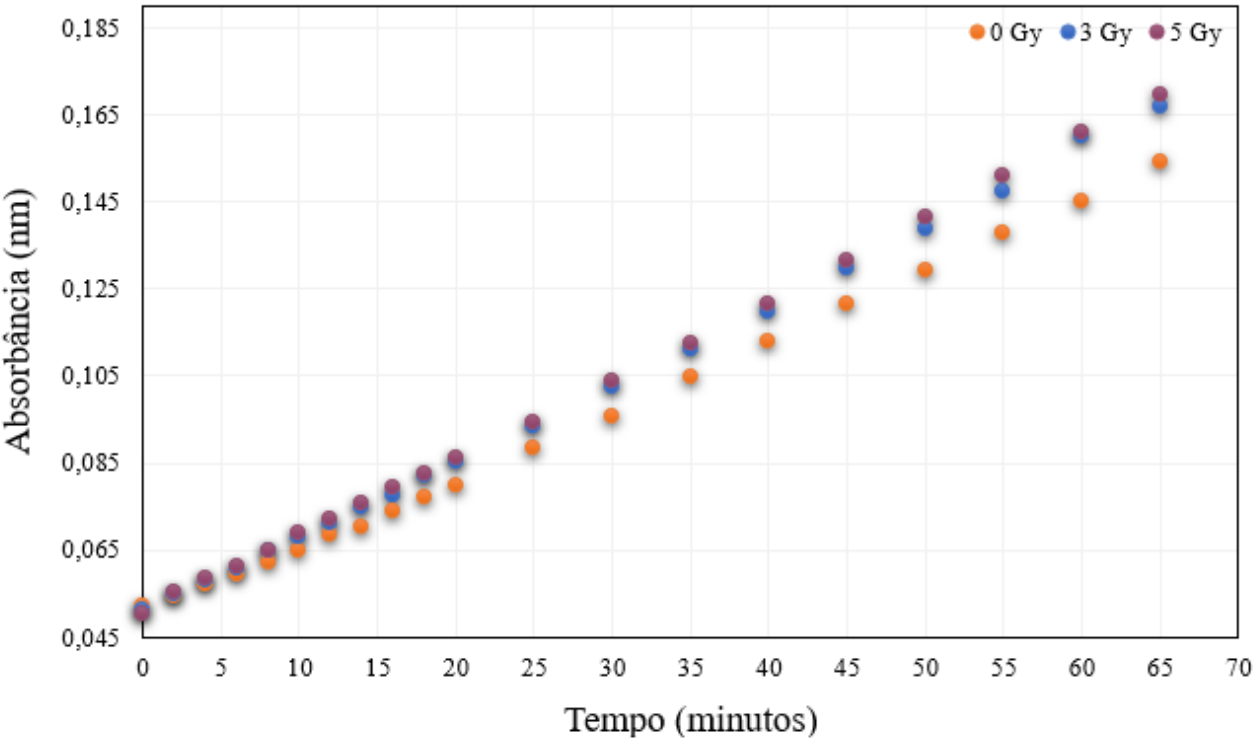
O primeiro voluntário é um profissional de radiologia, possuía o hábito de praticar exercícios físicos e não fez uso de bebida alcoólica ou de outras substâncias nas 48 horas precedentes a coleta SPV. A Figura 17 e a Figura 18 mostram os comportamentos obtidos em dois experimentos para o mesmo voluntário.

Figura 17 – Experimento 1 do Voluntário A: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma.



Fonte: A autora (2022)

Figura 18 – Experimento 2 do Voluntário A: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma.



Fonte: A autora (2022)

Conforme exibido pelos gráficos, observou-se que em ambos os experimentos os valores de absorbância (em função do tempo) apresentaram uma resposta diretamente proporcional ao valor da dose de irradiação. Sendo assim, quanto maior a dose absorvida, maior será a produção de espécies reativas e consequentemente maior será o dano radioinduzido fruto da radiólise da H_2O (CAË, 2011). Atrelado a isso verifica-se a oxidação catalítica de um substrato de peroxidase, nesse caso, o TMB ligado às NPs de CuS na presença de H_2O_2 . A catálise foi monitorada por espectrofotoscopia à temperatura ambiente. Essa reação resultou em um produto de cor azul, em decorrência do aumento da absorbância, conforme mostra a Figura 19.

Figura 19 – Coloração azul obtida a partir da reação de TMB + NPs de CuS + ROS



Fonte: A autora (2022)

A reprodutibilidade demonstrada nos dois experimentos traduz o estresse oxidativo que foi induzido pela RI. Todavia, sob condições homeostáticas a geração e eliminação de RLs e ROS é bem equilibrada principalmente devido a presença do H_2O_2 . Ou seja, mesmo que os sistemas de eliminação funcionem dentro do ideal algumas dessas moléculas escapam e isso poderá modificar componentes importantes no interior da célula (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; LUSHCHAK, 2014). A Tabela 4 expõe a diferença numérica entre as diferentes doses obtidas no primeiro e segundo experimento.

Tabela 4 - Diferença dos valores de doses obtidos no experimento 1 e 2 do Voluntário A

Tempo (minutos)	Diferença (0 Gy)	Diferença (3 Gy)	Diferença (5 Gy)
0	0,015	0,020	0,035
2	0,018	0,022	0,036
4	0,020	0,024	0,036
6	0,023	0,027	0,038
8	0,025	0,027	0,039
10	0,025	0,028	0,039
12	0,026	0,030	0,041
14	0,029	0,029	0,042
16	0,030	0,034	0,044
18	0,031	0,035	0,045
20	0,034	0,037	0,046
25	0,035	0,041	0,050
30	0,040	0,044	0,053
35	0,043	0,049	0,057
40	0,044	0,052	0,061
45	0,050	0,057	0,063
50	0,053	0,061	0,067
55	0,059	0,067	0,072
60	0,064	0,068	0,076
65	0,070	0,077	0,081

Fonte: A autora (2022)

