



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE BIOCÊNCIAS

JOÃO EMANUEL FIRMO PINTO

**BIOMONITORAMENTO HUMANO EM RESIDENTES SOB  
INFLUÊNCIA DE NORM NA REGIÃO METROPOLITANA DO  
RECIFE**

Recife

2022

JOÃO EMANUEL FIRMO PINTO

**BIOMONITORAMENTO HUMANO EM RESIDENTES SOB  
INFLUÊNCIA DE NORM NA REGIÃO METROPOLITANA DO  
RECIFE**

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

Orientador: Prof. Dr. Ana Maria  
Mendonça de Albuquerque Melo.

Coorientador: Vinícius Henrique Teixeira  
Morais

Recife

2022

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

Pinto, João Emanuel Firmo.

Biomonitoramento humano em residentes sob influência de NORM na  
Região Metropolitana do Recife / João Emanuel Firmo Pinto. - Recife, 2022.  
55 : il.

Orientador(a): Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo

Cooorientador(a): Vinícius Henrique Teixeira Moraes

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de  
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2022.

Inclui referências, anexos.

1. Biomonitoração humana. 2. Ensaio cometa. 3. DNA. 4. Fosforito uranífero.  
5. NORM. I. Melo, Ana Maria Mendonça de Albuquerque. (Orientação). II.  
Moraes, Vinícius Henrique Teixeira. (Coorientação). III. Título.

570 CDD (22.ed.)

JOÃO EMANUEL FIRMO PINTO

**BIOMONITORAMENTO HUMANO EM RESIDENTES SOB  
INFLUÊNCIA DE NORM NA REGIÃO METROPOLITANA DO  
RECIFE**

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

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo  
UFPE/ Departamento de Biofísica e Radiobiologia

---

Dr. Dewson Rocha Pereira  
UFPE/ Departamento de Biofísica e Radiobiologia

---

Dr. Maíra de Vasconcelos Lima  
UFPE/ Departamento de Biofísica e Radiobiologia

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, à Deus por tudo que tenho em minha vida.

Agradeço à minha família por nunca terem desistido de mim, por todo amor e suporte que recebi.

Agradeço a meu pai, João Pinto, por sempre ter batalhado tanto para manter a nossa família e por ser um ser humano que posso admirar.

Agradeço à minha mãe, Edite, por ser essa mulher maravilhosa, que sempre lutou e batalhou bastante, tenho orgulho de ser seu filho.

Agradeço às minhas irmãs, Mirella e Márcia, que sempre me acolheram e me amaram bastante.

Agradeço à minha namorada, Gabriela, uma amiga e companheira, sempre me apoiando e me ajudando a evoluir mentalmente, entrou na minha vida na melhor hora possível.

Agradeço em especial a professora Ana, que me acolheu e me instruiu durante todo o processo, sempre com paciência e dedicação.

Agradeço a Vinícius, meu coorientador, sem ele esse projeto não estaria realizado. Obrigado por toda paciência e atenção.

Agradeço aos meus amigos, grupo Fazendeiro Mestre, por tornarem a vida acadêmica mais leve e mais fácil.

Agradeço à Lidiane e Jordana, sempre me aconselhando e me guiando durante todo o processo.

Agradeço a todo o pessoal do laboratório de Biofísica e Radiobiologia, por todo o acolhimento e instruções recebidas.

Agradeço à coordenação do curso de Biomedicina pelo apoio durante os anos de curso.

A todos vocês, muito obrigado!

PINTO, João Emanuel Firmo. **Biomonitoramento humano em residentes sob influência de NORM na Região Metropolitana do Recife**. 2022. 55 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

## RESUMO

Os Materiais Radioativos de Ocorrência Natural (NORM) são encontrados na crosta terrestre em diversos locais do mundo, até mesmo no nordeste brasileiro. No município de Olinda localizado no estado de Pernambuco - Brasil, foram realizados estudos radiométricos comprovando que nesta área há ocorrência de fosforito uranífero. Dessa formação geológica, ficou constatada a existência de radionuclídeos como  $^{238}\text{U}$  e  $^{232}\text{Th}$ . Do ponto de vista da proteção radiológica, é de suma importância estudar quais efeitos essa radioatividade natural pode exercer na população dessa área. Por conseguinte, como forma de auxiliar a determinar novas políticas sanitárias e de radioproteção, pode-se efetuar a biomonitoração humana utilizando ensaio cometa para investigar possíveis efeitos biológicos nesta população. O objetivo deste trabalho foi avaliar possíveis danos ao DNA dos residentes da área de NORM por meio do ensaio cometa. Para isto, foram selecionados quatro voluntários, sendo 2 pessoas de área NORM em Olinda-PE e 2 pessoas de área não NORM. Os linfócitos obtidos de sangue periférico humano foram avaliados quantos aos efeitos genotóxicos. Na análise do ensaio cometa, não houve diferença estatística significativa entre os Índices de Dano (IDs) da população residente de Olinda, tendo o voluntário 1 ( $\text{ID} = 50,35 \pm 23,86$ ) e o voluntário 2 ( $\text{ID} = 107 \pm 38,04$ ), e o da população não residente, sendo o controle 1 ( $\text{ID} = 93,67 \pm 27,02$ ) e o controle 2 ( $\text{ID}: 101,00 \pm 14,18$ ) ( $p > 0,05$ ). Os dados expõem que a população de Olinda, naturalmente exposta a radioatividade ambiental, não apresentou danos ao DNA estudados por meio do ensaio cometa, sugere-se mais estudos nesta área utilizando diferentes técnicas citogenéticas e um maior número de amostras.

**Palavras-chave:** biomonitoração humana, ensaio cometa, DNA, fosforito uranífero e NORM

PINTO, João Emanuel Firmo. **Human biomonitoring in residents under the influence of NORM in the Great Metropolis of Recife**. 2022. 55 pages. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

## **Abstract**

Naturally Occurring Radioactive Materials (NORM) are found in the earth's crust in several places around the world, even in northeastern Brazil. In the municipality of Olinda located in the state of Pernambuco - Brazil, radiometric studies have been carried out proving that in this area there is an occurrence of uraniferous phosphorite. From this geological formation, the existence of radionuclides such as  $^{238}\text{U}$  and  $^{232}\text{Th}$  was verified. From the radiological protection point of view, it is of utmost importance to study what effects this natural radioactivity can exert on the population of this area. Therefore, as a way to help determine new health and radioprotection policies, human biomonitoring using comet assay can be carried out to investigate possible biological effects in this population. The objective of this work was to evaluate possible DNA damage in residents of the NORM area by means of the comet assay. For this, four volunteers were selected, being 2 people from NORM area in Olinda-PE and 2 people from non NORM area. The lymphocytes obtained from human peripheral blood were evaluated for genotoxic effects. In the comet assay analysis, there was no statistically significant difference between the Damage Indices (DIs) of the resident population of Olinda, with volunteer 1 ( $\text{DI} = 50.35 \pm 23.86$ ) and volunteer 2 ( $\text{DI} = 107 \pm 38.04$ ), and that of the non-resident population, with control 1 ( $\text{DI} = 93.67 \pm 27.02$ ) and control 2 ( $\text{DI}: 101.00 \pm 14.18$ ) ( $p > 0.05$ ). The data expose that the population of Olinda, naturally exposed to environmental radioactivity, did not present DNA damage studied by comet assay, it is suggested that further studies in this area using different cytogenetic techniques and a larger number of samples.

**Palavras-chave:** biomonitoring human, comet assay, DNA, uraniferous phosphorite e NORM

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figura 1 – Irradiação mundial média.....</b>                                                                     | <b>12</b> |
| <b>Figura 2 – Série de decaimento radioativo do <math>^{238}\text{U}</math>.....</b>                                | <b>14</b> |
| <b>Figura 3 – Série de decaimento radioativo do <math>^{232}\text{Th}</math>.....</b>                               | <b>15</b> |
| <b>Figura 4 – Bacia Sedimentar da Paraíba.....</b>                                                                  | <b>18</b> |
| <b>Figura 5 – Município de Olinda.....</b>                                                                          | <b>20</b> |
| <b>Figura 6 – Graus de dano cometa 0 a 4.....</b>                                                                   | <b>26</b> |
| <b>Figura 7 – Índice de Dano (ID) ao DNA em linfócitos humanos de residentes e não residentes de área NORM.....</b> | <b>31</b> |
| <b>Figura 8 – Frequência de Dano (FD%) ao DNA em indivíduos residentes e não residentes de área NORM.....</b>       | <b>32</b> |
| <b>Figura 9 – Gráfico de graus de Dano ao DNA.....</b>                                                              | <b>32</b> |



## SUMÁRIO

|                                                           |           |
|-----------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                | <b>9</b>  |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>                     | <b>11</b> |
| 2.1. RADIOATIVIDADE AMBIENTAL .....                       | 11        |
| 2.1.1. Séries Radioativas.....                            | 13        |
| 2.1.1.1. Série do Urânio .....                            | 13        |
| 2.1.1.2. Série do tório .....                             | 14        |
| 2.1.1.3. Radônio .....                                    | 15        |
| 2.1.1.4. Radônio em águas subterrâneas .....              | 16        |
| 2.2. AREAS DE OCORRÊNCIA URANÍFERA .....                  | 17        |
| 2.2.1. Olinda .....                                       | 20        |
| 2.3. BIOMONITORAMENTO HUMANO .....                        | 21        |
| 2.3.1. Radiação Ionizante e seus efeitos biológicos ..... | 21        |
| 2.3.2. Linfócitos e Radiossensibilidade.....              | 22        |
| 2.3.3. Biomarcadores .....                                | 23        |
| 2.4. ENSAIOS CITOGENÉTICOS.....                           | 24        |
| 2.4.1. Ensaio Cometa.....                                 | 24        |
| <b>3. OBJETIVOS.....</b>                                  | <b>27</b> |
| 3.1. OBJETIVO GERAL .....                                 | 27        |
| 3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                          | 27        |
| <b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                       | <b>28</b> |
| 4.1. SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS E COLETA DAS AMOSTRAS .....  | 28        |
| 4.1.1. Ensaio Cometa.....                                 | 29        |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                    | <b>31</b> |
| <b>ANÁLISE DOS DANOS AO DNA.....</b>                      | <b>31</b> |
| <b>6. CONCLUSÕES.....</b>                                 | <b>34</b> |
| <b>7. PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>                      | <b>34</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                   | <b>35</b> |
| <b>ANEXO A .....</b>                                      | <b>43</b> |
| <b>ANEXO B.....</b>                                       | <b>48</b> |
| <b>ANEXO C.....</b>                                       | <b>51</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Os Materiais Radioativos de Ocorrência Natural (NORM) são encontrados na crosta terrestre e podem fazer parte ou serem utilizados em vários processos industriais, tendo como exemplo a extração de metais associada a elementos radioativos naturais (FERREIRA et al., 2022). Esses elementos podem ser resultantes tanto da composição geológica quanto geoquímica do solo, como do teor radioativo da água proveniente de fontes termais, ou ainda devido aos raios cósmicos (ROSA, 2012). As mais significantes fontes terrestres para exposição radioativa incluem o  $^{40}\text{K}$  (potássio), o  $^{87}\text{Rb}$  (rubídio) e os radionuclídeos provenientes das séries naturais do urânio ( $^{238}\text{U}$ ) e do tório ( $^{232}\text{Th}$ ) (MORAIS, 2013). Esses radionuclídeos naturais podem ser encontrados no nordeste brasileiro (SILVA NETO, 2020).

Na região costeira dos estados de Pernambuco e Paraíba, encontra-se a Bacia Sedimentar da Paraíba, na qual existe uma camada não contínua de fosforito uranífero, formada por rochas associadas a calcários arenosos/arenitos calcíferos, de forma tubular extensa de que varia de centímetros a metros (SOUZA, 2006). Em Pernambuco, na Região Metropolitana do Recife, a distribuição do fosforito uranífero abrange os municípios de Abreu e Lima, Olinda e Paulista (RAMOS, 2020).

