



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**MESTRADO EM GENÉTICA**

**Avaliação Citogenética de Técnicos em Radiologia Expostos**  
**Ocupacionalmente à Radiação Ionizante**

Goiânia  
©2018

ANDREYA GONÇALVES COSTA MOTTA

**Avaliação Citogenética de Técnicos em Radiologia Expostos  
Ocupacionalmente à Radiação Ionizante**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Mestrado em Genética – MGene, Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Genética.

Orientador: Dr. Cláudio Carlos da Silva

Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Emília Oliveira Alves Costa

Goiânia  
© 2018

M921a

Motta, Andreyra Gonçalves Costa

Avaliação citogenética de técnicos em radiologia expostos ocupacionalmente à radiação ionizante[ recurso eletrônico]/

Andreyra Gonçalves Costa Motta. -- 2018.

80 f.; il.

Texto em português com resumo em inglês

Dissertação (mestrado) - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Genética, Goiânia, 2018.

Inclui referências f. 19-40

1. Saúde e trabalho. 2. Radiação ionizante. 3. Raios X.  
4. Genética - Aberrações cromossômicas instáveis.  
I.Silva, Cláudio Carlos da. II.Pontifícia Universidade Católica de Goiás. III. Título.

CDU: 615.849(043)

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU  
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA

ATA DA SESSÃO DE APRESENTAÇÃO E DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE  
CONCLUSÃO DE CURSO DE MESTRADO

1 No dia 08 de março de 2018, reuniu-se a 138ª Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado,  
2 composta pelos membros: Prof. Dr. Cláudio Carlos da Silva / PUC Goiás (Presidente), Prof. Dr. Marc  
3 Alexandre Duarte Gigonzac / PUC Goiás, Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres/ UEG, para avaliação da  
4 dissertação intitulada "Avaliação Citogenética de Técnicos em Radiologia expostos  
5 ocupacionalmente à Radiação Ionizante", da candidata Andreyra Gonçalves da Costa Motta, aluna  
6 do Mestrado em Genética (MGene) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. A sessão iniciou-se  
7 às 9h mm, sob a presidência do Prof. Dr. Cláudio Carlos da Silva, que concedeu 30 minutos à  
8 candidata para expor sinteticamente o estudo. A seguir, a arguição procedeu-se de forma interativa. Ao  
9 final da defesa, a sessão foi suspensa e a Comissão se reuniu em separado para avaliação e atribuição de  
10 nota. Discutido o trabalho e o desempenho do mestrando, a Banca Examinadora considerou-a  
11 Aprovada com a nota 9,7 (Nove e setenta e sete) equivalente ao  
12 conceito "A". Portanto, a discente foi declarada **Mestre em Genética pela Pontifícia Universidade**  
13 **Católica de Goiás**, pelo Presidente da Banca Examinadora, que encerrou a sessão às 11h 10 min.  
14 Não havendo nada mais a tratar, a presente ata foi lavrada e assinada pelos membros da Banca  
15 Examinadora.

16 Prof. Dr. Cláudio Carlos da Silva / PUC Goiás (Presidente) Cláudio Carlos da Silva  
17 Prof. Dr. Marc Alexandre Duarte Gigonzac / PUC Goiás Marc Alexandre Duarte Gigonzac  
18 Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres/ UEG Flávio Monteiro Ayres

19 Esta ata contém 19 linhas contínuas, sem rasuras, emendas ou retificação.

**ATA COMPLEMENTAR N° 138/2018**

**MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS**

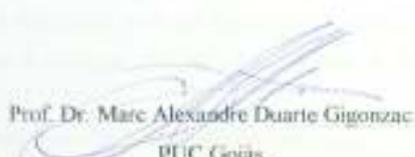
**DISCENTE: ANDREYA GONÇALVES DA COSTA MOTTA**

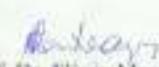
**DEFENDIDA EM 08 de março de 2018 e Aprovada COM CONCEITO A**

O título foi alterado (X) não ( ) sim

**BANCA EXAMINADORA**

  
Prof. Dr. Cláudio Carlos da Silva  
PUC Goiás (Presidente)

  
Prof. Dr. Marc Alexandre Duarte Gigonzac  
PUC Goiás

  
Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres  
Membro externo/UEG

## **Dedicatória**

Ao meu esposo por acreditar em mim, pelo incentivo, amor, apoio e perseverança eterna e aos meus pais que me deram amor incondicional nos momentos felizes e principalmente nos difíceis...

Com muito amor envolvido, esta conquista eu dedico a vocês!

## Agradecimentos

Acima de tudo, eu agradeço a Deus pelo dom da vida e amor incondicional, que mostrou todos os dias estar ao meu lado ao longo de toda minha jornada, colocando no meu caminho pessoas que me ensinaram tanto.

Ao meu esposo que me apoiou desde o início, foi meu porto seguro e me incentivou a nunca desistir, mesmo dentre tantas barreiras, me manteve forte com seu imenso amor.

