



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Jhon Brandon Felix Ferreira

**Expressão de Citocinas Inflamatórias no Hipocampo e Análise
Comportamental em Camundongos Adultos Irrradiados no Crânio
com Baixas Doses de Raios X Quando Neonatos**

Rio de Janeiro

2025

Jhon Brandon Felix Ferreira

Expressão de Citocinas Inflamatórias no Hipocampo e Análise Comportamental em Camundongos Adultos Irrradiados no Crânio com Baixas Doses de Raios X Quando Neonatos

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Veloso de Almeida

Coorientadora: Prof.^a Dra. Samara Cristina Ferreira Machado

Rio de Janeiro

2025

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

F383 Ferreira, Jhon Brandon Felix

Expressão de Citocinas Inflamatórias no Hipocampo e Análise Comportamental em Camundongos Adultos Irrradiados no Crânio com Baixas Doses de Raios X Quando Neonatos / Jhon Brandon Felix Ferreira. - 2025.

79 f.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Veloso de Almeida

Coorientadora: Prof.^a Dra. Samara Cristina Ferreira Machado

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biociências.

1. Radiação ionizante – Teses. 2. Estresse oxidativo – Efeitos da radiação – Teses. 3. Hipocampo – Efeitos da radiação – Teses. I. Almeida, Carlos Eduardo Veloso de. II. Machado, Samara Cristina Ferreira. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 577.34:616.8

Bibliotecário: Felipe Caldonazzo CRB7/7341

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Jhon Brandon Felix Ferreira

Expressão de Citocinas Inflamatórias no Hipocampo e Análise Comportamental em Camundongos Adultos Irrradiados no Crânio com Baixas Doses de Raios X Quando Neonatos

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2025

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Veloso de Almeida

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Coorientador: Prof.^a Dra. Samara Cristina Ferreira Machado

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cláudio Carneiro Filgueiras

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof.^a Dra. Dayse Aparecida da Silva

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof.^a Dra. Bianca Torres Ciambarella

Universidade do Grande Rio

Rio de Janeiro

2025

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, Elane Felix, pelo incentivo e pelos valores que me transmitiu; à minha noiva, Carla Pereira, pelo apoio e paciência desde o início desta jornada; aos meus familiares, que sempre me ofereceram suporte; aos professores, colegas e orientadores, especialmente ao professor Carlos Eduardo, por suas valiosas orientações, e à professora Samara Machado, por sua inteligência e generosidade incomparáveis; a Deus, pela força e serenidade; e a todos que acreditam na ciência, na educação e no poder do conhecimento para transformar o mundo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus colegas de laboratório, pela troca de conhecimentos e apoio ao longo dessa jornada. Em especial ao grupo de alunos e funcionários do Laboratório de Radiobiologia do Departamento de Ciências Radiológicas. Meus companheiros Luciana Penedo e Maurício Moacir, em conjunto com os estagiários, tem grande impacto no desenvolvimento deste trabalho. Ao Prof. Leonardo Pacífico pelo apoio e disponibilidade para auxiliar em todas as etapas e correções ligadas aos fundamentos de Física Médica e agradeço também a Profa. Bianca Torres, imprescindível durante os ensaios moleculares e bioquímicos.

Agradeço a minha mãe, Elane Felix, pela dedicação inabalável em criar e educar filhos amorosos e esforçados, refletindo o exemplo que ela sempre foi. Agradeço aos meus parentes, por sempre acreditarem em mim e celebrarem cada conquista. À minha companheira, Carla Pereira, por ser meu porto seguro, oferecendo amor e compreensão mesmo nos períodos mais desafiadores. Ao meu melhor amigo, Renan Stellet, por sua amizade sincera e pelas consultorias gratuitas.

Agradeço também ao meu orientador, Prof. Carlos Eduardo Veloso de Almeida, um profissional de renome, cuja orientação tive a honra de receber. Em especial, agradeço à minha coorientadora, Samara Cristina Ferreira Machado, por seus sermões, conselhos, desafios e, sobretudo, pelas oportunidades e por tantas outras contribuições inestimáveis que marcaram minha trajetória acadêmica. Sou profundamente grato a cada um de vocês por fazerem parte dessa caminhada e contribuírem de forma tão significativa para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) – Código de Financiamento 403664/2023-3 e da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – Rio de Janeiro (FAPERJ) – Código de Processo 260003/001214/2020.

Não é nossa função controlar todas as marés do mundo, mas sim fazer o que pudermos para socorrer os tempos em que estamos inseridos, erradicando o mal dos campos que conhecemos, para que aqueles que viverem depois tenham terra limpa para cultivar. Que tempo encontrarão não é nossa função determinar.

J. R. R. Tolkien (1892 - 1973)

RESUMO

FERREIRA, Jhon Brandon Felix. **Expressão de Citocinas Inflamatórias no Hipocampo e Análise Comportamental em Camundongos Adultos Irrradiados no Crânio com Baixas Doses de Raios X Quando Neonatos**. 2025. 79 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2025.

A radiação ionizante é amplamente utilizada na prática clínica, especialmente em exames de imagem como a tomografia computadorizada, inclusive em pacientes neonatos. No entanto, apesar dos avanços tecnológicos que permitem a redução das doses, os efeitos biológicos no longo prazo após exposição precoce à radiação, particularmente em estruturas cerebrais em desenvolvimento, como o hipocampo ainda não são completamente compreendidos. Este estudo investigou os efeitos de baixas doses de radiação ionizante no cérebro de camundongos neonatos, machos e fêmeas, com foco na expressão de citocinas inflamatórias no hipocampo e nas alterações comportamentais observadas na idade adulta. Para isso, animais foram expostos à radiação ionizante do tipo raios X, em doses equivalentes às utilizadas em exames de tomografia de crânio pediátrica, ainda no estágio neonatal (PND10), com exposições de aproximadamente 25 mGy, 60 mGy e 100 mGy. Ao atingirem a idade adulta (PND81), foram submetidos a avaliações comportamentais por meio dos testes de campo aberto e reconhecimento de posição de objeto, que permitiram analisar possíveis alterações motoras e cognitivas. Paralelamente, foi realizada a técnica de RT-qPCR para quantificar a expressão de genes pró e anti-inflamatórios, além de análises bioquímicas por meio dos ensaios de TBARS, SOD, catalase e GPX, com o objetivo de avaliar o estresse oxidativo e o desbalanço redox no tecido do hipocampo. Os resultados evidenciaram alterações comportamentais, principalmente um aumento do comportamento ansioso em camundongos machos irradiados com aproximadamente 100 mGy, e alterações no nível de SOD e TBARS na dose de 60 mGy - marcadores de estresse oxidativo. Tais alterações foram restritas aos camundongos do sexo masculino, o que não apenas evidencia os efeitos diretos da radiação, como também sugere uma possível influência de fatores sexuais na resposta de longo prazo ao dano radioinduzido. Este trabalho contribui para o entendimento dos efeitos biológicos de exposições precoces à radiação ionizante em baixas doses, típicas de exames de tomografia de crânio pediátrica.

Palavras-chave: radiação ionizante; hipocampo; citocinas inflamatórias; estresse oxidativo; testes comportamentais; camundongos neonatos.

ABSTRACT

FERREIRA, Jhon Brandon Felix. *Expression of Inflammatory Cytokines in the Hippocampus and Behavioral Analysis in Adult Mice Cranially Irradiated with Low Doses of X-rays as Neonates*. 2025. 79 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2025.

Ionizing radiation is widely used in clinical practice, particularly in imaging procedures such as computed tomography, including in neonatal patients. However, despite technological advances that allow dose reduction, the long-term biological effects of early-life radiation exposure—especially in developing brain structures such as the hippocampus—are still not fully understood. This study investigated the effects of low doses of ionizing radiation on the brains of neonatal male and female mice, focusing on inflammatory cytokine expression in the hippocampus and behavioral changes observed in adulthood. To this end, animals were exposed to X-ray ionizing radiation at doses equivalent to those used in pediatric head CT scans during the neonatal stage (PND10), with exposures of approximately 25 mGy, 60 mGy, and 100 mGy. Upon reaching adulthood (PND81), the animals underwent behavioral assessments using the Open Field and Object Location Recognition tests, which allowed the analysis of potential motor and cognitive alterations. In parallel, RT-qPCR was performed to quantify the expression of pro- and anti-inflammatory genes, along with biochemical analyses using TBARS, SOD, catalase, and GPx assays to evaluate oxidative stress and redox imbalance in hippocampal tissue. The results revealed behavioral alterations, particularly an increase in anxiety-like behavior in male mice exposed to approximately 100 mGy, and changes in SOD and TBARS levels at the 60 mGy dose—markers of oxidative stress. These changes were restricted to male mice, highlighting not only the direct effects of radiation but also suggesting a potential influence of sex-specific factors in the long-term response to radiation-induced damage. This study contributes to the understanding of the biological effects of early-life exposure to low-dose ionizing radiation, typical of pediatric head CT examinations.

Keywords: ionizing radiation; hippocampus; inflammatory cytokines; oxidative stress; behavior test; neonatal mice.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Modelo Linear-Sem-Limiar (LNT) e incertezas na extrapolação do risco de radiação em baixas doses.....	28
Figura 2 –	Encéfalo humano (esquerda) e de camundongos (direita) e estruturas internas.....	33
Figura 3 –	Desenho experimental com todos os grupos e procedimentos avaliados.....	37
Figura 4 –	Imagem ilustrativa do irradiador SARRP	37
Figura 5 –	Imagem ilustrativa do multímetro NOMEX e a tela principal do seu software.	38
Figura 6 –	Digitalização de filme radiocrômico irradiado no SARRP com diferentes doses.....	39
Figura 7 –	Camundongo PND10, posicionado para irradiação	40
Figura 8 –	Software de análise de vídeo (ANY-Maze™)	42
Figura 9 –	Ilustração caixa (arena) para realização dos experimentos de Campo Aberto e reconhecimento de Posição.....	44
Figura 10 –	Ilustração do teste de reconhecimento de posição	45
Figura 11 –	Massa Corporal Fêmeas	50
Figura 12 –	Massa Corporal Machos	51
Figura 13 –	Proporção de tempo gasto durante o teste de campo aberto (<i>Open Field</i>) para os grupos do sexo feminino	52
Figura 14 –	Proporção de tempo gasto durante o teste de campo aberto (<i>Open Field</i>) para os grupos do sexo masculino	52
Figura 15 –	Análise de variância (ANOVA) para o Segundo momento do teste de reconhecimento de posição dos grupos fêmeas, avaliando o tempo de exploração no OBJ2 (objeto que mudou de posição)	53
Figura 16 –	Análise de variância (ANOVA) para o Segundo momento do teste de reconhecimento de posição dos grupos machos, avaliando o tempo de exploração no OBJ2 (objeto que mudou de posição)	54
Figura 17 –	Expressão de IL-6 para os grupos Fêmeas	56
Figura 18 –	Expressão de IL-6 para os grupos Machos	56

Figura 19 –	Valores individuais, média e DP para a expressão gênica de mRNA referente a citocina TNF- α para o grupo das fêmeas	57
Figura 20 –	Valores individuais, média e DP para a expressão gênica de mRNA referente a citocina TNF- α para o grupo dos machos	58
Figura 21 –	Nível de MDA no hipocampo de camundongos fêmeas	59
Figura 22 –	Nível de MDA no hipocampo de camundongos machos	59
Figura 23 –	Atividade enzimática de Catalase (U/mg ptn) analisado para os grupos de sexo feminino (F)	60
Figura 24 –	Atividade enzimática de Catalase (U/mg ptn) analisado para os grupos de sexo masculino (M)	60
Figura 25 –	Atividade enzimática de SOD (U/mg ptn) analisado para os grupos de sexo feminino (F)	61
Figura 26 –	Atividade enzimática de SOD (U/mg ptn) analisado para os grupos de sexo masculino (M)	62
Figura 27 –	Atividade enzimática de GPx (U/mg ptn) analisado para os grupos de sexo feminino (F)	63
Figura 28 –	Atividade enzimática de GPx (U/mg ptn) analisado para os grupos de sexo masculino (M)	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Valores de referência ao tipo de exame e as variáveis do paciente.....	24
Tabela 2 –	Pesos para níveis de referência de diagnóstico pediátrico.....	24
Tabela 3 –	Organização dos grupos experimentais.....	36
Tabela 4 –	Comparação de dose efetiva.....	41
Tabela 5 –	Lista de <i>Primers</i> (RT-qPCR).....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	<i>Análise de Variância</i>
BCA	<i>Ácido Bicinconínico</i>
BDNF	<i>Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro</i>
BEIR	<i>Efeito biológico da irradiação ionizante</i>
BSA	<i>Albumina de Soro Bovino</i>
cDNA	<i>DNA Complementar</i>
CTDI	<i>Índice de Dose de Tomografia Computadorizada</i>
D	<i>Dose Absorvida</i>
DNA	<i>Ácido Desoxirribonucleico</i>
DLP	<i>Produto de Dose Comprimento</i>
DRLs	<i>Níveis de Referência de Diagnóstico</i>
E	<i>Dose Efetiva</i>
Eab	<i>Energia Absorvida</i>
EDTA	<i>Ácido Etilenodiamino Tetracético</i>
ERO	<i>Espécies Reativas de Oxigênio</i>
GPx	<i>Glutathione Peroxidase</i>
Gy	<i>Gray (Unidade do SI para Dose Absorvida)</i>
IAEA	<i>International Atomic Energy Agency</i>
ICRP	<i>International Commission on Radiological Protection</i>
ICRU	<i>International Commission on Radiation Units and Measurements</i>
IL-1 β	<i>Interleucina-1 Beta</i>
IL-6	<i>Interleucina-6</i>
IL-10	<i>Interleucina-10</i>
Kerma	<i>Energia cinética liberada por unidade de massa</i>
KPE	<i>Tampão de fosfato de potássio e EDTA</i>
LCR	<i>Laboratório de Ciências Radiológicas</i>
LNT	<i>Linear-Sem-Limiar</i>
MDA	<i>Malondialdeído</i>
mRNA	<i>RNA Mensageiro</i>
NADPH	<i>Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato (Forma Reduzida)</i>

NCRP	<i>National Council on Radiation Protection</i>
NRDs	<i>Níveis de Referência de Dose</i>
PCR	<i>Reação em Cadeia a Polimerase</i>
PND	<i>Dia Pós-Natal)</i>
RNA	<i>Ácido Ribonucleico</i>
RM	<i>Ressonância Magnética</i>
RP	<i>Reconhecimento de Posição</i>
SARRP	<i>Plataforma de Pesquisa de Radiação em Pequenos Animais</i>
SI	<i>Sistema Internacional de Unidades</i>
SN	<i>Sistema Nervoso</i>
SNC	<i>Sistema Nervoso Central</i>
SOD	<i>Superóxido Dismutase</i>
SUS	<i>Sistema Único de Saúde</i>
TBA	<i>Ácido Tiobarbitúrico</i>
TCA	<i>Ácido Tricloroacético</i>
TBARS	<i>Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico</i>
TC	<i>Tomografia Computadorizada</i>
TNF- α	<i>Fator de Necrose Tumoral Alfa</i>
UNSCEAR	<i>Comitê Científico das Nações Unidas sobre os Efeitos da Radiação Atômica</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
×	Multiplicação
α	Alfa
β	Beta
H ₂ O	Molécula da água
>/<	Maior que / Menor que
mL	Mililitro
cm	Centímetro
C	Celcius
rpm	Rotações por minuto
™	trade mark (marca comercial)
P	valor-p

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	16
1.	OBJETIVOS	18
1.1.	Objetivo Geral	18
1.2.	Objetivos específicos	18
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1.	Aplicações Médicas da Radiação Ionizante	19
2.2.	Grandezas Dosimétricas e Determinação de Doses	20
2.2.1.	<u>Kerma no ar e dose absorvida</u>	20
2.2.2.	<u>Índice de Dose de Tomografia Computadorizada</u>	21
2.3.	TC em Pediatria: Aspectos Específicos	22
2.4.	Efeitos Biológicos da Radiação Ionizante	25
2.5.	Impacto de Baixas Doses de Radiação Ionizante	27
2.6.	Efeitos da RI no Sistema Nervoso	30
2.7.	Radiossensibilidade em Pacientes Pediátricos	31
2.8.	Neuroinflamação e Alteração Cognitiva	34
3.	METODOLOGIA	36
3.1.	Animais e grupos experimentais	36
3.2.	Equipamento de Irradiação e Dosimetria	37
3.3.	Procedimentos da Irradiação	39
3.4.	Ensaio Comportamentais e ANY-Maze	41
3.4.1.	<u>Ensaio em Campo Aberto (<i>Open Field</i>)</u>	43
3.4.2.	<u>Ensaio de Reconhecimento de Posição (RP)</u>	44
3.5.	Avaliação de massa corporal e eutanásia.	45
3.6.	RT-qPCR	46
3.7.	Atividade Enzimática Antioxidante	47
3.7.1.	<u>Preparo das Amostras</u>	47
3.7.2.	<u>TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances)</u>	48
3.7.3.	<u>SOD (Superóxido Dismutase)</u>	48
3.7.4.	<u>GPx (Glutationa Peroxidase)</u>	48
3.7.5.	<u>Catalase</u>	49
3.8.	Estatística	49
4.	RESULTADOS	50
4.1.	Massa Corporal	50
4.2.	Testes Comportamentais	51

4.2.1.	<u>Campo Aberto (<i>Open Field</i>)</u>	51
4.2.2.	<u>Exploração no centro</u>	51
4.2.3.	<u>Teste de Reconhecimento de Posição</u>	53
4.3.	Testes Moleculares	54
4.3.1.	<u>RT-qPCR</u>	54
4.3.2.	<u>TBARS</u>	58
4.3.3.	<u>Catalase</u>	59
4.3.4.	<u>SOD</u>	61
4.3.5.	<u>GPX</u>	62
5.	DISCUSSÃO	64
6.	CONCLUSÃO	72
	REFERÊNCIAS	73

INTRODUÇÃO

A radiação ionizante (RI) desempenha um papel essencial na medicina moderna, sendo o agente físico principal nas principais metodologias de diagnóstico por imagem e terapia oncológica (TAKEHIKO KATSURADA, 2017). No entanto, procedimentos que empregam RI têm o potencial de causar alterações indesejadas no meio biológico devido à sua alta capacidade de interação celular e ionização, resultando na formação de radicais livres (TAKEHIKO KATSURADA, 2017). A Tomografia Computadorizada (TC), amplamente utilizada para diagnóstico, suscita maior preocupação quando aplicada à região craniana de pacientes pediátricos, devido à maior sensibilidade dos tecidos à RI nesses pacientes (LOGANOVSKY, 2009). Ao contrário dos procedimentos de radioterapia, na qual as doses absorvidas são maiores e há estudos consolidados sobre seus efeitos no tecido e limites de dose estabelecidos; os efeitos das baixas doses utilizadas em radiodiagnóstico não são tão bem documentados, apresentando curvas de dose-resposta de interpretação complexa ou controversa (ABU BAKAR et al., 2019).

Embora técnicas de diagnóstico por imagem, que utilizam RI, empreguem doses baixas, estudos indicam que mesmo essas doses podem provocar alterações na expressão de genes e proteínas envolvidas em vias metabólicas essenciais (MARQUETTE et al., 2003). Além de atingir seu objetivo principal, seja o tratamento ou a obtenção de imagens, esses procedimentos, frequentemente, induzem processos inflamatórios nos tecidos envolvidos (LOGANOVSKY, 2009). No que tange ao tecido nervoso, especificamente à região do hipocampo, qualquer processo que afete a homeostase dessa área pode impactar no comportamento e a memória do indivíduo (HLADIK et al., 2020).

A interação da radiação, em doses moderadas e altas, com o tecido nervoso tende a causar neuroinflamação, rarefação capilar e redução da neurogênese (KEMPF et al., 2013). A resposta neuroinflamatória visa proteger o tecido de lesões patogênicas e físicas por meio da remoção de agentes prejudiciais e indução de reparo tecidual, como ocorre em lesões radioinduzidas (ABU BAKAR et al., 2019). Em procedimentos de diagnóstico por imagem, onde a dose absorvida é baixa e não resulta em morte celular significativa, a resposta inflamatória tende a ser menos pronunciada, mas ainda pode ocorrer, a ativação de células e alterações na expressão de citocinas inflamatórias (LEE et al., 2019). A escassez de estudos sobre os efeitos a longo prazo das baixas doses de radiação e a resposta tecidual a esse estímulo deixa em aberto questões sobre a recuperação do tecido e as possíveis implicações

comportamentais dessas alterações. Isto porque o hipocampo, uma estrutura cerebral fundamental para o processamento de diferentes tipos de memória, especialmente a memória espacial, desempenha um papel crítico na cognição (SZABO; HENNERICI, 2014).

Enquanto estudos sobre RI em doses mais altas identificaram uma sensibilidade notável do hipocampo e seus efeitos nas capacidades cognitivas, a pesquisa sobre doses baixas, semelhantes às utilizadas em procedimentos de TC e exames convencionais de raios X ou fluoroscopia, ainda é limitada e não conclusivas. Até o momento, não há trabalhos que determinem a significância da radiação para pacientes pediátricos a longo prazo (GOODMAN; MUSTAFA; ROWE, 2019; JÁNOŠÍKOVÁ et al., 2019).

Neste estudo, foi realizada a irradiação de camundongos neonatos com feixes de raios X correlatos aos usados na tomografia clínica pediátrica, i.e., mesma faixa de energia, na região craniana, a fim de avaliar a influência dessa radiação no hipocampo. As doses de interesse, consideradas baixas e inferiores a 100 mGy, incluem as utilizadas em radiodiagnóstico, conforme a literatura (LEE et al., 2019). Para investigar os efeitos a longo prazo, os mesmos camundongos foram submetidos a testes comportamentais na fase adulta. Subsequentemente, amostras de hipocampo foram analisadas quanto à expressão de genes envolvidos em processos inflamatórios (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10) utilizando técnica de RT-qPCR e avaliação de estresse oxidativo, utilizando diferentes metodologias para quantificação de danos e resposta antioxidante no tecido hipocampal. As análises de TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico) foram conduzidas para quantificar a peroxidação lipídica, enquanto as atividades das enzimas antioxidantes GPx (glutathione peroxidase), SOD (superóxido dismutase) e catalase foram medidas para avaliar o potencial antioxidante do tecido em resposta à exposição radioinduzida.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo Geral

Avaliar através de análise comportamental, molecular e bioquímica, possíveis alterações a longo prazo relacionadas à inflamação, estresse oxidativo e memória espacial induzidos em camundongos adultos expostos às baixas doses de raios X, na região do crânio, quando neonatos.