Diante dessas informações, trabalhos realizaram avaliações radiométricas nesta região relatando a presença de radionuclídeos como tório, urânio, rádio e radônio na atmosfera, água de poços, alimentos e no solo (SILVA, 2014; FARIAS, 2016; AMARAL, 2018; MORAIS et al., 2022). Posteriormente, outros trabalhos foram realizados sobre biomonitoração animal utilizando o molusco da espécie *Biomphalaria glabrata* (MORAIS et al, 2022) e o estudo de incidência de câncer de pulmão nos residentes destas áreas (RAMOS, 2020). Os resultados desses trabalhos motivaram a realização do atual estudo utilizando biomonitoração humana na população sobre influência de NORM na Região Metropolitana do Recife.

A biomonitoração humana (BHM) fornece informações relevantes sobre efeitos no organismo vivo exposto à substâncias químicas e físicas, utilizando biomarcadores como urina, leite materno, unha, cabelo e sangue (JUSTINO, 2020). A BHM avalia produtos de reações químicas, metabólitos e danos ao DNA (SILVA,

2018), além disso vem sendo utilizada como uma importante ferramenta para políticas em saúde ambiental, pois fornece dados não só do ambiente externo, mas também sobre o nível de contaminação dos indivíduos (NETO, 2020).

Para avaliar uma possível exposição à radiação ionizante, técnicas de análise citogenéticas podem ser utilizadas, dentre elas, pode-se destacar o ensaio cometa, ferramenta muito útil para avaliação de danos e reparos do DNA. Para a execução desta técnica, pode-se utilizar células mononucleares de sangue periférico humano, pois estas são de fácil obtenção e apresentam radiossensibilidade (IAEA, 2011).

Em virtude dos aspectos abordados, este trabalho tem por objetivo avaliar a genotoxicidade da população que reside na Região Metropolitana do Recife em áreas de ocorrência de fosforito uranífero, para conhecimento dos efeitos biológicos e para fornecer suporte à proteção radiológica, contribuindo com os dados para o desenvolvimento de novas políticas sanitárias.

## 2. Revisão de Literatura

### 2.1. RADIOATIVIDADE AMBIENTAL

A radioatividade se define como o fenômeno pelo qual um núcleo instável emite partículas e ondas para atingir a estabilidade, ou seja, os elementos radioativos estão sempre emitindo radiações nucleares para se tornarem mais estáveis. As radiações nucleares podem ser representadas pelas partículas alfa ( $\alpha$ ), nêutron ( $\beta^-$ ), pósitron ( $\beta^+$ ) e nêutrons e pela radiação gama ( $\gamma$ ), que é denominada de eletromagnética (SANTOS, 2017 & RADVANYI; VILLAIN, 2017).

A radioatividade ambiental pode ser classificada em dois tipos: artificial e natural (MARTINHO, 2022). A radioatividade artificial é aquela produzida e manipulada pelo homem, onde podemos representá-la por testes nucleares, produção de radiofármaco e desenvolvimento de materiais bélicos. Já a radioatividade natural pode ser classificada de acordo com sua origem em radionuclídeos cosmogênicos, gerados na interação dos raios cósmicos com a atmosfera, como por exemplo o  $^{14}\text{C}$  (carbono) e o  $^{22}\text{Na}$  (sódio). E radionuclídeos primordiais que são aqueles que estão presentes desde a formação da terra, como o  $^{238}\text{U}$ ,  $^{232}\text{Th}$  e  $^{40}\text{K}$  (MARTINHO, 2022).

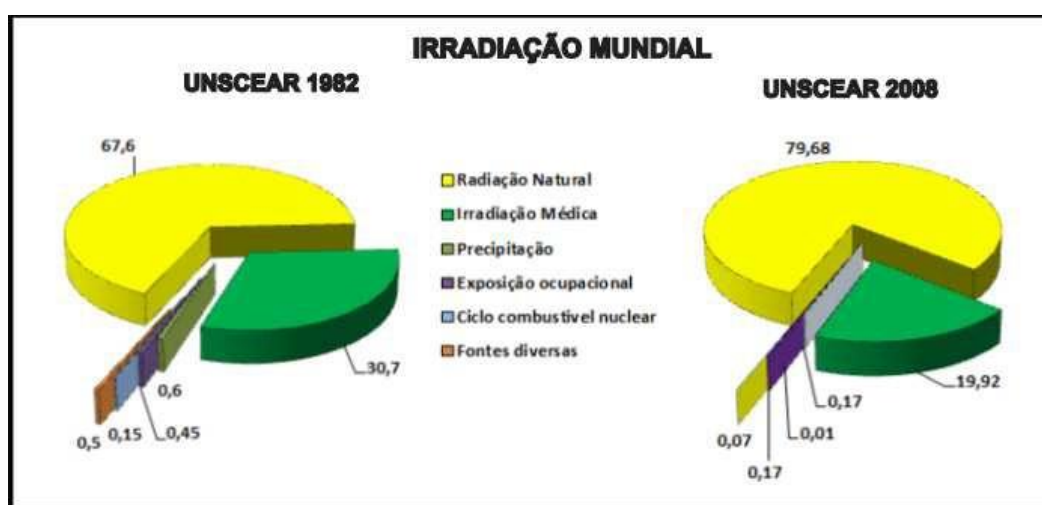
Os radionuclídeos primordiais ou terrestres surgiram durante o processo de formação do planeta. Porém, com o passar dos bilhões de anos da Terra, os isótopos de meia-vida curta foram extintos e os radionuclídeos que restaram são aqueles com idade similar à Terra, dentre eles se destacam o  $^{238}\text{U}$ , com meia-vida física de 4,5 bilhões de anos e o  $^{232}\text{Th}$  com 14 bilhões de anos. Esses elementos são os mais pesados, sendo compostos por radioisótopos e por meio deles uma série de decaimento é iniciada (VASCONCELOS, 2010; RADVANYI; VILLAIN, 2017; KLEMENT, 2019).

O  $^{238}\text{U}$ ,  $^{235}\text{U}$  e  $^{232}\text{Th}$  possuem decaimento radioativo com nuclídeos de propriedades físico-químicas distintas por isso apresentam variações nos tempos de meia-vida. Por meio de seus processos de desintegração, originam elementos

radiativos “filhos”, colaborando desta forma com a média anual de radiação natural (SHAHBAZI-GAHROUEI et al., 2013; NADALETI et al., 2016).

Acredita-se que vários fatores influenciem na dose proveniente de radiação natural, dentre eles, o tipo de radiação emitida, a quantidade de radionuclídeo incorporado ao corpo e a altitude. O ser humano pode ser exposto a radiação por duas maneiras, internamente, com radionuclídeos dentro do corpo que são ingeridos, inalados ou inoculados e, externamente, que ocorre por meio de fontes emissoras de radiação fora do corpo (SOWMITHRA et al., 2015). Cerca de 70% da dose recebida pelos indivíduos são de fontes naturais, dentre essa porcentagem de fontes emissoras naturais, podemos destacar o gás radônio ( $^{222}\text{Rn}$ ), um elemento natural, originário da série do urânio, que é responsável por cerca de 55% dessa dose (SOARES, 2018). A figura 1 ilustra o gráfico com as principais fontes de exposição à radiação, naturais e artificiais, com dados de 1982 e 2008 (UNSCEAR, 2008; NADALETI et al., SOARES 2018).

Figura 1 – Irradiação mundial média (1982 e 2008)



Fonte: UNSCEAR, 2008.

Portanto, o ser humano é constantemente exposto a radiações ionizantes oriundas de materiais naturalmente radioativos, também denominados Material Radioativo de Ocorrência Natural (NORM). Essa exposição ocorre por meio de diferentes formas como morar em regiões que possuem este tipo de ocorrência e ter contato com fontes radioativas naturais, como a água, o solo, o ar e os alimentos.

(NADALETI et al., 2016; KLEMENT, 2019). Por isso, é importante conhecer um pouco melhor as principais séries radioativas.

### 2.1.1. Séries Radioativas

Para se tornarem estáveis, alguns radionuclídeos com núcleos energeticamente instáveis realizam transmutações chegando em estados de energia menores, esse processo é denominado de séries radioativas naturais. Após o primeiro decaimento dos elementos progenitores, as configurações nucleares ainda estão instáveis, então realizam outras desintegrações sucessivas com o objetivo de chegar ao menor estado energético estável (PASSOS et al., 2012).

#### 2.1.1.1. Série do Urânio

Constituída por 14 radioisótopos, sendo 6 emissores beta, 8 alfa e um elemento químico estável, temos a série radioativa do  $^{238}\text{U}$  (Figura 2), também chamada de série  $4n+2$ , representando o número de massa dos membros. Do ponto de vista da proteção radiológica essa série é considerada a mais importante, devido ao tempo de meia vida dos radionuclídeos que são produzidos ao longo do decaimento. Dentre eles está o  $^{226}\text{Ra}$ , que é o sexto radionuclídeo da série e um dos mais importantes em razão do seu tempo de meia-vida de 1600 anos. Atrelado a isso está o fato de que ao liberar uma partícula alfa de 4,78 MeV, ele origina o  $^{222}\text{Rn}$ , seu precursor.

O radônio é caracterizado como um gás inerte com emissão alfa e tempo de meia-vida de 3,8 dias. Ele é o principal contribuinte da dose anual de exposição a fontes naturais. O seu decaimento origina o  $^{218}\text{Po}$  (polônio),  $^{214}\text{Pb}$  (chumbo),  $^{214}\text{Bi}$  (bismuto) e  $^{214}\text{Po}$  (polônio) com meia vida física curta (TURNER, 2007; DENTON et al., 2016; KLEMENT, 2019). Portanto, existe uma longa sequência de elementos radioativos quando o urânio decai, até chegar ao elemento chumbo, que é estável.

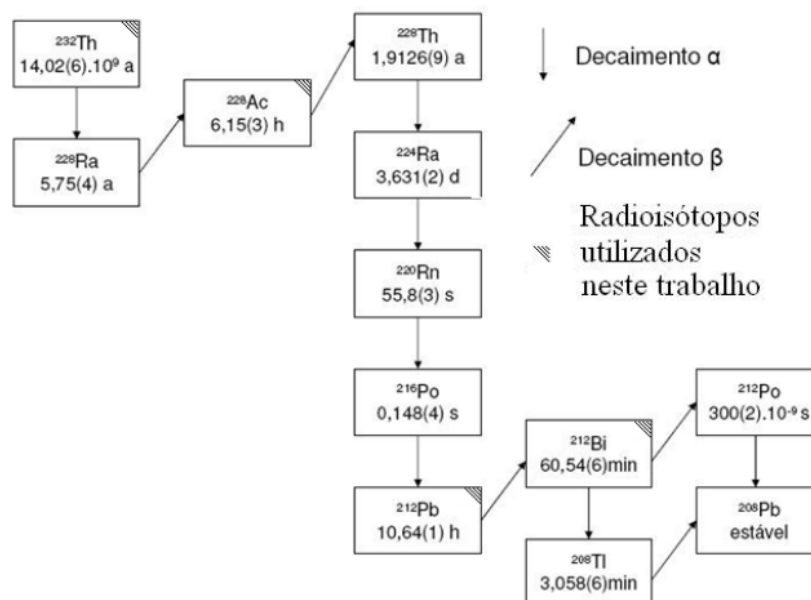
Figura 2 – Série radioativa do  $^{238}\text{U}$ 

Fonte: Adaptado de Borsato, 2017.

#### 2.1.1.2. Série do tório

O  $^{232}\text{Th}$  é o precursor de outra série de decaimento radioativo. Esta série possui onze radionuclídeos filhos instáveis, sendo conhecida como série 4n. O principal radioisótopo gerado é o  $^{228}\text{Ra}$ , emissor beta que possui 5,7 anos de meia-vida física. Ele é o precursor do  $^{220}\text{Rn}$ , um radionuclídeo gasoso que possui uma curta meia-vida física de 55,6 segundos não influenciando na vida dos indivíduos, sendo considerado 2 vezes menos relevante que o  $^{222}\text{Rn}$  em contribuição de doses, tendo pouca importância do ponto de vista da proteção radiológica. A figura 3 mostra a série de decaimento radiativo do  $^{232}\text{Th}$  (TURNER, 2007).