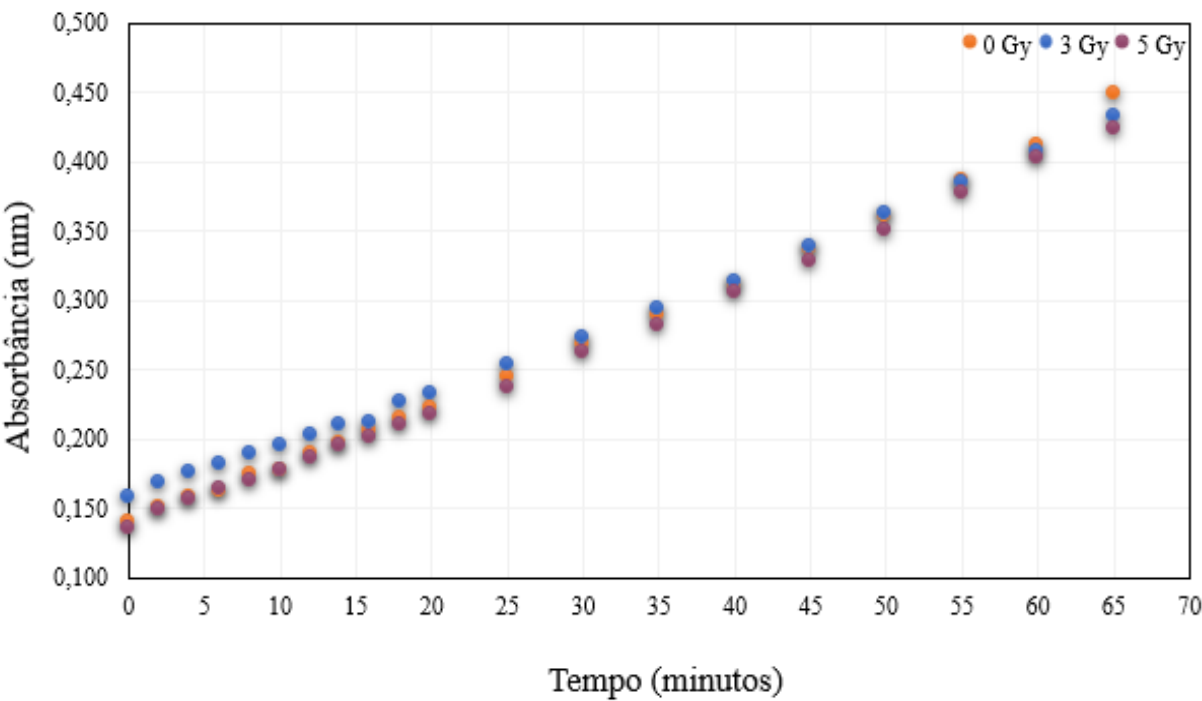
Analisando a Tabela 4, nota-se uma diferença discreta entre os valores obtidos em momentos diferentes para o mesmo indivíduo. Tratando-se da unidade de Gray as doses absorvidas nos dois experimentos são próximas, ou seja, em casos reais ou de suspeita de exposição às RIs, os valores de absorbância das NPs de CuS com espécies químicas reativas apresentariam o mesmo comportamento e isso fortalece a hipótese científica empregada nessa pesquisa. É importante ressaltar que, a amostra controle também apresenta absorbância, pois há uma reação de cor consequência do tratamento da mesma.

4.1.2 Voluntário B

O segundo voluntário é também um profissional de radiologia, praticava exercícios físicos regularmente e não fez uso de substâncias que poderiam interferir diretamente nos

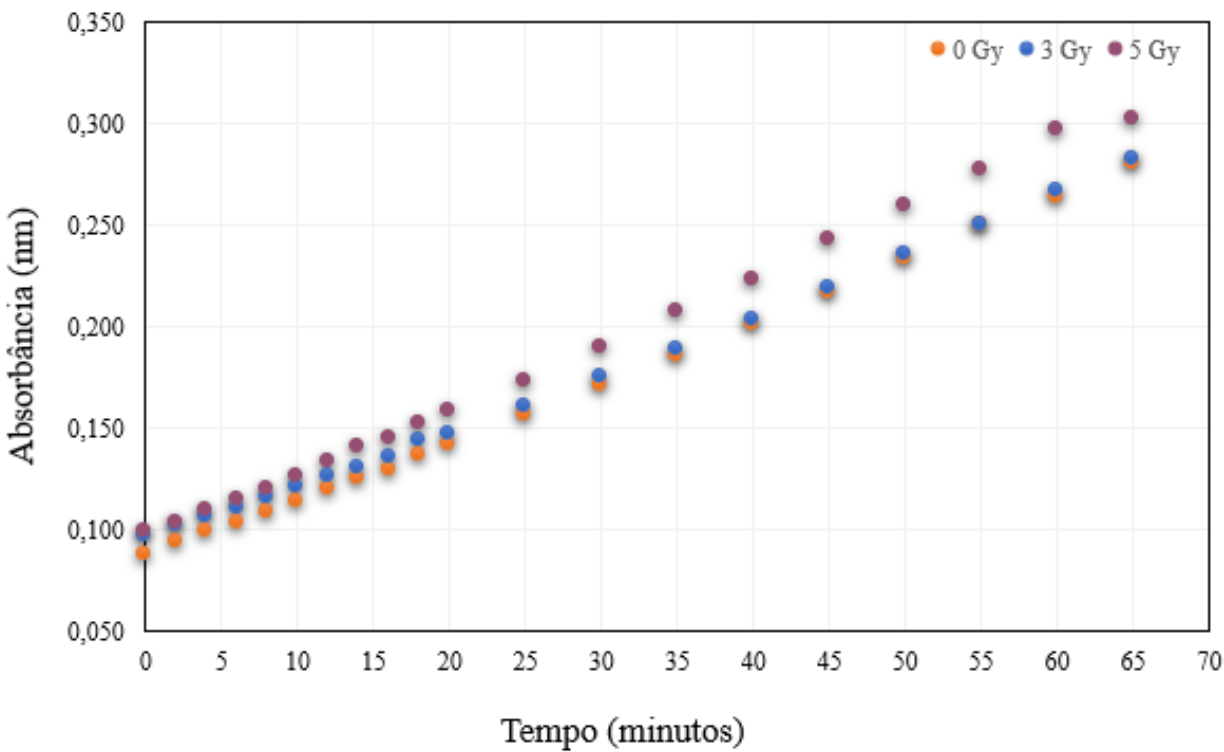
resultados nas 48 horas anteriores a coleta do SPV. No período em que os experimentos foram realizados ele trabalhava diretamente com fontes radioativas. Sabe-se que indivíduos expostos ocupacionalmente às RIs estão potencialmente em risco de superexposição, mas graças a aplicação dos princípios de proteção radiológica os níveis de exposição geralmente estão abaixo do limite de 20 mSv /ano (DOBRZYŃSKA et al., 2014). A Figura 20 e a Figura 21 mostram os comportamentos obtidos nos dois experimentos.

Figura 20 – Experimento 1 do Voluntário B: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma



Fonte: A autora (2022)

Figura 21 – Experimento 2 do Voluntário B: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma



Fonte: A autora (2022)

Observando o gráfico referente ao experimento 1 os valores obtidos não seguem o padrão que foi visto no indivíduo A. Como também, não é possível inferir algo a respeito do que foi encontrado, visto que há um universo de situações que poderiam influenciar nesse resultado. Os achados do experimento 2 permitem algumas observações no que diz respeito ao tempo. Nos primeiros 25 minutos da reação foi observado um comportamento semelhante nos níveis de absorbância do voluntário A, isto é, doses maiores possuem valores maiores. Entretanto, com o decorrer do tempo, o comportamento tornou-se ambíguo, e uma possível razão capaz de explicar os valores encontrados é a capacidade de reparo antioxidante ao dano tecidual. Em outras palavras, os primeiros efeitos provocados pelas RIs são anomalias no sistema hematopoiético e o tecido fruto desse sistema é o mais radiosensível levando a perda de células sanguíneas funcionais. Ou seja, há a possibilidade de que essas células tenham sofrido um prejuízo consideravelmente alto em sua estrutura ao ponto de induzir o processo de apoptose. Esses efeitos são dose-dependentes, podendo ser reversíveis para doses consideradas baixas e moderadas ou irreversíveis após altas doses (GIMENES; VASCONCELOS, 1999).