1.2. Objetivos específicos

- a) Analisar o comportamento tipo ansioso e atividade locomotora de animais irradiados com diferentes doses através do teste de campo aberto.
- b) Avaliar a memória espacial de animais irradiados com baixas doses utilizando o teste de reconhecimento de posição.
- c) Avaliar a expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6) e anti-inflamatória (IL-10), através da técnica de RT-qPCR.
- d) Avaliação da quantificação de TBARS e da atividade enzimática das enzimas antioxidantes GPx (glutathione peroxidase), SOD (superóxido dismutase) e catalase.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Aplicações Médicas da Radiação Ionizante

A descoberta da RI foi um marco na história da ciência e da medicina, transformando e revolucionando diversas áreas do conhecimento. No final do século XIX, cientistas como Wilhelm Conrad Röntgen, Antoine Henri Becquerel conduziram experimentos que revelaram a existência de partículas e ondas capazes de penetrar matéria e ionizar átomos, estabelecendo um novo campo de estudo: a radiologia. Röntgen, em particular, ficou conhecido pela descoberta dos raios X em 1895, um feito que não apenas lhe rendeu o Prêmio Nobel de Física em 1901, mas também inaugurou uma era de diagnósticos médicos por imagem que até então eram impensáveis. A partir desses avanços iniciais, o conhecimento sobre os efeitos biológicos da RI se expandiu rapidamente. Este marco despertou interesse da comunidade científica para investigar as propriedades e os potenciais efeitos biológicos dessas novas formas de energia. No início do século XX, cientistas como Marie Curie contribuíram significativamente para a compreensão dos efeitos biológicos da radiação, enquanto exploravam seu potencial terapêutico. As propriedades únicas da RI, capazes de penetrar tecidos humanos e interagir com células de maneira controlada foram aplicadas não apenas para o diagnóstico, mas também para o tratamento de diversas condições médicas (FLAKUS, 1981).

Avançando para o século XXI, a utilização clínica da RI evoluiu de forma exponencial. Equipamentos modernos de radiologia, como tomógrafos computadorizados e de radioterapia com diferentes dispositivos tecnológicos, vêm permitindo avaliações médicas mais precisas e tratamentos mais eficazes e seguros. Até mesmo os efeitos biológicos como a morte celular causada por altas doses viraram a finalidade principal da radioterapia, que se tornou um dos principais meios para o tratamento oncológico (ABU BAKAR et al., 2019).

As exposições médicas representam, atualmente, a maior contribuição para as doses coletivas originárias de fontes artificiais de RI. A aplicação da RI no meio clínico é um campo vasto na medicina moderna, a radioterapia, um tratamento essencial para muitos tipos de câncer, utiliza-se de radiações ionizantes, como raios X, raios gama e partículas carregadas, para eliminar células cancerígenas ou impedir seu crescimento e multiplicação (REHANI, 2017). Existem várias técnicas de radioterapia, incluindo a radioterapia externa, na qual a radiação é direcionada ao tumor a partir de uma fonte externa ao corpo (teleterapia), e a braquiterapia, que envolve a colocação de uma fonte selada de material radioativo dentro ou próximo ao tumor (MINNITI; GOLDSMITH; BRADA, 2012).

Na medicina, a forma mais comum de uso da RI é no diagnóstico por imagem, por meio de raios X. Esta exposição programada/médica é amplamente utilizada devido à sua capacidade de gerar imagens detalhadas dos ossos e de outras estruturas internas, facilitando a detecção e o diagnóstico de fraturas, infecções e anomalias estruturais (TAKEHIKO KATSURADA; MUTSUMI NISHIDA; NAOYA SAKAMOTO, 2017). Além disso, a TC, uma evolução da radiografia, oferece imagens tridimensionais detalhadas e cortes em diferentes planos que são importantes para o planejamento de tratamentos complexos, intervenções cirúrgicas e no diagnóstico de patologias.

2.2. Grandezas Dosimétricas e Determinação de Doses

Em procedimentos de diagnóstico por imagem, a RI transfere energia para o meio biológico presente no paciente, tornando essencial a dosimetria para medir a dose absorvida (KALENDER, 2014). Essa medição é necessária por duas razões: primeiro, para garantir boas práticas e otimização dos procedimentos; e segundo, para avaliar os riscos associados à exposição, ajudando a justificar a realização de exames radiológicos com base na análise dos riscos e benefícios (AINSBURY et al., 2011).

2.2.1. Kerma no ar e dose absorvida

Na radiologia médica e odontológica, conhecer grandezas como o kerma no ar e a dose absorvida no ar é fundamental. O kerma no ar (K), que significa "Kinetic Energy Released per Unit Mass", refere-se à energia transferida por RI não carregadas, como raios X, para os elétrons no ar na forma de energia cinética (HALL; GIACCIA, 2012). Essa grandeza é importante para estimar a radiação que pode ser absorvida pelos tecidos humanos. O cálculo do kerma no ar é dado pela equação 1:

Equação 1: Equação para cálculo de kerma no ar:

$$K = \frac{E_{tr}}{m} [Gy] \quad (1)$$

onde E_{tr} é a energia transferida e m é a massa do ar contida em um determinado volume. A unidade é o gray (Gy). Fatores de conversão e correções são aplicados para ajustar os resultados às condições reais de medição (HALL; GIACCIA, 2012).

A dose absorvida (D), que também é medida em gray (Gy), representa a quantidade de energia depositada por RI em um material por unidade de massa (m). Calcula-se a dose absorvida medindo a radiação incidente e determinando a energia depositada em um volume específico do material, de acordo com a equação 2:

Equação 2: Equação para cálculo de dose absorvida.

$$D = \frac{E_{ab}}{m} [Gy] \quad (2)$$

Onde E_{ab} é a fração da energia transferida que é absorvida pelo meio- (KHAN; WANG, 2022).

Na faixa de energia dos raios X usados na radiologia, o kerma no ar é igual à dose absorvida (BUSHBERG, 2011). Para radiações penetrantes como raios X e gama, a dose absorvida pode ser estimada a partir do kerma no ar utilizando fatores de conversão. Esta conversão é necessária para avaliar com precisão o impacto da radiação na saúde (TAILOR, 1958).

Organizações como a Comissão Internacional de Unidades e Medidas de Radiação (ICRU) e a Comissão Internacional de Proteção Radiológica (ICRP) desenvolveram grandezas para avaliar o efeito biológico da dose absorvida, padronizando a radiação em gray (TAILOR, 1958). Na radioproteção, o kerma no ar é utilizado para calibrar padrões nacionais de radiação de fótons, como os raios X utilizados na radiologia médica, possibilitando a determinação de outras grandezas operacionais na proteção radiológica (GONZALES; COSTA, 2014).

2.2.2. Índice de Dose de Tomografia Computadorizada

Na TC, a dose de exposição (CTDI - *Computed Tomography Dose Index*) é uma medida da dose média de radiação recebida pelo tecido durante um exame de TC. O CTDI é uma forma de quantificar a dose de radiação de maneira padronizada e é calculado a partir de medidas realizadas em um fantoma (um modelo que simula o tecido humano). O CTDI é tipicamente

expresso em unidades de mGy (miligrays) e considera o volume exposto ($CTDI_{vol}$, índice de dose volumétrica na TC) (SANTOS, 2023). O $CTDI_{vol}$ é uma medida que avalia a dose de radiação absorvida por um fantoma durante o exame de TC. É importante monitorar este valor para garantir a dose no paciente. Outro fator a ser considerado na TC, é o produto de dose comprimento (DPL), uma medida que relaciona a dose absorvida de radiação pelo fantoma com a dimensão da área exposta (ALZYOUD; AL-MURSHEDI; ENGLAND, 2024).

Além dos parâmetros citados, existem os níveis de referência de dose (NRDs) que são parâmetros definidos para a quantidade de radiação recebida durante exames de diagnóstico por imagem, como a TC (LACERDA, 2007). Eles desempenham um papel importante na monitoração e otimização da exposição dos pacientes, assegurando que a dose administrada seja tanto adequada quanto segura. Esses valores ajudam a reduzir o risco de efeitos adversos, garantindo ao mesmo tempo que a qualidade das imagens diagnósticas não seja comprometida (CASTANHEIRA, 2023)

2.3. TC em Pediatria: Aspectos Específicos

Nos últimos anos, observou-se um aumento significativo no número de procedimentos de TC, especialmente na região do crânio. Dados do Sistema Único de Saúde (SUS) indicam que em 2022 foram aprovados 2.036.723 procedimentos de tomografia para a região craniana (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024). Esse aumento pode ser atribuído à crescente demanda por diagnósticos precisos e rápidos, bem como ao avanço das tecnologias de imagem que oferecem maior resolução e menor tempo de exame. A TC se destaca pela sua capacidade de fornecer imagens detalhadas e tridimensionais, o que é particularmente útil em casos de traumas cranianos, tumores e doenças neurodegenerativas (KALENDER, 2014).

No contexto clínico, a TC tem se mostrado uma ferramenta indispensável no diagnóstico e no acompanhamento de diversas condições médicas. Sua capacidade de gerar imagens detalhadas do corpo humano, especialmente em áreas complexas como o crânio, torna-a uma escolha preferencial em situações na qual a precisão diagnóstica é necessária (SCHREYER et al., 2004). Por exemplo, em casos de traumatismo craniano, a TC permite a visualização de hematomas, fraturas e outras lesões internas que não podem ser detectadas por métodos de imagem menos avançados. Da mesma forma, em pacientes com tumores cerebrais, a TC fornece informações detalhadas sobre a localização, o tamanho e a extensão da massa tumoral, auxiliando no planejamento cirúrgico e no monitoramento da resposta ao tratamento

(DIECKMEYER et al., 2023). Em termos de eficácia, a TC também se destaca pelo seu tempo de exame relativamente curto, o que é particularmente benéfico em situações de emergência médica onde o tempo é um fator crítico. A capacidade de obter imagens de alta resolução em questão de minutos permite um diagnóstico rápido e preciso, possibilitando intervenções imediatas quando necessário (DIECKMEYER et al., 2023).

A otimização das imagens pediátricas é de particular importância devido ao maior risco de efeitos nocivos da radiação em crianças em comparação com adultos, além da maior expectativa de vida durante a qual esses efeitos podem se manifestar (KEMPF et al., 2013). A menor dimensão corporal da maioria das crianças em comparação com adultos implica que mais órgãos estejam dentro ou próximos ao feixe primário de radiação, tornando a colimação deste feixe ainda mais importante (ICRP, 2013b; ICRP 135, 2017). Para garantir uma dose de referência diagnóstica (DRL) adequada, é essencial considerar os dados específicos dos pacientes, como peso, altura, idade, sexo e espessura corporal a fim de proporcionar uma maior precisão na aplicação das técnicas de imagem e na minimização da exposição à radiação (KILIC et al., 2013).

No passado, a idade do paciente era usada para definir grupos de crianças para o estabelecimento de DRLs pediátricas (tabela 1). Tipicamente, eram consideradas faixas etárias de 0 (neonatal), 1, 5, 10 e 15 anos.

Contudo, o modelo atual utiliza o peso do indivíduo pediátrico como fator de maior confiabilidade (tabela 2). Em algumas situações, na qual apenas as faixas etárias estão disponíveis para avaliação, a idade pode ser usada como a única medida disponível para ajustar a dose de radiação, embora o peso seja considerado uma métrica mais precisa para a otimização das imagens e a proteção radiológica.

Tabela 1. Valores de referência ao tipo de exame e as variáveis do paciente.

Exame	Idade ou Peso	Faixa Etária	CTDIvol, mGy	DLP, mGy.cm
Crânio	0 ≤ 3 meses	0	24	300
	3 meses ≤ 1 ano	1	28	385
	1 ano ≤ 6 anos	5	38	505
	≥ 6 anos	10	52	650
Tórax	<5 kg	0	1,4	35
	5 ≤ 15 kg	1	1,8	50
	15 ≤ 30 kg	5	2,7	70
	30 ≤ 50 kg	10	3,7	115
	50 ≤ 80 kg	15	5,4	200
Abdômen	<5 kg	0		45
	5 ≤ 15 kg	5	3,5	120
	15 ≤ 30 kg	5	5,4	150
	30 ≤ 50 kg	10	7,3	210
	50 ≤ 80 kg	15	13	480

Legenda: Adose de referência diagnóstica (DRLs) para TC de cabeça referem-se a phantom de 16 cm e DRLs para tórax e abdômen para phantom de 32 cm. DRLs referem-se a um exame completo de TC de rotina (uma série de varreduras)

Fonte:(Proteção contra radiação n.º 185, 2018)

Tabela 2: Pesos para níveis de referência de diagnóstico pediátrico

Descrição	Faixa de Peso (kg)	Faixa Etária baseada nas tabelas de peso-para-idade	Faixas etárias mais comuns usadas para os DRLs nacionais anteriores (anos)
Neonato	< 5	< 1 mês	0
Lactente, criança pequena e primeira infância	5 ≤ 15	1 mês a ≤ 4 anos	1
Infância média	15 ≤ 30	4 ≤ 10 anos	5
Adolescência inicial	30 ≤ 50	10 ≤ 14 anos	10
Adolescência tardia	50 ≤ 80	14 ≤ 18 anos	15

Legenda: Pesos para níveis de referência de diagnóstico pediátrico recomendados pelas Diretrizes Europeias sobre DRLs para Imagem Pediátrica e idades equivalentes aproximadas e grupos etários usados para pesquisas anteriores.

Fonte: (EC,2016; ICRP 135, 2017)

A preocupação com a exposição à radiação em procedimentos pediátricos tem levado ao desenvolvimento de protocolos específicos que visam minimizar a dose recebida pelas crianças sem comprometer a qualidade diagnóstica das imagens (KEMPF et al., 2013; LOGANOVSKY, 2009). Essa preocupação é justificada pela natureza multifacetada da aplicação da RI no meio clínico, que é essencial para o diagnóstico e tratamento de inúmeras condições médicas. Portanto, a implementação de medidas de proteção e otimização é necessária para assegurar a segurança e bem-estar dos pacientes pediátricos, ao mesmo tempo em que se mantém a eficácia diagnóstica e terapêutica (LOGANOVSKY, 2009).

2.4. Efeitos Biológicos da Radiação Ionizante

A RI, ao interagir com o meio biológico, provoca uma série de efeitos que podem variar em intensidade e consequência dependendo da dose e do tipo de radiação. Esses efeitos são resultantes da capacidade da RI de remover elétrons dos átomos e moléculas presentes nas células, gerando íons e radicais livres altamente reativos (HALL; GIACCIA, 2012). Os radicais livres podem causar danos diretos ao DNA, gerando quebras de fita simples ou dupla, além de um efeito indireto, resultado da produção de espécies reativas de oxigênio, íons eletricamente instáveis e altamente reativos que podem alterar a estrutura de proteínas e membranas celulares, resultando em mutações, disfunções celulares, peroxidação lipídica e, em casos mais graves, morte celular (HALL; GIACCIA, 2012). A quebra de cadeias de DNA é um dos danos mais críticos, podendo ser de fita simples ou dupla, com as quebras duplas sendo particularmente difíceis de reparar e ocasionalmente levando a aberrações e cromossômicas e carcinogênese quando não corrigida ou remediada (reparo ou morte celular) (SCHMAL et al., 2019).

O impacto da RI no meio biológico não é uniforme, sendo influenciado por fatores como a taxa de dose, a presença de oxigênio e a fase do ciclo celular (Al-Qabandi & Alshammary, 2022). Células em divisão rápida, como aquelas encontradas em tecidos de crescimento rápido e em tumores, são geralmente mais sensíveis à radiação devido à maior probabilidade de estarem na fase mitótica ou G2 do ciclo celular, onde são mais vulneráveis aos danos induzidos pela radiação. Além disso, a presença de oxigênio pode potencializar os efeitos da radiação através do fenômeno conhecido como efeito oxigênio, onde o oxigênio amplifica a formação de radicais livres, aumentando a probabilidade de danos permanentes ao DNA (MZIZI et al., 2024).

A interação da radiação ionizante (RI) com tecidos biológicos causa uma elevação significativa na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), incluindo compostos

altamente reativos como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila (HALL; GIACCIA, 2012). Essas moléculas oxidantes ou com capacidade de gerar agentes oxidantes são capazes de iniciar reações em cadeia que resultam em danos severos às estruturas celulares, principalmente nas membranas lipídicas, nas proteínas e no DNA. No entanto, esse aumento de ERO não se restringe a ambientes expostos à RI, podendo ocorrer também em células sob estresse metabólico elevado, inflamação ou outros estímulos que causem um desequilíbrio no estado redox. Para evitar o acúmulo descontrolado dessas moléculas e manter a integridade celular, o organismo depende de um sistema de defesa antioxidante intrínseco, composto por enzimas e outras moléculas que trabalham para neutralizar o excesso de ERO e restaurar o equilíbrio redox (SUKHOTNIK et al., 2019).

Esse aparato antioxidante é crucial para proteger as células contra os efeitos prejudiciais de ERO, atuando de forma dinâmica para impedir que os radicais livres causem danos irreversíveis (DAS et al., 2016; SUKHOTNIK et al., 2019). Sem essa rede de defesa enzimática, o acúmulo de ERO seria prejudicial para a célula, levando à peroxidação de lipídeos em membranas, alteração da estrutura proteica, comprometimento de vias de sinalização e mutações no DNA, todos fatores que contribuem para doenças degenerativas, envelhecimento precoce e carcinogênese. A presença de enzimas antioxidantes permite que a célula responda a variações no nível de ERO, sejam elas decorrentes de exposições ambientais como a radiação ou de processos metabólicos internos, regulando a produção e a remoção de ERO de modo que os danos oxidativos sejam minimizados, preservando, assim, a funcionalidade celular e a viabilidade do tecido, especialmente em órgãos sensíveis como o cérebro (WANG et al., 2020).

Os efeitos biológicos da RI são classificados em efeitos teciduais (determinístico) e estocásticos. Os efeitos teciduais ocorrem quando a dose de radiação ultrapassa um certo limiar, resultando em danos celulares significativos que se manifestam clinicamente, como radiodermites, cataratas e síndrome da aguda da radiação (HALL; GIACCIA, 2012). Esses efeitos são dose-dependentes e a gravidade aumenta com a dose de radiação recebida. Por outro lado, os efeitos estocásticos não possuem um limiar definido e sua ocorrência é probabilística, significando que mesmo baixas doses de radiação podem induzir mutações que eventualmente levam ao desenvolvimento de câncer ou outras doenças genéticas, sendo o risco proporcional à dose acumulada ao longo do tempo (ABBOTT, 2015).

A radiosensibilidade dos diferentes tecidos e órgãos à RI varia consideravelmente, complicando a compreensão dos efeitos de baixas doses de RI. Tecidos com alta taxa de renovação celular, como a medula óssea, o trato gastrointestinal e a pele, tendem a ser mais suscetíveis aos danos da radiação, enquanto tecidos com baixa taxa de divisão celular, com

células mais diferenciadas e de crescimento lento, como as neurais e musculares, tendem a ser mais resistentes (KHAN; WANG, 2022). No entanto, mesmo nesses tecidos mais resistentes, a exposição a doses altas ou prolongadas pode resultar em danos significativos, como a necrose tecidual e disfunções fisiológicas. Esta variação na radiosensibilidade significa que a mesma dose de RI pode ter efeitos muito diferentes dependendo do tipo de célula ou tecido envolvido (AL-QABANDI; ALSHAMMARY, 2022).

Estudos têm demonstrado a importância de avaliar as doses administradas no meio clínico, evidenciando uma variação entre as doses recebidas pelos pacientes. Problemas com equipamentos, como erro na dosimetria, sem controle de qualidade e sem a manutenção necessária foram identificados como fatores contribuintes. Os resultados indicaram que erros na dosimetria do feixe de radiação fizeram com que 36% dos pacientes recebessem uma dose superior a 10%, enquanto 64% recebessem uma dose inferior a 10% (ALMEIDA, 2023). Esses dados ressaltam a necessidade de estudos detalhados sobre os efeitos das doses administradas, incluindo doses baixas de RI, pois a compreensão dessas variações é essencial para garantir a eficácia e segurança dos tratamentos e diagnósticos (HAMADA; FUJIMICHI, 2014).

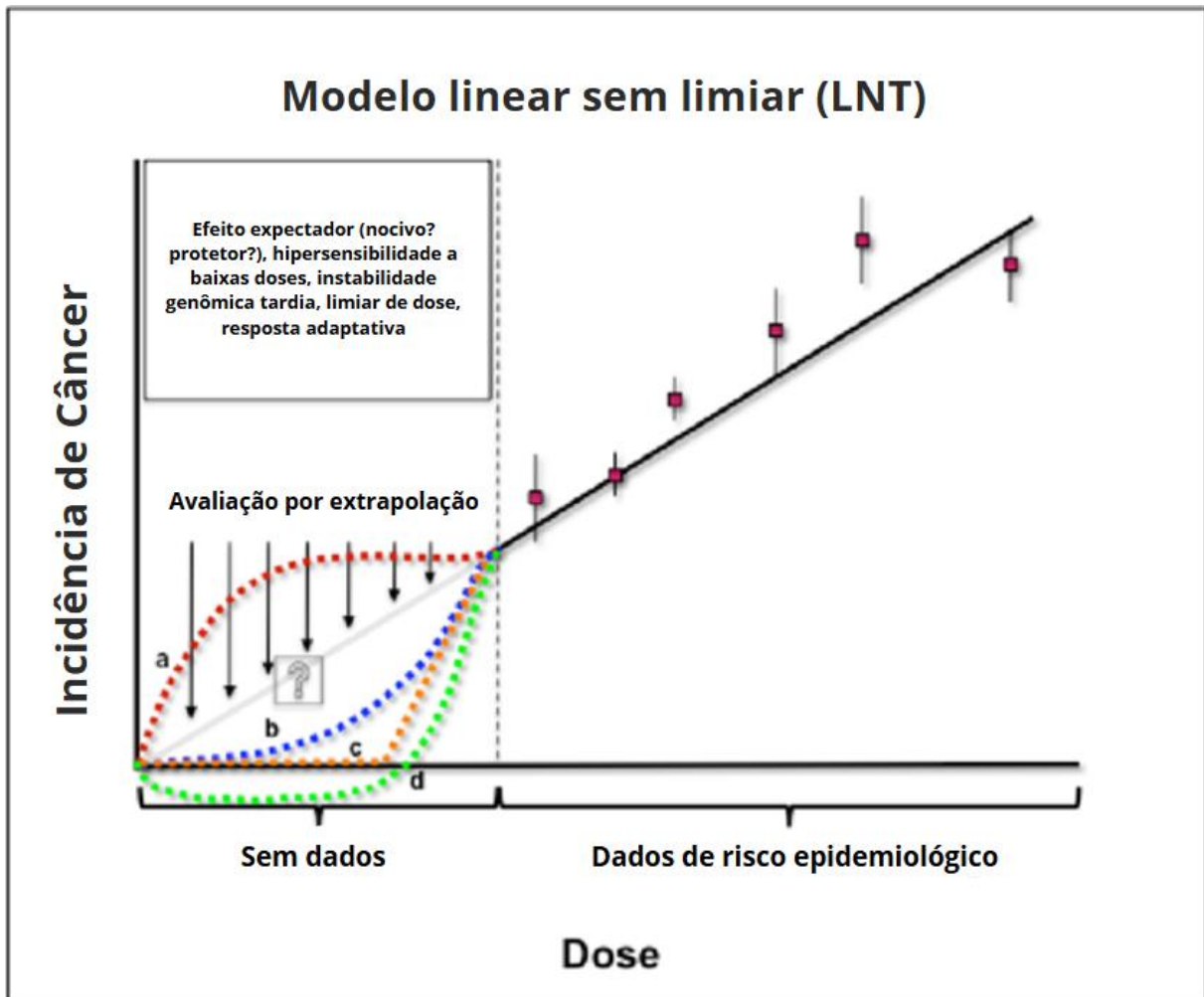
O efeito da RI no meio biológico é um campo complexo que envolve uma variedade de interações físicas e químicas que resultam em danos celulares e teciduais. Compreender esses mecanismos é essencial para a aplicação segura e eficaz da radiação em ambientes clínicos e industriais. Essa compreensão permite otimizar os procedimentos e minimizar os riscos associados, garantindo que os benefícios da RI sejam maximizados (ALMEIDA, 2023).