Os isótopos naturais das séries do  $^{238}\text{U}$  e  $^{232}\text{Th}$  ganharam destaque nas últimas décadas por meio de estudos radiológicos em regiões de radioatividade natural elevada na busca de respostas dos possíveis efeitos biológicos nos seres humanos decorrentes de exposições prolongadas a baixas doses de radiações ionizantes (ALMEIDA et al., 2020). Dentre os principais radionuclídeos, o radônio se destaca.

Figura 3 – Série radioativa do  $^{232}\text{Th}$ 

Fonte: Adaptado de Fonseca, 2016.

### 2.1.1.3. Radônio

Em 1900, Friedrich Ernest Dorn observou a liberação de um gás radioativo por meio de compostos de rádio e chamou de “emanação do rádio”. Em 1901, Rutherford foi o primeiro a conseguir isolar a massa molar desse elemento e por isso algumas literaturas o consideram como pioneiro na descoberta do radônio. Em 1910, Ramsay e Robert Whytlaw-Gray conseguiram pela primeira vez isolar em quantidades visíveis esse radionuclídeo, assim verificaram que o radônio era o gás mais denso conhecido e estimou sua massa molar em torno de  $222,5 \text{ g/mol}$  (PETTA et al., 2013). Posteriormente foi concluído que o radônio é um gás inodoro, acromático e insípido com mais densidade que o ar. Outra característica importante é que o radônio possui ponto de fusão de  $-71^\circ\text{C}$  e de ebulição  $-61,8^\circ\text{C}$ , número atômico igual a 86, massa de 198 a 228 e 36 isótopos (MAFRA, 2011).

O radônio possui três isótopos naturais provenientes de séries de decaimento distintas que são bastante conhecidos e estudados. Além do isótopo descrito acima proveniente da série do  $^{238}\text{U}$ , existe o  $^{219}\text{Rn}$  (actinônio) que pertence a série do  $^{235}\text{U}$



e é derivado do  $^{223}\text{Ra}$ , com tempo de meia-vida de 3,9 segundos; o  $^{220}\text{Rn}$  (torônio) que faz parte da série do  $^{232}\text{Th}$ , derivado do  $^{224}\text{Ra}$ , com tempo de meia-vida de 55,6 segundos (PANTELIC et al., 2019).

Por ser um gás mais denso que o ar, o radônio tende a difundir-se facilmente e pode ser encontrando em diversos locais como o solo, minérios, sedimentos e até mesmo na água. Em rochas e minerais, tende a permanecer retido, apresentando certo grau de complexidade em sua liberação. É por meio de processos de pulverização e/ou britagem dessas rochas realizado por algumas empresas de construção civil, por exemplo, que facilitam a liberação para superfície por meio de fissuras e poros (PETTA et al., 2013).

Quando emanado do solo, o  $^{222}\text{Rn}$  que é inalado tende a permanecer no sistema respiratório humano, isso se deve a sua propriedade de ser quimicamente inerte e ter uma vida útil mais longa que a taxa de respiração, fazendo com que boa parte seja exalada sem ser decomposta no próprio sistema. Contudo, alguns radionuclídeos filhos de meia-vida curta são sólidos e tendem a se fixar nas superfícies epiteliais das células pulmonares similarmente a aerossóis. Em razão do tempo de meia-vida curto, os brônquios e os pulmões acabam sendo irradiados, pois o decaimento radioativo ocorre antes mesmo que os pulmões possam limpar (PANTELIC et al., 2019).

Por conta da radiação emitida, acaba ocorrendo uma excitação de átomos e de algumas moléculas no corpo humano, isso acarreta em uma lesão que pode resultar em um possível câncer de pulmão (ABD ALI, 2019). Acredita-se que a energia proveniente da radiação ionizante que acomete as células epiteliais do pulmão seja o ponto de partida da carcinogênese (EPA, 2009; CARNEIRO, 2012).

#### 2.1.1.4. Radônio em águas subterrâneas

Apesar de ser facilmente difundido na natureza, o comportamento do  $^{222}\text{Rn}$  em águas subterrâneas é complexo, sendo influenciado por diversos fatores, entre eles está a composição litológica e geoquímica do material que a contém, esse é apenas um dos motivos porque há tanta variação de atividade do radônio nas águas subterrâneas de diferentes locais. A disposição de urânio e tório presente no solo/rocha também influencia diretamente na atividade desse radionuclídeo. Além

dos fatores citados, a velocidade do fluxo interfere bastante o transporte do radônio na água, podendo variar de centímetros a metros por dia e limitando muito a distância percorrida (HOWLADAR et al., 2017; SUKANYA et al., 2021).

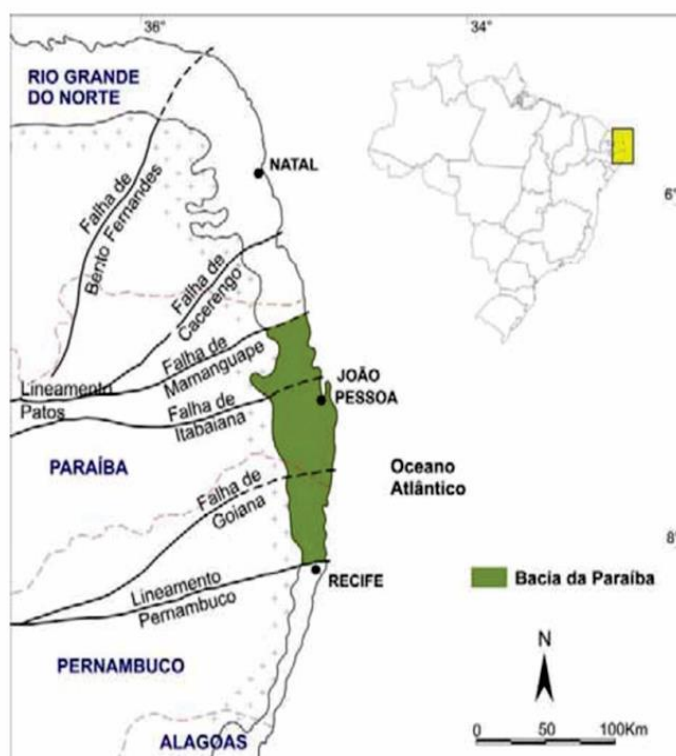
Nas águas usadas geralmente para consumo, o radônio é liberado quando alcança a superfície, devido ao alívio da pressão. A maioria das famílias que não tem acesso a um abastecimento público, utilizam a água através da perfuração de poços artesianos e acabam sendo irradiados por meio da ingestão de água ou inalação durante o banho (SKKEPSTRÖM; OLOFSSON, 2007; MCCALLUM et al., 2012). Indivíduos que ingeriram água potável com a presença de radônio tem o revestimento estomacal exposto à uma dose radioativa, porém estudos científicos não comprovam uma ligação entre o consumo de água potável contendo radônio e um maior risco de câncer de estômago (WHO, 2017). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a concentração de  $^{222}\text{Rn}$  no ar deve ser no máximo 100 Bq/m<sup>3</sup>, enquanto que para a água potável, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) determina 11,1 Bq.L<sup>-1</sup> (USEPA, 1999; WHO, 2006).

## 2.2. AREAS DE OCORRÊNCIA URANÍFERA

Em Pernambuco o município de Olinda, localizado na Região Metropolitana do Recife (RMR), está localizado sobre formações geológicas delimitadas pela Bacia Sedimentar da Paraíba (Figura 4). Esta bacia está inserida entre o Lineamento de Pernambuco – PE e o alto do Mamanguape na Paraíba – PB, em uma área que abrange cerca de 5300 Km<sup>2</sup>, englobando grande parte das faixas litorâneas de PE e PB, com cerca de 30 Km de extensão (SOUZA, 2006). Situado na bacia sedimentar da Paraíba, encontra-se a região urano fosfática do Nordeste brasileiro com uma superfície 150 Km de comprimento e 4 Km de largura, na qual encontra-se depósitos de urano-fosfato, a maior camada com concentração de urânio natural (U<sub>3</sub>O<sub>8</sub>), variando de 150 a 200 µg/g (AMARAL et al., 2018).

Duarte, em 1949, com o intuito de analisar água mineral através de camadas calcárias, descobriu um depósito de urano-fosfato. Com a finalidade de obter mais dados sobre a amplitude do depósito de fosfato e o grau de urânio natural nesta região, em 1952 o Departamento Nacional de Produção Mineral iniciou seus trabalhos (AMARAL et al., 2005).

Figura 4 - Bacia Sedimentar da Paraíba



Fonte: Souza, 2006

A região urano-fosfática foi descrita como uma faixa sedimentar costeira, composta por jazidas de rochas carbonáticas chamadas de fosforitos. A espessura dessas jazidas varia de centímetros a metros com forma tabular extensa, apresentando matrizes argilosas e calcíferas. A partir de uma avaliação afim de entender a relação entre a radioatividade e o teor de fosfato ( $P_2O_5$ ), foi verificado que o urânio depende da existência do fosfato na rocha fosfática para poder se estabelecer. A presença do urânio no fosfato é originária da sua degradação em águas costeiras por meio de lixiviações, o qual é depositado em minerais fosfáticos através de uma troca química do  $Ca^+$  nos fosfatos pelo  $U^{+4}$  (SAAD, 1974).

Além dos minerais, a água pode sofrer contaminação radioativa quando em contato com as rochas urânio-fosfato devido a processos de lixiviação e transporte

de urânio das rochas para os lençóis freáticos, um exemplo disso é o aquífero Beberibe, localizado em Olinda, que abastece a região urano-fosfática (SILVA FILHO, 2013). Segundo Amaral (1998) foram encontradas concentrações de urânio ( $U_3O_8$ ), na faixa de 10 a 530  $\mu\text{g/g}$  nas jazidas da região urano-fosfática.

Com base nas informações e dados obtidos a respeito da área de fosforito uranífero, algumas cidades da região foram bastante exploradas para extração de fosfato na década de 40, dentre elas Olinda e Paulista. A alta densidade demográfica, atividades agrícolas e industriais da região preocupou os estudiosos em relação a dose de exposição à radiação e os riscos radiológicos para a população (LIMA, 1996). Devido a isso, alguns estudos foram realizados nos municípios que fazem parte da região do fosforito uranífero, destacando-se Abreu e Lima, Paulista e Olinda, em que ficou claro a presença de NORM nos compartimentos do ecossistema atrelado ao risco de câncer nos habitantes locais devido a sua existência (AMARAL et al., 2005, 2018; MORAIS, 2013; RAMOS, 2020).