À minha amada mãe, por me trazer ao mundo e me ensinar a ser uma pessoa melhor todos os dias. Por secar minhas lágrimas e sorrir comigo em cada conquista ao longo dessa jornada.

À minha grande amiga Karina, que esteve ao meu lado sempre, me fazendo sorrir mesmo em meio ao turbilhão de emoções diversas que passei.

À minha sogra Edina por me dar tanto amor e carinho, com palavras de otimismo e conselhos que acalmavam meu coração.

Às minhas amigas e esposos, pelo carinho e amizade, por estarem ao meu lado me apoiando, incentivando sempre até mesmo nas doações de “amor”.

Aos meus familiares que torceram por mim em todos os momentos, me apoiando com paciência devido às minhas ausências em várias ocasiões.

À Andréia Pires (Xará), Juliana Hannum e Andreia Marcelino, pelos momentos de cumplicidade que foram tão importantes para mim, pelo carinho, amizade, ensinamentos, sugestões em uma fase tão delicada e por manterem meus dias mais leves!

Aos professores dos Programas de Mestrado e Pós-Graduação em Genética e aos meus amigos que compartilharam tantas experiências especialmente Lorrynne Guimarães Oliveira, Samara Socorro Silva Pereira, Nayara Lopes de Sousa, Sabrina Sara Moreira, Jakeline Soares Fontes, Mayara Oliveira pelo companheirismo, carinho, amizade, pelas palavras de incentivo, prontidão e contribuição no desenvolvimento do trabalho.

Aos professores, doutorandos, mestrandos, graduandos e estagiários do Núcleo de Pesquisas Replicon, em especial à Irene Plaza Pinto, Damiana Mírian da Cruz e Cunha, Eduardo Rocha Pedrosa, Lilian, Lélia Luane, Anna Luiza Barbosa, Bruna Cristhyne, Maria Victoria, Hérida Samaya, Victor Cortázio pela força e disponibilidade de ajuda em todos os procedimentos do laboratório ao longo desta pesquisa. Foi ótimo aprender e crescer com vocês.

Ao meu querido orientador Professor Dr. Cláudio Carlos da Silva, um eterno agradecimento por me mostrar o maravilhoso mundo da genética, por acreditar nos meus sonhos e sempre me incentivar a ir mais além quando eu pensei que não pudesse ir tão longe. Agradeço pelas ideias compartilhadas, risadas e troca de experiências, pelos dias difíceis que mais tarde se tornaram conquistas valiosas ao longo da minha jornada, pela sabedoria e paciência em ensinar e mostrar que nem tudo é impossível e principalmente pela amizade construída.

À minha coorientadora Emília Oliveira Alves Costa pelos momentos de amizade, apoio, pelas conversas construtivas para realização deste projeto, minha gratidão.

Ao Professor Dr. Aparecido Divino da Cruz – Peixoto – sou eternamente grata por conviver com essa pessoa maravilhosa, com um imenso coração que abraça todos sem distinção, que me ensinou a ser humilde e sensata, me senti acolhida ao longo desta etapa da minha vida. Muito obrigada por fazer parte deste momento especial.

Aos funcionários e amigos do laboratório LAGENE/SES-GO e NÚCLEO DE PESQUISAS REPLICON da Pontifícia Universidade Católica de Goiás por compartilharem comigo momentos de descontração, sorrisos, conhecimentos, disponibilidade de tempo e ambiente para concretizar este projeto científico.

Aos participantes que gentilmente aceitaram participar deste estudo.

Agradeço, também, à FAPEG pelo apoio financeiro.

*“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo... qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim”.*

Chico Xavier

<b>Lista de Figuras e Tabelas .....</b>	<b>xii</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>xiv</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>xv</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>16</b>
<b>2. Revisão bibliográfica.....</b>	<b>19</b>
2.1 Atribuições do técnico em radiologia.....	19
2.2 A radiação.....	20
2.3 Efeitos biológicos da exposição às radiações ionizantes.....	24
2.4 Dosimetria e suas aplicações.....	27
2.5 Ciclo celular.....	30
2.6 Linfócitos T.....	33
2.7 Análise cromossômicas em linfócitos T de sangue periférico.....	35
2.8 Análise de micronúcleos.....	40
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>42</b>
3.1 Objetivo Geral.....	42
3.2 Objetivos Específicos.....	42
<b>4. Materiais e métodos.....</b>	<b>43</b>
4.1 Coleta de dados.....	43
4.2 Grupo amostral.....	43
4.3 Cultura de linfócitos T.....	44
4.4 Cultura para análise de micronúcleos.....	44
4.5 Cultura para análise de aberrações cromossômicas.....	45
4.6 Preparo das lâminas, gotejamento e coloração.....	45
4.7 Análise de aberrações cromossômicas.....	45
4.8 Análise de micronúcleos.....	46
4.9 Análise de dados.....	46
<b>5. Resultados e discussão.....</b>	<b>47</b>
5.1 Teste de micronúcleos.....	47
5.2 Teste de quebras cromossômicas.....	50
<b>6. Conclusão.....</b>	<b>55</b>