2.5. Impacto de Baixas Doses de Radiação Ionizante

As respostas biológicas a baixas doses de radiação ionizante (RI) são amplamente debatidas em radiobiologia, particularmente quanto aos seus impactos em saúde pública e proteção radiológica como demonstra o modelo Linear-Sem-Limiar (LNT) e as incertezas na extrapolação do risco de radiação em doses baixas demonstrado graficamente na Figura (1) (MANCUSO et al., 2012). O modelo LNT é amplamente utilizado para estimar efeitos de longo prazo da exposição à radiação, incluindo câncer e efeitos genéticos, assumindo que o risco de dano aumenta linearmente com a dose, sem um limiar seguro. No entanto, esse modelo enfrenta desafios científicos que questionam sua validade, especialmente em doses baixas, onde efeitos como o efeito espectador (bystander) e outros fenômenos dificultam a avaliação precisa dos riscos. Em doses muito baixas, os estudos epidemiológicos geralmente carecem de poder

estatístico para detectar riscos à saúde, o que torna o modelo LNT uma ferramenta pragmática para otimizar procedimentos e regulamentações, mais do que um reflexo exato dos processos biológicos envolvidos na avaliação de risco (MANCUSO et al., 2012; THARMALINGAM et al., 2019).

Figura 1: Modelo Linear-Sem-Limiar (LNT) e incertezas na extrapolação do risco de radiação em baixas doses.



Legenda: O modelo LNT (linha preta) assume um risco crescente linearmente com a dose, sem limiar seguro.

Notas: Curvas hipotéticas: (a) risco maior que o previsto pelo LNT; (b) risco menor; (c) dose limiar, sem risco abaixo de certo ponto; (d) resposta adaptativa, com possível efeito benéfico em baixas doses.

Fonte: Retirado de Mancuso M, Pasquali E, [...] Saran A *Current Molecular Medicine* (2012) 12(5) 613-624.

Tradução: O autor, 2025.

A figura apresenta curvas hipotéticas para diferentes cenários de resposta em baixas doses: a curva (a) representa um aumento de risco maior do que o previsto pelo LNT, possivelmente devido a efeitos não-alvo; a curva (b) indica um risco menor do que o esperado; a curva (c) sugere a existência de um limiar de dose abaixo do qual não haveria risco adicional; e a curva (d), associada à resposta adaptativa, sugere que exposições a baixas doses poderiam induzir respostas biológicas benéficas. Esses modelos alternativos refletem a complexidade e

as incertezas na avaliação do risco de baixas doses, salientando a importância de mais estudos para esclarecer os mecanismos envolvidos.

Não há dados suficientes para fazer uma teoria unificada. Neste momento, o governo dos EUA aplica o modelo LNT para determinar limites aceitáveis de exposição à RI. O modelo LNT, amplamente aceito por órgãos regulatórios, sugere que qualquer dose, por menor que seja, aumenta proporcionalmente o risco de câncer e outros efeitos estocásticos (CALABRESE, 2019). Para fins de proteção radiológica o modelo assume que o dano biológico causado pela RI (essencialmente o risco de câncer) em longo prazo é diretamente proporcional à dose. Isso permite somar, por medição em áreas diversas, toda a exposição à radiação, sem levar em consideração os níveis de dose ou taxas de dose. Essa visão é apoiada pela Biologic Effect of Ionizing Irradiation (BEIR) dos EUA, United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR), International Commission on Radiological Protection (ICRP) e National Council on Radiation Protection and Measurements (NCRP), International Atomic Energy Agency (IAEA). Esses comitês não consideram o LNT como um fato científico, mas o descrevem como uma suposição prudente e conservadora para fins de radioproteção contra o risco de câncer induzido por radiação (Sources, effects and risks of ionizing radiation: United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation : UNSCEAR 2013 report to the General Assembly with scientific annexes. Volume II, scientific annex B, 2013). Eles estabelecem diretrizes e limites de exposição para proteger trabalhadores e o público em geral dos efeitos nocivos da radiação. No entanto, a existência de dados contraditórios e a variabilidade nas respostas individuais destacam a necessidade de uma avaliação contínua e de pesquisas adicionais para aprimorar essas diretrizes (Sources, effects and risks of ionizing radiation.: United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation : UNSCEAR 2013 report to the General Assembly with scientific annexes. Volume II, scientific annex B, 2013)

O câncer é um dos principais efeitos estocásticos associados à exposição a baixas doses de RI, devido à capacidade da radiação de induzir mutações genéticas e instabilidade genômica, porém, além do câncer, outros efeitos genéticos, como mutações hereditárias, também são uma preocupação (HALL; GIACCIA, 2012). A RI pode causar danos ao DNA que, se não reparados adequadamente, podem ser transmitidos às gerações subsequentes, aumentando o risco de doenças genéticas. Em outras palavras, a RI é sempre considerada prejudicial sem limite de segurança, e a soma de várias exposições muito pequenas é considerada como tendo o mesmo efeito que uma exposição maior (linearidade de resposta) (THARMALINGAM et al., 2019).

Recentemente, a epigenética, que estuda mudanças na expressão gênica que não envolvem alterações na sequência de DNA, tem emergido como um campo importante na compreensão dos efeitos de baixas doses de RI. Alterações epigenéticas podem influenciar a fisiologia do órgão e contribuir para doenças crônicas e alterações funcionais a longo ou curto prazo (ZHANG et al., 2020). Estudos mais recentes demonstram que um tecido biológico pode ter sua expressão gênica alterada em decorrência de alterações epigenéticas radioinduzidas (KUSSAINOVA et al., 2024). Os efeitos de baixas doses de RI são complexos e influenciados por diversos fatores biológicos e ambientais, incluindo o efeito da radiação no sistema nervoso central, um órgão altamente crítico, cuja exposição à radiação pode ter implicações profundas para a saúde e a função cognitiva (NARASIMHAMURTHY; MUMBREKAR; SATISH RAO, 2022a)

2.6. Efeitos da RI no Sistema Nervoso

Uma das primeiras respostas à radiação para doses moderadas a altas no sistema nervoso (SN) é a rarefação capilar, caracterizada pela redução da densidade capilar. Esta condição pode comprometer a circulação sanguínea e a entrega de oxigênio e nutrientes às células nervosas, potencializando os danos neuronais. Além disso, a radiação desencadeia a neuroinflamação, um processo caracterizado pela ativação de células gliais, como micróglia e astrócitos, que liberam citocinas pró-inflamatórias. A neuroinflamação crônica pode levar à degeneração neuronal e está associada a diversas condições neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer e a esclerose múltipla (KEMPF et al., 2014).

A neurogênese, o processo de formação de novos neurônios, é particularmente sensível à RI. A exposição à RI pode reduzir significativamente a proliferação de células progenitoras neurais no hipocampo, uma região crítica para a memória e a aprendizagem. Esse efeito é particularmente preocupante em pacientes pediátricos, cujos cérebros estão em desenvolvimento ativo e são mais vulneráveis aos efeitos adversos da RI. A diminuição de neurogênese pode resultar em déficits cognitivos e comportamentais a longo prazo (GUTIERREZ-QUINTANA et al., 2022).

Os mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos da RI incluem danos diretos ao DNA neuronal, a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), espécies reativas de nitrogênio e a ativação de vias de sinalização de estresse celular, senescência celular. Os danos ao DNA podem levar à apoptose neuronal ou outros tipos de morte celular, enquanto as ERO

podem oxidar lipídios (peroxidação de lipídios), proteínas e ácidos nucleicos, exacerbando os danos celulares. As vias de sinalização de estresse, como a ativação da proteína p53 e a inibição da via de sobrevivência PI3K/Akt, também desempenham papéis na resposta celular à RI (SIKPI; WANG, 2000)

Intervenções terapêuticas para mitigar os efeitos da RI no SN estão em desenvolvimento e incluem o uso de antioxidantes, anti-inflamatórios e promotores de neurogênese. Antioxidantes, como a melatonina e o ácido ascórbico, podem neutralizar as ERO e reduzir o estresse oxidativo. Anti-inflamatórios, como os inibidores de citocinas, podem atenuar a neuroinflamação (GUO et al., 2013). Agentes promotores de neurogênese, como os fatores de crescimento neurotróficos, podem ajudar a preservar a neurogênese e promover a recuperação funcional do sistema nervoso central (SON et al., 2015).

No contexto de doses baixas de RI, como aquelas utilizadas em procedimentos de diagnóstico por imagem, os efeitos biológicos sobre o SNC ainda são objeto de estudo (NARASIMHAMURTHY; MUMBREKAR; SATISH RAO, 2022a). Embora as doses utilizadas em radiografias, TC e outros exames de imagem sejam significativamente menores do que as usadas em radioterapia, há preocupações sobre os possíveis efeitos cumulativos dessas exposições repetidas, ou únicas ao longo do tempo (ALZYOUD; AL-MURSHEDI; ENGLAND, 2024). Pesquisas adicionais são necessárias para esclarecer os riscos potenciais e para desenvolver estratégias de proteção que minimizem qualquer impacto adverso, especialmente em indivíduos que podem ser submetidos a múltiplos exames ao longo da vida (NARASIMHAMURTHY; MUMBREKAR; SATISH RAO, 2022).

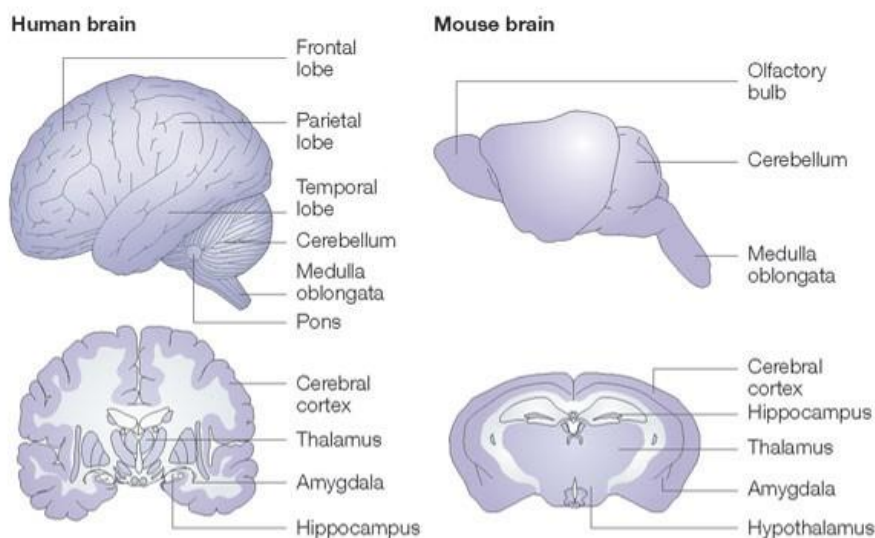
2.7. Radiossensibilidade em Pacientes Pediátricos

A Lei de Bergonié e Tribondeau, formulada no início do século XX, estabelece que a radiossensibilidade das células é proporcional à sua taxa de divisão e inversamente proporcional ao seu grau de diferenciação, o que significa dizer que células em rápida proliferação e menos diferenciadas são mais suscetíveis aos efeitos da RI. Recentemente, houve um aumento significativo nas pesquisas que investigam o impacto de baixas doses de RI, especialmente em momentos de maior radiossensibilidade, como durante fases específicas do ciclo celular, para compreender melhor os riscos e benefícios potenciais em contextos médicos e ambientais (KEMPF et al., 2014).

Em pacientes pediátricos, alguns tecidos e órgãos não estão completamente desenvolvidos, isso sem contar o crescimento natural do indivíduo, o que por si só já aumenta a taxa de mitose e aumenta a sensibilidade a exposição à RI. Devido a isso a radiosensibilidade em pacientes pediátricos é uma preocupação significativa na prática clínica (SCHÄFER et al., 2020). Diferentes exames de diagnóstico por imagem, como radiografias, TC e ressonâncias magnéticas (RM), são frequentemente realizados em crianças para avaliar e monitorar diferentes condições médicas, especialmente, em pacientes oncológicos pediátricos que precisam acompanhar a evolução da doença (KHAFIJI et al., 2024). No Brasil, no ano de 2022, segundo dados do DataSUS (08/2024) foram autorizados um pouco mais de 2 milhões de procedimentos de TC pelo SUS, sendo este número somente para os procedimentos realizados na região da cabeça, considerando adultos e crianças. No entanto, a exposição repetida desses procedimentos pode resultar em uma dose cumulativa significativa de RI, aumentando o risco de efeitos adversos a longo prazo (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024). A radiosensibilidade elevada em crianças é atribuída ao fato de que seus tecidos e órgãos estão em desenvolvimento e possuem uma maior taxa de divisão celular, aumentando a probabilidade de danos ao DNA, subsequentes mutações e alterações na função mitocondrial (GUO et al., 2013).

A neurogênese, especialmente no hipocampo (Figura 2) é um processo presente no desenvolvimento infantil e é particularmente vulnerável à RI (BRODY et al., 2007). O hipocampo é uma região do cérebro responsável pela formação de novas memórias e pelo aprendizado, e a neurogênese nesta área é essencial para essas funções. Estudos mostram que a exposição à RI durante a infância pode reduzir significativamente a neurogênese no hipocampo, comprometendo a capacidade de formar novas memórias e aprender (LIU et al., 2016).

Figura 2: Encéfalo humano (esquerda), de camundongos (direita) e estruturas internas.



Legenda: Representação comparativa das principais estruturas do cérebro humano e do cérebro de camundongo. Notas: No cérebro humano, observa-se o lobo frontal, lobo parietal, lobo temporal, cerebelo, medula oblonga e ponte, além de uma visão coronal destacando o córtex cerebral, tálamo, amígdala e hipocampo. No cérebro de camundongo, são ilustrados bulbo olfatório, cerebelo, medula oblonga e uma visão coronal evidenciando o córtex cerebral, hipocampo, tálamo, amígdala e hipófise. Adaptado para fins comparativos entre as espécies. Fonte: (CRYAN; HOLMES, 2005).

Estudos experimentais, em modelos animais, têm fornecido resultados importantes sobre os efeitos da RI na fase neonatal (ERIKSSON et al., 2016). Estudos com modelo animal permitem a pesquisa pré-clínica entender mecanismos teciduais e moleculares graças a certas similaridades estruturais e funcionais entre os órgãos dos modelos animais e humanos como demonstrado na Figura 2. Pesquisas em roedores, por exemplo, mostram que a exposição à RI durante o desenvolvimento inicial pode levar a uma série de déficits comportamentais e cognitivos na vida adulta (ERIKSSON et al., 2016). Animais irradiados na fase neonatal demonstram redução na densidade de neurônios no hipocampo, diminuição na plasticidade sináptica e comprometimento na função cognitiva (IBANEZ et al., 2019). Esses achados sugerem que a exposição precoce pode ter efeitos duradouros no desenvolvimento neural e no comportamento, destacando a importância de minimizar a exposição à RI em crianças e de monitorar cuidadosamente os pacientes pediátricos que necessitam de exames diagnósticos.

Portanto, é fundamental que os profissionais de saúde considerem a radiosensibilidade elevada em pacientes pediátricos ao decidir sobre a realização de exames diagnósticos e ao planejar tratamentos que envolvam RI (KHAFAJI et al., 2024). O uso de técnicas de diagnóstico por imagem com doses reduzidas, o desenvolvimento de protocolos de radioproteção específicos para crianças e a pesquisa contínua sobre os efeitos da RI em desenvolvimento são

essenciais para mitigar os riscos e proteger a saúde dessas populações vulneráveis a longo prazo, sobretudo pacientes oncológicos pediátricos que são submetidos com mais constância a exposição aos raios X para novas simulações e planejamento de tratamento (DE GONZALEZ; PASQUAL; VEIGA, 2021; FRUSH et al., 2024).

2.8. Neuroinflamação e Alteração Cognitiva

A neuroinflamação desempenha um papel importante no desenvolvimento de diversas doenças neurodegenerativas, bem como no processo natural de envelhecimento (SHAN et al., 2007). A inflamação no SNC é mediada, principalmente, por células microgлияis e astrócitos, que, quando ativadas, liberam citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores inflamatórios (CARTER et al., 2019). Este processo inflamatório pode levar a alterações neuroquímicas e estruturais que comprometem a função neuronal e sináptica. Em condições como a doença de Alzheimer, Parkinson e esclerose múltipla, a neuroinflamação crônica é um dos principais mecanismos que contribuem para a neurodegeneração progressiva e para a perda funcional (CARTER et al., 2019)

O envelhecimento natural do cérebro também está associado a um aumento no estado inflamatório basal, conhecido como "inflamação relacionada ao envelhecimento". Refere-se ao processo de inflamação de baixo grau que aumenta com a idade e está associado a várias doenças crônicas e ao envelhecimento geral do organismo (FULOP et al., 2023). Esse processo resulta da ativação microglial crônica, do aumento na produção de citocinas inflamatórias, mesmo na ausência de uma lesão ou infecção aguda, e da presença de células senescentes (SANTORO; BIENTINESI; MONTI, 2021). A inflamação crônica pode prejudicar a capacidade do cérebro de reparar e regenerar tecidos danificados, contribuindo para o declínio cognitivo relacionado à idade e para o aumento da susceptibilidade a doenças neurodegenerativas. Além disso, a neuroinflamação crônica pode afetar negativamente a neurogênese, particularmente no hipocampo (LOWE et al., 2009)

Estudos mostram que a inflamação no SN pode induzir uma variedade de alterações comportamentais, incluindo depressão, ansiedade e déficits cognitivos (KOSEL; PELLEY; FRANKLIN, 2020). A ativação microglial e a liberação de citocinas inflamatórias podem alterar a função sináptica e a neurotransmissão, impactando a regulação do humor e a cognição. A inflamação crônica pode interferir com os circuitos neurais responsáveis pela motivação,

prazer e tomada de decisão, levando a sintomas de anedonia e falta de motivação, comuns em condições como a depressão (KEMPF et al., 2014)

A memória é particularmente afetada pela neuroinflamação. Citocinas inflamatórias, como a interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), podem inibir a plasticidade sináptica e reduzir a expressão de fatores neurotróficos como o BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) (SILVA et al., 2015). Esses efeitos comprometem a capacidade do hipocampo de formar novas conexões sinápticas, resultando em déficits na memória de curto e longo prazo (KEMPF et al., 2014). Modelos experimentais em camundongos demonstram que a indução de neuroinflamação está associada a um desempenho reduzido em tarefas de memória e aprendizado, reforçando a ligação entre inflamação e comprometimento cognitivo (KEMPF et al., 2014).

Embora os efeitos adversos das baixas doses de RI possam ser sutis, eles podem ser significativamente prejudiciais, incluindo alterações na função cognitiva, aumento do risco de doenças neurodegenerativas e modificações na estrutura cerebral (ABBOTT, 2015). O estudo dos impactos de baixas doses de RI é essencial para avaliar com precisão os riscos associados e para compreender como esses riscos podem se manifestar ao longo do tempo. Esses dados são necessários para o desenvolvimento de diretrizes e protocolos que garantam um equilíbrio adequado entre os benefícios dos exames radiológicos e os riscos ao paciente (LOGANOVSKY, 2009). Compreendendo mais detalhadamente esses efeitos biológicos, é possível desenvolver recomendações mais eficazes sobre a frequência dos exames, explorar técnicas de diagnóstico por imagem alternativas e implementar medidas de proteção adicionais quando necessário (AL-QABANDI; ALSHAMMARY, 2022).

Além disso, a pesquisa sobre os efeitos biológicos da RI a baixas doses fornece uma base sólida para a justificativa médica na prescrição de exames. Com evidências robustas, os profissionais de saúde podem tomar decisões informadas sobre a necessidade de exames radiológicos, garantindo que a exposição à RI seja minimizada (NARASIMHAMURTHY; MUMBREKAR; SATISH RAO, 2022b). A justificação, um dos princípios da Proteção Radiológica, é fundamental nas exposições médicas. Conforme estabelecido em normas Internacionais e Nacionais, nenhuma prática deve ser autorizada a menos que produza suficiente benefício para o indivíduo exposto ou para a sociedade de modo a compensar o detrimento que possa ser causado (Sources, effects and risks of ionizing radiation. : United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation : UNSCEAR 2013 report to the General Assembly with scientific annexes. Volume II, scientific annex B, 2013).

3. METODOLOGIA

3.1. Animais e grupos experimentais

Trabalho realizado em modelo animal, previamente aprovado por Comitê de Ética para Cuidado e Uso de Animais Experimentais (CEUA), nº011/2023, UERJ- RJ.