Há dois métodos capazes de avaliar os níveis de RLs e ROS que poderão ajudar a compreender melhor esses resultados. O primeiro, é o teste de Metabólitos Reativos do

Oxigênio (d-ROMs) e o outro é denominado como Potencial Antioxidante Biológico (BAP), ambos são metodologias usadas para avaliar a atividade antioxidante e o grau de oxidação do organismo. Espécies químicas provenientes do oxigênio são mensuradas pelo método d-ROMs, e para aferir o grau de moléculas antioxidantes usa-se o BAP. Ambos os métodos são simples, rápidos e de alta reprodutibilidade.

Um estudo realizado na Universidade de Hirosaki (Japão) utilizou sangue periférico de camundongos expostos a irradiação corporal total com doses de 0,5, 2 e 7 Gy provenientes de uma fonte de raios-X a uma taxa de dose de 1,0 Gy/min e configurações de 150 kV a 20 mA (KILK et al., 2014). O plasma foi previamente obtido por centrifugação e após isso foi utilizado um kit de teste d-ROMs que por espectrofotometria avaliou o estresse oxidativo global mensurando os níveis totais de hidroperóxidos que são os produtos primários da peroxidação lipídica e sua redução tem como resultado moléculas reativas de alta toxicidade, como o radical peroxila (ALVES et al., 2010; PEREIRA, 1996). Em seguida, o plasma foi diluído em uma solução tamponada com acetato onde os grupamentos hidroperóxidos reagem com íons de metais de transição liberados por proteínas presentes em meio ácido e são convertidos em radicais alcóxila e peróxila através da reação de Fenton. Esses radicais foram isolados quimicamente usando um método cromógeno que produziu uma cor roxa, essa reação colorimétrica foi monitorada a 505 nm (KILK et al., 2014).

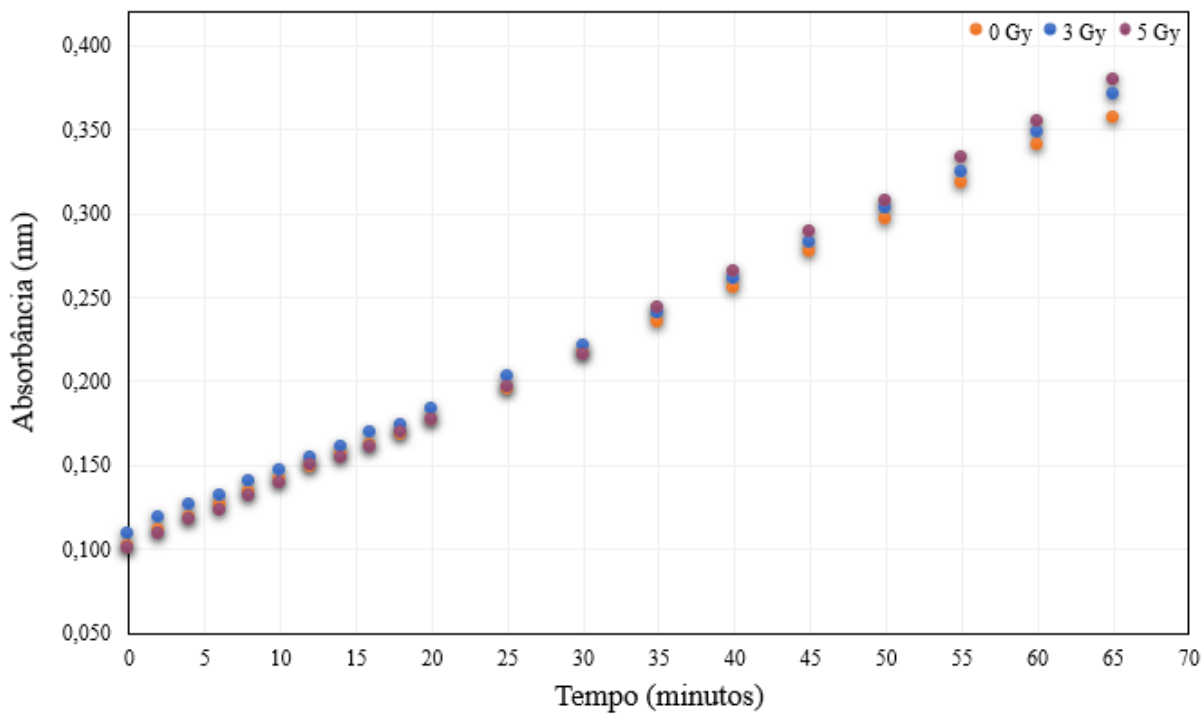
O estresse oxidativo formado no plasma murinho foi avaliado a partir dos valores de metabólitos de RLs e atividade antioxidante. No entanto, 24 horas após irradiação com 7 Gy a técnica d-ROMs evidenciou aumento significativo nos valores, mas para qualquer uma das outras doses não foi possível observar diferenças significativas. Por fim, a pesquisa concluiu que o método d-ROMs poderia servir, até certo ponto, como um bioindicador prognóstico de exposição às RIs (KILK et al., 2014).

Diante do exposto, resultados semelhantes aos do voluntário B poderão ser mais bem avaliados com o auxílio de novas técnicas. Mas também, é preciso compreender que cada indivíduo deve ser estudado isoladamente, pois a variabilidade humana é imensa e a viabilidade da metodologia empregada nesse trabalho necessita do apoio de testes complementares para a investigação individual.

4.1.3 Voluntário C

O terceiro voluntário é do sexo feminino, não tinha o hábito de praticar exercícios físicos, não trabalha com RIs e não fez uso de substâncias que poderiam interferir diretamente nos resultados nas 48 horas anteriores a coleta do SPV. A Figura 22 mostra o comportamento obtido no experimento.

Figura 22 – Voluntário C: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma



Fonte: A autora (2022)