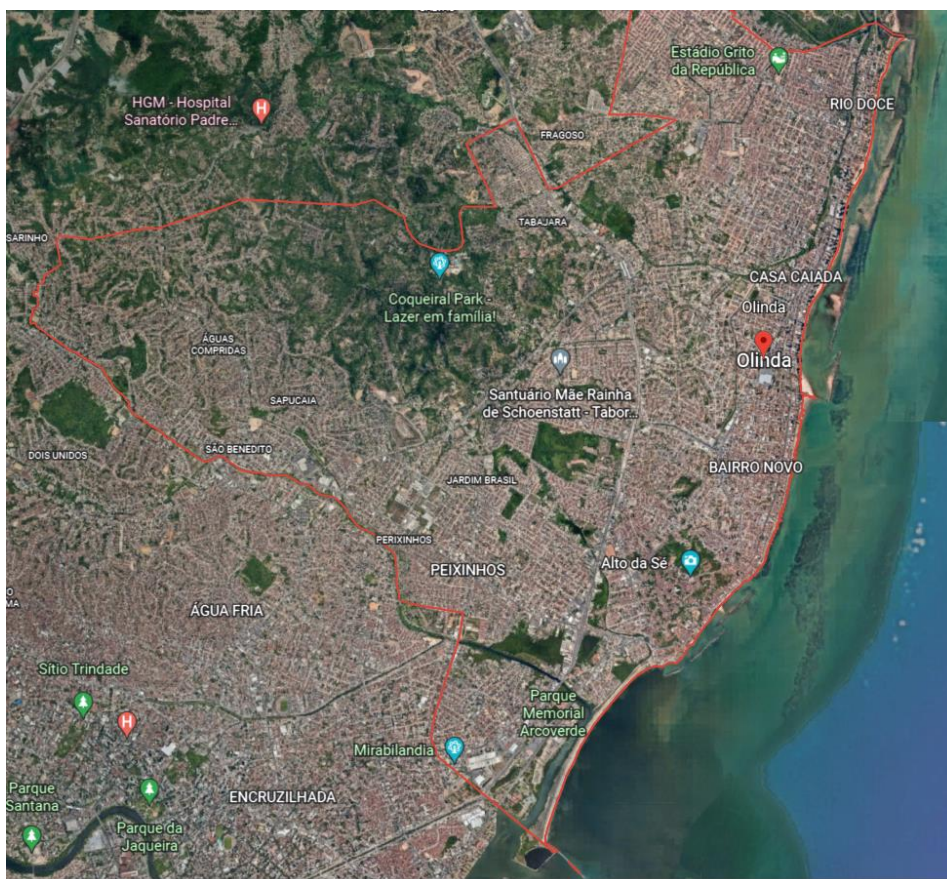
Alguns trabalhos reforçam a relevância de se estudar a área de fosforito uranífero no município de Olinda, dentre eles está o de Moraes (2013) que utilizou um detector gama portátil para verificar a dose de radiação ambiental, constatando que alguns locais apresentavam uma dose efetiva maior que a média mundial. O estudo realizado por Paiva (2019) analisou a distribuição de radionuclídeos nas águas de poços do aquífero Beberibe, localizado no município de Olinda, o qual constatou que algumas amostras de água subterrânea apresentavam concentrações de  $^{222}\text{Rn}$  acima do nível recomendado pela USEPA para radônio em água potável. Ramos (2020) em sua tese de doutorado estudou a incidência de câncer de pulmão em habitantes do município de Olinda devido a presença de radônio, no qual foi constatado que as concentrações de radônio encontradas nas residências sugerem forte contribuição para o surgimento de novos casos de câncer de pulmão.

Diante dos estudos citados, é compreensível que a presença de NORM no município de Olinda possa afetar a saúde dos habitantes locais da região, sendo necessário a realização de mais trabalhos como a biomonitoração humana (BHM).

### 2.2.1. Olinda

O município de Olinda está localizado na Região Metropolitana do Recife com uma extensão territorial de 41.300 km<sup>2</sup>. Limita-se com a cidade de Recife ao Leste-Oeste, Paulista a Norte e o Oceano Atlântico a Leste (latitude: 08°01'42", longitude: 34°51'42" e uma altitude de 16 m) (Figura 5). Este município apresenta densidade demográfica de 9.063,58hab/km<sup>2</sup>, a maior do estado segundo o último censo. Clima quente e úmido com média de 27°C e vegetação de Mata Atlântica. O PIB per capita é cerca de R\$ 14,7 mil, valor inferior à média do estado (IBGE, 2022).

Figura 5 – Município de Olinda



Fonte: Ferramenta Google Earth, 2022

### 2.3. BIOMONITORAMENTO HUMANO

O biomonitoramento humano (BHM) pode ser definido como um método para a avaliação da exposição humana a substâncias químicas e seus efeitos, devido a ação das concentrações dessas substâncias, dos seus metabolitos e de produtos de reações dentro do corpo (SILVA, 2018). A ingestão, inalação e absorção cutânea são as principais vias receptoras da exposição humana aos produtos químicos, dependendo das suas propriedades. Estes produtos são difíceis de prevenir e controlar a exposição humana, porém pode-se estima-los (ALVES et al., 2014). Os dados obtidos pelo BHM podem ser usados para várias finalidades como avaliação de risco, estabelecimento de limites de exposição ocupacional/ambiental e na epidemiologia molecular (PAVANELLO; LOTTI, 2019).

Por meio do BHM podemos estimar os danos não só de substâncias químicas, mas também avaliar o nível de dano biológico causado pela exposição à radiação ionizante com intuito de melhorar a qualidade de vida dos indivíduos.

#### 2.3.1. Radiação Ionizante e seus efeitos biológicos

A radiação nada mais é do que uma forma de energia em trânsito que se dispersa através de uma fonte emissora a partir de qualquer meio, podendo ser sob a forma de partícula atômicas ou sob a forma de ondas eletromagnéticas. A partir do momento que essa radiação possui energia suficiente para mover um elétron para fora da camada orbital de um átomo, ela é denominada de radiação ionizante (OKUNO, 2013). O corpo humano é formado por moléculas grandes e pequenas, como a água e o DNA respectivamente, que são átomos unidos por meio de forças eletrostáticas. Quando a radiação ionizante arranca átomos dessas moléculas ocorre um desequilíbrio, podendo acarretar em uma degradação das mesmas (OKUNO, 2013).

O grau dos eventos de ionização provocados por uma radiação em um meio material é conhecido como Transferência Linear de Energia (LET) (NIEMANTSVERDRIET et al, 2012). As radiações podem ser de alto LET, caracterizada por uma perda média de energia em uma trajetória curta, e baixo LET, menor perda de energia em uma trajetória mais longa (IAEA, 2011). Radiações de

alto LET produzem diversos eventos de ionização e excitação, através de sua forma de deposição de energia gerando danos graves ao DNA, resultando em efeitos difíceis de serem reparados, um exemplo seria as emissões  $\alpha$  oriundas do decaimento de alguns radionuclídeos. Os danos das radiações de baixo LET são mais dispersos pelo DNA e tem mais chances de reparo. (POUGET, 2002; MILIAN, 2006; CARTER, 2017). Por isso ser exposto a radiação ionizante acarreta em problemas a saúde, seja de forma imediata ou tardia, de forma leve ou grave. A expressão dos sintomas em um indivíduo vai depender do tipo de radiação e sua LET, da taxa de dose absorvida por essa radiação, da taxa de exposição, da forma de exposição e do tipo de célula e/ou tecido que foi exposto (DE MATTOS, 2016).

Quando a radiação ionizante entra em contato com a matéria viva, ocorre uma cascata de eventos que acontece em questão de segundos no organismo. Primeiro os eventos físicos, nos quais há deposição da energia da radiação incidente, provocando ionização e rompimento das ligações químicas, principalmente no DNA. Em seguida ocorrem os efeitos químicos, nos quais os radicais livres são formados a partir da conversão de moléculas, como a água, assim novos compostos químicos são formados, tendo como exemplo  $H^+$ ,  $OH$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO_2$ , etc. O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e a hidroxiperila ( $HO_2$ ) são demasiadamente tóxicos as células e bastante reativos apresentando grande facilidade na deterioração de membranas biológicas. O acúmulo desses danos pode induzir apoptose, mutações no DNA e morte celular programada comprovada por alterações cromossômicas ou em mudanças de bases nitrogenadas (FERREIRA et al., 1997; OKUNO, 2013; DE MATTOS, 2016).

Tais efeitos, originados por radiação podem ser avaliados e estudados através de células sanguíneas, principalmente os linfócitos, realizando um biomonitoramento humano (ALBERTINI; KADEN, 2020).

### 2.3.2. Linfócitos e Radiossensibilidade

A interferência do tipo celular na resposta a irradiação é explicada pela Lei da Radiossensibilidade, definida em 1906 por Bergonié e Tribondeau, a qual diz que as células mais radiossensíveis são aquelas com alta atividade mitótica e baixo estágio de diferenciação (HELLMAN, 2009). Entretanto, os linfócitos, que são altamente

diferenciados e só sofrem divisão celular em circunstâncias especiais, são radiosensíveis, sendo uma exceção desta regra. Algumas horas após exposição à radiação, nota-se uma queda no número de linfócitos na contagem do hemograma, havendo relação direta entre a dose absorvida e a queda no número dessas células (DANIAK, 2002).

Por serem células de fácil obtenção, circularem por todo o corpo e apresentarem boa radiosensibilidade, os linfócitos são o grupo celular mais utilizado na biodosimetria e por meio deles podemos avaliar exposições de indivíduos a radiações através de testes de genotoxicidade e mutagenicidade, sendo considerados importantes biomarcadores (IAEA, 2011; GÜERCI et al, 2011).

### 2.3.3. Biomarcadores

Qualquer molécula biológica que seja capaz de refletir a influência de um agente do meio ambiente sendo químico, físico ou biológico, é denominado biomarcador. Esses biomarcadores tem a capacidade de espelhar as alterações moleculares e celulares que ocorrem em um sistema ou na amostra biológica de um organismo (WHO, 1993; KUNO et al., 2010). São bastante úteis na epidemiologia, podendo ser utilizados para quantificar ou mensurar uma dose absorvida e assim melhorar a relação entre exposição a radiação e dose biológica; investigar um indivíduo e/ou detectar uma patologia induzida por esta forma de energia (PERNOT, 2012).

Indivíduos expostos a radiação ionizante podem ter noção da dose absorvida, garantindo assim uma resposta acerca de necessidades terapêuticas e do prognóstico do indivíduo exposto. O método que permite o indivíduo mensurar a dose de radiação absorvida por meio de biomarcadores, é denominado biodosimetria (GRUEL, 2013).

Um estudo realizado por Moorhead et al. (1960) verificou que era possível a visualização de cromossomos humanos em linfócitos por meio da estimulação da divisão celular. Desde então o linfócito se tornou um ótimo biomarcador para a biodosimetria. Além disso, ele pode refletir a média de dano no DNA oriunda da radiação incidente nas outras células sanguíneas. Sendo



assim, se tornou bastante utilizado em ensaios citogenéticos, como o ensaio cometa (IAEA, 2011; GUERCI et al., 2011; MENDES, 2019).

## 2.4. ENSAIOS CITOGENÉTICOS

O potencial mutagênico da radiação ionizante vem sendo estudado por meio de alterações cromossômicas e variações genômicas, correlacionando os danos citogenéticos com a dose recebida por um indivíduo (EKEN et al., 2010). Esses estudos tem o objetivo de avaliar o risco de doenças genéticas, como o câncer, através da análise entre a exposição a um agente invasivo e os efeitos biológicos em células e/ou tecidos, sendo chamados de biomonitoração toxicogenética. Após a exposição a esses agentes, diversos biomarcadores são encontrados, destacando-se a análise de dano ao DNA e técnicas que averiguam alterações cromossômicas (FAUST, 2004). Os cromossomos são considerados o alicerce das análises citogenéticas, sendo compostos por ácido desoxirribonucleico (DNA) (BALAJEE, 2018). Um dos agentes capazes de causar dano ao DNA cromossomal é a radiação ionizante, com a dose absorvida ligada diretamente ao nível de dano celular (CHRISTENSEN, 2014).

Diferentes testes citogenéticos utilizam o dano ao DNA nos linfócitos e a correlação com a taxa de dose absorvida como base, sendo bastante úteis em estudos epidemiológicos. Dentre esses métodos destacam-se o ensaio de cromossomos dicêntricos e o ensaio cometa, que estima o dano ao DNA em cada célula, sendo bastante sensível para baixas doses de radiação (GUERCI, 2011; COLLINS, 2014).

### 2.4.1. Ensaio Cometa

O ensaio cometa ou eletroforese em gel de célula única, é utilizado para detecção e avaliação de danos ao DNA, usando eletroforese em microgel de núcleos ou células individuais. Ele é capaz de distinguir tipos de quebras de DNA, ou seja, utilizando eletroforese em gel com pH neutro é possível detectar quebras de fitas duplas, enquanto a eletroforese em gel com pH alcalino detecta quebras de fitas simples. Após a realização da eletroforese, reagentes

fluorescentes são utilizados para corar o material genético das células (XIAO et al., 2020).