Fêmeas de camundongos Swiss Webster (*Mus musculus*) em fase final de gestação, foram separadas em caixas individuais e mantidas no Biotério Multiusuário de Biologia, localizado no Departamento de Ciências Radiológicas (DCR/IBRAG/UERJ), com temperatura controlada, ciclo de 12h claro/escuro, começando o ciclo claro às 6h. Os animais permaneceram, durante todo o experimento, em gaiolas de plástico apropriadas, contendo serragem, água potável e ração *ad libitum*. O controle da data de nascimento foi feito diariamente para que se pudesse classificar o tempo de vida de cada filhote, contando o dia do nascimento como dia 0 (PND0). Foram utilizados 20 camundongos (10 machos e 10 fêmeas) para cada uma das 4 doses avaliadas (0, 25, 60, 100 mGy) no experimento conforme mostrado na Tabela 3. A figura 3 representa o esquema experimental para o desenvolvimento da pesquisa em tela.

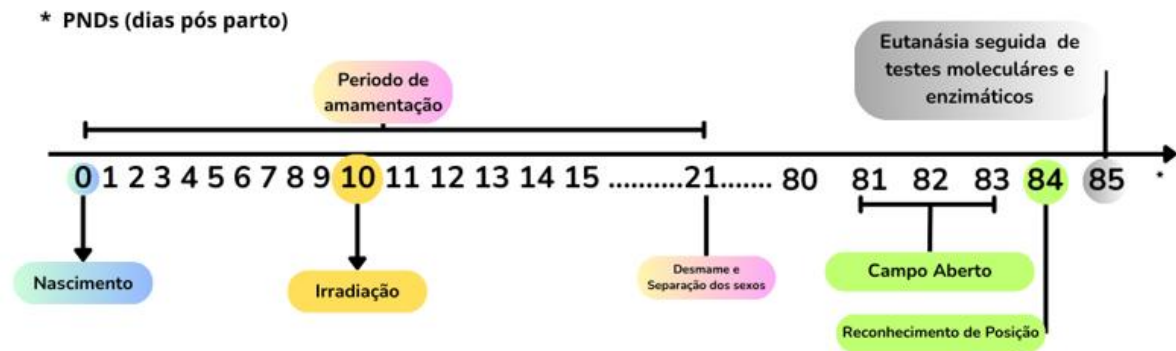
Tabela 3: Organização dos grupos experimentais e siglas.

<i>Sexo</i>	<i>Dose</i>	<i>N (por grupo)</i>	<i>Sigla</i>
Fêmeas	0 mGy	10 – 12	F0
	25 mGy		F25
	60 mGy		F60
	100 mGy		F100
Machos	0 mGy	9 – 12	M0
	25 mGy		M25
	60 mGy		M60
	100 mGy		M100

Legenda: Organização dos grupos de acordo com dose e sexo. Siglas referentes ao sexo, sendo M, para masculino e F para feminino.

Fonte: O autor, 2025

Figura 3: Desenho experimental com todos os grupos e procedimentos avaliados.



Legenda: Representação esquemática do desenho experimental, destacando os principais eventos ao longo dos dias pós-parto (PNDs).

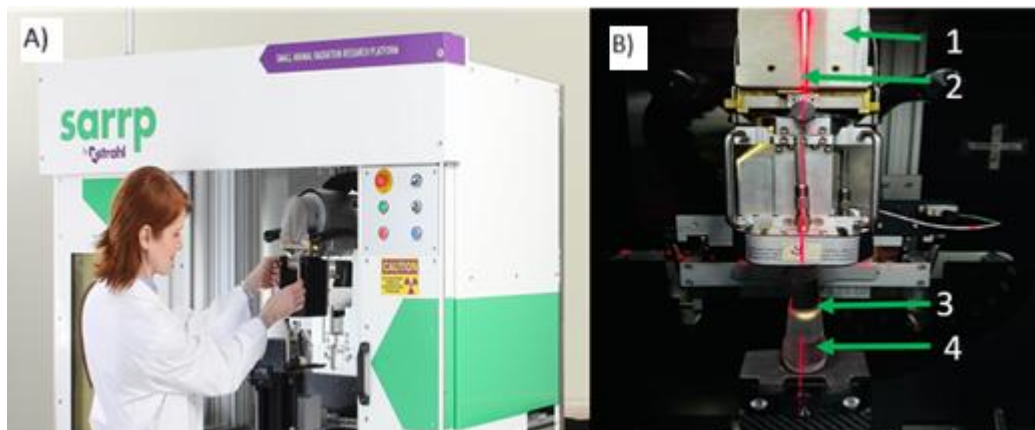
Notas: O nascimento ocorre no PND 0, seguido do período de amamentação até o PND 21. A irradiação craniana é realizada no PND 10, durante o período de amamentação. No PND 21, ocorre o desmame e a separação dos sexos. Entre os PNDs 81 e 84, são realizados os testes comportamentais de campo aberto e reconhecimento de posição. No PND 85, os animais são eutanasiados para a realização de análises moleculares e enzimáticas.

Fonte: O autor, 2024

3.2. Equipamento de Irradiação e Dosimetria

Para exposição dos camundongos a diferentes doses foi utilizado o irradiador *small animal radiation research platform* (SARRP), localizado no LCR/UERJ. O SARRP é um equipamento de radiação de precisão composto por uma fonte de raios X (Figura 4).

Figura 4: Imagem ilustrativa do irradiador SARRP



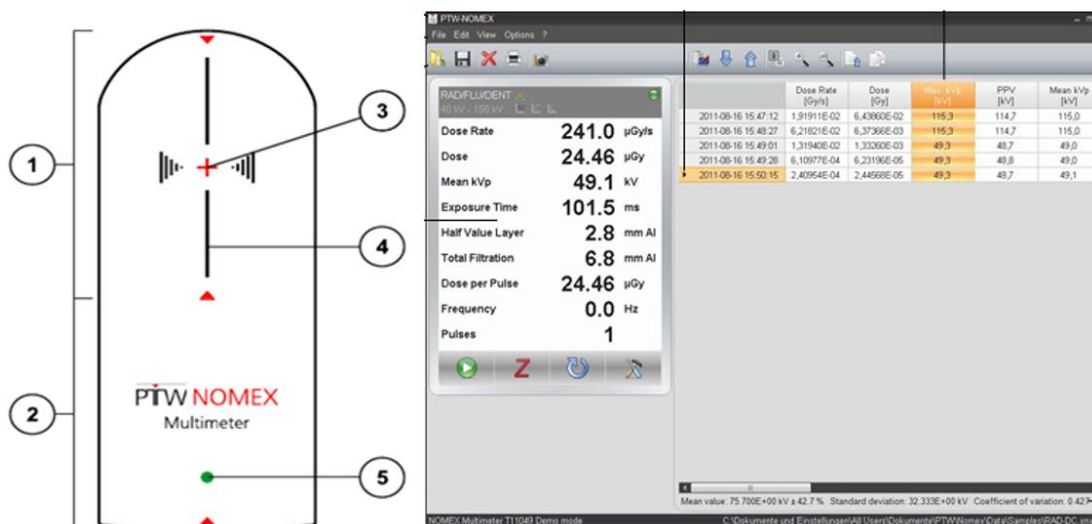
Legenda: Irradiador de animais de pequeno porte A) Visual Externo (SARRP – Xstrahl), B) Visual Interno.

Notas: 1) Fonte de raios X; 2) Colimador e Filtro (0,3 mm de Cu); 3) Campo luminoso; 4) Suporte para o animal.

Fonte: adaptado de [SARRP Small Animal RT - Image Guided Irradiation | Xstrahl](#)

Na dosimetria, no ponto de referência (local de suporte para a irradiação dos animais), foi utilizado o dosímetro semicondutor PTW NOMEX (Multimeter - REF T11049). O multímetro NOMEX é um sistema de dosimetria de diagnóstico, em conformidade com a norma (IEC 61674), para dosimetria de referência e medições de controle da qualidade em radiologia de diagnóstico (NOMEX T11049, 2012). Ele é capaz de conduzir testes de aceitação e verificações de constância em várias aplicações radiológicas, incluindo radiografia, fluoroscopia, raios X odontológicos, mamografia e TC. O conjunto do multímetro NOMEX inclui o multímetro NOMEX, um dosímetro miniaturizado que consiste em um sistema eletrônico, detectores com semicondutores e o software. Numa única exposição, o multímetro NOMEX mede a dose, a taxa de dose, a dose por pulso, os pulsos, a frequência de pulso, o tempo de exposição, a tensão do tubo, a filtragem total e a camada semirredutora e kV (figura 5).

Figura 5 - Imagem ilustrativa do multímetro NOMEX e a tela principal do seu software.



Legenda: Imagem ilustrativa do multímetro NOMEX.

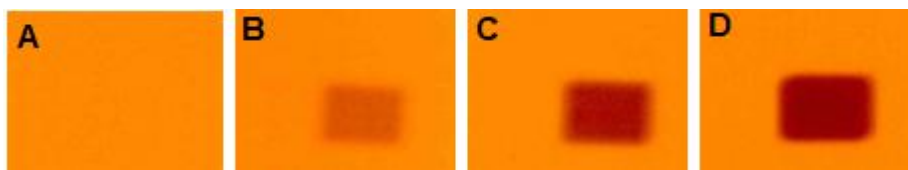
Notas: 1) Área do detector; 2) Área eletrônica; 3) Marca para alinhamento com o raio central; 4) Marca para alinhamento em tomografia computadorizada e odontológicas aplicações panorâmicas; 5) LED de status.

Fonte: Manual de uso PTW

Foram utilizados os mesmos parâmetros (filtro, distância, colimador, ângulo do anodo do tubo de raios X, corrente do tubo de raios X, tensão elétrica) da dosimetria de feixe para a irradiação dos animais, modificando apenas o tempo de exposição, garantindo a dose absorvida desejada, em Kerma no ar.

O campo de irradiação foi verificado através do campo luminoso e de filmes radiocrômicos (Figura 6) com sensibilidade para um intervalo de dose de 0,1 cGy a 20 cGy. (GAFCHOMIC™ XR-QA2-810) para uma área de aproximadamente 1 cm².

Figura 6: Digitalização de filme radiocrômico irradiado no SARRP com diferentes doses.



Legenda: Digitalização de filme radiocrômico com diferentes doses

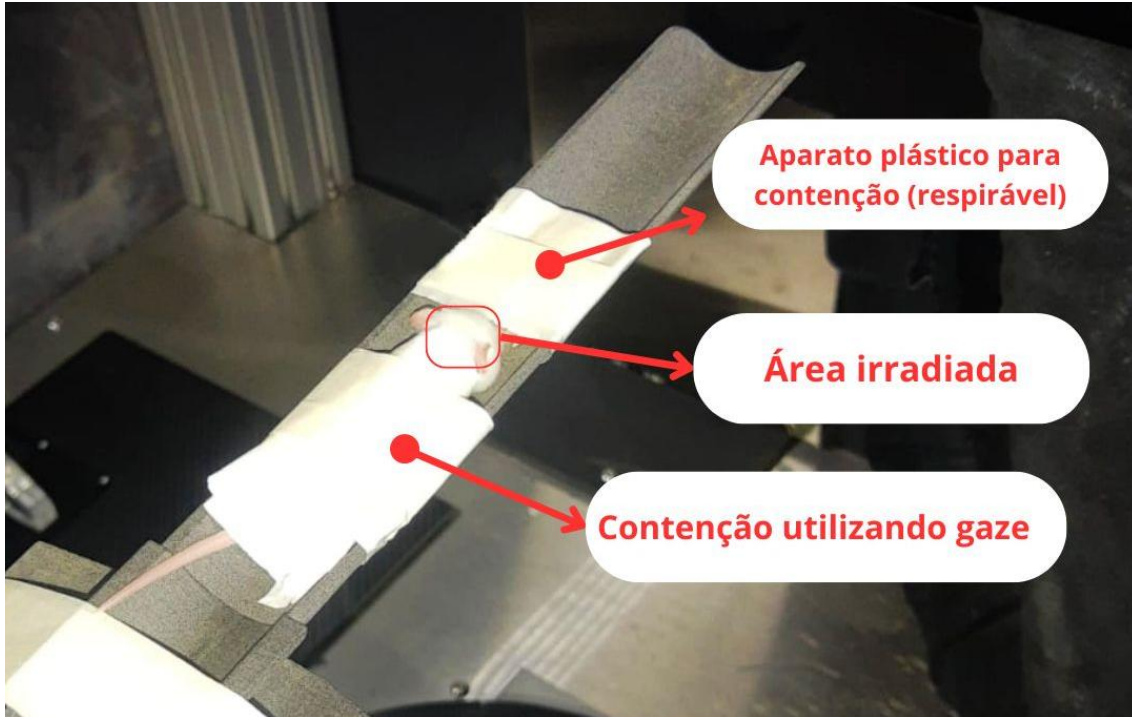
Notas: Doses de aproximadamente A) 0 mGy, B) 25 mGy, C) 60mGy e D) 100mGy.

Fonte: O autor, 2024

3.3. Procedimentos da Irradiação

Os animais com 10 dias de vida (PND10) foram retirados da caixa na qual estava a mãe, levados e posicionados no SARRP. A contenção dos animais foi feita de forma a não permitir sua movimentação pelo tempo necessário. Para a imobilização do corpo do animal utilizou-se gaze e para imobilização da cabeça empregou-se um microtubo cortado e adaptado, não foi utilizado anestésicos ou sedativos (figura 7). A irradiação foi realizada para todos os animais no mesmo período do dia. Os animais que não foram submetidos a irradiação (grupos controles, F0 e M0), também foram submetidos a todas as outras etapas (contenção e posicionamento no suporte para animal), de maneira que o procedimento de irradiação fosse simulado com o SARRP desligado.

Figura 7: Camundongo PND10, posicionado para irradiação.



Legenda: Fotografia realizada com o animal PND10 posicionado para irradiação do Crânio, imobilizado sem a necessidade de anestésicos.

Fonte: O autor (2024)

Os parâmetros físicos da irradiação selecionados no painel de controle do SARRP foram: tensão elétrica (kV) = 90, corrente elétrica do tubo de raios X (mA) = 30, filtro de cobre na espessura de 0,30 mm, distância foco-pele foi de 50 cm e o tempo variou entre 7, 16 e 27 segundos de acordo com a dose de 25 mGy, 60 mGy e 100 mGy, respectivamente. Para a determinação do tempo foi utilizado como parâmetro a taxa de dose previamente determinada e confirmada por meio da dosimetria pela NOMEX (taxa de dose de 3,68 mGy/s).

Os valores obtidos pela dosimetria no multímetro (NOMEX), nos assegurou a dose em Kerma no ar para a irradiação em modalidade de projeção fixa. Logo, foi realizado um cálculo de correção (Equação 3), no qual é possível obter os valores de dose efetiva e comparar com as doses efetivas utilizadas em procedimentos de tomografia em humanos no meio clínico com base na literatura, conforme pode ser observado na Tabela (4).

Equação 3: Equação para dose efetiva (E)

$$E = T \sum wT \cdot DT \quad (3)$$

Onde:

E é a dose efetiva total, em sieverts (Sv).

wT é o fator de ponderação do tecido (também chamado de fator de ponderação de risco), que reflete a sensibilidade de cada tecido ou órgão à radiação. Esses valores são definidos pela ICRP (International Commission on Radiological Protection).

DT é a dose absorvida no tecido ou órgão T, geralmente medida em gray (Gy). Essa dose é a quantidade de radiação absorvida por unidade de massa do tecido ou órgão.

Tabela 4: Comparação de Dose efetiva entre protocolo de referência em tomografia computadorizada para pediatria e dose efetiva nos camundongos em diferentes doses.

Humano (TC)	Idade / Peso	DLP, mGy.cm	Dose Efetiva (mSv)
Crânio Pediatria	0 ≤ 3 Meses	300	3,3
	3 meses ≤ 1 ano	385	2,5795
	1 ano ≤ 6 anos	505	2,222
	≥ 6 anos	650	2,86
Camundongo	Grupos	Dose Absorvida (mGy)	Dose Efetiva
Irradiador SARRP	M25, F25	25,76	0,7728
	M60, F60	58,88	1,7664
	M100, M100	99,36	2,9808

Legenda: Doses efetivas calculadas de acordo com as normas regulamentadoras ICRP 103 (2007)

Fonte, O autor, 2024

Os fatores de radiosensibilidade para o cálculo de dose efetiva do procedimento de irradiação dos camundongos foram obtidos através ICRP 103 (2007), já o coeficiente de correção para dose efetiva em procedimento de tomografia foi obtido através do Report No. 096 - The Measurement, Reporting, and Management of Radiation Dose in CT (2008)

Posteriormente a irradiação, os animais voltaram para as caixas de suas respectivas mães, nas quais permaneceram até o desmame (PND21). Após o desmame, os animais foram separados por sexo e dose de irradiação, formando assim os 8 grupos totais (4 grupos de machos e 4 grupos de fêmeas).

3.4. Ensaios Comportamentais e ANY-Maze

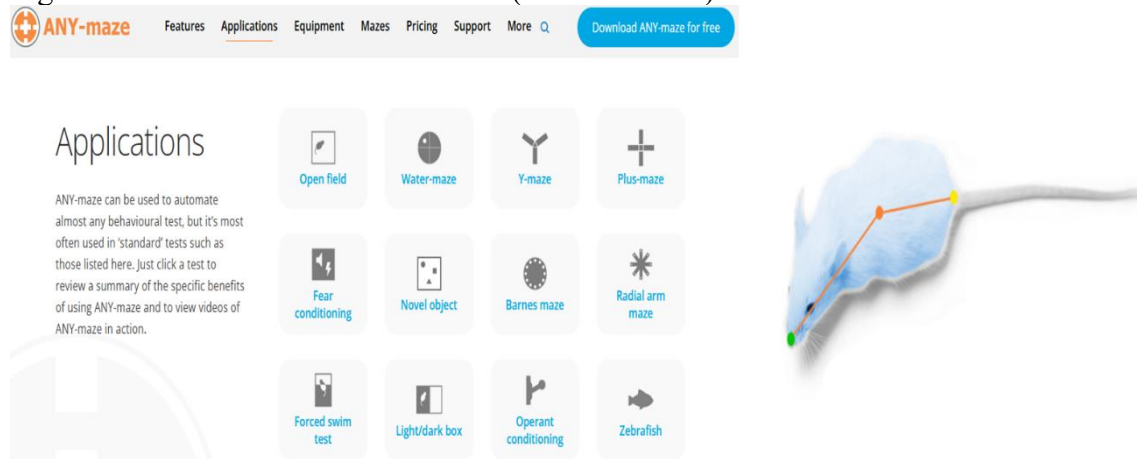
Os ensaios comportamentais realizados foram: teste do campo aberto (*Open Field*) e o teste de Reconhecimento de Posição (RP). Todos os testes foram realizados no período entre 13-16h (fase clara do ciclo).

O ANY-Maze foi o software utilizado para a análise dos testes comportamentais. Este software é uma avançada ferramenta de análise de vídeo amplamente utilizado em pesquisas comportamentais para estudar o comportamento de animais em diferentes testes experimentais

(figura 8). Desenvolvido para facilitar a coleta e análise de dados comportamentais, o ANY-Maze permite que os pesquisadores rastreiem e gravem o movimento dos animais em tempo real ou a partir de vídeos já prontos, utilizando algoritmos de detecção de movimento e análise de trajetória. O software é capaz de mapear automaticamente o ambiente de teste, identificar zonas específicas e monitorar uma variedade de parâmetros comportamentais, como o tempo de exploração, a distância percorrida e a velocidade, fornecendo dados quantitativos precisos e consistentes que são essenciais para estudos em neurociência, farmacologia e psicologia (LIM et al., 2023).

A utilização do ANY-Maze é particularmente benéfica para testes como o campo aberto e o reconhecimento de posição de objetos, uma vez que o software aumenta a precisão e a confiabilidade dos dados coletados. No teste de campo aberto, ele permite a avaliação detalhada dos padrões de movimentação e exploração dos animais, ajudando a identificar comportamentos relacionados à ansiedade ou à locomoção espontânea. Já no teste de reconhecimento de posição de objetos, o ANY-Maze é capaz de registrar com exatidão o tempo que o animal gasta interagindo com objetos novos ou familiares, permitindo uma análise robusta de memória e reconhecimento espacial. Dessa forma, o software não apenas automatiza e simplifica o processo de análise, mas também reduz o viés humano, proporcionando resultados mais confiáveis e replicáveis em estudos comportamentais.

Figura 8: Software de análise de vídeo (ANY-Maze™)



Legenda: Site principal do sistema de monitoramento de vídeo com suas funções e aplicações.

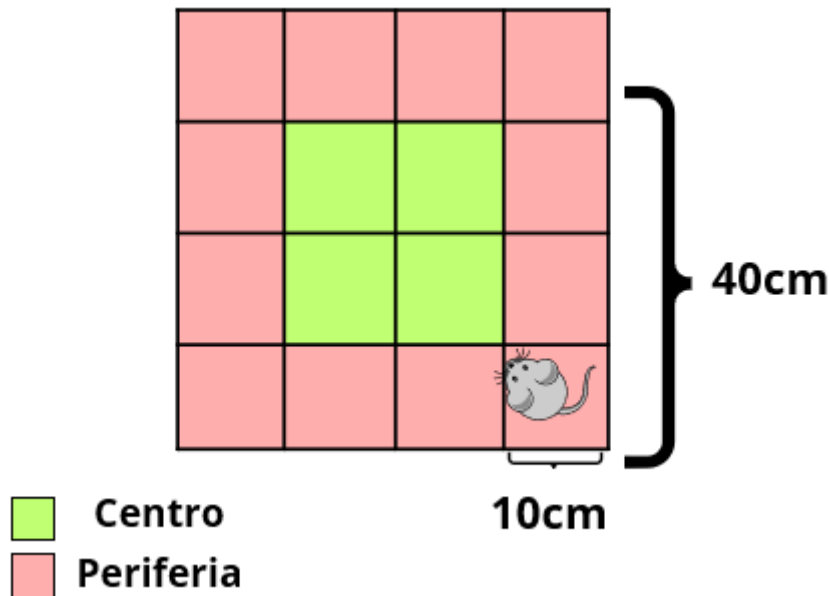
Fonte: Plataforma Online (<https://any-maze.com>)

3.4.1. Ensaio em Campo Aberto (*Open Field*)

O teste do campo aberto é amplamente utilizado em roedores para acessar o nível de ansiedade, a atividade locomotora exploratória e sua capacidade de habituação (WOLFANG et. al. 2015). O procedimento consiste em confrontar o animal com a novidade do ambiente e observar seus comportamentos. Para este ensaio foi utilizado uma caixa de acrílico (40 x 40 x 40 cm) com as laterais pretas e a base transparente com marcações de 16 quadrados de 10 cm de lado (Figura 9). Esses quadrados marcados no assoalho da caixa permitem a quantificação da atividade locomotora e comportamental do animal. Esse ensaio foi realizado em todos os grupos após 70 dias da irradiação, sendo o animal neste momento considerado um adulto jovem.