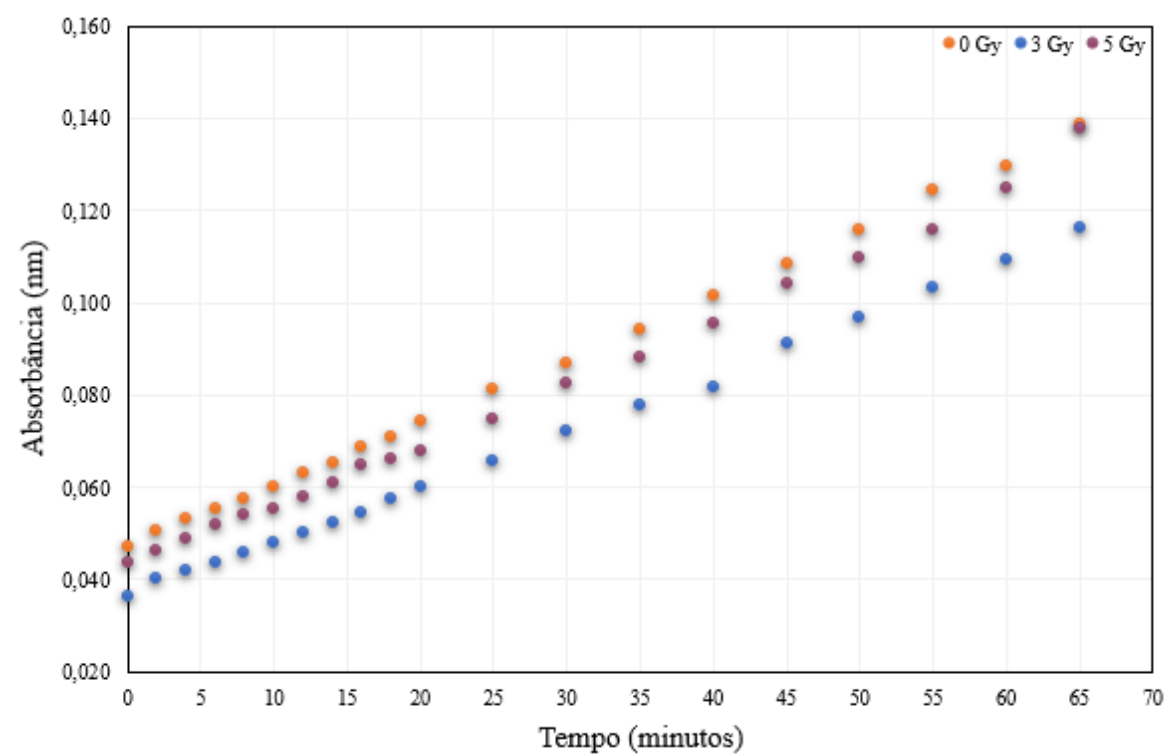
A partir dos 35 minutos de reação é possível discriminar discretamente as diferentes doses, situação análoga a do voluntário A. Ou seja, quando maior for a dose absorvida, maior será o efeito molecular radioinduzido. É importante ressaltar que não podemos comparar com tanto rigor os dois voluntários, pois no sistema reprodutor feminino os RLs e ROS são agentes moduladores de diversos mecanismos biológicos, dentre eles, no desempenho das funções hormonais (ANDRADE et al., 2010). Entretanto, a voluntária C não possuía nenhum diagnóstico que pudesse intervir diretamente no resultado, como por exemplo, patologias associadas ao sistema reprodutor feminino (endometriose) e doenças ligadas ao metabolismo (diabetes).

Nos primeiros minutos da reação o gráfico mostrou que os valores são basicamente os mesmos e como foi discutido anteriormente os efeitos danosos promovidos pela interação da radiação ionizante com moléculas de H₂O são bastantes variados e dependem de inúmeros fatores, como o tipo e extensão do dano a biomoléculas, o local de geração de radicais e espécies reativas e, sobretudo, à capacidade de reparo do sistema biológico (ALIZADEH; ORLANDO; SANCHE, 2015). Ao tentar buscar compreender esse resultado com embasamento teórico, é possível que o organismo da terceira voluntária tenha respondido de forma mais competente ao estresse oxidativo radioinduzido, mas para fortalecer essa ideia seria necessário a realização de mais experimentos que corroborasse estatisticamente com o primeiro achado.

4.1.4 Voluntário D

A quarta voluntária praticava exercícios físicos, é uma profissional de radiologia, mas na época do teste não trabalhava com fontes radioativas, e também, não fez uso de substâncias que poderiam interferir nos resultados nas 48 horas anteriores a coleta do SPV. A Figura 23 mostra o comportamento obtido no experimento.

Figura 23 – Voluntário D: Níveis de absorbâncias da reação de complexação das NPs de CuS com moléculas reativas presentes no plasma



Fonte: A autora (2022)

No gráfico é evidente o contraste dos valores obtidos quando comparados aos dos outros voluntários. Os níveis de absorbância da amostra controle aparecem no topo do gráfico, e em seguida (nesta ordem) as doses de 5 e 3 Gy.

Sabe-se que a exposição à radiação ionizante produz radicais derivados do oxigênio que são considerados bastantes deletérios, estes incluem radicais hidroxilas, o ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio. A geração dessas moléculas causa uma reação química em cascata. Todavia, a resposta celular à radiação depende da dose absorvida, da radiosensibilidade e do reparo tecidual inerente as funções intracelulares moduladoras que incluem o estágio do ciclo celular (ZEISEL, 2004). Observando o resultado é possível criar hipóteses correlacionadas com alguns achados científicos.

O interior da célula é repleto de O_2 e sua concentração intensifica a dimensão do dano na estrutura do DNA. A vida média de um radical é de 10^{-6} s. Em um indivíduo com níveis mais baixos de O_2 , os efeitos indiretos causados pela radiação ionizante podem ser reparados mais facilmente, isso ocorre devido a oxidação de RLs de curta duração complexados à molécula de DNA. Porém, algumas espécies do grupamento dos Tióis competem com essa oxidação e nesse processo reduzem quimicamente outros radicais gerados ao longo da reação e, por consequência, reparam esses danos (KLEIN et al., 2020; ZEISEL, 2004).

Há duas interpretações lógicas para os achados experimentais da voluntária D. A primeira seria o poder de ação antioxidante. Em outras palavras, levando em consideração uma exposição de corpo inteiro com doses entre 3 e 5 Gy seu organismo responderia rapidamente combatendo a produção excessiva e desordenada de RLs e ROS. Em poucos instantes os níveis dessas substâncias estariam equilibrados, isso diminui a probabilidade do dano em biomoléculas de alta especificidade como o DNA, além de manter o padrão homeostático (ZEISEL, 2004). Antagônico a isso, é possível que esse resultado traduza uma maior radiosensibilidade comparando com os outros voluntários.

Caso ocorra uma superprodução de radicais e espécies reativas, ocasionando uma situação de grande estresse oxidativo, os mecanismos de reparo antioxidantes muitas vezes não conseguem dar conta da demanda de produção dessas moléculas. O resultado disso é o dano demasiado ao maquinário celular e consequentemente apoptose. Se há menos células vivas, há uma diminuição de RLs e ROS provenientes do interior delas e graficamente os níveis de absorvância para tais doses se mostrará menor. Em resumo, para garantir a confiabilidade dessas hipóteses, seria necessário estudo complementares.

Visto que os efeitos indiretos causados pela interação da radiação ionizante com a matéria ocorrem em maior frequência e sucedem outros eventos, é necessário investir em mais pesquisas com o objetivo de compreender melhor os fenômenos associados (CALISKAN; CALISKAN, 2018). Além do mais, é de extrema importância a elaboração de técnicas mais rápidas em biodosimetria, pois um dos maiores problemas em casos de incidentes e acidentes nucleares é a ausência do conhecimento prévio da dose em que o indivíduo foi exposto. Esse fator prejudica diretamente a equipe de saúde nas tomadas de decisões terapêuticas.