<b>7. Referências .....</b>	<b>56</b>
<b>8. Apêndices .....</b>	<b>66</b>
<b>Apêndice I</b> - Frequências de micronúcleos em 1000 células binucleadas analisadas, média e desvio padrão da idade, média das frequências de micronúcleos e desvio padrão no grupo de indivíduos controle .....	66
<b>Apêndice II</b> - Frequências de micronúcleos em 1000 células binucleadas analisadas, média e desvio padrão da idade, média das frequências de micronúcleos e desvio padrão no grupo de indivíduos expostos .....	67
<b>Apêndice III</b> - Média e desvio padrão da idade e média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis e desvio padrão no grupo de indivíduos controles.....	68
<b>Apêndice IV</b> - Média e desvio padrão da idade e média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis e desvio padrão no grupo de indivíduos exposto.....	69
<b>Apêndice V</b> - Dados de tabagismo e etilismo correspondentes às análises de micronúcleos no grupo de indivíduos controle .....	70
<b>Apêndice VI</b> - Dados de tabagismo e etilismo correspondentes às análises de aberrações cromossômicas instáveis no grupo de indivíduos controle .....	71
<b>Apêndice VII</b> - Dados de tabagismo e etilismo correspondentes às análises de micronúcleos no grupo de indivíduos expostos.....	72
<b>Apêndice VIII</b> - Dados de tabagismo e etilismo correspondentes às análises de aberrações cromossômicas instáveis no grupo de indivíduos expostos .....	73
<b>Apêndice IX</b> – Questionário: Projeto de Pesquisa: Avaliação Citogenética de Técnicos em Radiologia Expostos Ocupacionalmente à Radiação Ionizante .....	74
<b>Apêndice X</b> - Termo De Consentimento Livre e Esclarecido – Projeto de Pesquisa: Avaliação Citogenética de Técnicos em Radiologia Expostos Ocupacionalmente à Radiação Ionizante - Grupo Exposto.....	78

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

<b>Figura 1:</b> Representação de modelo atômico.....	21
<b>Figura 2:</b> Ilustração da transição do átomo instável (à esquerda) ou excitado para o átomo estável (à direita) com liberação de energia.....	22
<b>Figura 3:</b> Tipos de instalações radioativas no Brasil.....	23
<b>Figura 4:</b> Exposição da população à radiações naturais e artificiais.....	24
<b>Figura 5:</b> Representação esquemática simplificada dos efeitos direto e indireto das radiações ionizantes sobre a molécula de DNA.....	25
<b>Figura 6:</b> Quadro representativo dos diversos processos envolvidos na interação da radiação ionizante com as células do tecido humano, e o tempo estimado para sua ocorrência.....	26
<b>Figura 7:</b> Monitor individual utilizado pelo Instituto de Radiologia e Dosimetria.....	27
<b>Figura 8:</b> Limites de doses anuais de profissionais expostos ocupacionalmente a radiação ionizante.....	28
<b>Figura 9:</b> Identificação de cromossomos derivados uma metáfase (A), morfologia de um cromossomo metafásico (B) e estrutura molecular do cromossomo (C) .....	31
<b>Figura 10:</b> Fases do ciclo celular em divisão.....	32
<b>Figura 11:</b> Análise de um linfócito pequeno (A) com maior concentração de cromatina. Análise de um linfócito grande (linfoblastos) (B) .....	33
<b>Figura 12:</b> Fotomicrografia de cromossomos metafásicos humanos evidenciando cromossomo dicêntrico e fragmento acêntrico (apontados pelas setas). Ampliação de 1000X.....	35
<b>Figura 13:</b> O quadro caracteriza os vários tipos de rearranjos e aberrações cromossômicas formadas.....	37
<b>Figura 14:</b> Tipos de mutações cromossômicas com relocação, ganho e perda de material genético.....	39
<b>Figura 15:</b> Ilustração da formação de micronúcleos a partir de cromossomos inteiros com atraso na migração para os pólos, cromossomos dicêntricos e fragmentos acêntricos.....	41
<b>Tabela 1:</b> Média e desvio padrão da idade, sexo, tabagismo, etilismo dos grupos controle e exposto.....	47
<b>Figura 16:</b> Média frequência de micronúcleos do grupo controle (GC) e do grupo exposto (GE). Teste Kruskal- Wallis.....	48

<b>Figura 17:</b> Fotomicrografia de linfócitos T binucleados de indivíduos ocupacionalmente expostos à radiação ionizante. Em [A] célula binucleada sem micronúcleo. Em [B] célula binucleada apresentando micronúcleo conforme indicado pela seta. Aumento de 1000X.....	49
<b>Figura 18:</b> Quantidade de profissionais inclusos na análise da média das frequências de micronúcleos e quais tipos de aparelhos que manusearam respectivamente.....	49
<b>Tabela 2:</b> Média e desvio padrão da idade, sexo, tabagismo, etilismo, média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis (quebras cromatídicas, cromossômicas, fragmentos acêntricos e cromossomo em anel) dos grupos controle e exposto.....	50
<b>Figura 19:</b> Média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis do grupo controle (GC) e do grupo exposto (GE). Teste de Kruskal-Wallis.....	51
<b>Figura 20:</b> Fotomicrografias de cromossomos metafásicos humanos. Em [A] metáfase exibindo número cromossômico e estrutura sem alterações. Em [B] metáfase evidenciando cromossomo (destacado no círculo) com quebra cromatídica em um dos braços longos (ampliado em destaque). Ampliação de 1000X.....	51
<b>Figura 21:</b> Quantidade de profissionais inclusos na análise da média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis e os tipos de aparelhos que manusearam, respectivamente.....	52