Um animal por vez foi colocado sozinho no canto da caixa, durante 10 minutos, foi filmado o comportamento exploratório do animal com auxílio de uma câmera posicionada sobre o aparato. A análise do Campo aberto foi realizada para avaliar o nível exploratório locomotor, distância percorrida em metros no período da análise. Também foi analisado o comportamento ansioso do animal, através da contagem do tempo em que o animal permanece na área, no assoalho, demarcada como periferia (quadrantes externos), e na região denominada de centro (quadrantes internos). O tempo permanecido na região do centro, a distância percorrida será analisada através do software ANY-maze. Durante a troca de animais, as caixas foram higienizadas com uma solução de álcool 40% para remoção de pistas olfatórias do animal avaliado anteriormente. No decorrer da gravação o local do experimento foi isolado para evitar qualquer tipo de ruído que pudesse causar alterações no comportamento do camundongo. Este ensaio foi conduzido por três dias consecutivos para que os mesmos se adaptassem a caixa antes de serem submetidos ao ensaio de reconhecimento de posição. Entretanto, apenas o realizado no primeiro dia foi utilizado para análise do nível de ansiedade e atividade locomotora.

Figura 9: Ilustração na caixa (arena) para realização dos experimentos de Campo Aberto e reconhecimento de Posição.



Legenda: Ilustração da arena utilizada para os testes comportamentais.

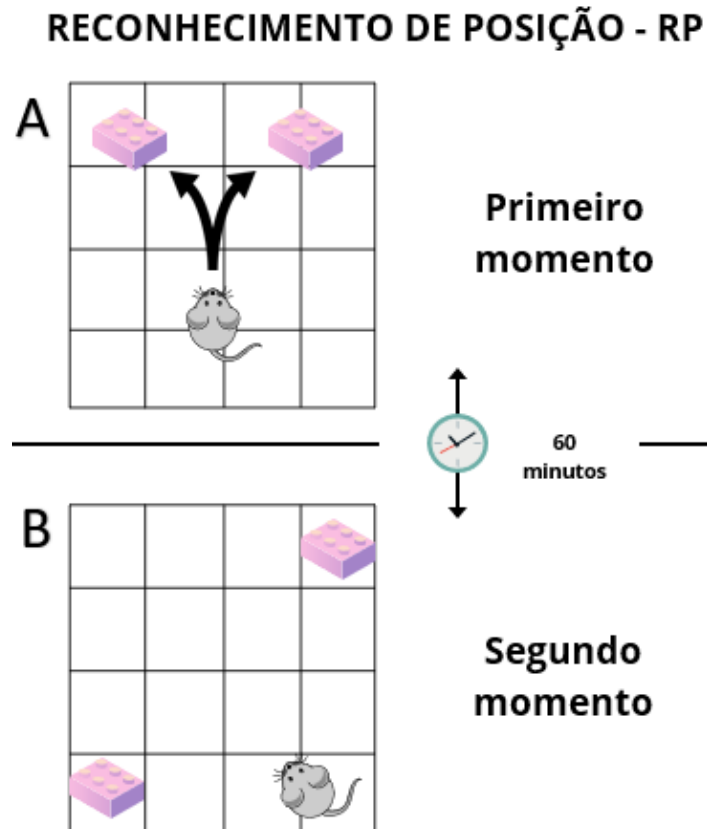
Fonte: O autor, 2024.

3.4.2. Ensaio de Reconhecimento de Posição (RP)

Para avaliar a capacidade de memória espacial, os animais foram submetidos ao ensaio de reconhecimento de posição. O mesmo foi realizado 24h após a finalização do ensaio em campo aberto em todos os grupos em estudo. O teste é realizado em duas sessões de 5 minutos. A primeira sessão com um intervalo de 60-70 min em relação a segunda. Durante o teste de reconhecimento de posição, o animal foi colocado na mesma caixa do teste de campo aberto, utilizado para ambientação prévia. Na primeira sessão, ao entrar na caixa, o animal encontrou dois objetos iguais posicionados paralelamente próximos às quinas de um dos lados da caixa (figura 10 A). Após 5 minutos na caixa, o animal foi retirado e recolocado na sua gaiola habitual, juntamente com os outros animais. Após um intervalo de 60-70 min iniciou-se a segunda sessão do mesmo animal. Na segunda sessão, um dos objetos teve sua posição alterada (objeto 2), sendo deslocado para a quina adjacente (Figura 10 B), o que naturalmente aguça o interesse exploratório de um animal saudável, sem déficits na memória espacial (LUEPTOWN, 2017). Durante a troca de animais, as caixas eram higienizadas com uma solução de álcool 40% para remoção de pistas olfatórias do animal avaliado anteriormente. O comportamento exploratório foi definido como cheirar ou tocar o objeto com o focinho e/ou com as patas

dianteiras. O tempo de exploração que cada animal passou investigando ativamente os objetos foi determinado através do programa ANY-maze. O aprendizado/memória foi avaliado pelo percentual de tempo explorado no objeto com a posição modificada (objeto 2). Este teste se baseia no fato de que o animal passa mais tempo explorando um objeto novo do que um objeto ao qual esteja habituado (CLOKE et al., 2015).

Figura 10: Ilustração do teste de reconhecimento de posição – RP.



Legenda: Ilustração do teste de reconhecimento de posição.

Notas: No primeiro momento (A) do teste, os objetos ficam dispostos em certas posições, livres para interação com o camundongo por um período determinado de tempo, após um intervalo de 60 minutos fora da arena, o camundongo retorna, porém neste segundo momento (B) os Objetos são trocados de lugar

Fonte: O autor, 2024

3.5. Avaliação de massa corporal e eutanásia.

A eutanásia dos animais foi realizada 24-48 horas após o término do teste de RP. Os animais foram previamente pesados e anestesiados com Cetamina (20 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg).

Assim que anestesiados, os camundongos tiveram a massa corporal aferida em grama (g) em uma balança digital. Posteriormente, foi realizada uma perfusão com solução salina 0,9% para retirada de sangue. Após a perfusão os animais tiveram a região do hipocampo retirada e armazenada em criotubos e armazenados a -80°C , para posterior análise da expressão da expressão gênica através do ensaio de RT-qPCR e avaliação da quantificação de TBARS e da atividade enzimática das enzimas antioxidantes GPX (glutationa peroxidase), SOD (superóxido dismutase) e catalase.

3.6. RT-qPCR.

Os hipocampos (Esquerdos) coletados, conforme descritos previamente, foram incubados por 48h em solução de RNAlater® (Invitrogen, Cat. AM7021, Carlsbad, CA, EUA) para estabilização do RNA. Após este período, as amostras foram incubadas em freezer -80°C até a análise.

Para o isolamento e purificação do RNA total, utilizou-se o PureLink®RNA Mini Kit (Invitrogen, Cat. 12183018A, Carlsbad, CA, EUA), conforme as especificações da ficha técnica. A quantificação do RNA total foi realizada por meio do Qubit™ utilizando o Quant It Kit RNA (Invitrogen, Cat. Q32852, Carlsbad, CA, EUA), complementada com análises espectrofotométricas no equipamento Nanodrop® (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, EUA) para verificar a pureza e concentração. Em seguida, procedeu-se ao tratamento com DNase, seguido de uma nova quantificação do RNA total.

Para a síntese de cDNA, empregou-se uma concentração de 500 ng/mL de RNA total, utilizando o SuperScript™ III First-Strand Synthesis System com Oligo dT primer (Invitrogen, Cat. 18080051, Carlsbad, CA, EUA). O processo seguiu o seguinte ciclo: $65^{\circ}\text{C}/5\text{min}$; $50^{\circ}\text{C}/50\text{min}$; $85^{\circ}\text{C}/5\text{min}$; $37^{\circ}\text{C}/20\text{min}$, conforme as instruções da ficha técnica. O produto de cDNA foi diluído até atingir a concentração final de 50 ng/mL, utilizando água livre de RNase, e 2 uL desta solução foram empregados para o qPCR.

A amplificação foi conduzida utilizando o Forget-Me-Not™ EvaGreen® qPCR Master Mix (Biotium, Cat. 31046, Fremont, CA, EUA), em um ciclo de $95^{\circ}\text{C}/2\text{min}$, seguido por 40 ciclos de $95^{\circ}\text{C}/5\text{seg}$; $55^{\circ}\text{C}/10\text{seg}$; $72^{\circ}\text{C}/20\text{seg}$, conforme descrito na ficha técnica. A curva de fusão de dissociação foi gerada conforme as orientações do instrumento, e os resultados foram expressos utilizando β -actina como gene de referência e o método $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ para o cálculo da expressão relativa dobrada.

Tabela 5: Lista de Primers

Gene	Primer	Sequência (5' → 3')	Número de Acesso (GenBank)
<i>β-Actina</i>	Forward	AGCCATGTACGTAGCCATCCA	NM_007393.5
	Reverse	TCTCCGGAGTCCATCACAATG	
<i>IL-1β</i>	Forward	GCAACTGTTTCCTGAACTCAACT	NM_008361.4
	Reverse	ATCTTTTGGGGTCCGTCAACT	
<i>IL-6</i>	Forward	TAGTCCTTCCCTACCCCAATTTCC	NM_031168.2
	Reverse	TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC	
<i>IL-10</i>	Forward	ACAGCCGGGAAGACAATAAC	NM_010548.2
	Reverse	CAGCTGGTCCTTTGTTTGAAAG	
<i>TNF-α</i>	Forward	CCCTCACACTCAGATCATCTTCT	NM_013693.3
	Reverse	GCTACGACGTGGGCTACAG	

Legenda: Lista de Primers para os genes ligados ao perfil inflamatório e genes constitutivos. Tabela contando com o número de acesso em GENBANK

Fonte: adaptado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>, 2024

3.7. Atividade Enzimática Antioxidante

Para a avaliação do estresse oxidativo em hipocampos de camundongos irradiados, foram utilizados os métodos de TBARS, Catalase, Superóxido Dismutase (SOD) e Glutathione Peroxidase (GPx). Os hipocampos foram previamente retirados e armazenados em freezer a -80 °C até o momento das análises.

3.7.1. Preparo das Amostras

Os tecidos foram homogeneizados em solução tampão KPE, composta por solução A (100 mM KH₂PO₄) e solução B (97,6 mM K₂HPO₄), sendo utilizada a proporção de 80 mL da solução A para 420 mL da solução B, com o pH ajustado para 7,5. A essa mistura, foi adicionado EDTA 5 mM, na proporção de 500 µL de tampão por amostra. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 600 × g por 10 minutos a 4 °C, e o sobrenadante foi coletado para posterior quantificação de proteínas pelo método do ácido bicinonínico (BCA). A curva padrão foi preparada utilizando albumina de soro bovino (BSA), com concentrações variando de 2 a 0,156 mg/mL, e as amostras foram diluídas na proporção de 1:5 antes da aplicação nas placas. Após incubação por 15 minutos a 60 °C, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 562 nm.

3.7.2. TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances)

A técnica de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) foi utilizada para quantificar os níveis de peroxidação lipídica nos tecidos do hipocampo, representando um marcador sensível de dano oxidativo em lipídeos de membranas celulares. Essa metodologia baseia-se na reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) com o malondialdeído (MDA), um composto resultante da peroxidação lipídica, formando um complexo cromogênico detectado por espectrofotometria. O MDA é utilizado como marcador de estresse oxidativo.

Para o preparo, os tecidos foram homogeneizados, misturados com ácido tricloroacético (TCA) a 10% e centrifugados a 3600 x g por 15 minutos. O sobrenadante foi combinado com TBA e aquecido a 95 °C por 10 minutos, seguido de resfriamento e leitura da absorbância a 532 nm. Esse método permitiu quantificar os níveis de MDA de forma precisa, possibilitando a avaliação do impacto da radiação ionizante no equilíbrio redox dos hipocampos analisados.

3.7.3. SOD (Superóxido Dismutase)

A atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) foi avaliada para investigar sua capacidade de defesa contra o ânion superóxido, um radical livre gerado durante o estresse oxidativo. O ensaio foi realizado utilizando a auto-oxidação da epinefrina como método, em meio alcalino com tampão glicina 1M (pH 10) e catalase.

As amostras preparadas foram analisadas por espectrofotometria a 480 nm, com leituras realizadas em intervalos de 10 segundos por um período de 3 minutos. Essa abordagem permitiu quantificar a atividade enzimática de forma precisa, fornecendo uma medida da capacidade antioxidante do tecido da região do hipocampo em resposta ao estresse oxidativo induzido.

3.7.4. GPx (Glutathione Peroxidase)

A atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx) foi avaliada para investigar sua função antioxidante essencial na conversão de peróxido de hidrogênio em água, utilizando glutathione reduzida (GSH) como substrato. As amostras foram incubadas em um sistema acoplado contendo GSH, glutathione reductase (GR) e NADPH, sendo a reação iniciada pela adição de peróxido de hidrogênio (H₂O₂).

O decaimento da absorbância, correspondente à oxidação do NADPH, foi monitorado por espectrofotometria em 340 nm por 300 segundos com intervalos de leitura de 21 segundos. Essa análise permitiu quantificar com precisão a eficiência antioxidante do hipocampo, evidenciando o papel da GPx na neutralização do peróxido de hidrogênio e na proteção contra danos oxidativos.

3.7.5. Catalase

A atividade da catalase no tecido da região do hipocampo foi analisada para avaliar sua capacidade de decompor o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, um mecanismo crucial na defesa contra o estresse oxidativo. As amostras homogeneizadas foram incubadas em uma solução contendo peróxido de hidrogênio, e a atividade enzimática foi monitorada por espectrofotometria em 240 nm.

As leituras foram realizadas em triplicata nos tempos T0 (0 segundos), T30 (30 segundos) e T60 (60 segundos), permitindo uma análise cinética da reação. Esse ensaio forneceu informações detalhadas sobre a eficiência do hipocampo em neutralizar o peróxido de hidrogênio acumulado, contribuindo para o entendimento da capacidade antioxidante do tecido.

3.8. Estatística

Os resultados dos ensaios propostos foram expressos em média \pm desvio padrão (DP) para cada grupo de camundongos testados. Como mais de dois grupos foram comparados, foi realizada uma análise de variância de um fator (ANOVA). Se a ANOVA indicasse diferença significativa entre os grupos, testes post hoc seriam realizados para identificar quais grupos diferiam entre si. Para isso, foi empregado o teste de Tukey para comparações múltiplas com o mesmo número amostral ou o Boferroni para amostras com o número amostral diferente.

Diferenças com valores de P inferiores a 0,05 foram consideradas significativas. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando software estatístico comercialmente disponível (GraphPad Prism Software, Califórnia, EUA), garantindo uma avaliação precisa e confiável dos resultados obtidos no teste comportamental de localização de objeto com camundongos.

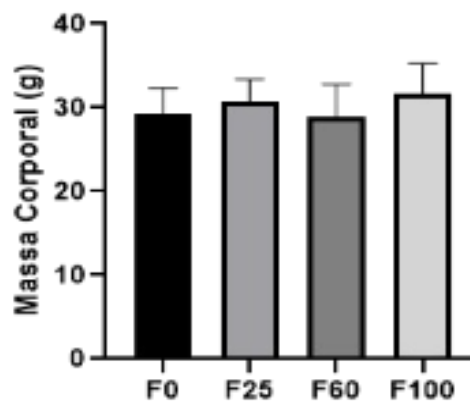
4. RESULTADOS

4.1. Massa Corporal

Todos os animais foram devidamente pesados no dia do sacrifício, a fim de verificar se ao passar do intervalo entre irradiação e sacrifício seria possível alguma alteração entre os grupos.

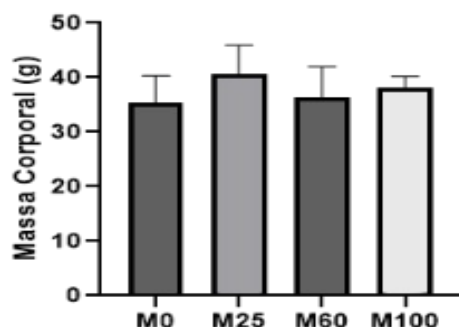
Não foram encontradas diferenças de variância significativas tanto para os grupos de fêmeas (Figura 11) quanto para os de machos (Figura 12). Nesta análise, a massa corporal dos animais, aferida anteriormente ao sacrifício, foi analisada com o software estatístico GraphPad Prism 8™. A análise de variância (ANOVA) considerou diferenças estatisticamente significativas para valores de p menores que 0,05. Para os grupos do sexo feminino (F0, F25, F60 e F100), o teste resultou em $F(3,39) = 1,632$, com $p = 0,1975$, o que levou à manutenção da hipótese nula (ausência de diferença significativa entre os grupos). O mesmo foi observado para os grupos do sexo masculino (M0, M25, M60 e M100), com $F(3,36) = 2,477$ e $p = 0,0770$, também não rejeitando a hipótese nula.

Figura 11: Massa Corporal Fêmeas, PND85 (dia do sacrifício).



Legenda: Não houve diferença significativa de variância entre os grupos, $F(3,39) = 1,632 / p = 0,1975$.
Fonte: O autor, 2024.

Figura 12: Massa Corporal Machos, PND85 (dia do sacrifício).



Legenda: Não houve diferença significativa de variância entre os grupos, $F(3,36) = 2,477 / P = 0,0770$.

Fonte: O autor, 2024.

4.2. Testes Comportamentais

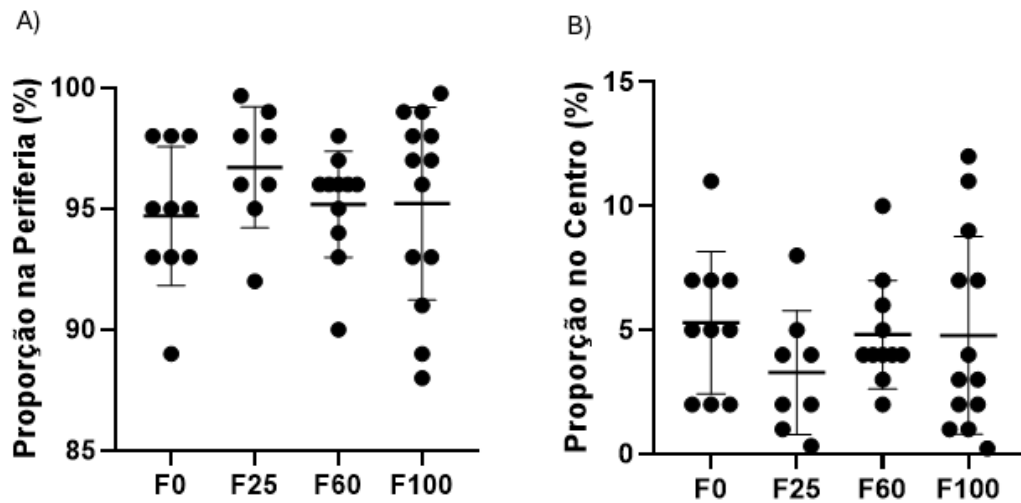
4.2.1. Campo Aberto (*Open Field*)

O teste do campo aberto é amplamente utilizado em roedores para acessar o nível de ansiedade, a atividade locomotora exploratória e sua capacidade de habituação (WOLFANG et al. 2015). Para a análise dos vídeos, foi utilizado software específico para testes comportamentais em pequenos roedores (ANY-Maze™), no software os vídeos foram analisados por igual período para todos os animais, considerando os quatro (4) quadrantes do centro como “Centro” e os demais quadrantes como “Periferia”.

4.2.2. Exploração no centro

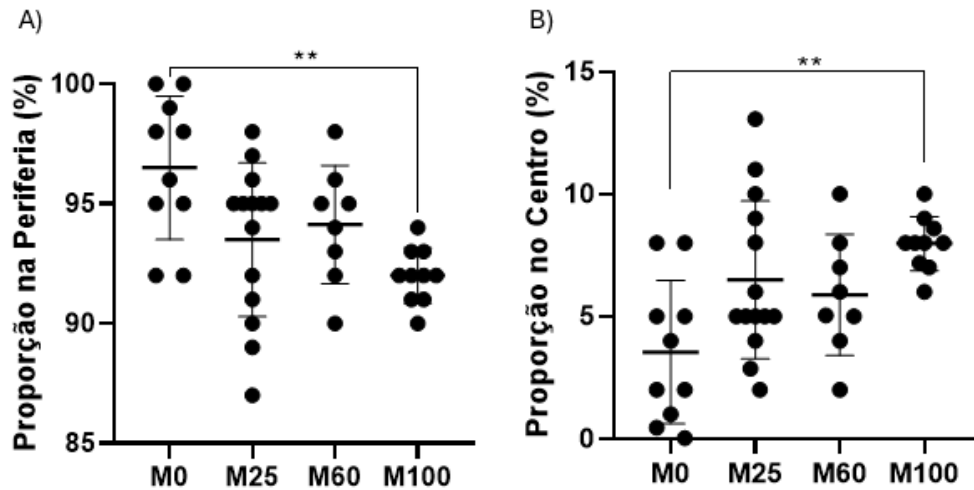
A análise de ansiedade foi realizada com base no tempo de permanência dos camundongos nos quadrantes centrais, em relação ao tempo total do teste. Utilizou-se o software ANY-maze™ para quantificar o tempo de entrada nos quadrantes centrais, expressando os dados em segundos, que foram posteriormente analisados com o software estatístico GraphPad Prism 8™. A variância na proporção de tempo gasto no centro foi comparada entre os grupos por meio de análise de variância (ANOVA). As Figuras 13 e 14 abaixo apresentam os valores individuais para cada animal nos grupos de fêmeas (F0, F25, F60 e F100) e machos (M0, M25, M60 e M100), respectivamente. Para esta análise, considerou-se significativa a diferença estatística para $p < 0,05$.

Figura 13: Proporção de tempo gasto durante o teste de campo aberto (Open Field) para os grupos do sexo feminino.



Legenda: Proporção de tempo gasto na Periferia (A) e no Centro (B).
Fonte: O autor, 2024.

Figura 14: Proporção de tempo gasto durante o teste de campo aberto (Open Field) para os grupos do sexo masculino.