5 CONCLUSÃO

Foram observadas diferenças nos níveis de absorbância da complexação entre as nanopartículas de CuS e as espécies reativas, no plasma sanguíneo, variando com a dose.

Os resultados obtidos indicam a viabilidade do uso de Nanopartículas de Sulfeto de Cobre como um nanobiossensor para avaliar os níveis de espécies químicas reativas, em amostras de sangue irradiado.

Os achados desta pesquisa sugerem a aplicação de nanopartículas de CuS, juntamente com técnicas de determinação das concentrações de radicais livres e espécies reativas de oxigênio, em estudos de radiosensibilidade humana a partir de amostras de plasma sanguíneo irradiado de um número maior de indivíduos.

REFERÊNCIAS

- ALIZADEH, Elahe; ORLANDO, Thomas M.; SANCHE, Léon. Biomolecular Damage Induced by Ionizing Radiation: the direct and indirect effects of low-energy electrons on dna. **Annual Review Of Physical Chemistry**, Sherbrooke, v. 66, n. 1, p. 379-398, 1 abr. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-physchem-040513-103605>. Acesso em: 09 mar. 2022.
- ALVES, Clayton Q. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, out. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422010001000033>. Acesso em: 09 de mar. de 2022
- AMARAL, Ademir. Physical and biological dosimetry for risk perception in radioprotection. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, Curitiba, v. 48, n. 2, p. 229-234, out. 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-89132005000700034>. Acesso em: 27 fev. 2022.
- AMARAL, Ademir. Trends in biological dosimetry: an overview. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, Curitiba, v. 45, n. , p. 119-124, set. 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-89132002000500017>. Acesso: 28 de fev. de 2022.
- ANDRADE, Aline Zyman de. *et al.* Marcadores séricos de estresse oxidativo em mulheres inférteis com endometriose. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 6, p. 279-285, jun. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-72032010000600005>. Acesso em: 09 mar. 2022.
- APEL, Klaus; HIRT, Heribert. REACTIVE OXYGEN SPECIES: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review Of Plant Biology**, Annual Reviews, [S.L.], v. 55, n. 1, p. 373-399, 2 jun. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>.
- ASSIS, Letícia Marques de. *et al.* Revisão: características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal Of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, 24 abr. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1981-67232012005000004>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.
- AVELLO, Marcia; SUWALSKY, Mario. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. **Atenea (Concepción)**, Concepción, v. 2, n. 494, p. 161-172, jun. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/s0718-04622006000200010>. Acesso em: 28 fev. 2022.
- BANDEIRA, Yan Bueno; MACKEDANZ, Luiz Fernando. Mecanismos de limitação da energia de raios cósmicos durante sua propagação. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 1-13, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbef/a/BjRMqrppGcWSTmWhZMrBgxp/?lang=pt>. Acesso em: 26 fev. 2022
- BANG, Jin Ho; SUSLICK, Kenneth S.. Applications of Ultrasound to the Synthesis of Nanostructured Materials. **Advanced Materials**, Weinheim, v. 22, n. 10, p. 1039-1059, 1 fev. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/adma.200904093>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.
- BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 629-643, ago. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52732010000400013>. Acesso em: 28 fev. 2022.

BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P.. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, fev. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422006000100021>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

BOLUS, Norman E.. Basic Review of Radiation Biology and Terminology. **Journal Of Nuclear Medicine Technology**, [S.L.], v. 45, n. 4, p. 259-264, dez. 2017. Society of Nuclear Medicine. DOI: <http://dx.doi.org/10.2967/jnmt.117.195230>. Acesso em: 27 fev. 2022.

BUTTERWORTH, Karl T. et al. Radiosensitization by gold nanoparticles: effective at megavoltage energies and potential role of oxidative stress. **Translational Cancer Research**, Gaziabade, v. 2, n. 4, p. 269-279, ago. 2013. Disponível em: <https://tcr.amegroups.com/article/view/1514/2244>. Acesso em: 27 fev. 2022.

CAËR, Sophie Le. Water Radiolysis: influence of oxide surfaces on h₂ production under ionizing radiation. **Water**, Paris, v. 3, n. 1, p. 235-253, 28 fev. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/w3010235>. Acesso em: 09 de mar. de 2022.

ÇALIŞKAN, Betül; ÇALIŞKAN, Ali Cengiz. Interaction with Matter of Ionizing Radiation and Radiation Damages (Radicals). In: DJEZZAR, Boualem (ed.). **Ionizing Radiation Effects and Applications**. Vienna: Intech Open, 2018. p. 186. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/6149>. Acesso em: 09 mar. 2022.

CAMACHO, Alini Luísa Diehl; CAMACHO, David Lamberto Diehl; MANCIO, Maurício. Avaliação do aumento da reatividade da cinza volante através do método sonoquímico. **Revista Matéria**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 1-10, 18 out. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-707620180003.0540>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

CORDOVA, Caio Mauricio Mendes de. *et al.* Determinação das glicemias capilar e venosa com glicosímetro versus dosagem laboratorial da glicose plasmática. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 5, p. 379-384, out. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442009000500006>. Acesso em: 27 fev. 2022.

DAVIES, Kelvin J.A.. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. **Biochemical Society Symposia**, Londres, v. 61, p. 1-31, 1 nov. 1995. DOI: <http://dx.doi.org/10.1042/bss0610001>. Acesso em: 28 fev. 2022.

DENG, Chonghai. *et al.* One-pot sonochemical fabrication of hierarchical hollow CuO submicrospheres. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 18, n. 5, p. 932-937, set. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.01.007>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

DHASADE, S. *et al.* Synthesis of CuS nanorods grown at room temperature by electrodeposition method. **Materials Chemistry And Physics**, Houston, v. 137, n. 1, p. 353-358, nov. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2012.09.033>. Acesso em: 28 fev. 2022.

DOBRZYŃSKA, Małgorzata M. *et al.* The Effect Occupational Exposure to Ionizing Radiation on the DNA Damage in Peripheral Blood Leukocytes of Nuclear Medicine Personnel. **Journal Of Occupational Health**, Poland, v. 56, n. 5, p. 379-386, set. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1539/joh.13-0287-oa>. Acesso em: 08 de mar. de 2022

DÖRR, W.. Radiobiology of tissue reactions. **Annals Of The Icrp**, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 58-68, 5 mar. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0146645314560686>. Acesso em: 27 fev. 2022.

DURANTE, Marco; FORMENTI, Silvia C.. Radiation-Induced Chromosomal Aberrations and Immunotherapy: micronuclei, cytosolic dna, and interferon-production pathway. **Frontiers In Oncology**, Lausanne, v. 8, n. 192, p. 1-9, 29 maio 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2018.00192>. Acesso em: 27 fev. 2022.

DUTTA, Amit Kumar. *et al.* CuS nanoparticles as a mimic peroxidase for colorimetric estimation of human blood glucose level. **Talanta**, [S.L.], v. 107, p. 361-367, mar. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914013000428?via%3Dihub>. Acesso em: 27 fev. 2022.