Em 1984, Ostling e Johanson relataram pela primeira vez o teste utilizando pH neutro. No teste foi utilizado lâminas de microscopia com células incorporadas em agarose, onde realizaram a extração de proteínas da matriz celular e lise das membranas utilizando solução salina e detergentes. Dessa maneira, o DNA que estava inserido dentro do núcleo iria ocupar espaço no gel que antes ficava toda a estrutura celular, formando o núcleo. Posteriormente, o teste foi adaptado para pH alcalino ( $\text{pH} > 13$ ) por Singh et al. em 1988, se tornando a versão mais utilizada atualmente (VALVERDE; ROJAS, 2009; VALENTE et al., 2017).

Durante a eletroforese em pH alcalino, o DNA que não foi quebrado irá permanecer no núcleo, enquanto o DNA fragmentado será carregado até o anodo da cuba de eletroforese, gerando um rastro com aspecto de cauda de cometa. As lâminas geralmente são coradas por Brometo de Etídio ou SYBR Green para serem analisadas em microscópios de fluorescência. Para serem lidas em microscópios ópticos, utiliza-se a impregnação por prata (VALENTE et al., 2017). Devido a sua facilidade em detectar vários tipos de danos ao DNA, o ensaio cometa vem sendo bastante utilizado no campo da biomonitoração humana (VALVERDE; ROJAS, 2009).

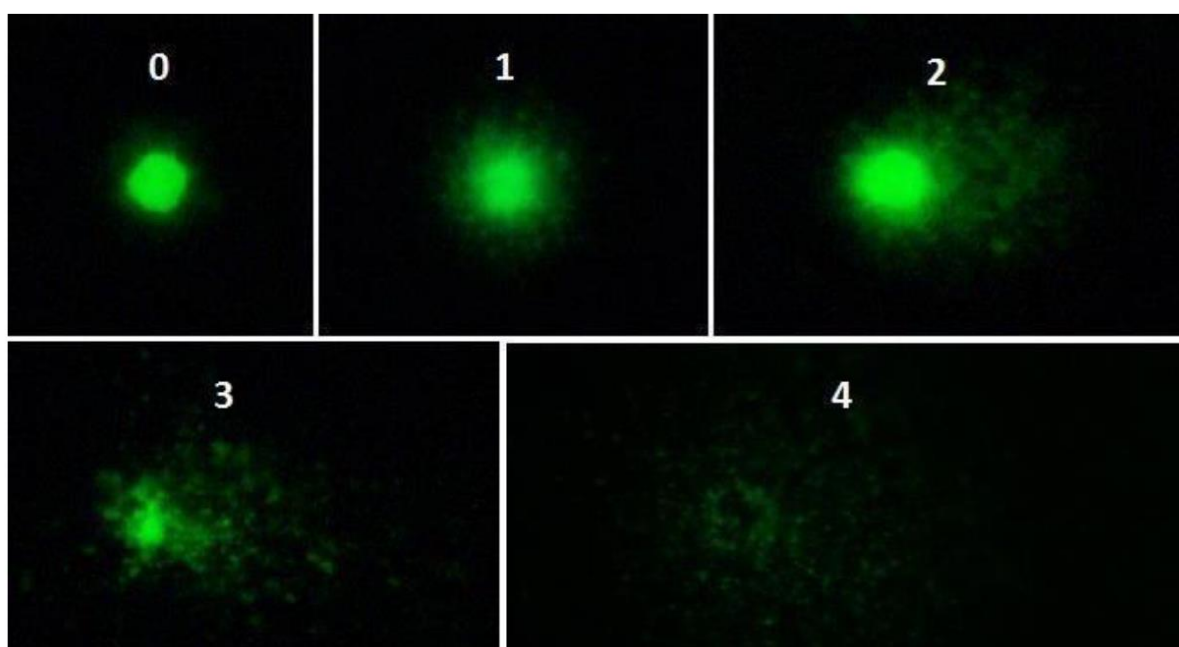
O ensaio cometa utiliza linfócitos do sangue periférico de indivíduos expostos a radiação para poder quantificar o nível de dano. Alguns parâmetros são utilizados para mensurar a gravidade do dano causado pela radiação. Dentre eles podemos citar o tamanho da cauda, a porcentagem da cauda e em que momento ela se encontram observado por software (XIAO et al., 2020). De acordo com o tamanho do núcleo e o comprimento da cauda podemos classificar a migração do DNA em níveis, variando de 0 a 4 (Figura 6).

O nível 0 indica que o indivíduo não teve danos; níveis 1 e 2 indicam baixo e médio nível de dano, respectivamente. O nível 3 indica um alto nível de dano, enquanto o nível 4 indica que foi totalmente danificado. Este método é chamado de visual e consiste em analisar 100 nucleoides por lâmina, sendo realizada em triplicata, ou seja 300 nucleoides por grupo estudado. Os resultados são expressos em índice de danos (ID) e frequência de danos (FD)

(FORCHAMMER et al., 2008; VALENTE et al., 2017). O índice de danos é calculado pela somatória dos produtos da multiplicação entre o número de nucleóides de cada classe (n) para cada grupo e o dígito denominador da classe (0, 1, 2, 3, 4).

Com essas informações é possível melhorar o prognóstico do indivíduo e auxiliar na prevenção de efeitos biológicos que os organismos possam apresentar devido a ação da radiação (AZQUETA, 2013).

Figura 6 – Graus de dano cometa 0 a 4



Fonte: Silva, 2022

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Mensurar os efeitos biológicos na população exposta a Materiais Radioativos de Ocorrência Natural (NORM) no município de Olinda - PE por meio do ensaio cometa.

#### **3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Comparar a genotoxicidade nos linfócitos dos residentes da Região Metropolitana do Recife das áreas de ocorrência de NORM do município de Olinda com residentes de áreas não NORM.
- Avaliar se a exposição frequente à radionuclídeos naturais pode ser um potencial agente de risco à saúde.

#### 4. Materiais e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Radiobiologia localizado no Departamento de Biofísica e Radiobiologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (CB/UFPE). O projeto teve aprovação do Comitê de Ética envolvendo pesquisa com seres humanos da Universidade Federal de Pernambuco sob o número de CAAE 45611221.0.0000.5208 e do parecer consubstanciado 4.709.099 (Anexo A). A população de interesse foi escolhida de acordo com os dados radiométricos determinados por levantamento realizado por Moraes (2013), Moraes (2020) e Ramos (2020) no município da Região Metropolitana do Recife, Olinda.

##### 4.1. SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS E COLETA DAS AMOSTRAS

Foram selecionados dois indivíduos que residem na área de estudo, juntamente com dois indivíduos controles, moradores de região sem ocorrência uranífera. Foi realizada a anamnese dos voluntários por meio de preenchimento de questionário (Anexo B), utilizando como critério de exclusão deste estudo o diagnóstico positivo para COVID-19, ter sido exposto a radiação por tratamento ou diagnóstico, ser fumante, doente oncológico ou ter feito quimioterapia. Após a seleção houve a assinatura do termo livre e esclarecido pelo voluntário (Anexo C).

As amostras da população não residente de área NORM foram coletadas no laboratório de Biofísica e Radiobiologia da UFPE. Os indivíduos desse grupo residem no bairro de Nossa senhora do Ó, Ipojuca – PE e no bairro da Várzea, Recife – PE com as coordenadas geográficas (latitude 8°26'27.8", longitude 35°00'57.2") e (latitude 8°01'23.9", longitude 34°57'12.8"), respectivamente. As amostras do grupo experimental foram coletadas no bairro de Ouro Preto, Olinda – PE com as coordenadas geográficas (latitude 7°59'15.4", longitude 34°52'05.5").

Foram coletadas amostras de 4ml de sangue periférico de cada indivíduo por meio de punção venosa a vácuo com tubos heparinizados Vacutainer®. Posteriormente os tubos foram encobertos com papel alumínio para evitar exposição a luz, em seguida as amostras foram transportadas, sob refrigeração (4°C) em caixas

térmicas, para o Laboratório de Radiobiologia do Departamento de Biofísica e Radiobiologia da UFPE para a realização do ensaio cometa.

A identificação das amostras ocorreu da seguinte forma:

- O grupo dos residentes de área NORM: voluntário 1 - V1 e voluntário 2 - V2.
- Grupo dos não residentes em área de NORM: controle 1 - CN1 e controle 2 - CN2

Todas as amostras foram coletadas por um profissional da área da saúde, onde foi seguido os princípios éticos e todos os procedimentos de biossegurança, garantindo a saúde de todos os envolvidos no processo.

#### 4.1.1. Ensaio Cometa

Foi realizado o ensaio alcalino cometa como descrito por SINGH et al. (1988) com modificações. Cerca de 100  $\mu$ L de sangue periférico foi misturado em 100  $\mu$ L de Ficoll®, que foi centrifugado por 15 minutos a 3000 rpm para separação dos linfócitos. Em seguida este homogenato foi adicionado a 100  $\mu$ L de agarose de baixo ponto de fusão 0,5% (Sigma-aldrich). Imediatamente, este homogenato foi colocado sobre uma lâmina de microscópio, previamente coberta com uma camada de agarose de ponto de fusão normal 1,5% (Sigma-aldrich), coberto com lamínula e mantido a 4 °C por 10 minutos.

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

Para a análise dos nucléolos as lâminas foram coradas com 50  $\mu$ L de uma solução de SYBR safe (Invitrogen) (1:500 diluído em água destilada). Foram analisadas 100 células por indivíduo em triplicata no microscópio de fluorescência

(Nikon H550L) em aumento de 400x, com um filtro de excitação de 450-490 nm, filtro de emissão de 500-550 nm e um filtro de barreira de 495 nm. A análise visual dos danos ao DNA foi realizada de acordo com a metodologia de Collins et al. (2008). Os núcleolos foram divididos em 5 categorias de dano ao DNA (0 – 4), dependendo da extensão do dano. A categoria 0 indica que não ocorreu danos, as categorias de 1 a 4 indicam danos em níveis crescentes sobre o material genético. A avaliação de dano genético foi realizada utilizando dois parâmetros: Índice de Dano (ID) e Frequência de Dano (FD%).

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

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

Onde:

ID = índice de danos

n = Número de cometas quanto a classe

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

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

Onde:

FD (%) = Frequência de danos; NT = Número Total; N0 = Número Classe 0

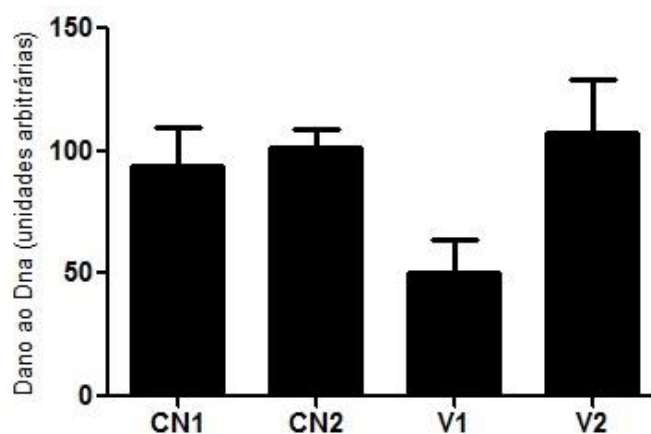
A análise estatística foi realizada comparando-se os grupos controle e expostos por meio da Análise de Variância (ANOVA) e do teste post-hoc de Bonferroni com a utilização do programa GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Prism, San Diego, Califórnia, USA), as diferenças foram consideradas significantes quando  $p < 0,5$ .

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Análise dos danos ao DNA

Na figura 7 pode-se observar os danos ao DNA dos grupos experimentais por meio do índice de danos do ensaio cometa.

Figura 7 – Índice de Dano (ID) ao DNA em linfócitos humanos de residentes e não residentes de área NORM. CN1 = grupo controle 1; CN2= grupo controle 2; V1= voluntário 1 e V2= voluntário 2 .