Legenda: Proporção de tempo gasto na Periferia (A) e no Centro (B).
Fonte: O autor, 2024

Para a análise de variância foi avaliado a proporção de tempo gasto em determinados quadrantes e representados em porcentagem (%) como demonstrado nas figuras 13 e 14, sendo a proporção na periferia (A) e Centro (B). No grupo das fêmeas (Figura 13), a análise de variância indicou um $p = 0,560$ para $F(3,38) = 0,6964$, não demonstrando diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Já nos grupos dos machos (Figura 14), a análise

de variância, cujo resultado foi de um $p= 0,0057$ para um $F(3,38) = 4,883$, demonstrou uma diferença significativa entre os grupos M0 e M100, onde o grupo irradiado demonstrou uma maior proporção do tempo, sendo gasto na área central da arena, o que pode ser interpretado como uma diminuição de um comportamento similar à ansiedade.

4.2.3. Teste de Reconhecimento de Posição

Os resultados do teste de reconhecimento de posição de objeto mostraram o tempo de exploração dos camundongos no segundo objeto durante o segundo momento, analisado com auxílio do software ANY-Maze™. Em geral, o padrão esperado é que os camundongos demonstrem uma preferência pelo objeto deslocado, sinalizando memória preservada e curiosidade. A distribuição dos tempos de exploração foi representada em valores individuais, com mediana e desvio padrão, para permitir uma comparação visual entre os grupos experimentais, tanto para as fêmeas quanto para os machos (Figura 15 e 16).

Figura 15: Análise de variância (ANOVA) para o Segundo momento do teste de reconhecimento de posição dos grupos fêmeas, avaliando o tempo de exploração no OBJ2 (objeto que mudou de posição). Resultados do ANOVA para um $F(3, 40) = 0,5740$ gerando um $p=0,6354$.

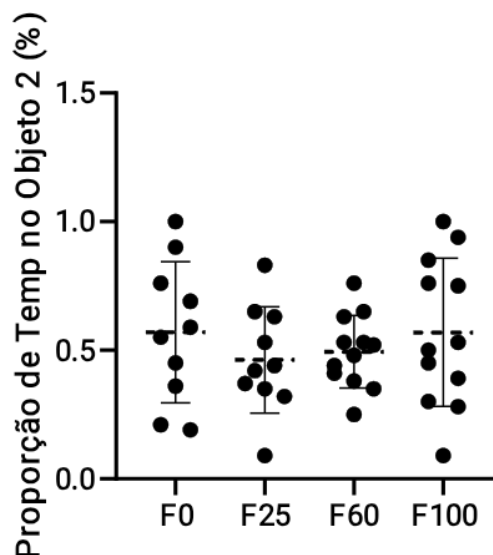
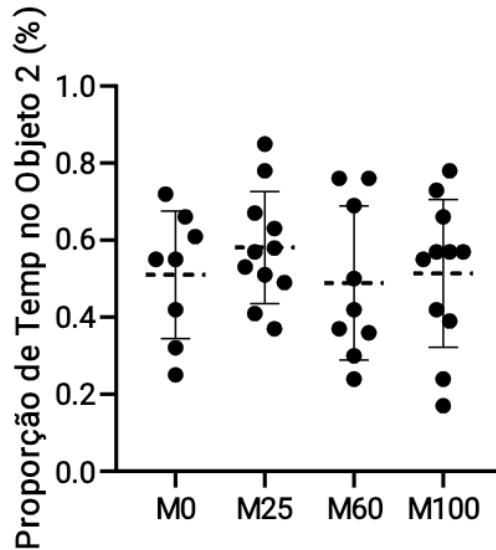


Figura 16: Análise de variância (ANOVA) para o Segundo momento do teste de reconhecimento de posição dos grupos machos, avaliando o tempo de exploração no OBJ2 (objeto que mudou de posição). Resultados do ANOVA para um $F(3, 40) = 0,5269$ gerando um $p=0,6667$.



Fonte: O autor, 2024

A análise estatística dos tempos de exploração não indicou diferenças significativas entre os grupos experimentais, independentemente da dose de radiação. A ANOVA, resultou em valores não significativos para ambos os sexos como demonstram na Figura 15 (fêmeas: $F(3, 40) = 0,5740$, $p = 0,6354$) e Figura 16 (machos: $F(3, 35) = 0,5269$, $p = 0,6667$). Esses achados sugerem que, até a dose de 100 mGy, a exposição à radiação não alterou a capacidade de memória espacial ou a curiosidade dos camundongos.

4.3. Testes Moleculares.

4.3.1. RT-qPCR

As análises de expressão gênica por RT-qPCR foi realizada para quantificar a expressão de mRNA de citocinas associadas ao processo inflamatório no hipocampo dos camundongos. Foram avaliadas as citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α , moléculas-chave na modulação da resposta inflamatória e imunológica, com o objetivo de identificar possíveis alterações em seus níveis de expressão em resposta aos tratamentos aplicados. A escolha dessas citocinas permite

uma avaliação abrangente do perfil inflamatório, abrangendo tanto mediadores pró-inflamatórios quanto anti-inflamatórios, essencial para compreender os efeitos da radiação no contexto neuroinflamatório.

4.3.1.1. IL-1 β e IL-10

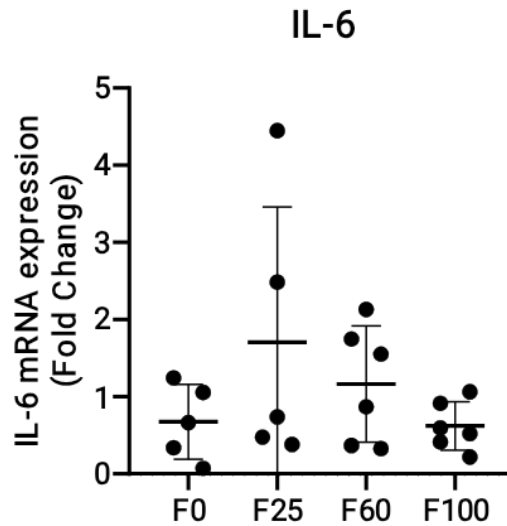
A análise de expressão gênica realizada por RT-qPCR para as citocinas IL-1 β e IL-10 revelou níveis indetectáveis de mRNA no hipocampo dos camundongos nos grupos avaliados. Essa ausência de expressão detectável sugere que, no contexto experimental utilizado, essas citocinas não apresentaram níveis observáveis de transcrição gênica. É importante destacar que o gene constitutivo utilizado como controle interno demonstrou expressão robusta e consistente entre as amostras, garantindo a confiabilidade técnica do ensaio e a adequação dos métodos empregados. Dessa forma, embora a ausência de expressão quantificável dessas citocinas tenha impedido uma análise estatística comparativa para esses marcadores, os resultados refletem a especificidade e a sensibilidade do método, sendo coerentes com o perfil de expressão molecular avaliado no presente estudo.

4.3.1.2. IL-6

Os dados obtidos do ensaio de RT-qPCR para expressão gênica da citocina IL-6 foi analisada utilizando o software GraphPad Prism 8, e a comparação entre os grupos experimentais foi conduzida por meio de uma análise de variância (ANOVA), com valores de $p < 0,05$ considerados como estatisticamente significativos. Os resultados da ANOVA indicaram que não houve diferenças significativas na expressão de IL-6 entre os grupos de camundongos, tanto em fêmeas quanto em machos. Especificamente, os valores obtidos para o teste ANOVA foram $F(3,18) = 1,456$; $p = 0,2599$ para as fêmeas e $F(3, 15) = 2,318$; $p = 0,1169$ para os machos, sugerindo que as condições experimentais aplicadas não influenciaram

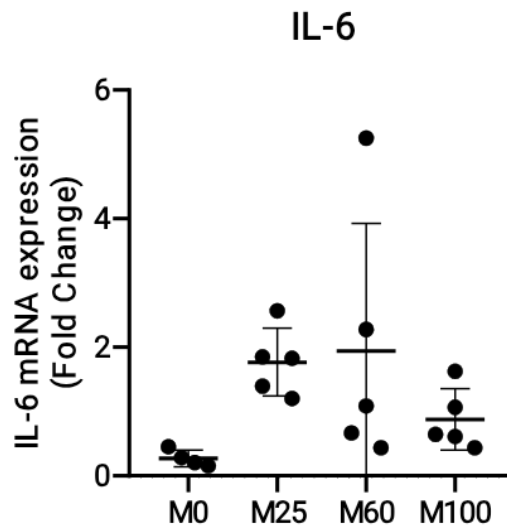
significativamente os níveis de IL-6 no hipocampo dos camundongos como é possível ver no gráfico representados nas Figura 17 e Figura 18.

Figura 17: Expressão de IL-6 para os grupos Fêmeas, valores individuais expressos com a Média e DP.



Fonte: O autor, 2024

Figura 18: Expressão de IL-6 para os grupos Machos, valores individuais expressos com a Média e DP.

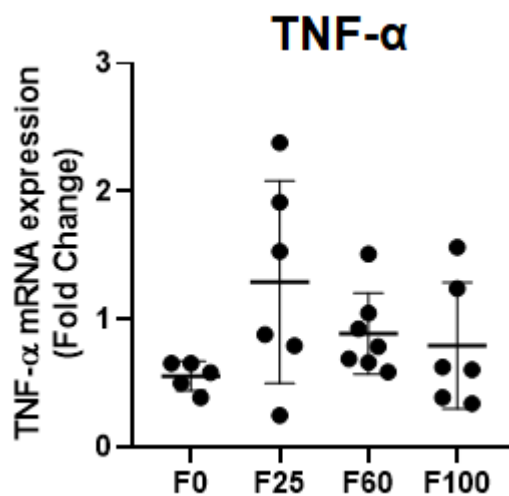


Fonte: O autor, 2024

4.3.1.3. TNF- α

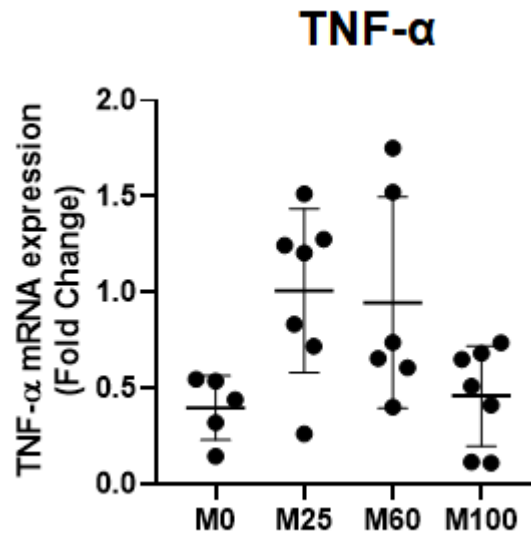
A expressão gênica da citocina TNF- α foi analisada com o software GraphPad Prism 8, utilizando-se uma análise de variância (ANOVA) para comparar os grupos experimentais, com significância estabelecida em $p < 0,05$. Os resultados da ANOVA não indicaram diferenças significativas na expressão de TNF- α entre os grupos, tanto para as fêmeas (Figura 19) quanto para os machos (Figura 20). Os valores obtidos foram $F(3, 20) = 2,095$; $p=0,1330$ para as fêmeas e $F(3, 21) = 4,200$; $p=0,0178$ para os machos. Mesmo o valor de p para os machos sendo inferior a 0,05, o pós teste não identificou diferença entre os grupos, sugerindo que os tratamentos aplicados não influenciou significativamente os níveis de TNF- α no hipocampo dos camundongos.

Figura 19: Valores individuais incluindo média e DP para a expressão gênica de mRNA referente a citocina TNF- α para o grupo das fêmeas.



Fonte: O autor, 2024

Figura 20: Valores individuais incluindo média e DP para a expressão gênica de mRNA referente a citocina TNF- α para o grupo dos machos.



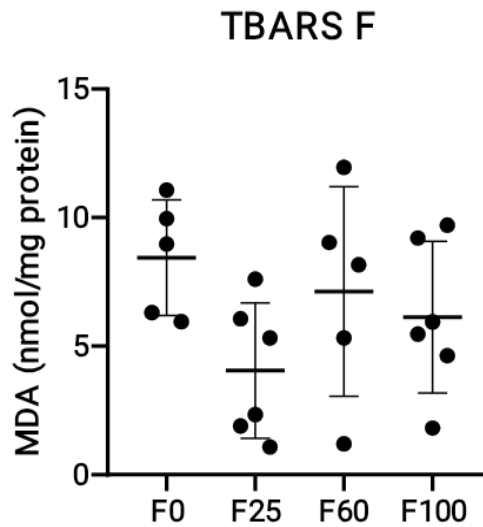
Fonte: O autor, 2024

4.3.2. TBARS

O teste de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) foi realizado para medir a peroxidação lipídica no hipocampo dos camundongos, um indicador de dano oxidativo nas membranas celulares. Esse ensaio quantifica os níveis de malondialdeído (MDA), um subproduto da peroxidação lipídica, proporcionando uma estimativa do estresse oxidativo sob as condições experimentais.

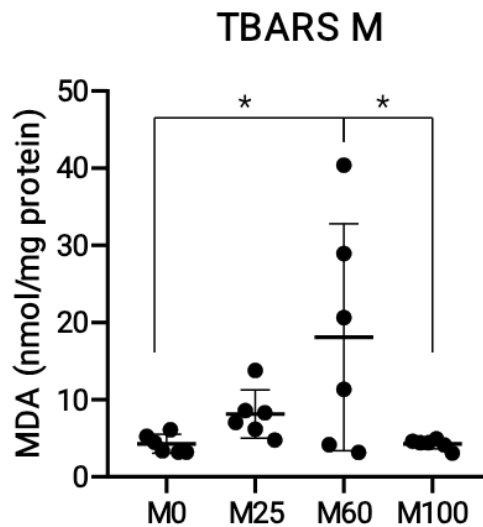
Os níveis de MDA no hipocampo foi analisada para ambos os sexos (Figuras 21 e 22), com os valores apresentados individualmente, além da média e do desvio padrão (DP). A análise de variância (ANOVA) não identificou diferenças significativas entre os grupos de fêmeas (Figura 21) ($F(3, 18) = 2,079$; $P = 0,1388$). No entanto, para os machos (Figura 22), observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os grupo M60 em comparação aos grupos M0 e M100 ($F(3, 20) = 4,486$; $P = 0,0145$; $p < 0,05$), indicando variações no nível de peroxidação lipídica em resposta aos tratamentos.

Figura 21: Expressão de MDA no hipocampo de camundongos fêmeas. Valores individuais com média e DP. ANOVA: $F(3, 18) = 2,079$; $p = 0,1388$.



Fonte: O autor, 2024

Figura 22: Nível de MDA no hipocampo de camundongos machos. Valores individuais com média e DP. ANOVA: $F(3, 20) = 4,486$; $p = 0,0145$; $p < 0,05$.



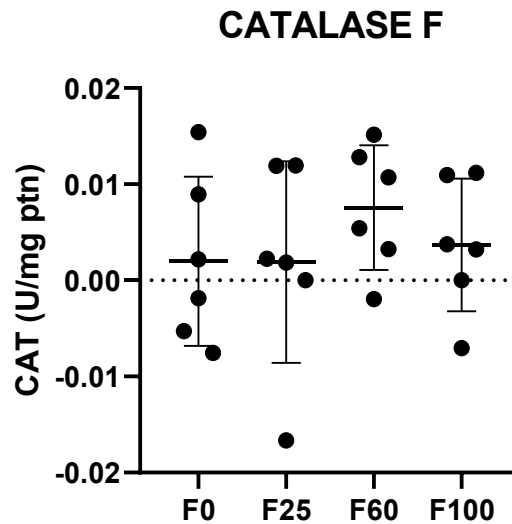
Fonte: O autor, 2024

4.3.3. Catalase

Os resultados da análise da atividade da enzima catalase (CAT) no hipocampo dos camundongos não evidenciaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais em ambos os sexos. Para as fêmeas (Figura 23), o teste de ANOVA revelou um valor de $F(3, 20) = 0,6118$, com $P = 0,6152$, indicando ausência de efeito significativo dos

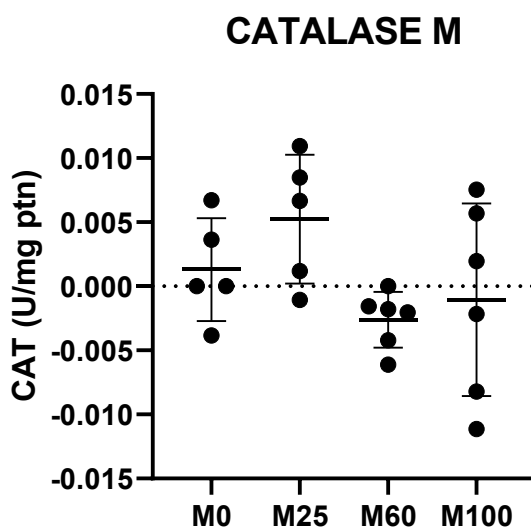
tratamentos avaliados sobre a atividade de CAT. De forma semelhante, nos machos (Figura 24), o resultado de ANOVA apresentou um valor de $F(3, 18) = 2,397$, com $P = 0,1018$, o que também não alcançou significância estatística.

Figura 23: Atividade enzimática de Catalase (U/mg ptn) analisado para os grupos de sexo feminino (F).



Fonte: O autor, 2024

Figura 24: Atividade enzimática de Catalase (U/mg ptn) analisado para os grupos de sexo masculino (M).



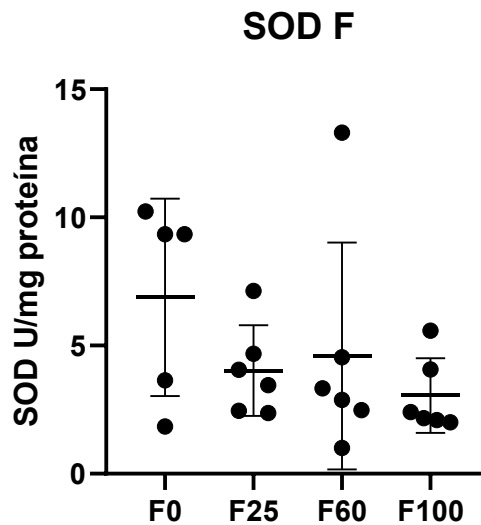
Fonte: O autor, 2024

4.3.4. SOD

Os resultados da análise da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) no hipocampo dos camundongos revelaram diferenças entre os grupos experimentais apenas nos machos, enquanto para as fêmeas não foram observadas alterações estatisticamente significativas. No caso das fêmeas (Figura 25), o teste de ANOVA apresentou um valor de $F(3, 19) = 1,460$, com $P = 0,2570$, indicando que os tratamentos não exerceram influência relevante sobre a atividade de SOD nesse sexo.

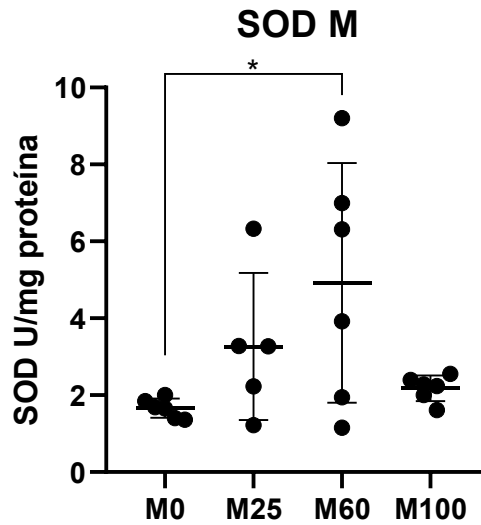
Por outro lado, nos machos (Figura 26), a análise revelou um valor de $F(3, 19) = 3,690$, com $P = 0,0301$, indicando um efeito significativo dos tratamentos sobre a atividade enzimática. O pós-teste de Bonferroni para comparações múltiplas identificou uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos M0 e M60, com um aumento da atividade de SOD no grupo exposto à dose de 60 mGy de radiação.

Figura 25: Atividade enzimática de SOD (U/mg.ptn) analisado para os grupos de sexo feminino



Fonte: O autor, 2024

Figura 26: Atividade enzimática de SOD (U/mg.ptn) analisado para os grupos de sexo masculino (M)



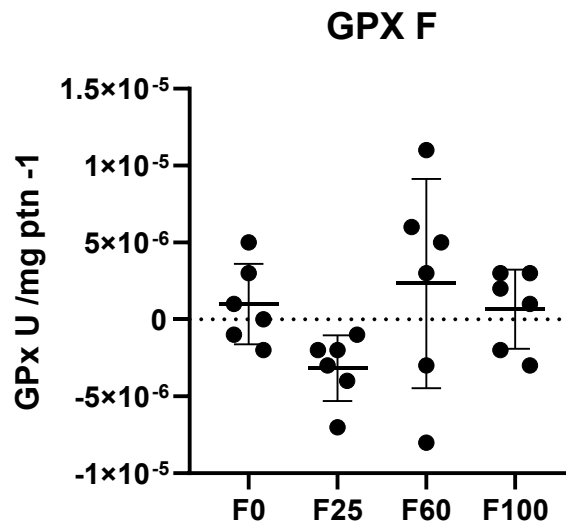
Fonte: O autor, 2024

Esses resultados sugerem uma resposta diferencial na regulação da SOD entre os sexos, com os machos apresentando uma maior sensibilidade à radiação em termos de ativação desse marcador antioxidante, o que pode refletir um mecanismo adaptativo ao estresse oxidativo induzido pela radiação na fase neonatal.

4.3.5. GPX

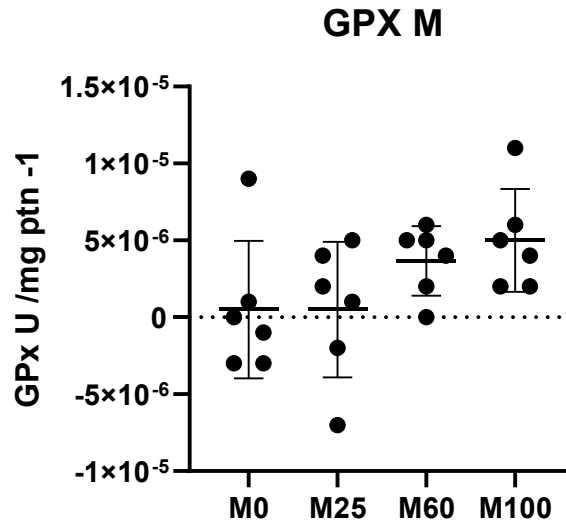
Os resultados da análise da atividade da enzima glutathiona peroxidase (GPX) no hipocampo dos camundongos também não indicaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais, tanto em fêmeas quanto em machos. Para as fêmeas (Figura 27), o teste de ANOVA revelou um valor de $F(3, 20) = 2,083$, com $P = 0,1346$, indicando ausência de efeito significativo dos tratamentos sobre a atividade da GPX. De forma similar, nos machos (Figura 28), a análise apresentou um valor de $F(3, 20) = 2,240$, com $P = 0,1150$, confirmando a falta de significância estatística entre os grupos avaliados.