## **Resumo**

A compreensão dos efeitos biológicos radioinduzidos no organismo pode auxiliar a dosimetria citogenética no monitoramento da saúde dos profissionais ocupacionalmente expostos a radiação, assim, os técnicos em radiologia devem se atentar a todas as medidas necessárias e obrigatórias de proteção por serem responsáveis pelos procedimentos que referentes aos diagnósticos clínicos que envolvam a exposição à radiação ionizante. O objetivo desta pesquisa foi realizar análise citogenética de 20 profissionais técnicos em radiologia expostos ocupacionalmente a radiação ionizante, através da coleta de sangue periférico heparinizado e cultura de linfócitos T para verificar as frequências de aberrações cromossômicas e de micronúcleos. Todos os indivíduos tinham que ter mais de 3 anos de tempo de serviço, independente da idade, sexo, hábitos tabagista ou etilista. O grupo controle teve a idade e sexo equiparados com o grupo exposto. A análise de micronúcleos ocorreu de forma mais rápida e precisa do que a análise de aberrações cromossômicas, sugerindo que ela seja utilizada como primeira escolha em triagem radiológica. A análise de metáfases e o teste de bloqueio de citocinese permitiu a quantificação de uma alta frequência de aberrações cromossômicas instáveis e de micronúcleos nos indivíduos com a jornada de trabalho entre 6 horas a 12 horas diárias. Os resultados encontrados da frequência de aberrações cromossômicas instáveis no grupo exposto foi  $0,031 \pm 0,030$  e no grupo controle  $0,002 \pm 0,004$ . Nas frequências de micronúcleos do grupo exposto o resultado obtido foi  $0,0035 \pm 0,003$  e no grupo controle  $0,0004 \pm 0,001$  confirmando a metodologia de análise citogenética como controle de qualidade na investigação biodosimétrica para a identificação e prevenção de possíveis danos genômicos. Estudos subsequentes são necessários para averiguar se fatores como o fumo e o etilismo podem influenciar as alterações na saúde destes profissionais.

**Palavras-chave:** Profissionais da saúde. Raio-X. Micronúcleos. Aberrações cromossômicas instáveis. Dosimetria biológica.

## **Abstract**

The understanding of the biological effects radioinducites in the organism can help the cytogenetic dosimetry in monitoring the health of professionals occupationally exposed to radiation, so radiology technicians must pay attention to all necessary and obligatory measures of protection because they are responsible for the procedures that refer to the diagnoses involving exposure to ionizing radiation. The objective of this research was to perform a cytogenetic analysis of 20 professional radiology technicians exposed occupationally to ionizing radiation through the collection of heparinized peripheral blood and culture of T lymphocytes to verify the frequencies of chromosomal aberrations and micronuclei. All subjects had to have more than 3 years of service time, regardless of age, sex, smoking habits or alcohol. The control group had the same age and sex as the exposed group. Micronucleus analysis occurred faster and more accurately than the analysis of chromosomal aberrations, suggesting that it is used as the first choice in radiological screening. Metaphase analysis and the cytokinesis blockade test allowed the quantification of a high frequency of unstable chromosomal aberrations and micronuclei in subjects with a workday from 6 hours to 12 hours daily. The results of the frequency of unstable chromosomal aberrations in the exposed group were  $0.031 \pm 0.030$  and in the control group  $0.002 \pm 0.004$ . In the micronuclei frequencies of the exposed group the obtained result was  $0.0035 \pm 0.003$  and in the control group  $0,0004 \pm 0.001$  confirming the methodology of cytogenetic analysis as quality control in the biodosimetric investigation for the identification and prevention of possible genomic damages. Subsequent studies are needed to find out if factors such as smoking and alcoholism can influence changes in the health of these professionals.

**Keywords:** Health professionals. X-ray. Micronucleus. Unstable chromosomal aberrations. Biological dosimetry.

## 1 Introdução

A medida que a radiação ionizante se tornou uma ferramenta amplamente utilizada na radioterapia, radiodiagnóstico e medicina nuclear, aumentou o grupo de profissionais com maior exposição à radiação ionizante (RI) na população (BOURAOUI et al, 2013).

Os riscos inerentes ao uso das radiações ionizantes estabeleceram as Diretrizes Básicas de Proteção Radiológica conforme Portaria 164 publicada em 11 de março de 2014, que visa estabelecer medidas de proteção das pessoas que exercem todas as atividades que envolvam ou possam envolver exposição à radiação, como uma medida de prevenção de danos à saúde (BRASIL, 2014).