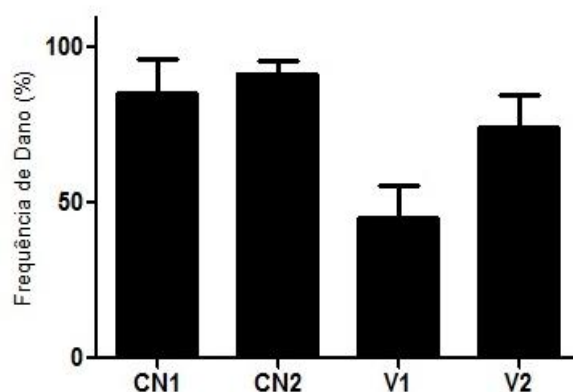


Fonte: O Autor, 2022

Pode-se observar que a análise do Índice de Dano (ID) dos DNAs estudados não apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos, ou seja, os danos no DNA dos indivíduos que moram em áreas de NORM no município de Olinda foram semelhantes aos indivíduos do grupo controle, sem exposição. Estes dados foram semelhantes aos resultados da frequência de danos ao DNA demonstrados no gráfico da figura 8.



Figura 8 - Frequência de Dano (FD%) ao DNA em indivíduos residentes e não residentes de área NORM. CN1 = grupo controle 1; CN2= grupo controle 2; V1= voluntário 1 e V2= voluntário 2.

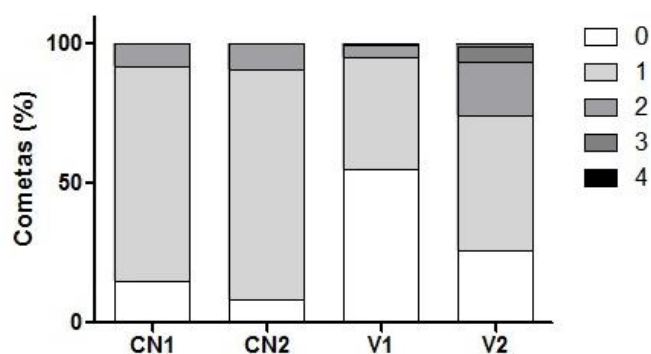


Fonte: O Autor, 2022

Ao analisar a frequência de dano (FD%) (Figura 8), foi observado que o grupo não residente em área NORM apresentou uma porcentagem de danos ao DNA maior que o grupo residente no município de Olinda, contudo, quando realizado o teste estatístico fica demonstrado que não há diferença significativa entre grupos estudados ( $p > 0,05$ ).

Na figura 9, pode-se observar os diferentes danos apresentados pelo DNA de todos os voluntários estudados. Observa-se que os danos variaram de 0 a 4 e nos indivíduos residentes em Olinda, naturalmente expostos a radioatividade ambiental, nota-se que o indivíduo V2 apresentou danos de nível 1, 2, 3 e 4; o indivíduo V1 apresentou danos de nível 1, 2 e 3; CN1 e CN2 apresentaram apenas danos de nível 0,1 e 2. Sugere-se que os altos graus de dano encontrados no V2 podem ter relação com a idade avançada deste e o fato dele ser ex-tabagista há 25 anos.

Figura 9 - Gráfico de tipos de Dano ao DNA. CN1 = grupo controle 1; CN2= grupo controle 2; V1= voluntário 1 e V2= voluntário 2



Fonte: O Autor, 2022

Sombra (2009) realizou um biomonitoramento toxicogenético utilizando o ensaio cometa e outras técnicas biodosimétricas para avaliar o potencial genotóxico do urânio presente em rochas nas residências de indivíduos dos municípios de Monte Alegre, Prainha e Alenquer no estado do Pará. Na análise do cometa alcalino não houve diferença estatística significativa entre os Índices de Dano das populações de Monte Alegre (ID:  $32,01 \pm 1,57$ ), Prainha (ID:  $45,80 \pm 1,12$ ) e Alenquer (ID:  $44,30 \pm 0,62$ ) em relação ao controle negativo (ID:  $42,00 \pm 5,75$ ).

Rodrigues (2015) avaliou os possíveis efeitos genotóxicos e mutagênicos da exposição humana ao urânio no município de Santa Quitéria – CE, uma das maiores reservas de urânio do Brasil, utilizando também o ensaio cometa alcalino. Nesse trabalho foram observados os índices de dano (IDs) da população residente e não residente da região. Os IDs da população residente diferiram estatisticamente dos IDs da população não residente, porém quando analisado os IDs das populações em relação ao estilo de vida, foi observado que a população residente que não bebe e não fuma, não possui IDs estatisticamente divergente da população não residente. Os IDs da população residente que bebe e/ou fuma difere estatisticamente dos não residentes. Sendo assim, o fato do indivíduo ser fumante e/ou etilista aumenta o número de IDs, em contrapartida o fato de ser residente não aumenta IDs.

Esses dois trabalhos corroboram com os resultados encontrados neste estudo.

No entanto estudo realizado por Lourenço (2013) foi avaliado o dano ao DNA por meio do ensaio cometa na população de Cunha Baixa, Portugal, região que antes existia uma mina para exploração de urânio. Os resultados mostraram que há uma perda significativa na integridade do DNA dos indivíduos acima de 40 anos que residem na região, quando comparados a um grupo controle de não residentes da região. A pesquisa apresentou diferenças significativas entre a população estudada e o grupo controle ( $p < 0,05$ ) diferindo dos resultados encontrados no presente trabalho. Esta diferença pode estar relacionada ao número de indivíduos estudados, o que sugere que necessitamos continuar avaliando um número maior de indivíduos no presente trabalho.

## **6. CONCLUSÕES**

A genotoxicidade dos residentes do município de Olinda, áreas de ocorrência uranífera, não apresentou diferença significativa quando comparado com residentes de outras regiões sem a presença da radioatividade natural.

Foi observado que a população de Olinda, naturalmente exposta a radioatividade ambiental não apresentou danos ao DNA estudados por meio do ensaio cometa

## **7. PERSPECTIVAS FUTURAS**

Para avaliar o potencial risco da população residente em região de NORM se faz necessário continuar os estudos aumentando o número de amostras e consequentemente o número de indivíduos estudados, é importante utilizar outras ferramentas de análises citogenéticas como o cromossomo dicêntrico e o ensaio do micronúcleo.

## REFERÊNCIAS

- ABD ALI, F. S et al. Humidity effect on diffusion and length coefficient of radon in soil and building materials. **Energy Procedia**, v. 157, p. 384-392, 2019.
- ALBERTINI, R. J.; KADEN, D. A. Mutagenicity monitoring in humans: Global versus specific origin of mutations. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, p. 108341, 2020
- ALVES, A. et al. Human biomonitoring of emerging pollutants through non-invasive matrices: state of the art and future potential. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 406, p. 4063-4088, 2014.
- AMARAL, Déric Soares do. **Radônio-222 e radionuclídeos associados em águas de poços e solos em áreas do fosforito uranífero da Região Metropolitana do Recife**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- AZQUETA, A. et al. Technical recommendations to perform the alkaline standard and enzyme-modified comet assay in human biomonitoring studies. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 2019.
- BALAJEE, A. S.; HANDE, M. P. History and evolution of cytogenetic techniques: Current and future applications in basic and clinical research. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 836, p. 3-12, 2018.
- DOS SANTOS AMARAL, R. et al. Intake of uranium and radium-226 due to food crops consumption in the phosphate region of Pernambuco–Brazil. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 82, p. 383-393, 2005.
- CARNEIRO, Luana Gomes. **CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA QUALIDADE DO AR INDOOR: AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE RADÔNIO, METAIS E BIOAEROSSÓIS NO AR EM MUSEUS E GALERIAS**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- CARTER, R. J. et al. Complex DNA damage induced by high linear energy transfer alpha-particles and protons triggers a specific cellular DNA damage response. **International Journal of Radiation Oncology Biology Physics**, v. 100, p. 776-784, 2018.

CHRISTENSEN, D. M. et al. Management of ionizing radiation injuries and illnesses, part 3: radiobiology and health effects of ionizing radiation. **Journal of Osteopathic Medicine**, v. 114, p. 556-565, 2014b.

COLLINS, A. et al. The comet assay as a tool for human biomonitoring studies: the ComNet project. **Mutation research/reviews in mutation research**, v. 759, p. 27-39, 2014.

CONNELL, P. P.; HELLMAN, Samuel. Advances in radiotherapy and implications for the next century: a historical perspective. **Cancer research**, v. 69, p. 383-392, 2009.

DENTON, J. S. et al. A record of uranium-series transport at Nopal I, Sierra Peña Blanca, Mexico: Implications for natural uranium deposits and radioactive waste repositories. **Chemical Geology**, v. 434, p. 12-27, 2016

DAINIAK, N. Hematologic consequences of exposure to ionizing radiation. **Experimental hematology**, v. 30, p. 513-528, 2002.

DO AMARAL, D. S. et al. Radônio-222 em águas de poços em áreas do fosforito uranífero da região metropolitana do Recife. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, p. 3920-3926, 2019.

DE MATTOS, M. Desenvolvimento de equipamento de proteção individual para blindagem da radiação beta no cristalino. **Revista Eletrônica de Gestão, Engenharia e Tecnologia da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba**, v. 1, n. 1, 2016

DO AMARAL, D. S. et al. Ingestão de águas de poços em áreas do fosforito uranífero na região metropolitana do recife, pernambuco, e riscos associados Ingestion of well water in areas of the uraniferous phosphorit in the metropolitan region of recife, pernambuco, and associated risks. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, p. 101117-101124, 2021.

DOS SANTOS, W. A. **Introdução às técnicas de datação por decaimento radioativo**. Disponível em: < <http://site.dfi.uem.br/wp-content/uploads/2018/01/010Willian-Alves-dos-santos-Bacharelado2017.pdf>>.

Acesso: 25 de set. 2022.

DUARTE, P. J. Depósitos de fosfatos na formação Maria Farinha. **An. Soe. Biol. Pernambuco**, v. 9, n. 1, 1949

EKEN, A. et al. Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes of hospital staff occupationally exposed to low doses of ionizing radiation. **Toxicology and industrial health**, v. 26, p. 273-280, 2010.

FAUST, F. et al. Use of primary blood cells for the assessment of exposure to occupational genotoxicants in human biomonitoring studies. **Toxicology**, v. 198, p. 341-350, 2004.

FERNANDES, E. A. N.; FERRAZ, E. S. de Barros; OLIVEIRA, H. Radioatividade natural em solos canavieiros do estado de São Paulo. **Sociedade & Natureza**, v. 5, p. 75-9, 1993.

FERREIRA, A. M. et al. Naturally-Occurring Radioactive Materials at water treatment plant on the Poços de Caldas Plateau Region, Brazil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 27, p. 103-111, 2022.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da associação médica brasileira**, v. 43, p. 61-68, 1997.

FORCHHAMMER, L. et al. Variation in assessment of oxidatively damaged DNA in mononuclear blood cells by the comet assay with visual scoring. **Mutagenesis**, v. 23, p. 223-231, 2008.

GRUEL, G. et al. Biological dosimetry by automated dicentric scoring in a simulated emergency. **Radiation research**, v. 179, p. 557-569, 2013.

GÜERCI, A.; ZÚÑIGA, L.; MARCOS, R. Construction and validation of a dose-response curve using the comet assay to determine human radiosensitivity to ionizing radiation. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 74, p. 1087-1093, 2011.

HOWLADAR, M. F.; DEB, P.i; MUZEMDER, ATM S. H. Monitoring the underground roadway water quantity and quality for irrigation use around the Barapukuria Coal Mining Industry, Dinajpur, Bangladesh. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 4, p. 23-34, 2017.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. **Manual Series**, p. 247, 2011.

JUSTINO, Gisela Andreia de Jesus. **Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Micotoxinas-Biomonitorização Humana nas crianças**. 2020. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra.

KLEMENT, A. W. Manual de radiação ambiental. **Imprensa CRC**, 2019.