Figura 27: Atividade enzimática de GPX (U/mg ptn) analisado para os grupos de sexo feminino (F).



Fonte: O autor, 2024

Figura 28: Atividade enzimática de GPX (U/mg.ptn) analisado para os grupos de sexo masculino (M).



Fonte: O autor, 2024

Dentro das condições do experimento, a atividade de glutathiona peroxidase no hipocampo manteve-se estável frente às intervenções realizadas, reforçando a hipótese de que esse marcador antioxidante pode não ser sensível às alterações induzidas por baixas doses de radiação na fase neonatal.

5. DISCUSSÃO

As radiações ionizantes desempenham um papel indispensável no contexto clínico, sendo amplamente utilizadas tanto em procedimentos de diagnóstico por imagem quanto em terapias específicas, devido à sua capacidade de penetrar tecidos e gerar imagens de alta precisão ou tratar condições específicas. Entretanto, embora seus benefícios sejam inegáveis, há uma crescente preocupação com os potenciais efeitos colaterais associados à exposição. O risco associado à radiação depende de muitas variáveis, como tipo de procedimento, tipo de radiação, dose, entre outras, e para esse controle, existem agências e instituições como, a Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA), a Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e o Comitê Científico das Nações Unidas sobre os Efeitos da Radiação Atômica (UNSCEAR), entre outras, que estabelecem normas, diretrizes e parâmetros de segurança tanto internacionais quanto nacionais para esse controle radiológico, a fim de cuidar de todas as partes interessadas (Tauhata et al., 2014). Esse controle se faz necessário tanto para o uso de altas doses de radiação, como as usadas em usinas e em procedimentos radioterápicos quanto em baixas doses, como no controle de exposição ocupacional devido aos efeitos diversos da radiação (Lassmann & Eberlein, 2015).

Essa crescente preocupação com os efeitos colaterais associados à exposição à radiação tem direcionado a literatura científica a concentrar esforços principalmente na avaliação dos riscos oncológicos, colocando em segundo plano outros impactos relevantes, como o aumento na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), responsáveis por danos celulares e teciduais com implicações substanciais à saúde, como demonstrado na revisão publicada por Narasimhamurthy et al., 2022. Nesse contexto, a tendência global para a redução das doses empregadas em exames diagnósticos ganha destaque, alinhando-se às normas e diretrizes estabelecidas por instituições internacionais e nacionais. A otimização de protocolos, avanços na engenharia de equipamentos e o desenvolvimento de algoritmos mais sofisticados são exemplos de estratégias adotadas para minimizar a exposição sem comprometer a qualidade das informações diagnósticas (Oliveira; Maluf, 2022). Contudo, a realidade de muitos países, incluindo o Brasil, ainda apresenta desafios significativos, como limitações financeiras, infraestrutura insuficiente e desigualdades no acesso a tecnologias de ponta, resultando na perpetuação de práticas clínicas que frequentemente empregam doses mais elevadas de radiação de forma rotineira (D. L. dos Santos et al., 2014; Lebaron-Jacobs; Herrera-Reyes, 2021).

Diante desse cenário, torna-se evidente a importância de estudos que busquem aprofundar o entendimento sobre os efeitos biológicos da radiação, especialmente em condições que

refletem práticas clínicas. A pesquisa com modelos animais, como camundongos, desempenha um papel indispensável nesse processo, pois permite investigar respostas biológicas de forma controlada, sistemática e com potencial de extrapolação para situações humanas. Contudo, a transposição de dados entre espécies apresenta desafios intrínsecos, como a ausência de coeficientes de ponderação de dose específicos para camundongos na literatura científica, ficando somente para humanos em diferentes idades como demonstrado na publicação ICRP 103 (ICRP, 2007).

Para contornar essa lacuna metodológica, foi necessário recorrer a coeficientes de ponderação desenvolvidos para humanos, os quais são amplamente aceitos como uma aproximação válida para estudos experimentais em animais (Xie & Zaidi, 2014). Essa abordagem não apenas garante maior compatibilidade entre os dados obtidos e as normas internacionalmente estabelecidas, mas também permite que os resultados gerados possam ser interpretados dentro de um contexto mais amplo, comparável a doses de referência em humanos, principalmente no cenário pediátrico como é a intenção desse trabalho. Assim, os cálculos de dose realizados neste estudo, ainda que fundamentados em parâmetros extrapolados, oferecem uma base sólida para a compreensão dos efeitos biológicos investigados, reforçando a relevância do uso de modelos animais para avaliar fenômenos complexos, como a geração de espécies reativas de oxigênio e o estresse oxidativo induzido por baixas doses de radiação.

A dosimetria do feixe de radiação possibilita uma exposição mais fidedigna à prática clínica. O irradiador SARRP da Xstrahl™ conta com software para irradiação e com uma ferramenta de cálculo de dose. Porém, como já demonstrados em trabalhos anteriores (M. Dos Santos et al., 2018), onde as doses ao usar filtro de cobre poderiam variar em +1% até -8%, a dosimetria adicional nesse aparelho se torna imprescindível.

No presente trabalho, a realização de uma dosimetria adicional não apenas forneceu um controle mais rigoroso sobre os parâmetros de radiação utilizados, mas também possibilitou a extrapolação confiável dos resultados para fins comparativos com outros estudos como demonstrados na tabela (4). Essa abordagem permitiu determinar intervalos de dose efetiva que são mais representativos dos cenários clínicos e experimentais com base nas doses de referências disponibilizadas em documentos oficiais como a publicação ICRP 185 (2018).

Além disso, a integração dos cálculos de dose efetiva, frequentemente calculada a partir de índices como o CTDI_{vol} e o DLP em contextos clínicos, ofereceu uma visão mais abrangente dos possíveis impactos biológicos das doses aplicadas como demonstrado na Tabela 4 onde os intervalos de dose efetiva se encontram próximos ou acima dos obtidos por dosimetria no

SARRP. Essa análise detalhada foi essencial para definir as margens de segurança e reforçar a relevância translacional do modelo adotado.

A dose de 100 mGy, escolhida neste trabalho está correlacionada com uma dose efetiva de aproximadamente 3 mSv, o que é correlata a uma dose efetiva de TC de crânio neonatal. De acordo com a DLP de referência disponibilizada no ICRP 185, 2018. Considerando os avanços tecnológicos e a tendência de redução de doses no meio clínico, os camundongos expostos com doses de 25 e 60 mGy fornecem uma perspectiva futura.

Esses resultados obtidos por cálculo de dose efetiva, realizado com base nos valores de DLP disponibilizados na ICRP 185, 2018, estão compatíveis com os valores demonstrados em trabalhos de avaliação de doses de TC pediátrica como no trabalho de Inoue et al., 2023. Trabalho esse que considera uma curva de dose efetiva para diferentes fases (idades), porém, mantendo-se estável no período neonatal. Período esse equivalente à idade do modelo animal utilizado como é demonstrado no trabalho de Dutta & Sengupta, 2016, o qual relaciona idades entre humanos e camundongos. Esses resultados criam um paralelo entre a irradiação realizada nos camundongos com procedimentos reais em tomografia computadorizada pediátrica.

Outro aspecto relevante foi a correlação dos parâmetros dosimétricos com a metodologia de irradiação escolhida. Embora o método de Whole Brain Irradiation (WBI) utilizado seja amplamente aplicado em estudos pré-clínicos, sua generalização para práticas clínicas apresenta limitações, especialmente em termos de precisão no foco da radiação em estruturas específicas, como o hipocampo. Apesar da existência de técnicas mais avançadas e direcionadas, como a desenvolvida por Dos Santos, Kereselidze, et al. 2018, que permite um controle mais refinado sobre a dose administrada ao hipocampo em protocolo de irradiação animal, o WBI reflete de forma mais representativa as práticas adotadas em contextos clínicos em países emergentes, onde equipamentos com alta especificidade ainda não são amplamente acessíveis (Filipe dos Santos, 2020).

Os testes comportamentais são amplamente utilizados na literatura para avaliar alterações cognitivas e comportamentais decorrentes de intervenções experimentais, sendo especialmente relevantes em estudos que envolvem exposição à radiação ionizante, dada sua capacidade de detectar alterações sutis no comportamento dos animais (Seibenhener & Wooten, 2015). Estudos prévios já demonstraram que camundongos irradiados com diferentes doses apresentam alterações comportamentais que variam conforme o tipo de teste, a dose e a janela temporal da avaliação pós-irradiação, reforçando a importância dessas análises para investigar possíveis impactos associados à exposição a baixas doses de radiação (Bekal et al., 2021).

No presente estudo, não foram observadas alterações significativas na exploração total durante os testes de campo aberto e reconhecimento de posição, sugerindo que a capacidade geral de locomoção e interesse exploratório dos camundongos não foi afetada a longo prazo pela exposição às doses utilizadas. De acordo com a literatura, a ausência de alterações na exploração total pode indicar que tais doses não causaram déficits motores ou motivacionais, aspectos que são frequentemente impactados em condições de dano cerebral severo ou em doses mais altas de radiação (Philippot et al., 2019). Esses resultados reforçam que baixas doses de radiação, em contextos específicos, podem não comprometer funções básicas de mobilidade ou curiosidade dos animais.

Na avaliação de ansiedade pelo campo aberto, não houve diferença significativa na exploração do centro em relação à periferia nos camundongos do sexo feminino, o que sugere que as doses utilizadas não foram suficientes para influenciar o comportamento tipo ansioso nesse sexo. Esse resultado pode tanto estar relacionado a uma menor susceptibilidade comportamental das fêmeas às doses estudadas, uma hipótese que encontra suporte em estudos prévios que destacam diferenças sexuais na resposta ao estresse e à radiação ionizante (Eriksson et al., 2016; Holmes-Hampton et al., 2023). Essas alterações podem estar relacionadas a diferenças comportamentais inerentes ao sexo, como demonstrados em trabalhos focados em comportamento exploratório de camundongos (Chen et al., 2021; Eriksson et al., 2016). Em contraste, nos camundongos machos irradiados com doses próximas a 100 mGy, foi observada uma diferença significativa, com maior exploração do centro, o que pode ser interpretado como uma redução no comportamento tipo ansioso (Seibenhener & Wooten, 2015).

Esses achados nos machos corroboram estudos anteriores que indicaram que exposições a determinadas doses de radiação ionizante podem reduzir comportamentos associados à ansiedade, sugerindo um possível efeito modulador em sistemas neurobiológicos relacionados ao estresse (Atamanyuk et al., 2024). A diferença nos resultados entre os sexos aponta para um possível limiar diferencial para apresentação de tais efeitos, destacando a importância de considerar variações sexuais em análises comportamentais e reforçando a complexidade das interações entre doses de radiação e respostas neurofisiológicas.

Dando continuidade aos testes comportamentais. Os testes de reconhecimento de posição são amplamente utilizados na avaliação de memória espacial em modelos animais, fornecendo uma medida robusta da capacidade de retenção e processamento de informações relacionadas ao ambiente (Denninger et al., 2018). A memória, especialmente a memória espacial e de trabalho, desempenha um papel crucial na sobrevivência e adaptação, sendo frequentemente impactada por fatores que afetam a integridade do hipocampo, uma estrutura

cerebral essencial para essas funções (Leger et al., 2013). Resultados nulos em estudos que investigam alterações na memória após exposições experimentais são muitas vezes vistos como positivos, uma vez que indicam a preservação dessas capacidades cognitivas fundamentais.

O período neonatal, em especial o décimo dia pós-natal (PND10), é considerado uma janela de alta vulnerabilidade para o cérebro em desenvolvimento, com o hipocampo passando por intensos processos de neurogênese e maturação sináptica (Kempf et al., 2014). Alterações durante essa fase podem ter implicações significativas e duradouras, comprometendo a formação e consolidação de memórias. A radiação ionizante é amplamente conhecida por sua capacidade de induzir danos celulares e moleculares, incluindo inflamação, estresse oxidativo e alterações na neurogênese, fatores que poderiam potencialmente comprometer a integridade do hipocampo e, conseqüentemente, as funções cognitivas associadas (Buratovic et al., 2018).

Embora a sensibilidade dos testes de reconhecimento de posição seja amplamente reconhecida, os dados obtidos neste estudo não demonstraram diferenças significativas no desempenho dos camundongos, independentemente da dose de radiação aplicada ou do sexo dos animais. Esse resultado pode indicar que as baixas doses de radiação empregadas podem não ter sido suficientes para induzir alterações detectáveis no comportamento dependente do hipocampo, mesmo durante um período crítico do desenvolvimento cerebral. A ausência de déficits cognitivos observados pode refletir a não indução de alterações, a resiliência intrínseca do sistema nervoso central a exposições subclínicas ou a ativação de mecanismos compensatórios que preservam a memória espacial. Esses resultados contrastam com estudos anteriores, como o de Serrano et al., 2021, que relataram alterações comportamentais associadas à memória após exposição à radiação em baixas doses. Essa diferença provavelmente se deve à faixa de dose utilizada, que, embora ambas as pesquisas se situem no intervalo de “baixas doses” conforme descrito na literatura, apresenta variações significativas. Estudos adicionais que investiguem padrões semelhantes em modelos animais ou sistemas experimentais comparáveis poderiam reforçar essa interpretação, destacando a plasticidade e os limites adaptativos do tecido neural frente a fatores estressores.

A preservação da memória espacial nesses modelos é especialmente relevante considerando evidências de que doses mais altas de radiação ou condições de dano cerebral mais severo frequentemente apresentam efeitos deletérios com características estocásticas, conforme descrito pelo modelo LNT (Jánošíková et al., 2019). Esses resultados reforçam a ideia de que, embora o hipocampo seja altamente suscetível à radiação em momentos críticos do desenvolvimento, a exposição a doses mais baixas pode não comprometer suas funções fundamentais, fornecendo informações valiosas sobre os limites de segurança em contextos

experimentais e terapêuticos, porém, só resultados comportamentais não são suficientes para sustentar essa perspectiva de segurança em baixas doses de radiação, logo, os resultados moleculares complementam essa visão.

Os resultados obtidos pela técnica de RT-qPCR forneceram uma visão detalhada sobre a expressão gênica das citocinas inflamatórias no hipocampo dos camundongos irradiados. A análise incluiu os genes IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α , todos envolvidos em processos de modulação inflamatória. Interessantemente, os dados mostraram níveis indetectáveis de mRNA para as citocinas IL-1 β e IL-10 em todos os grupos analisados, o que sugere que as doses de radiação aplicadas, dentro das condições experimentais, não foram suficientes para induzir alterações significativas nesses marcadores pró e anti-inflamatórios, respectivamente, a longo prazo. A ausência de expressão detectável dessas citocinas destaca a especificidade do método e é consistente com estudos que sugerem que, em doses mais baixas, a resposta inflamatória do hipocampo pode permanecer em níveis basais.

Para a IL-6, os resultados também indicaram que não houve diferença significativa na expressão entre os grupos experimentais. Embora seja amplamente documentado que a IL-6 pode ser modulada em condições de estresse neuroinflamatório, o presente estudo não identificou alterações relevantes, sugerindo que a exposição a baixas doses de radiação ionizante não foi suficiente para alterar sua regulação.

A análise do TNF- α revelou um cenário semelhante, com a ausência de diferenças significativas na expressão entre os grupos de fêmeas e machos, embora os machos apresentassem um valor de p marginalmente significativo na análise de variância (ANOVA). Contudo, o pós-teste (Bonferroni) não confirmou diferenças estatisticamente relevantes, sugerindo que o impacto dos tratamentos sobre essa citocina também foi limitado. O TNF- α é frequentemente associado a processos inflamatórios agudos, e intimamente ligado à doenças neurodegenerativas como o Alzheimer, logo, a ausência de expressão gênica nos resultados apresentados neste estudo reforça a segurança para os procedimentos que utilizam baixas doses. Além disso, tal resultado pode refletir a resiliência do hipocampo a baixas doses de radiação ou a necessidade de uma dose-limite para desencadear alterações detectáveis.

O momento da irradiação, PND10, é particularmente relevante ao discutir os resultados moleculares. Este período é caracterizado por intensa plasticidade neuronal e alta susceptibilidade do hipocampo a danos ambientais, mas também por uma significativa capacidade de reparo celular e modulação homeostática (Lowe et al., 2009). A estabilidade na expressão gênica observada neste estudo pode refletir a interação entre a exposição a baixas doses e a resiliência intrínseca do sistema nervoso em desenvolvimento, e demonstrando que a

longo prazo, essa intervenção não gera alterações crônicas nem duradouras. Outro ponto importante a ser considerado é o papel do ambiente experimental no condicionamento da resposta inflamatória. Fatores como manejo animal, controle de variáveis ambientais e protocolos de irradiação desempenham papéis cruciais na determinação da resposta molecular observada.

A fim de se conseguir uma perspectiva mais ampla, os resultados de subprodutos enzimáticos obtidos nos ensaios de TBARS forneceram informações sobre os efeitos da radiação ionizante no equilíbrio redox do hipocampo dos camundongos irradiados (Aguilar Diaz De Leon & Borges, 2020). O ensaio de TBARS, utilizado para quantificar níveis de peroxidação lipídica, revelou diferenças interessantes entre os grupos analisados, especialmente nos camundongos machos expostos a uma dose de 60 mGy. Nesse grupo, observou-se um aumento estatisticamente significativo nos níveis de malondialdeído (MDA), um marcador clássico de dano oxidativo em membranas lipídicas, quando comparado aos grupos controle e de doses mais altas.

Os resultados para as fêmeas, no entanto, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas nos níveis de MDA entre os grupos experimentais. Esse padrão reforça a ideia de que há uma resposta diferenciada entre os sexos ao estresse oxidativo induzido por radiação ionizante, possivelmente ligada a fatores hormonais ou a diferenças na dinâmica metabólica e antioxidante do hipocampo (Dymlacht, 2013). Estudos prévios apontam que os estrogênios podem desempenhar um papel neuroprotetor, reduzindo a suscetibilidade das fêmeas a danos oxidativos em condições semelhantes, o que pode explicar, pelo menos em parte, a estabilidade observada nesses grupos (Brann et al., 2007).

No ensaio de Catalase, os dados não indicaram diferenças estatisticamente significativas na atividade enzimática entre os grupos, tanto para os machos quanto para as fêmeas. A Catalase desempenha um papel central na defesa antioxidante, catalisando a decomposição do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, um mecanismo essencial para a neutralização de espécies reativas de oxigênio o que poderia indicar possível disfunção mitocondrial a longo prazo após a irradiação (Islam, 2017). A ausência de alterações detectáveis na atividade dessa enzima sugere que, nas condições experimentais utilizadas, as doses de radiação ionizante não foram suficientes para ativar ou inibir significativamente essa via de defesa antioxidante.

Esses achados complementam a análise do ensaio de TBARS, indicando que, embora o estresse oxidativo tenha sido detectado em níveis específicos (como evidenciado pelo aumento de MDA em machos expostos a 60 mGy), ele pode não ter sido suficientemente elevado para provocar uma resposta compensatória na atividade da Catalase.

Complementando os resultados relacionados às enzimas antioxidantes, a Superóxido Dismutase (SOD) fornece informações importantes sobre as respostas do hipocampo ao estresse oxidativo induzido por radiação ionizante. A SOD, que atua na dismutação do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio, apresentou um perfil de atividade interessante, com diferenças significativas observadas apenas nos camundongos machos expostos à dose de 60 mGy. Esse grupo demonstrou um aumento na atividade enzimática quando comparado ao controle (M0), indicando uma possível resposta adaptativa do hipocampo nos animais machos a essa dose específica de radiação. Esse padrão é consistente com diversos estudos que sugerem que doses moderadas de radiação podem estimular vias antioxidantes como um mecanismo de proteção celular (Guéguen et al., 2019; Miller et al., 2016; Mousavikia et al., 2023).

Nas fêmeas, a atividade da SOD não mostrou alterações significativas entre os grupos, o que pode ser atribuído a uma menor susceptibilidade ao estresse oxidativo induzido pelas doses avaliadas, como já observado nos resultados de TBARS. A literatura aponta para uma maior estabilidade redox em fêmeas, possivelmente mediada pela ação neuroprotetora de hormônios como o estrogênio, o que pode justificar a ausência de respostas significativas da SOD nesse grupo (Brann et al., 2007).

Quanto à GPX, que atua na neutralização do peróxido de hidrogênio utilizando glutathiona reduzida (GSH) como substrato, os resultados não indicaram diferenças estatisticamente significativas na atividade enzimática entre os grupos experimentais, tanto em machos quanto em fêmeas. Essa estabilidade na atividade da GPX sugere que, embora a radiação possa ter induzido estresse oxidativo em doses específicas (como evidenciado pelos níveis de MDA), os mecanismos antioxidantes mediados pela GPX podem não ter sido diretamente ativados ou modulados pelas condições experimentais aplicadas.

Esses achados, em conjunto com os resultados de Catalase, SOD e TBARS, indicam que a resposta antioxidante do hipocampo a baixas doses de radiação é modulada de maneira seletiva, com a SOD desempenhando um papel mais proeminente na adaptação ao estresse oxidativo em machos. Por outro lado, a ausência de alterações significativas na GPX sugere que essa enzima pode ser menos sensível às doses avaliadas ou que outras vias antioxidantes podem compensar sua ação. Esses resultados destacam a complexidade das interações entre estressores oxidativos e sistemas de defesa antioxidante, sugerindo que a dose, o sexo e o contexto biológico são fatores cruciais para determinar a dinâmica dessa resposta.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo ampliam a compreensão sobre os efeitos de baixas doses de radiação ionizante no hipocampo em desenvolvimento, destacando a importância de abordagens cuidadosas que considerem tanto parâmetros comportamentais quanto moleculares. A pesquisa identificou elementos-chave que reforçam a resiliência do sistema nervoso central e sugerem que mecanismos compensatórios intrínsecos podem mitigar possíveis impactos dessas exposições radiológicas no longo prazo.

Principais Achados

Parâmetros comportamentais e moleculares:

- Ausência de alterações significativas na expressão de citocinas inflamatórias.
- Testes comportamentais sem evidência de comprometimento funcional do hipocampo.