É devido a esta norma que os limites de dose individual decorrentes da exposição à radiação foram estipulados, levando em consideração doses efetivas causadas por exposições diárias incorporadas pelo organismo decorridas no ano, junto com eventos ionizantes ambientais (HARRISON; STREFFER, 2007).

Tendo em vista que os técnicos em radiologia fazem parte do grupo de indivíduos ocupacionalmente expostos, eles estão sujeitos ao Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional sendo monitorados individualmente por meio de relatórios que registram a exposição mensal, afim de se obter o controle da dose anual como uma forma de resguardar a saúde destes profissionais (BRASIL, 2014).

A forma de avaliação da grandeza dosimétrica da dose individual deste grupo é expedida por um laboratório responsável pela emissão do relatório de dose mensal, autorizado pelo Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD) da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), contendo os dados da empresa contratante, dados do colaborador que irá usar o monitor, tipo de monitor utilizado e dose que seu organismo absorveu (BARBOSA; MARTINS, 2013).

De acordo com a CNEN, o nível de registro para monitoramento individual mensal de indivíduos ocupacionalmente expostos é de 0,20 mSv\*, mas nem todos os profissionais se importam com os resultados emitidos em seu relatório quando não tem acesso à sua dose mensal especificada. Este é outro agravante devido a laboratórios responsáveis pela leitura do aparelho de dosimetria tomarem por referência que para o cálculo de doses, a dose padrão do dosímetro é por definição sempre igual a zero, por isso não é colocada no relatório (HUHN, 2014; MACEDO; RODRIGUES, 2009).

\* Milisier: Sistema Internacional de Unidades da dose equivalente ou dose de radiação

Quando os laboratórios contratados para a leitura do dosímetro detectarem um valor de dose mensal acima do limite estabelecido pelo Ministério da Saúde, devem comunicar às autoridades responsáveis, no entanto, caso a dose de absorção seja menor ou igual a 0,2 mSv, o valor correspondente não é especificado no relatório (BARBOSA; MARTINS, 2013; HARRISON; STREFFER, 2007).

O dosímetro, um aparelho responsável pela absorção individual que o técnico utiliza, é específico da empresa onde trabalha, sendo a dose medida da exposição mensal deste profissional, relativa ao período correspondente à sua carga horária mensal nesta empresa. Caso este profissional trabalhe em outro local, ele deve usar o dosímetro cedido pela segunda empresa contratante, e receberá o relatório de dose mensal correspondente à carga horária apenas desta empresa, ou seja, não será medida a dose de absorção total mensal, e sim o correspondente ao tempo que trabalhou na respectiva empresa (CNEN, 2014).

Para cada empresa que o profissional trabalhar na área de radiologia, lhe será entregue um aparelho de dosimetria e receberá o relatório correspondente para cada empresa que trabalhou, porém não se sabe qual a dose total que foi exposto somando a dupla jornada de trabalho, o que torna a dosimetria física incompleta (BUDECHESKI et al, 2016).

A biodosimetria utilizada em condições de radiotoxicidade tem como finalidade avaliar os níveis de dose efetiva ou dose absorvida média ponderada em um determinado tecido ou órgão, visando estimar a dose absorvida e correlacionar o tipo de radiação envolvida, através de biomarcadores capazes de quantificar as alterações cromossômicas resultantes dos danos biológicos causados pela radiação ionizante (UNEP, 2016; LIU, 2009).

A exposição à radiação ionizante, mesmo em doses baixas, tornou o uso da biodosimetria ou dosimetria biológica, por utilizar técnicas que podem estimar o dano genômico causado pelas doses acumuladas através da quantificação da frequência de aberrações cromossômicas e a contagem de micronúcleos (AINSBURY et al, 2014; DA SILVA, 2000).

Compreender os riscos que a exposição ocupacional representa para a saúde dos profissionais expostos à RI é importante tanto no presente quanto no futuro (SILVA et al, 2016; QIAN et al, 2016). Estudos relatam a probabilidade de associação entre exposição a RI, um sistema de reparo ineficiente e o acúmulo de mutações no DNA com o aumento dos riscos da proliferação das células cancerígenas (SILVA et al, 2016; GUNALP et al, 2014).

Pinto et al. (2010) ressaltam que a dosimetria biológica se tornou um biomarcador de escolha para identificação complementar à dosimetria física, que mede a taxa de dose, pois

esta não é suficiente para determinar o nível de dano genômico que a exposição à radiação ionizante pode causar (ULSH et al, 2015; PINTO, 2010).

Neste cenário, o presente estudo se baseia nas investigações dos efeitos biológicos da radiação através da análise do teste de micronúcleos e análise de aberrações cromossômicas de técnicos em radiologia que manipulam fontes radioativas em decorrência de seu trabalho.

## 2 Revisão bibliográfica

### 2.1 Atribuições do técnico em radiologia

A profissão do técnico em radiologia foi regulamentada pela Lei nº 7.394/85 onde são descritas vantagens para esses profissionais da saúde, tornando o atendimento individual desenvolvido por esses trabalhadores uma importante e significativa mudança na complexa estrutura assistencial da rede do Sistema Único de Saúde (SUS)(BRASIL, 2016).