FERNANDES, Thiago de Salazar e. **Emprego das aberrações cromossômicas instáveis e micronúcleis no biomonitoramento individual**: estudo comparativo. 2005. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Energia Nuclear, Centro de Tecnologia e Geociência, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005. Disponível em: <https://attena.ufpe.br/handle/123456789/9930>. Acesso em: 27 fev. 2022.

FERNANDES, Thiago Salazar; LOYD, David C.; AMARAL, Ademir. Biodosimetry for Dose Assessment of Partial-Body Exposure: A Methodological Improvement. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**. Curitiba, p. 97-102. dez. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/babt/a/tFkZ4CSJqPgtTCywMrCdyYN/?lang=en>. Acesso em: 27 fev. 2022.

FERREIRA, Hadma Sousa; RANGEL, Maria do Carmo. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 1860-1870, ago. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422009000700033>. Acesso em: 28 fev. 2022.

FORGIARINI JUNIOR, Luiz Alberto. *et al.* Estresse oxidativo e alterações estruturais pulmonares no diabetes mellitus experimental. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 35, n. 8, p. 788-791, ago. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-37132009000800011>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

FREITAS, Andreia Andrade de. *et al.* Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 172-177, mar. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612008000100025>. Acesso em: 28 fev. 2022.

FREITAS, Danúbia Maria da Silva. **Estudo do uso de nanocargas de sulfeto de cobre II em composições de PVC expostas à radiação gama**. 2014. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Energia Nuclear, Centro de Tecnologia e Geociência, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

FREITAS, Danúbia Maria da Silva. *et al.* Effect of Copper Sulfide Nanoparticles in Poly(vinyl chloride) Exposed to Gamma Irradiation. **Journal Of Inorganic And Organometallic Polymers And Materials**, [S.L.], v. 27, n. 5, p. 1546-1555, 30 jun. 2017.

Springer Science and Business Media LLC. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10904-017-0615-8>. Acesso em: 28 fev. 2022

GEDANKEN, Aharon. Using sonochemistry for the fabrication of nanomaterials. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 47-55, abr. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2004.01.037>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

GIGLIOTTI, Patrícia. ESTUDO DO METABOLISMO DO FERRO. **Academia de Ciência e Tecnologia**, São José do Rio Preto, v. 1, n. 3, p. 1-7, mar. 2011. Disponível em: <https://www.ciencianews.com.br/index.php/revista-eletronica-virtual/revista-eletronica-virtual-artigos/artigos-de-hematologia/>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

GIMENES, Lincoln da Silva; VASCONCELOS, Laércia Abreu. Efeitos da radiação ionizante sobre comportamentos mantidos por contingências operantes. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, Brasília, v. 15, n. 3, p. 219-225, dez. 1999. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-37721999000300005>. Acesso em: 08 de mar. de 2022

GROTTO, H.Z.W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** v. 30, n. 5, p. 390-397, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/HLcTcgqkgV7VmpRWyWTTVXw/>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

HALLIWELL, Barry. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. **Plant Physiology**, New York, v. 141, n. 2, p. 312-322, 1 jun. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.106.077073>. Acesso em: 28 fev. 2022.

HECHT, Markus. *et al.* Cytotoxic effect of Efavirenz in BxPC-3 pancreatic cancer cells is based on oxidative stress and is synergistic with ionizing radiation. **Oncology Letters**, Erlangen, v. 15, n. 0, p. 1728-1736, 5 dez. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.3892/ol.2017.7523>. Acesso em: 08 de mar de 2022.

HOSSEINI, M.R. *et al.* Biologically synthesized copper sulfide nanoparticles: production and characterization. **Materials Science In Semiconductor Processing**, Cleveland, v. 15, n. 2, p. 222-225, abr. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mssp.2012.03.012>. Acesso em: 28 fev. 2022.

IAEA (org.). **Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation** Vienna: International Atomic Energy Agency, 2011. Disponível em: <https://www.iaea.org/publications/8735/cytogenetic-dosimetry-applications-in-preparedness-for-and-response-to-radiation-emergencies>. Acesso em: 27 fev. 2022.

IAEA (org.). **Radiation Biology: A Handbook for Teachers and Students**. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2010(1). Disponível em: <https://www.iaea.org/publications/search?keywords=Radiation+Biology%3A+A+Handbook+for+Teachers+and+Students&Search=Search>. Acesso em: 27 fev. 2022.

IAEA (org.). **Radiation Protection and Safety of Radiation Sources: International Basic Safety Standards**. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2014. Disponível em: <https://www.iaea.org/publications/8930/radiation-protection-and-safety-of-radiation-sources-international-basic-safety-standards>. Acesso em: 27 fev. 2022.

IAEA (org.). **Radiation Treatment of Polluted Water and Wastewater**. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2009. Disponível em: <https://www.iaea.org/publications/7980/radiation-treatment-of-polluted-water-and-wastewater>. Acesso em: 27 fev. 2022.

ICRP (org.). **ICRP 103**:: the 2007 recommendations of the international commission on radiological protection. **Annals Of The Icrp**, [S.L], v. 37, n. 2-4, p. 1-34, abr. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.icrp.2007.10.001>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

KAGAN, C. B. Murray And C. R.; BAWENDI, M. G.. Synthesis and Characterization of Monodisperse Nanocrystals and Close-Packed Nanocrystal Assemblies. **Annual Review Of Materials Research**, New York, v. 30, n. 1, p. 545-610, ago. 2000. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.matsci.30.1.545>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

KASHIWAKURA, Ikuo. Analysis of Oxidative Stress Markers in Plasma Derived from Individuals Exposed to Ionizing Radiation. **Biomedical Journal Of Scientific & Technical Research**, Amori, v. 15, n. 5, p. 11642-11645, 12 mar. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.26717/bjstr.2019.15.002768>. Acesso em: 09 mar. 2022.

KILK, K.; et al. Assessment of oxidative stress in serum by d-ROMs test. **Free Radical Research**, Tartu, v. 48, n. 8, p. 883-889, 21 maio 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/10715762.2014.919390>. Acesso em: 09 mar. 2022.

KLEIN, Sabrina Gabriela; BRAIBANTE, Mara Elisa Fortes; BRAIBANTE, Hugo Tubal Schmitz. REAÇÕES DE OXI-REDUÇÃO: uma proposta de abordagem em sala de aula. **Revista Experiências em Ensino de Ciências**, Cuiabá, v. 15, n. 1, p. 468-487, out. 2015. Disponível em: <https://fisica.ufmt.br/eenciojs/index.php/eenci/article/view/573/544>. Acesso em: 09 mar. 2022.

LAMOUREUX, Guy; OGILVIE, John. Orbitals in general chemistry, part I:: the great deate. **Química Nova**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 224-228, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170649>. Acesso em: 28 fev. 2022.

LIMA NETO, Emílio dos Reis. Aspectos relevantes da nanotecnologia e a sua aplicação na construção civil. **Especialize On-Line Ipog**, Goiânia, v. 01, n. 006, p. 1-19, dez. 2013. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/2841175/mod_folder/content/0/Aplicacoes%20da%20Nanotecnologia-2.pdf. Acesso em: 28 fev. 2022.