Equilíbrio redox e respostas específicas:

- Respostas diferenciadas entre machos e fêmeas, com a dose de 60 mGy sendo sensível para estresse oxidativo em machos.
- Níveis de peroxidação lipídica e atividades enzimáticas antioxidantes (ex.: SOD) evidenciaram uma resposta seletiva.

Implicações clínicas:

- A pesquisa reforça a utilidade de modelos experimentais para investigar efeitos em cenários simulados de práticas clínicas.
- Dados relevantes para discussões sobre limites de segurança e protocolos de radioproteção, especialmente em exposições pediátricas.

Os achados destacam a complexidade das interações entre radiação e sistemas biológicos, apontando para a relevância de variáveis como sexo, dose e contexto biológico. Apesar das limitações na extrapolação para humanos, os dados gerados fornecem uma base sólida para futuras pesquisas que possam aprimorar o uso clínico seguro e eficaz de radiação ionizante. Tais achados demonstram também uma necessidade de mais estudos focados em baixas doses, ao evidenciar que alguns efeitos como o de estresse oxidativo não seguem uma linearidade em seu efeito dose resposta.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, A. Researchers pin down risks of low-dose radiation. **Nature**, v. 523, n. 7558, p. 17–18, 2 jul. 2015.
- ABU BAKAR, N. F. et al. Effect of ionizing radiation towards human health: A review. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Anais...**Institute of Physics Publishing, 2 jul. 2019.
- AGUILAR DIAZ DE LEON, J.; BORGES, C. R. Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. **Journal of visualized experiments : JoVE**, v. 2020, n. 159, 1 maio 2020.
- AINSBURY, E. A. et al. Review of retrospective dosimetry techniques for external ionising radiation exposures. **Radiation Protection Dosimetry**, v. 147, n. 4, p. 573–592, 1 nov. 2011.
- ALMEIDA, C. E. DE. Temas especiais em física médica e radioproteção. **Temas especiais em física médica e radioproteção**, 12 abr. 2023.
- AL-QABANDI, M.; ALSHAMMARY, J. Ionizing Radiation: Biologic Effects and Essential Cell Biology. **The Pathophysiologic Basis of Nuclear Medicine: Fourth Edition**, p. 11–37, 1 jan. 2022.
- ALZYOUD, K.; AL-MURSHEDI, S.; ENGLAND, A. Diagnostic Reference Levels of Radiographic and CT Examinations in Jordan: A Systematic Review. **Health physics**, v. 126, n. 3, p. 156–162, 1 mar. 2024.
- ATAMANYUK, N. I. et al. The Dose-Dependent Effect of Fractionated γ -Radiation on Anxiety-Like Behavior in Neonatal Mice. **Bulletin of experimental biology and medicine**, v. 176, n. 6, p. 727–730, 1 abr. 2024.
- BEKAL, M. et al. Neurobehavioral effects of acute low-dose whole-body irradiation. **Journal of Radiation Research**, v. 62, n. 5, p. 804–811, 1 set. 2021.
- BRANN, D. W. et al. Neurotrophic and Neuroprotective Actions of Estrogen: Basic Mechanisms and Clinical Implications. **Steroids**, v. 72, n. 5, p. 381, maio 2007.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA DO CRANIO EM 2022 DATASUS**. Acessado em 27/01/2025.
- BRODY, A. S. et al. Radiation risk to children from computed tomography. **Pediatrics**, v. 120, n. 3, p. 677–682, set. 2007.
- BURATOVIC, S. et al. Effects on adult cognitive function after neonatal exposure to clinically relevant doses of ionising radiation and ketamine in mice. **British journal of anaesthesia**, v. 120, n. 3, p. 546–554, 1 mar. 2018.
- BUSHBERG, J. T. et al. **The Essentials Physics Of Medical Imaging**. p. 1048, 2011.
- CALABRESE, E. J. The linear No-Threshold (LNT) dose response model: A comprehensive assessment of its historical and scientific foundations. **Chemico-biological interactions**, v. 301, p. 6–25, 1 mar. 2019.
- CARTER, S. F. et al. Astrocyte Biomarkers in Alzheimer’s Disease. **Trends in molecular medicine**, v. 25, n. 2, p. 77–95, 1 fev. 2019.
- CASTANHEIRA, C. **Local Diagnostic Reference Levels in Computed Tomography**. 2023.

- CHEN, C. S. et al. Sex differences in learning from exploration. **eLife**, v. 10, 1 nov. 2021.
- CLOKE, J. M.; JACKLIN, D. L.; WINTERS, B. D. The neural bases of crossmodal object recognition in non-human primates and rodents: A review. **Behavioural Brain Research**, v. 285, p. 118–130, 15 maio 2015.
- CRYAN, J. F.; HOLMES, A. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 4, n. 9, p. 775–790, set. 2005.
- DAS, U. et al. Ferulic acid (FA) abrogates ionizing radiation-induced oxidative damage in murine spleen. **International journal of radiation biology**, v. 92, n. 12, p. 806–818, 1 dez. 2016.
- DE GONZALEZ, A. B.; PASQUAL, E.; VEIGA, L. Epidemiological studies of CT scans and cancer risk: the state of the science. **The British journal of radiology**, v. 94, n. 1126, 1 out. 2021.
- DENNINGER, J. K.; SMITH, B. M.; KIRBY, E. D. Novel Object Recognition and Object Location Behavioral Testing in Mice on a Budget. **Journal of visualized experiments : JoVE**, v. 2018, n. 141, 1 nov. 2018.
- DIECKMEYER, M. et al. Computed Tomography of the Head : A Systematic Review on Acquisition and Reconstruction Techniques to Reduce Radiation Dose. **Clinical neuroradiology**, v. 33, n. 3, p. 591–610, 1 set. 2023.
- DOS SANTOS, D. L. et al. Capacidade de produção e grau de utilização de tomógrafo computadorizado no Sistema Único de Saúde. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 6, p. 1293–1304, 2014.
- DOS SANTOS, M. et al. Importance of dosimetry protocol for cell irradiation on a low X-rays facility and consequences for the biological response. **International Journal of Radiation Biology**, v. 94, n. 6, p. 597–606, 16 abr. 2018.
- DUTTA, S.; SENGUPTA, P. Men and mice: Relating their ages. **Life Sciences**, v. 152, p. 244–248, 1 maio 2016.
- DYNLACHT, J. R. The role of age, sex and steroid sex hormones in radiation cataractogenesis. **Radiation research**, v. 180, n. 6, p. 559–566, dez. 2013.
- ERIKSSON, P. et al. Neonatal exposure to whole body ionizing radiation induces adult neurobehavioural defects: Critical period, dose–response effects and strain and sex comparison. **Behavioural brain research**, v. 304, p. 11–19, 1 maio 2016.
- ERIKSSON, P. et al. Neonatal exposure to whole body ionizing radiation induces adult neurobehavioural defects: Critical period, dose-response effects and strain and sex comparison. **Behavioural Brain Research**, v. 304, p. 11–19, 1 maio 2016.
- FILIFE DOS SANTOS RODRIGUES DOUTOR ANTÓNIO ABRANTES PROFESSOR ADJUNTO, L.; MARIA MARGARIDA RIBEIRO, D. INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA UNIVERSIDADE DO ALGARVE ESCOLA SUPERIOR DE SAÚDE Avaliação de Tecnologias em Saúde em Equipamentos de Diagnóstico-Core Model® da EUnetHTA- Aplicabilidade a uma Unidade de Ressonância Magnética. [s.d.].
- FLAKUS, F. N. Detection and measuring ionizing radiation - a short history. **IAEA Bull.; (International Atomic Energy Agency <IAEA>)**, v. 23:4, 1981.
- FRUSH, D. P. et al. CT radiation exposure and cancer risk: from knowing to acting. **Pediatric radiology**, v. 54, n. 8, p. 1407–1409, 1 jul. 2024.

FULOP, T. et al. Immunology of Aging: the Birth of Inflammaging. **Clinical reviews in allergy & immunology**, v. 64, n. 2, p. 109–122, 1 abr. 2023.

GONZALES, A. H. L.; COSTA, P. R. **Resenha de Tese ou Dissertação Estudo experimental das relações entre kerma no ar e equivalente de dose ambiente em barreiras secundárias de salas radiológicas Experimental study of the conversion coefficient from Air Kerma to Ambient Dose Equivalent for secondary barriers in diagnostic radiological facilities.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/43/43134/tde-02022015-133946/pt-br.php>>.

GOODMAN, T. R.; MUSTAFA, A.; ROWE, E. Pediatric CT radiation exposure: where we were, and where we are now. **Pediatric Radiology**, v. 49, n. 4, p. 469–478, 1 abr. 2019.

GUÉGUEN, Y.; BONTEMPS, A.; EBRAHIMIAN, T. G. Adaptive responses to low doses of radiation or chemicals: their cellular and molecular mechanisms. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 76, n. 7, p. 1255–1273, 15 abr. 2019.

GUO, C. Y. et al. Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. **Neural regeneration research**, v. 8, n. 21, p. 2003–2014, 25 jul. 2013.

GUTIERREZ-QUINTANA, R. et al. Radiation-induced neuroinflammation: a potential protective role for poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors? **Neuro-oncology advances**, v. 4, n. 1, 1 jan. 2022.

HALL, E. J. .; GIACCIA, A. J. . **Radiobiology for the radiologist.** [s.l.] Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

HAMADA, N.; FUJIMICHI, Y. Classification of radiation effects for dose limitation purposes: History, current situation and future prospects. **Journal of Radiation Research** Oxford University Press, , 2014.

HLADIK, D. et al. CREB Signaling Mediates Dose-Dependent Radiation Response in the Murine Hippocampus Two Years after Total Body Exposure. **Journal of proteome research**, v. 19, n. 1, p. 337–345, 2020.

HOLMES-HAMPTON, G. P. et al. Sex as a Factor in Murine Radiation Research: Implications for Countermeasure Development. **Cytogenetic and genome research**, v. 163, n. 3–4, p. 187–196, 1 mar. 2023.

IBANEZ, F. G. et al. Immunofluorescence staining using iba1 and tmem119 for microglial density, morphology and peripheral myeloid cell infiltration analysis in mouse brain. **Journal of Visualized Experiments**, v. 2019, n. 152, 1 out. 2019.

ICRP. Annals of the ICRP Published on behalf of the International Commission on Radiological Protection. 2007.

INOUE, Y. et al. Age-Dependent Changes in Effective Dose in Pediatric Brain CT: Comparisons of Estimation Methods. **Tomography (Ann Arbor, Mich.)**, v. 10, n. 1, p. 14–24, 1 jan. 2023.

ISLAM, M. T. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. **Neurological research**, v. 39, n. 1, p. 73–82, 2 jan. 2017.

JÁNOŠÍKOVÁ, L. et al. RISK EVALUATION IN THE LOW-DOSE RANGE CT FOR RADIATION-EXPOSED CHILDREN, BASED ON DNA DAMAGE. **Radiation Protection Dosimetry**, v. 186, n. 2–3, p. 163–167, 31 dez. 2019.

JÁNOŠÍKOVÁ, L. et al. Risk Evaluation In The Low-Dose Range Ct For Radiation-Exposed Children, Based On Dna Damage. **Radiation Protection Dosimetry**, v. 186, n. 2–3, p. 163–167, 31 dez. 2019.

KALENDER, W. A. Dose in x-ray computed tomography. **Physics in Medicine and Biology**, v. 59, n. 3, 7 fev. 2014.

KEMPF, S. J. et al. Long-term effects of ionising radiation on the brain: Cause for concern? **Radiation and Environmental Biophysics**, v. 52, n. 1, p. 5–16, mar. 2013.

KEMPF, S. J. et al. The cognitive defects of neonatally irradiated mice are accompanied by changed synaptic plasticity, adult neurogenesis and neuroinflammation. **Molecular neurodegeneration**, v. 9, p. 57, 2014.

KEMPF, S. J. et al. The cognitive defects of neonatally irradiated mice are accompanied by changed synaptic plasticity, adult neurogenesis and neuroinflammation. **Molecular neurodegeneration**, v. 9, p. 57, 2014.

KHAFAJI, M. et al. Diagnostic reference levels for common pediatric computed tomography studies: A retrospective study. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 215, p. 111372, 1 fev. 2024.

KHAN, M. G. M.; WANG, Y. **Advances in the Current Understanding of How Low-Dose Radiation Affects the Cell Cycle**. *CellsNLM (Medline)*, , 21 jan. 2022.

KILIC, K. et al. Quantitative and qualitative comparison of standard-dose and low-dose pediatric head computed tomography: A retrospective study assessing the effect of adaptive statistical iterative reconstruction. **Journal of Computer Assisted Tomography**, v. 37, n. 3, p. 377–381, 2013.

KOSEL, F.; PELLEY, J. M. S.; FRANKLIN, T. B. Behavioural and psychological symptoms of dementia in mouse models of Alzheimer's disease-related pathology. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 112, p. 634–647, 1 maio 2020.

KUSSAINOVA, A. et al. Radiation-Induced miRNAs Changes and cf mtDNA Level in Trauma Surgeons: Epigenetic and Molecular Biomarkers of X-ray Exposure. **International journal of molecular sciences**, v. 25, n. 15, 1 ago. 2024.

KVICHANSKY, A. A. et al. Neonatal Proinflammatory Stress and Expression of Neuroinflammation-Associated Genes in the Rat Hippocampus. **Biochemistry. Biokhimiia**, v. 86, n. 6, p. 693–703, 1 jun. 2021.

LACERDA, M. A. DE S. Dosimetria e aspectos de proteção radiológica em exames radiográficos convencionais pediátricos realizados em Belo Horizonte. 2007.

LASSMANN, M.; EBERLEIN, U. Radiation Dosimetry Aspects of ¹⁷⁷Lu. **Current radiopharmaceuticals**, v. 8, n. 2, p. 139–44, 27 ago. 2015.

LEBARON-JACOBS, L.; HERRERA-REYES, E. Basic concepts of radiation emergency medicine. **Journal of radiological protection : official journal of the Society for Radiological Protection**, v. 41, n. 4, 1 dez. 2021.

LEE, C. et al. ORGAN DOSE ESTIMATION ACCOUNTING FOR UNCERTAINTY FOR PEDIATRIC AND YOUNG ADULT CT SCANS IN THE UNITED KINGDOM. **Radiation Protection Dosimetry**, v. 184, n. 1, p. 44, 1 jul. 2019.

LEGER, M. et al. Object recognition test in mice. **Nature Protocols** 2013 8:12, v. 8, n. 12, p. 2531–2537, 21 nov. 2013.

LIM, C. J. M. et al. Comparison of automated video tracking systems in the open field test: ANY-Maze versus EthoVision XT. **Journal of neuroscience methods**, v. 397, 1 set. 2023.

- LIU, J. X. et al. Residual neurogenesis in chronically epileptic hippocampus of mice. **Epilepsy Research**, v. 127, p. 40–49, 1 nov. 2016.
- LOGANOVSKY, K. Do Low Doses of Ionizing Radiation Affect the Human Brain? **Data Science Journal**, v. 8, p. BR13–BR35, 24 set. 2009.
- LOWE, X. R. et al. Early brain response to low-dose radiation exposure involves molecular networks and pathways associated with cognitive functions, advanced aging and Alzheimer's disease. **Radiation research**, v. 171, n. 1, p. 53–65, jan. 2009.
- MANCUSO, M. et al. The Radiation Bystander Effect and its Potential Implications for Human Health. **Current Molecular Medicine**, v. 12, n. 5, p. 613–624, 4 ago. 2012.
- MARQUETTE, C. et al. IL-1beta, TNFalpha and IL-6 induction in the rat brain after partial-body irradiation: role of vagal afferents. **International journal of radiation biology**, v. 79, n. 10, p. 777–785, out. 2003.
- MILLER, R. C. et al. Very low doses of ionizing radiation and redox associated modifiers affect survivin-associated changes in radiation sensitivity. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 99, p. 110–119, 1 out. 2016.
- MINNITI, G.; GOLDSMITH, C.; BRADA, M. Radiotherapy. **Handbook of clinical neurology**, v. 104, p. 215–228, 2012.
- MOUSAVIKIA, S. N. et al. Evaluation of micronuclei and antioxidant status in hospital radiation workers occupationally exposed to low-dose ionizing radiation. **BMC Health Services Research**, v. 23, n. 1, 1 dez. 2023.
- MZIZI, Y. et al. Ionising radiation exposure-induced regulation of selected biomarkers and their impact in cancer and treatment. **Frontiers in nuclear medicine (Lausanne, Switzerland)**, v. 4, 21 out. 2024.
- NARASIMHAMURTHY, R. K.; MUMBREKAR, K. D.; SATISH RAO, B. S. Effects of low dose ionizing radiation on the brain- a functional, cellular, and molecular perspective. **Toxicology**, v. 465, p. 153030, 15 jan. 2022.
- NARASIMHAMURTHY, R. K.; MUMBREKAR, K. D.; SATISH RAO, B. S. Effects of low dose ionizing radiation on the brain- a functional, cellular, and molecular perspective. **Toxicology**, v. 465, p. 153030, 15 jan. 2022a.
- NARASIMHAMURTHY, R. K.; MUMBREKAR, K. D.; SATISH RAO, B. S. **Effects of low dose ionizing radiation on the brain- a functional, cellular, and molecular perspective. Toxicology** Elsevier Ireland Ltd, , 15 jan. 2022b.
- OLIVEIRA, A. A. DE; MALUF, F. ABORDAGEM CLÍNICA E TERAPÊUTICA DOS EFEITOS COLATERAIS CAUSADOS PELA RADIOTERAPIA EM CABEÇA E PESCOÇO: REVISÃO DE LITERATURA. **REVISTA DO CROMG**, v. 21, n. 1, p. 34–40, 27 set. 2022.
- PHILIPPOT, G. et al. Developmental effects of neonatal fractionated co-exposure to low-dose gamma radiation and paraquat on behaviour in adult mice. **Journal of Applied Toxicology**, v. 39, n. 4, p. 582–589, 1 abr. 2019.
- REHANI, M. M. Patient radiation exposure and dose tracking: a perspective. **Journal of medical imaging (Bellingham, Wash.)**, v. 4, n. 3, p. 031206, 25 jul. 2017.
- SANTORO, A.; BIENTINESI, E.; MONTI, D. Immunosenescence and inflammaging in the aging process: age-related diseases or longevity? **Ageing research reviews**, v. 71, 1 nov. 2021.

SANTOS, F. S. Study of CT Acquisition Protocols Using Two Head Phantoms. **Revista Brasileira de Física Médica**, v. 17, p. 706–706, 12 jun. 2023.

SCHÄFER, S. B. et al. Modification of chest radiography exposure parameters using a neonatal chest phantom. **Pediatric radiology**, v. 50, n. 1, p. 28–37, 1 jan. 2020.

SCHMAL, Z. et al. DNA damage accumulation during fractionated low-dose radiation compromises hippocampal neurogenesis. **Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology**, v. 137, p. 45–54, 1 ago. 2019.

SCHREYER, A. G. et al. Modern imaging using computer tomography and magnetic resonance imaging for inflammatory bowel disease (IBD) AU1. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 10, n. 1, p. 45–54, jan. 2004.

SEIBENHENER, M. L.; WOOTEN, M. C. Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. **Journal of visualized experiments : JoVE**, n. 96, 6 fev. 2015.

SERRANO, C. et al. Targeted Dorsal Dentate Gyrus or Whole Brain Irradiation in Juvenile Mice Differently Affects Spatial Memory and Adult Hippocampal Neurogenesis. **Biology**, v. 10, n. 3, p. 1–15, 2021.

SHAN, Y. X. et al. Ionizing radiation stimulates secretion of pro-inflammatory cytokines: dose-response relationship, mechanisms and implications. **Radiation and environmental biophysics**, v. 46, n. 1, p. 21–29, mar. 2007.

SIKPI, M. O.; WANG, Y. Ionizing radiation enhances double-strand-break repair in rapamycin-treated ataxia telangiectasia lymphoblasts. **International journal of radiation biology**, v. 76, n. 2, p. 177–187, 2000.

SILVA, B. et al. Memory deficit associated with increased brain proinflammatory cytokine levels and neurodegeneration in acute ischemic stroke. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 73, n. 8, p. 655–659, 31 jul. 2015.

SON, Y. et al. Cranial irradiation regulates CREB-BDNF signaling and variant BDNF transcript levels in the mouse hippocampus. **Neurobiology of learning and memory**, v. 121, p. 12–19, 1 maio 2015.

Sources, effects and risks of ionizing radiation. : United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation : UNSCEAR 2013 report to the General Assembly with scientific annexes. Volume II, scientific annex B. [s.l.] United Nations, 2013.

SUKHOTNIK, I. et al. Antioxidant treatment ameliorates germ cell apoptosis induced by a high-dose ionizing irradiation in rats. **Pediatric surgery international**, v. 35, n. 1, p. 137–143, 15 jan. 2019.

SZABO, K.; HENNERICI, M. G. The hippocampus in clinical neuroscience. **The Hippocampus in Clinical Neuroscience**, v. 34, p. 1–161, 23 abr. 2014.

TAILOR, L. S. History of the International Commission on Radiological Units and Measurements(ICRU). **Health Phys**, v. 1, n. 3, p. 306-, 1958.

TAKEHIKO KATSURADA; MUTSUMI NISHIDA; NAOYA SAKAMOTO. Imaging (X-ray - CT - MRI - ultrasound). **Nihon Rinsho**, v. 75, n. 3, p. 387–391, mar. 2017.

TAUHATA, L. et al. RADIOPROTEÇÃO E DOSIMETRIA: FUNDAMENTOS INSTITUTO DE RADIOPROTEÇÃO E DOSIMETRIA COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR. 2014.

THARMALINGAM, S. et al. Re-evaluation of the linear no-threshold (LNT) model using new paradigms and modern molecular studies. **Chemico-biological interactions**, v. 301, p. 54–67, 1 mar. 2019.

WANG, Q. et al. Radioprotective Effect of Flavonoids on Ionizing Radiation-Induced Brain Damage. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 23, 1 dez. 2020.

XIE, T.; ZAIDI, H. Evaluation of radiation dose to anthropomorphic paediatric models from positron-emitting labelled tracers. **Physics in medicine and biology**, v. 59, n. 5, p. 1165–1187, 7 mar. 2014.

ZHANG, J. et al. Forced running exercise mitigates radiation-induced cognitive deficits via regulated DNA hydroxymethylation. **Epigenomics**, v. 12, n. 5, p. 385–396, 1 mar. 2020.