As atribuições do técnico em radiologia consistem na formação e qualificação destes profissionais para o manuseio e auxílio de equipamentos diversos de tecnologias avançadas na radioterapia e radiologia (BRASIL, 2016). Dentre os procedimentos realizados, incluem o preparo do paciente e do ambiente para a realização de exames com alta e/ou baixa complexidade como a radiologia convencional, odontológica e intervencionista, densitometria óssea, mamografia, tomografia computadorizada, serviços de radioterapia e diagnóstico por imagem na medicina nuclear. Realiza o processamento das películas radiográficas, o preparo de soluções químicas, organização da sala de processamento, visando a preservação do princípio da radioproteção e biossegurança a todo o momento, agindo de acordo com as necessidades e demandas da atenção à saúde, sob supervisão profissional pertinente (BRASIL, 2016; GÜNALP et al, 2014).

Os avanços tecnológicos no diagnóstico e terapia proporcionaram a incorporação e a ampliação dos procedimentos e métodos de intervenção radiodiagnóstico e modalidades radioterapêuticas, porém o índice de exposição à RI aumentou significativamente tornando as doenças ocupacionais uma preocupação constante (GÜNALP et al, 2014). Entender os efeitos da radiação e como ela pode nos afetar, tanto para o diagnóstico quanto terapêutico, se tornou uma das investigações mais importante para a saúde dos profissionais (QIAN et al, 2016; KANAGARAJ et al, 2015; BOURAOUI et al, 2013; TOUIL et al, 2000).

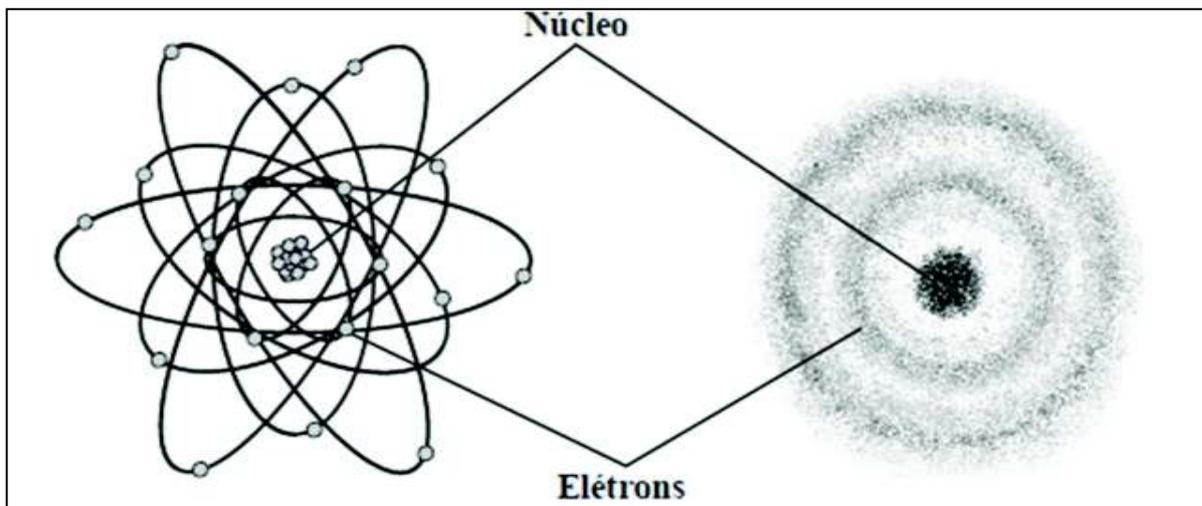
De acordo com Qian e colaboradores (2016), a exposição ocupacional à RI é considerada um dos fatores de risco para desencadear sérias alterações no genoma deste trabalhador. As consequências biológicas e os danos provocados no organismo podem ser detectados em diferentes tipos celulares (CRUVINEL et al, 2014), especialmente em células somáticas (GHOBADI et al, 2017) pela fonte de energia emitida, duração e intensidade de exposição da dose da radiação absorvida, tipo de radiação, tecido irradiado e adjacentes (UNEP, 2016; LEURAUD et al, 2015).

Alguns fatores de risco podem estar associados com o organismo e sua sensibilidade à energia radioativa entre outros, podendo resultar em mutações e câncer (DJOKOVIC-DAVIDOVIC et al, 2016; DA CRUZ et al, 1997). Estudos do dano do DNA ao nível dos cromossomos pela exposição a RI são muito importante e devem ser monitorados e quantificados através de exames de hemograma, dosimetria física, biológica e citogenética, para dar uma ampla visão dos prejuízos genéticos prováveis que o profissional da saúde que se expõe a ela possa vir a apresentar (MILIĆ et al, 2015; VRAL et al, 2011; FENECH, 2007).