LIMA, Sc de; AMARAL, A; FERNANDES, T de Salazar e. Use of C-banding for identifying radiation induced micronuclei. **Biotechnic & Histochemistry**, London, v. 92, n. 4, p. 283-287, 26 abr. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/10520295.2017.1305498>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

LOBO, V. *et al.* Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, Bangalore, v. 4, n. 8, p. 118-126, mar. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.4103/0973-7847.70902>. Acesso em: 28 fev. 2022.

LOMAX, M.e.; FOLKES, L.K.; O'NEILL, P.. Biological Consequences of Radiation-induced DNA Damage: relevance to radiotherapy. **Clinical Oncology**, Lewes, s v. 25, n. 10, p. 578-585, out. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clon.2013.06.007>. Acesso em: 27 fev. 2022.

LOPES, Elio; BECKER, Daniela. Influência do uso do poliol reciclado obtido pela glicólise na preparação da espuma rígida de poliuretano. **Polímeros**, Santa Catarina, v. 22, n. 2, p. 200-205, 13 mar. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-14282012005000014>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

LOURENÇO, R. *et al.* Ação sonoquímica e influência das condições de tratamento térmico na preparação de cimentos do sistema binário CaO-Al₂O₃. **Cerâmica**, São Paulo, v. 56, n. 337, p. 28-38, mar. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0366-69132010000100006>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

LUSHCHAK, Volodymyr I.. Classification of oxidative stress based on its intensity. **Excli Journal**, Dortmund, p. 922-937, 26 ago. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.17877/DE290R-7035>. Acesso em: 28 fev. 2022.

MA, Xiaoming. *et al.* A universal multicolor immunosensor for semiquantitative visual detection of biomarkers with the naked eyes. **Biosensors And Bioelectronics**, [S.L], v. 87, n. 22, p. 122-128, jan. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2016.08.021>. Acesso em: 27 fev. 2022.

MAGDER, Sheldon. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life?. **Critical Care**, London, v. 10, n. 1, p. 208-216, fev. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/cc3992>. Acesso em: 28 de fev de 2022.

MAIOLI, N.A. *et al.* The superoxide anion donor, potassium superoxide, induces pain and inflammation in mice through production of reactive oxygen species and cyclooxygenase-2. **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, São Paulo, v. 48, n. 4, p. 321-331, abr. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1414-431x20144187>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

MARTINES, Marco Antonio Utrera; DAVOLOS, Marian Rosaly; JAFELICCI JÚNIOR, Miguel. O efeito do ultra-som em reações químicas. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 251-256, abr. 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422000000200017>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

MARTINS, Cláudia Rocha et al. Sulfetos: por que nem todos são insolúveis?. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2283-2286, out. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422010001000044>. Acesso em: 27 fev. 2022.

MASON, T.J.; PANIWNKY, L.; LORIMER, J.P.. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, Uk, v. 3, n. 3, p. 253-260, nov. 1996. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s1350-4177\(96\)00034-x](http://dx.doi.org/10.1016/s1350-4177(96)00034-x). Acesso em: 28 de fev. de 2022.

MDLELENI, Millan M.; HYEON, Taeghwan; SUSLICK, Kenneth S.. Sonochemical Synthesis of Nanostructured Molybdenum Sulfide. **Journal Of The American Chemical Society**, NW - Washington, v. 120, n. 24, p. 6189-6190, 1 jun. 1998. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ja9800333>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

MURPHY, Michael P.. How mitochondria produce reactive oxygen species. **Biochemical Journal**, London, v. 417, n. 1, p. 1-13, 12 dez. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1042/bj20081386>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

OKUNO, Emico. Efeitos biológicos das radiações ionizantes: acidente radiológico de Goiânia. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 27, n. 77, p. 185-200, abr. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-40142013000100014>. Acesso em: 27 fev. 2022.

OKUNO, Emico; CALDAS, Iberê Luiz; CHOW, Cecil. Efeitos biológicos da radiação. In: OKUNO, Emico; CALDAS, Iberê Luiz; CHOW, Cecil. **Física para ciências biológicas e biomédicas**. São Paulo: Harper & Row do Brasil, 1982. p. 71-79.

OLIVEIRA, Yonara Silva Garcia de. *et al.* Comparação entre os métodos laboratorial e portátil na análise de glicemia em felinos com amostras de sangue venoso central e capilar. **Ciência Animal Brasileira**, Goiás, v. 16, n. 2, p. 279-286, jun. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1089-6891v16i231266>. Acesso em: 27 fev. 2022.

PAGANETTI, Harald. Relative biological effectiveness (RBE) values for proton beam therapy. Variations as a function of biological endpoint, dose, and linear energy transfer. **Physics In Medicine And Biology**, UK, v. 59, n. 22, p. 419-472, 31 out. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/59/22/r419>. Acesso: 28 de fev. de 2022.

PEREIRA, Benedito. Radicais livres de oxigênio e sua importância para funcionalidade imunológica. **Motriz**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 71-80, dez. 1996. Disponível em: www.rc.unesp.br/ib/efisica/motriz/02n2/2n2_ART03.pdf. Acesso em: 09 mar. 2022.

PÉREZ-JUSTE, Ignacio; FAZA, Olalla Nieto. Interaction of Radiation with Matter. In: CID, Maria-Magdalena; BRAVO, Jorge (ed.). **Structure Elucidation in Organic Chemistry**. Weinheim: Wiley-Vch, 2015. p. 1-26. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527664610>. Acesso em: 27 fev. 2022.

PHANIENDRA, Aluguju; JESTADI, Dinesh Babu; PERIYASAMY, Latha. Free Radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. **Indian Journal Of Clinical Biochemistry**, Indian, v. 30, n. 1, p. 11-26, 15 jul. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>. Acesso em: 28 fev. 2022.

PINTO, Marcela Maria Pereira de Lemos; AMARAL, Ademir de Jesus. Análise Citogenética na Investigação de Incidentes Radiológicos. **NewsLab**, São Paulo, v. 18, n. 105, 2011. Disponível em: <https://www.sumarios.org/artigo/an%C3%A1lise-citogen%C3%A9tica-na-investiga%C3%A7%C3%A3o-de-incidentes-radiol%C3%B3gicos>. Acesso em: 28 fev. 2022.

PINTO, Marcela Maria Pereira de Lemos; SANTOS, Neyliane Frassinetti Gonçalves; AMARAL, Ademir. Current status of biodosimetry based on standard cytogenetic methods. **Radiation And Environmental Biophysics**, [S.L.], v. 49, n. 4, p. 567-581, 9 jul. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00411-010-0311-3>. Acesso em: 27 fev. 2022.

PINTO, Wagner de Jesus Pinto de Jesus. et al. O Paradoxo da Vida Aeróbica. **Journal Of Amazon Health Science**, Rio Branco, v. 1, n. 1, p. 11-35, mar. 2015. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/revista/index.php/ahs/article/view/31>. Acesso em: 28 fev. 2022.