- KUNO, R et al. Conceitos e derivação de valores de referência para biomonitorização humana de contaminantes ambientais. **Rev Panam Salud Publica**; v. 27, n. 1, 2010.
- LIMA, Ricardo de Andrade. **Avaliacao da dose na populacao da regioao urano-fosfatica do Nordeste que utiliza os recursos hidricos da regioao**. 1996. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996. Acesso em: 20 set. 2022.
- MAFRA, Karina Cristina. **Medidas da concentração de Radônio-222 em água de poço e solo da região do Pinheirinho em Curitiba e proposta de mitigação da água**. 2011. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- MARTINHO, M. P. da C.; VIDEIRA, A. A. P. As investigações sobre radioatividade ambiental realizadas em Guarapari pelo padre jesuíta Francisco Xavier Roser (1956–1967). **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 44, 2022.
- MCCALLUM, J. L. et al. Quantifying groundwater flows to streams using differential flow gaugings and water chemistry. **Journal of Hydrology**, v. 416, p. 118-132, 2012.
- MENDES, Mariana Esposito. **Aplicação de técnicas citogenéticas em cenários complexos de exposição à radiação ionizante**. 2019. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.
- MILIAN, Felix Mas. **Estudo in vitro dos efeitos radiobiológicos no DNA plasmidial com radiações ionizantes de baixo LET**. Tese de Doutorado em Física – Universidade de São Paulo. 2006.
- MORAIS, Elaíze Nídia de Lima. **Dose de radiação ambiental em área habitada na região urano-fostática de Pernambuco**. 2013. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- MORAIS, V. H. T. et al. Use of *Biomphalaria glabrata* as a bioindicator of groundwater quality under the influence of NORM. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 242, p. 106791, 2022.
- MORENO DE SOUZA, Ebenezer. **Estratigrafia da seqüência clástica inferior (andares coniaciano-maastrichtiano inferior) da Bacia da Paraíba e suas implicações paleoestratigráficas**. 2006.
- NADALETI, W.C. et al. Cinética e equilíbrio secular das principais séries radioativas e suas implicações ambientais. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, Pelotas, v.2, p 1-16, 2016.

- NETO, Vicentini. **Uso da espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado na biomonitorização humana de As, Cd, Pb e Hg**. Tese (Doutorado) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Rio de Janeiro, p. 108, 2020.
- NIEMANTSVERDIET, M. et al. High and low LET radiation differentially induce normal tissue damage signals. **International Journal of Radiation Oncology Biology Physics**, v. 83, p. 1291-1297, 2012.
- OKUNO, E. Efeitos biológicos das radiações ionizantes: acidente radiológico de Goiânia. **Estudos avançados**, v. 27, p. 185-200, 2013.
- OKUNO, E. Radiação: efeitos, riscos e benefícios. **Oficina de Textos**, 1ª Edição, p. 144, 2018
- PAIVA, Ana Claudia de. Dispersão e mobilidade de radionuclídeos no aquífero Beberibe, Olinda (PE). 2019.
- PANTELIĆ, G. et al. Qualitative overview of indoor radon surveys in Europe. **Journal of environmental radioactivity**, v. 204, p. 163-174, 2019
- PASSOS, MHS; SOUZA, A. A. Química nuclear e radioatividade. **Campinas, SP: Editora Átomo**, 2010.
- PAVANELLO, S.; LOTTI, M. Biomonitoring exposures to carcinogens. In: **Biomarkers in toxicology**. Academic Press, 2019. p. 789-805.
- PERNOT, E. et al. Ionizing radiation biomarkers for potential use in epidemiological studies. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 751, p. 258-286, 2012.
- PETTA, R. A.; CAMPOS, T. F. C. O gás radônio e suas implicações para a saúde pública. **Revista de Geologia**, v. 26, p. 7-18, 2013.
- RADVANYI, P.; VILLAIN, J. The discovery of radioactivity. **Comptes Rendus Physique**, v. 18, p. 544-550, 2017.
- RAMOS, Mariana Luiza de Oliveira Santos. **Radônio-222 e a ocorrência de câncer de pulmão em municípios da Região Metropolitana de Recife com afloramentos de fosforito uranífero**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG, Recife, p. 147, 2020.
- RODRIGUES, Felipe Augusto Rocha. **Biomonitoramento toxicogenético como indicador de risco à saúde por exposição ao urânio de residentes que habitam as proximidades da maior reserva de urânio do Brasil, no município de Santa**



**Quitéria–Ceará.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Ceará, p. 137, 2015.

ROSA, MYCHELLE ML. **Avaliação dos teores de U, Th, sup (226) Ra, sup (228) Ra, sup (210) Pb e outros elementos de interesse presentes em cogumelos em uma região de elevada radioatividade natural no Brasil.** 2012.

SAAD, S. **Aspectos econômicos do aproveitamento do urânio associado aos fosfatos do nordeste.** Boletim nº 7. Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). 1974.

SANTOS, M. L. O. et al. **Emanação de radônio-222 em fosforito uranífero de Pernambuco.**

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

SILVA, M. J. A biomonitorização humana como suporte das políticas de saúde e ambiente. **Boletim Epidemiológico Observações**, v. 7, p. 2-3, 2018.

SILVA NETO, Luiz Joaquim da. **Monitoração de radionuclídeos e elementos químicos no particulado atmosférico de uma rodovia de grande circulação em Recife.** 2019. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SHAHBAZI-GAHROUEI, D.; et al. Uma revisão sobre radiação natural de fundo. **Pesquisa biomédica avançada**, v. 2, 2013.

SOARES, M. F.; TERREMOTO, L. A. A. **O Radônio Proveniente da Radioatividade Natural**1. Curso de Difusão em Tecnologia Nuclear, São Paulo, 2018.

SOMBRA, Carla Maria Lima. **Biomonitoramento genotóxico e genético como indicador de risco à saúde por exposição ao urânio de residentes dos municípios de Monte Alegre, Prainha e Alenquer no estado do Pará.** 2009.

SOUZA, Ebenezer Moreno de. **Estratigrafia da sequência clástica inferior (andares coniaciano-maastrichtiano inferior) da Bacia da Paraíba e suas implicações paleogeográficas.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG, Recife, p. 375, 2006.

SOWMITHRA, K. et al. Effects of acute gamma radiation on the reproductive ability of the earthworm *Eisenia fetida*. **Journal of Environmental Radioactivity**. v. 140, p. 11 - 15, 2015.

SKEPPSTRÖM, K.; OLOFSSON, B. Urânio e radônio em águas subterrâneas. **Água européia**, v. 17, p. 51-62, 2007.

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

TURNER, J. E. Atoms, radiation, and radiation protection. Weinheim: **WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA**, 2007

United States Environmental Protection Agency – EPA. **A Citizen's Guide to Radon**, 2016

UNITED STATES. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. OFFICE OF AIR. **Radon Measurement in Schools**. US Environmental Protection Agency, Air and Radiation, 1993.

UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON THE EFFECTS OF ATOMIC RADIATION et al. **Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. General Assembly 56. session (10-18 July 2008). Official Records: 63. session, suppl. no. 46 (A/63/46)**. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR), 2008.

U.S.E.P.A. - United States Environmental Protection Agency. **Office of groundwater and drinking water rule: technical fact sheet**. Washington, DC. 1999.

VALENTE, D. et al. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 42, 2017.

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

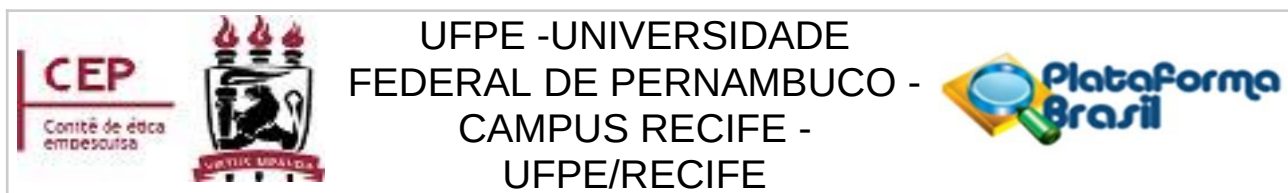
VASCONCELOS, Danilo Chagas. **Estudo da radioatividade natural em areias de praias do extremo sul da Bahia utilizando métodos de análises nucleares**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. DEN, Minas Gerais, p. 124, 2010.

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ et al. **The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: diagnostic criteria for research**. World Health Organization, 1993.

WHO – World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality. ED 3º. **WHO chronicle**, 2006.

WHO – World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality. ED 4º- Incorporating the first addendum. **WHO library**, 2017.

XIAO, C. et al. Research progress on biodosimeters of ionizing radiation damage. **Radiation Medicine and Protection**, 2020.

**ANEXO A****Comitê de Ética****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Investigação dos efeitos biológicos da radiação em residentes das áreas sob influência do fosforito uranífero na Região Metropolitana do Recife.

**Pesquisador:** VINICIUS HENRIQUE TEIXEIRA MORAIS

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 45611221.0.0000.5208

**Instituição Proponente:** CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 4.709.099

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um projeto de tese do Doutorando VINÍCIUS HENRIQUE TEIXEIRA MORAIS sob a orientação da Professora ANA MARIA MENDONÇA DE ALBUQUERQUE MELO vinculada ao Programa de Pós-graduação em tecnologias energéticas e nucleares da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). O projeto será realizado no Laboratório de Radiobiologia do Departamento de Biofísica e

Radiobiologia da UFPE e no Serviço de Análises Ambientais do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste. A proposta consiste basicamente na análise da hipótese: como as populações dos municípios de Abreu e Lima e Paulista em Pernambuco vivem sob a área do fosforito uranífero com um background de radioatividade natural acima do permitido, espera-se que estas populações sofram possíveis danos biológicos. Para este fim realizar-se-á um estudo usando 45 participantes voluntários na faixa etária de 18 a 65 anos, selecionados de acordo com os dados radiométricos determinados por levantamento realizado em estudos prévios nos municípios da região metropolitana do Recife, Abreu e Lima, Paulista e estudos epidemiológicos relacionados ao aparecimento de neoplasias realizados pelo grupo de pesquisa do Serviço de Análises Ambientais. De cada um dos participantes voluntários serão coletadas amostras de 10 ml de sangue. Posteriormente cada amostra sanguínea será fracionada em dois tubos com 5 ml cada. As amostras de cada um desses tubos serão devidamente processadas com metodologia adequada para determinação de dados radiométricos e realização de ensaios de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade em cada um dos laboratórios supracitados. Os critérios de inclusão e exclusão dos participantes voluntários estão devidamente delineados. Os dados serão analisados estatisticamente empregando o programa STATISTICA. Adicionalmente todos os dados serão mantidos em sigilo e armazenados por um período de 5 anos, sob a responsabilidade da orientadora.

### **Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo primário:

Avaliar a citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade da população humana residente nas áreas de fosforito uranífero da Região Metropolitana do Recife.

Objetivos secundários:

Identificar a presença de elementos traços no tecido sanguíneo dos residentes das áreas estudadas, por meio de técnicas analíticas;

Avaliar, por meio de técnicas biodosimétricas, a citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade utilizando células mononucleares de sangue humano da população residente nas áreas estudadas;

Verificar a técnica biodosimétrica mais adequada a este tipo de estudo;

Associar à presença dos elementos traços no sangue humano e dados encontrados nas matrizes ambientais com os efeitos biológicos apresentados nas técnicas biodosimétricas.

### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os riscos e benefícios estão devidamente delineados na folha de informações da pesquisa, no projeto de pesquisa e no termo de consentimento livre e esclarecido. Os riscos inerentes à participação podem ser: (1) o constrangimento em não saber ou não querer responder a algum item do questionário; (2) durante a coleta, que obedecerá aos requisitos de segurança e assepsia, os voluntários poderão sentir uma ardência local e, eventualmente, após coleta, poderá se formar um hematoma, que desaparecerá em poucos dias. Esses riscos podem ser minimizados (1) realizando o questionário de forma individual e privada; e (2) utilizando compressa de gelo logo após a coleta. Há também a possibilidade de desistência de participação na pesquisa a qualquer momento. Alegou-se que, em momento algum os participantes serão expostos a quaisquer fontes radioativas.