## **2.2 A radiação**

A partir da descoberta dos raios X por Willian Röntgen em 1895, os elementos químicos radioativos encontrados na natureza como sais de urânio, polônio e rádio foram associados à fenômenos fluorescentes e fosforescentes devido à capacidade de emitir radiação caracterizada por uma energia suficiente para detectar imagens fotográficas (ANDREUCI, 2014; SMIRNOV, 2012; KHAN, 2003).

Em 1897, Ernest Rutherford relatou que essa radiação emite raios radioativos, denominadas de partículas alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), e gama ( $\gamma$ ) (SCAFF, 1997). Esta energia emitida é produzida por átomos caracterizada por um nuclídeo ou conjunto de partículas que são carregados positivamente, os prótons, e os que não possuem carga, conhecidos por nêutrons, cercados por elétrons com energia negativa (Figura 1), encontrados na natureza de forma estáveis ou instáveis (UNEP, 2016; CNEN, 2014).



**Figura 1.** Representação de modelo atômico.

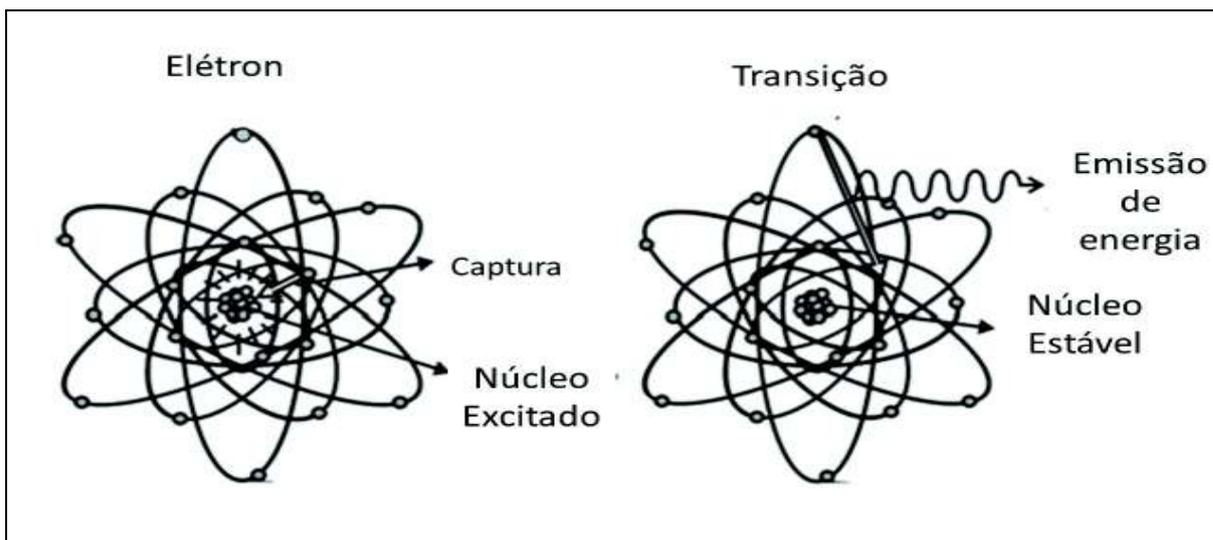
**Fonte.** CNEN/IRD/RJ, 2014.

Fenômenos físicos podem desestabilizar esses átomos liberando radiação classificada de acordo com a intensidade que carrega e pela sua frequência, mensurada pelo comprimento da onda e suas oscilações (DA SILVA, 2000; SCAFF, 1997).

Estudos subsequentes confirmaram que quando um núcleo radioativo desencadeia uma emissão de radiação pela transformação espontânea de um núcleo atômico maior para um menor com emissão de fótons de energia, ocorre o decaimento radioativo, onde um nuclídeo pai resulta em um nuclídeo filho (TIMASHEV, 2015). A este fenômeno foi chamado radioatividade e os materiais produzidos foram denominados como elementos radioativos (UNEP, 2016; DA SILVA, 2000).

Estas partículas radioativas se interagem produzindo efeitos diretos sobre a matéria com capacidade de fazer com que elétrons se desprendam de átomos e moléculas, alterando sua estrutura e ionizando-as, resultando na emissão de energia na forma de elétrons livres, íons positivos ou radicais livres devido à quebra de ligações químicas no organismo, provocando lesões no tecido (UNEP, 2016; UFRGS, 2002).

Estes radicais livres são altamente reativos capazes de se ligar a moléculas importantes como o DNA e produzir alterações funcionais e morfológicas (CRUVINEL et al, 2014). Caso ocorram interações com a água, sofre radio hidrólise provocando efeitos indiretos potencializando os danos no genoma (GHOBADI et al, 2017; AZAM et al, 2012). A Figura 2 representa a transição do átomo instável ou excitado para o átomo estável com liberação de elétron na forma de emissão de energia.



**Figura 2.** Ilustração da transição do átomo instável (à esquerda) ou excitado para o átomo estável (à direita) com liberação de energia.