POPRAC, Patrik. et al. Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases. **Trends In Pharmacological Sciences**, Massachusetts, v. 38, n. 7, p. 592-607, jul. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2017.04.005>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

REBA, Patrycja. Effects of ionizing radiation on the human body. **Zenodo**, Bydgoszcz, v. 9, n. 1, p. 158-164, 22 jan. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/ZENODO.2546054>. Acesso em: 09 de mar. de 2022.

REIS, Janice Sepúlveda. *et al.* Estresse oxidativo: revisão da sinalização metabólica no diabetes tipo 1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 52, n. 7, p. 1096-1105, out. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27302008000700005>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

RESCH, Sibelly; FARINA, Milton Carlos. MAPA DO CONHECIMENTO EM NANOTECNOLOGIA NO SETOR AGROALIMENTAR. **Ram. Revista de Administração Mackenzie**, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 51-75, jun. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-69712015/administracao.v16n3p51-75>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

ROBBINS, M. E. C.; ZHAO, W.. Chronic oxidative stress and radiation-induced late normal tissue injury: a review. **International Journal Of Radiation Biology**, London, v. 80, n. 4, p. 251-259, abr. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/09553000410001692726>. Acesso em 08 de mar. de 2022

RONSEIN, Graziella E. *et al.* Oxidação de proteínas por oxigênio singlete: mecanismos de dano, estratégias para detecção e implicações biológicas. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 563-568, jun. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422006000300027>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

RONSINI, Gabriel Henrique; COLENC, Raquel. Importância da irradiação de bolsas de transfusão de concentrado de hemácias na prevenção de reações adversas. **Tekhne e Logos**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 121-130, set. 2017. Disponível em: revista.fatecbt.edu.br/index.php/tl/article/view/475. Acesso em: 27 fev. 2022.

ROSATTO, Simone Soares. *et al.* Biossensores amperométricos para determinação de compostos fenólicos em amostras de interesse ambiental. **Química Nova**, Salvador, v. 24, n. 1, p. 77-86, fev. 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422001000100014>. Acesso em: 28 fev. 2022.

SALGADO, A. M.; JACOBY, G.; PAULA, L. A. de. O ESTADO DA CIÊNCIA DO DESENVOLVIMENTO DE BIOCENSORES A NÍVEL NACIONAL. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, Florianópolis, v. 1, n. 2, p. 2615-2615, fev. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5151/chemeng-cobeq2014-1873-17087-137387>. Acesso em: 28 fev. 2022.

SCHNEIDER, Cláudia Dornelles; OLIVEIRA, Alvaro Reischak de. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 308-313, ago. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-86922004000400008>. Acesso em: 28 fev. 2022.

SEIFRIED, Harold E.; ANDERSON, Darrell E.; SORKIN, Barbara C.; COSTELLO, Rebecca B.. Executive Summary Report. **The Journal Of Nutrition**, Bethesda, v. 134, n. 11, p. 3143-3163, 1 nov. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jn/134.11.3143s>. Acesso em: 09 de mar. de 2022

SILVA, Andreza Amaral da; GONÇALVES, Roberto Calderon. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 4, p. 994-1002, 26 mar. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782010005000037>. Acesso em: 28 de fev de 2022.

SILVA, Márcia Augusta da. **Dosimetria biológica em proteção radiológica: elaboração de curvas dose-resposta**. 1997. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Energia Nuclear, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 1997. Disponível em: <http://pelicano.ipen.br/PosG30/PDF/Marcia%20Augusta%20da%20Silva%20M.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2022.

SIMENEL, Cédric. Nuclear quantum many-body dynamics. **The European Physical Journal A**, [Bologna], v. 48, n. 11, p. 1-49, nov. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1140/epja/i2012-12152-0>. Acesso em: 27 fev. 2022.

SINGH, Priti. *et al.* Biomedical Perspective of Electrochemical Nanobiosensor. **Nano-Micro Letters**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 193-203, 21 dez. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s40820-015-0077-x>. Acesso em: 28 fev. 2022.

SOARES, Flávio Augusto Penna; PEREIRA, Aline Garcia; FLÔR, Rita de Cássia. Utilização de vestimentas de proteção radiológica para redução de dose absorvida: uma revisão integrativa da literatura. **Radiologia Brasileira**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 97-103, abr. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-39842011000200009>. Acesso: 28 de fev. de 2022

TAUHATA, Luiz; SALATI, Ivan P. A.; PRINZIO, Renato di; PRINZIO, Antonieta R. di. **Radioproteção e Dosimetria: fundamentos**. 9. ed. rev. Rio de Janeiro: Ird/Cnen, 2013. 373 p.

TJONG, S.C.; CHEN, Haydn. Nanocrystalline materials and coatings. **Materials Science And Engineering**, [S.L.], v. 45, n. 1-2, p. 1-88, set. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mser.2004.07.001>. Acesso em: 28 fev. 2022.

TONNESSEN, Britt H.; POUNDS, Lori. Radiation physics. **Journal Of Vascular Surgery**, [S.L.], v. 53, n. 1, p. 6-8, jan. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2010.05.138>. Acesso em: 27 fev. 2022.

TUGAROVA, Anna V.; KAMNEV, Alexander A.. Proteins in microbial synthesis of selenium nanoparticles. **Talanta**, [S.L.], v. 174, p. 539-547, nov. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2017.06.013>. Acesso em: 28 fev. 2022.

UNGER, Kristian. Integrative radiation systems biology. **Radiation Oncology**, Munich, v. 9, n. 1, p. 1-10, 11 jan. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1748-717x-9-21>. Acesso em: 27 fev. 2022.

VOGIN, Guillaume; FORAY, Nicolas. The law of Bergonié and Tribondeau: a nice formula for a first approximation. **International Journal Of Radiation Biology**, [S.L.], v. 89, n. 1, p. 2-8, 24 ago. 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3109/09553002.2012.717732>. Acesso em: 27 fev. 2022.

WONGPISUTPAISAN, Narongdet. *et al.* Sonochemical Synthesis and Characterization of Copper Oxide Nanoparticles. **Energy Procedia**, UK, v. 9, n. 40, p. 404-409, set. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.egypro.2011.09.044>. Acesso em: 28 fev. 2022.

YEUM, Kyung-Jin. *et al.* Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. **Archives Of Biochemistry And Biophysics**, [S.L.], v. 430, n. 1, p. 97-103, out. 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15325916/>. Acesso em: 27 fev. 2022.

YOSHIMURA, Elisabeth Mateus. Física das Radiações: interação da radiação com a matéria. **Revista Brasileira de Física Médica**, São Paulo, v. 3, n. 1, p. 57-67, 10 out. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9126-rbef-2016-0119>. Acesso em: 27 fev. 2022.

ZANONI, E. T. *et al.* Síntese e avaliação de nanopartículas de sílica mesoporosas na liberação controlada de feromônios repelentes de abelha. **Cerâmica**, São Paulo, v. 65, n. 374, p. 200-206, jun. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0366-69132019653742464>. Acesso em: 27 fev. 2022.

ZERAIK, Ana Eliza. *et al.* Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, Salvador, v. 31, n. 4, p. 731-734, jun. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422008000400003>. Acesso em: 28 fev. 2022.