Quanto aos benefícios, haverá o direto e os indiretos. O benefício direto ao voluntário será de fornecer a informação quanto aos níveis espontâneos alterações no DNA que o mesmo possui. Essa informação será enviada pós análise aos doadores por meio de um documento/carta padrão

via correio ou e-mail. No caso dos indiretos, os dados obtidos serão base para estudos maiores e recorrentes, que influenciarão em políticas públicas para a melhoria da vida de diversas pessoas. Adicionalmente todos os dados serão mantidos em sigilo e armazenados por um período de 5 anos, sob a responsabilidade da Orientadora.

### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de uma temática atual e interessante para comunidade em geral, pois, visa o desenvolvimento ou aperfeiçoamento de métodos para delinear os danos causados por radiações provenientes de regiões geologicamente formadas por fosforito uranífero.

### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

As cartas de anuências, currículos, termo de consentimento livre e esclarecido, termo de compromisso e confidencialidade estão anexados na plataforma brasil. A folha de rosto está assinada e carimbada pelo Chefe Departamento de Biofísica e

Radiobiologia da UFPE e também pela Coordenação da Pós-Graduação em tecnologias energéticas e nucleares da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). O orçamento de aproximadamente 2.800,00 reais será de responsabilidade do pesquisador principal. O cronograma é compatível para a execução do projeto e consta que a coleta de dados somente iniciará após aprovação pelo comitê de ética.

**Recomendações:**

Nenhuma

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Nenhuma

**Considerações Finais a critério do CEP:**

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via “Notificação”, pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link “Para enviar Relatório Final”, disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento                                            | Arquivo                                       | Postagem               | Autor                                      | Situação |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------|--------------------------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto                            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1712873.pdf | 07/05/2021<br>18:52:07 |                                            | Aceito   |
| Outros                                                    | CARTA_RESPOSTAS_PENDENCIA S.d ocx             | 07/05/2021<br>18:48:58 | VINICIUS<br>HENRIQUE                       | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | ProjetoparaCEPVinicius.docx                   | 07/05/2021<br>18:46:32 | VINICIUS<br>HENRIQUE<br>TEIXEIRA<br>MORAIS | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | Termodeconsentimentolivreeesclarecido.docx    | 07/05/2021<br>18:46:04 | VINICIUS<br>HENRIQUE<br>TEIXEIRA<br>MORAIS | Aceito   |
| Folha de Rosto                                            | FOLHA_DE_ROSTO.docx                           | 07/05/2021<br>18:43:45 | VINICIUS<br>HENRIQUE                       | Aceito   |
| Outros                                                    | CARTA_DE_ANUENCIA.pdf                         | 10/04/2021<br>17:17:17 | VINICIUS<br>HENRIQUE                       | Aceito   |
| Outros                                                    | TermoConfidencialidade.pdf                    | 08/04/2021<br>04:05:08 | VINICIUS<br>HENRIQUE                       | Aceito   |
| Outros                                                    | Declaracaodematricula.pdf                     | 08/04/2021<br>04:02:53 | VINICIUS<br>HENRIQUE                       | Aceito   |
| Outros                                                    | Curriculolattesvinicius.pdf                   | 08/04/2021<br>04:02:14 | VINICIUS<br>HENRIQUE                       | Aceito   |
| Outros                                                    | CurriculolattesAna.pdf                        | 08/04/2021<br>04:00:27 | VINICIUS<br>HENRIQUE                       | Aceito   |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RECIFE, 13 de Maio de 2021

**Assinado por:**

---

**LUCIANO TAVARES MONTENEGRO**  
(Coordenador(a))



**ANEXO B****Questionário de Anamnese****I-DADOS PESSOAIS**

Nº do Voluntário: \_\_\_\_\_

Sexo: M ☐ F ☐ Idade: \_\_\_\_\_ Data de hoje \_\_/\_\_/\_\_\_\_Estado civil: Solteiro ☐; Casado ☐; Viúvo ☐; Divorciado ☐; Outros ☐

Cargo: \_\_\_\_\_

Grau de Instrução (escolaridade):

- ☐ Não estudou/Primário Incompleto
- ☐ Primário Completo/Ginásio Incompleto
- ☐ Ginásio Completo/Colegial Incompleto
- ☐ Colegial Completo/Superior Incompleto
- ☐ Superior Completo / Pós-Graduação Incompleta
- ☐ Pós-Graduação Completa

Total de Pessoas na Família: [\_\_\_\_]

**II-INDICADORES GERAIS DE SAÚDE**

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

- ☐ nunca fumei ☐ fumo de dez a vinte cigarros por dia
- ☐ parei de fumar há mais de dois anos ☐ fumo mais que vinte cigarros por dia
- ☐ parei de fumar a menos de dois anos ☐ só fumo charuto ou cachimbo
- ☐ fumo menos de dez cigarros por dia

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

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

**III-ATIVIDADE FÍSICA HABITUAL**

## ATIVIDADES OCUPACIONAIS DIÁRIAS

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

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

Eu geralmente vou e volto do trabalho de carro: ☐ sim ☐ não

Eu geralmente uso escadas ao invés do elevador: ☐ sim ☐ não

Minhas atividades físicas diárias podem ser descritas como:

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

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

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

## IV-QUESTIONÁRIO DE SAÚDE FÍSICA

Como você classificaria seu estado de saúde atual?

|      |  |         |  |     |  |           |  |
|------|--|---------|--|-----|--|-----------|--|
| Ruim |  | Regular |  | Bom |  | Excelente |  |
|------|--|---------|--|-----|--|-----------|--|

Queixa Principal: \_\_\_\_\_

### Antecedentes Pessoais:

|                                       | Nunca | Já sofreu antes | Sofre atualmente | Desde há ANOS / MESES | Sob Tratamento<br>SIM / NÃO |   |
|---------------------------------------|-------|-----------------|------------------|-----------------------|-----------------------------|---|
| Gastrite/Ulcera                       | 0     | 1               | 2                | a ____ m              | 3                           | 4 |
| Bronquite/Asma                        | 0     | 1               | 2                | a ____ m              | 3                           | 4 |
| Dor no peito aos esforços             | 0     | 1               | 2                | a ____ m              | 3                           | 4 |
| Infarto/Revascularização/Angioplastia | 0     | 1               | 2                | a ____ m              | 3                           | 4 |

|                                   |   |   |   |                   |   |   |
|-----------------------------------|---|---|---|-------------------|---|---|
| Hipertensão                       | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |
| AVC(derrame)                      | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |
| DST-Dça.Sexualmente transmissível | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |
| Infecções urinárias de repetição  | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |
| Incontinência urinária            | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |
| Dores ou rigidez articulares      | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |
| Diabetes mellitus                 | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |
| Alergias                          | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |
| Convulsões                        | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |
| Depressão                         | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |
| Câncer                            | 0 | 1 | 2 | <u>a</u> <u>m</u> | 3 | 4 |

Histórico Familiar:

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

☐ Angina,Infarto ou morte súbita antes dos 50anos ☐ Diabetes

☐ Angina, Infarto ou morte súbita após os 50 anos ☐ Não sabe

☐ Pressão alta ou AVC ☐ Nenhum

☐ Outros:\_\_\_\_\_

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

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

Qual(is)?\_\_\_\_\_

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

Não ☐

Qual(is)?\_\_\_\_\_

**ANEXO C****Termo de consentimento livre e esclarecido****Universidade Federal de Pernambuco****Termo de consentimento livre e esclarecido**

(Para maiores de 18 anos ou emancipados)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa (Investigação dos efeitos biológicos da radiação em residentes das áreas sob influência do fosforito uranífero na Região Metropolitana do Recife), que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador João Emanuel Firmo Pinto, Departamento de Energia Nuclear – Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Luiz Freire, 1000, CDU, 50.740-545, Recife/PE - Fone: (81) 98742-8602 / E-mail: joaoemfp@gmail.com

Também participam desta pesquisa os pesquisadores:

Orientação de Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo, Telefones para contato: (81) 99139-4775 e e-mail: amdemelo@hotmail.com.

Coorientação de: Vinícius Henrique Teixeira Moraes, Telefone: (81) 99990-0726, e-mail: viniciushtmoraes@hotmail.com.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável. Você estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu,

bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

**INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:** Este estudo tem por objetivo realizar uma biomonitorização humana de indivíduos expostos a doses acima do limite permitido de radiação ionizante de forma crônica, que habitam na Região Urano Fosfática do Nordeste brasileiro estando expostos a radionuclídeos naturais oriundos das matrizes ecológicas da região. Por ser um agente genotóxico, a exposição crônica a radiação pode ter consequências a saúde do indivíduo com efeitos imediatos ou tardios, sendo um deles o câncer. Essa pesquisa é de extrema importância para avaliar a saúde dos residentes por meio de técnicas biodosimétricas. Contribuindo assim, para um plano mais efetivo de radioproteção e políticas públicas de saúde. Este projeto poderá ser tomado como base para trabalhos futuros de biomonitoramento ecológico/humano, coletando novos dados, ampliando o número amostral, tornando esse tipo de estudo direto na população exposta mais consolidado e recorrente. Sua participação nessa pesquisa consistirá em fornecer amostras de sangue (10 ml), por punção venosa, em tubos de vacutainers contendo EDTA, após assinatura deste termo. Seu material será usado exclusivamente para efeito desta pesquisa. O(a) Sr(a). também responderá um questionário para verificação do seu estado geral de saúde, apontando se nos últimos seis meses antes da coleta houve alguma exposição à radiação terapêutica ou raios X diagnóstico; aplicação de vacinas (COVID-19); ou consumo de drogas ilícitas. Essas informações são necessárias, pois os fatores citados podem alterar os resultados. Vale ressaltar que esse questionário será respondido de forma individual e particular para evitar qualquer tipo de constrangimento.

**RISCOS E BENEFÍCIOS:** Os riscos inerentes à participação podem ser: (1) o constrangimento em não saber ou não querer responder a algum item do questionário; (2) durante a coleta, que obedecerá aos requisitos de segurança e assepsia, os voluntários poderão sentir uma ardência local e, eventualmente, após coleta, poderá se formar um hematoma, que desaparecerá em poucos dias. Esses riscos podem ser minimizados (1) realizando o questionário de forma individual e privada; e (2) utilizando compressa de gelo logo após a coleta. Há também a possibilidade de desistência de participação na pesquisa a qualquer momento. Ressaltamos que, em momento algum, o(a) senhor(a) será exposto(a) a quaisquer

fontes radioativas. Quanto aos benefícios, haverá o direto e os indiretos. O benefício direto ao voluntário será de fornecer a informação quanto aos níveis espontâneos alterações no DNA que o mesmo possui. Essa informação será enviada pós análise aos doadores por meio de um documento/carta padrão via correio ou e-mail. No caso dos indiretos, os dados obtidos serão base para estudos maiores e recorrentes, que influenciarão em políticas públicas para a melhoria da vida de diversas pessoas.

**GARANTIA DE SIGILO:** Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa, tais como os questionários e os resultados dos experimentos, ficarão armazenados em pastas de arquivos do próprio Laboratório da Radiobiologia - LR, sob a responsabilidade da pesquisadora Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo no endereço acima informado, pelo período de mínimo 5 anos.

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

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

---

(Assinatura do Pesquisador)

**CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A):**

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_,

abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido

a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS BIOLÓGICOS DA RADIAÇÃO EM RESIDENTES DAS ÁREAS SOB INFLUÊNCIA DO FOSFORITO URANÍFERO NA REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE**, como voluntário (a).

Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

**Local e data:** \_\_\_\_\_

**Assinatura do participante:** \_\_\_\_\_

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

**Nome:** \_\_\_\_\_ **Nome:** \_\_\_\_\_

**Assinatura:** \_\_\_\_\_ **Assinatura:** \_\_\_\_\_