**Fonte.** Adaptado de CNEN/IRD/RJ, 2014.

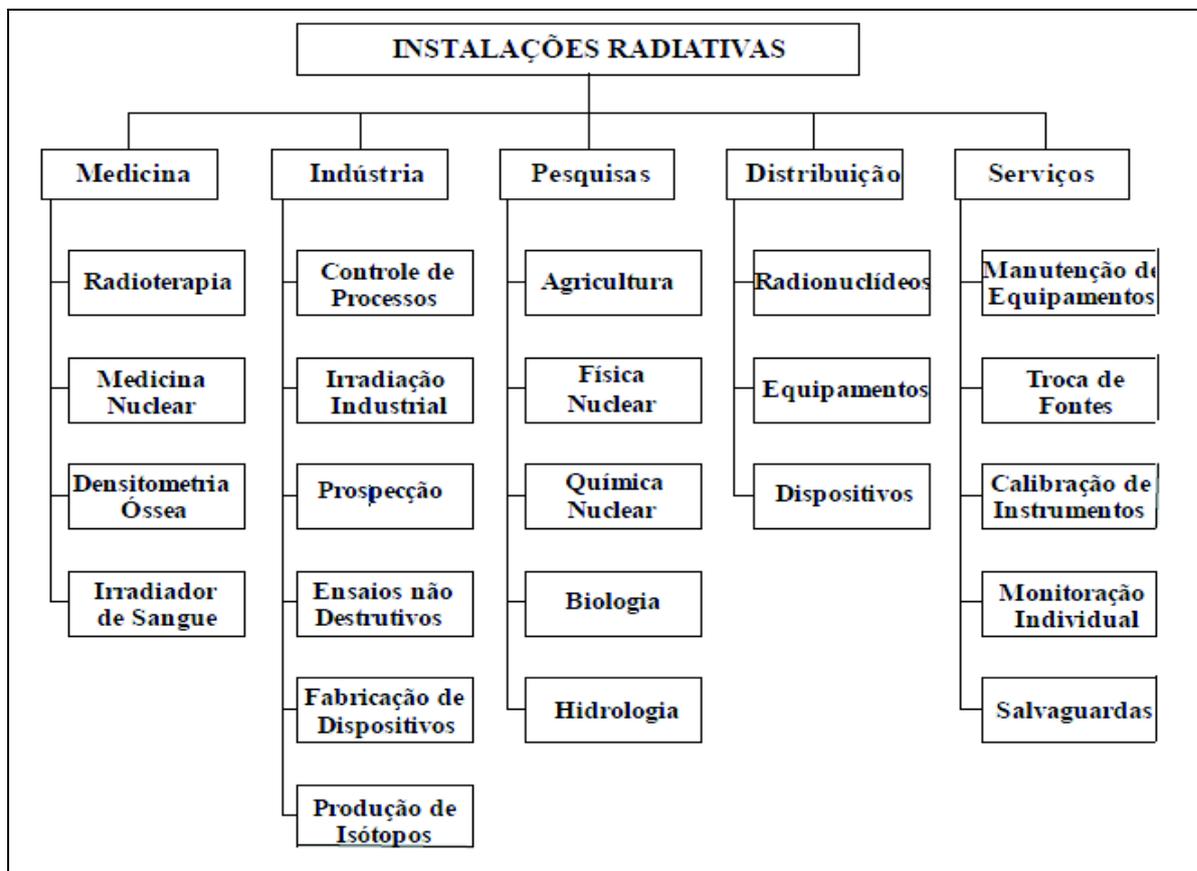
A radiação pode ser classificada quanto a sua natureza sob a forma de ondas com caráter ondulatório, que se propagam de duas formas perpendiculares entre si (OKUNO, 2013). A primeira como um campo elétrico oscilante com maior efeito sobre a matéria ou tecido, conhecida como raio-X e raio gama ou radiações eletromagnéticas e a segunda como campo magnético oscilante de menor atuação sobre a matéria como as partículas alfa, prótons, nêutrons e raios beta que são as radiações corpusculares (KHAN, 2003; SARTORI et al, 2008).

Por apresentar diferentes efeitos na matéria, a energia radioativa é caracterizada como radiação não ionizante, devido à baixa energia que emitem como as ondas de rádio, luz infravermelha, micro-ondas e outras (TSAI; HAMBLIN, 2017). Caso os átomos emitam energia suficiente para ionizar moléculas e átomos, a emissão da radiação será conhecida como RI, sendo muito úteis nas aplicações médicas e industriais (ANDREUCCI, 2014; DA SILVA, 2000).

As RIs podem ser encontradas em fontes artificiais e naturais (BUDECHESKI, 2016; UNEP, 2016). As fontes naturais estão na natureza, nos raios cósmicos, nas radiações solares, no ar, na água e também estão presentes no corpo humano. As radiações artificiais são produzidas por aparelhos e reatores, detectadas em exames radiológicos, médicos e odontológicos (UNEP, 2016; HUHN, 2014; SARTORI et al, 2008).

Com os avanços da tecnologia, as instalações radioativas no Brasil aumentaram significativamente, de acordo com a Figura 3, pelo uso de diversas fontes de radiação

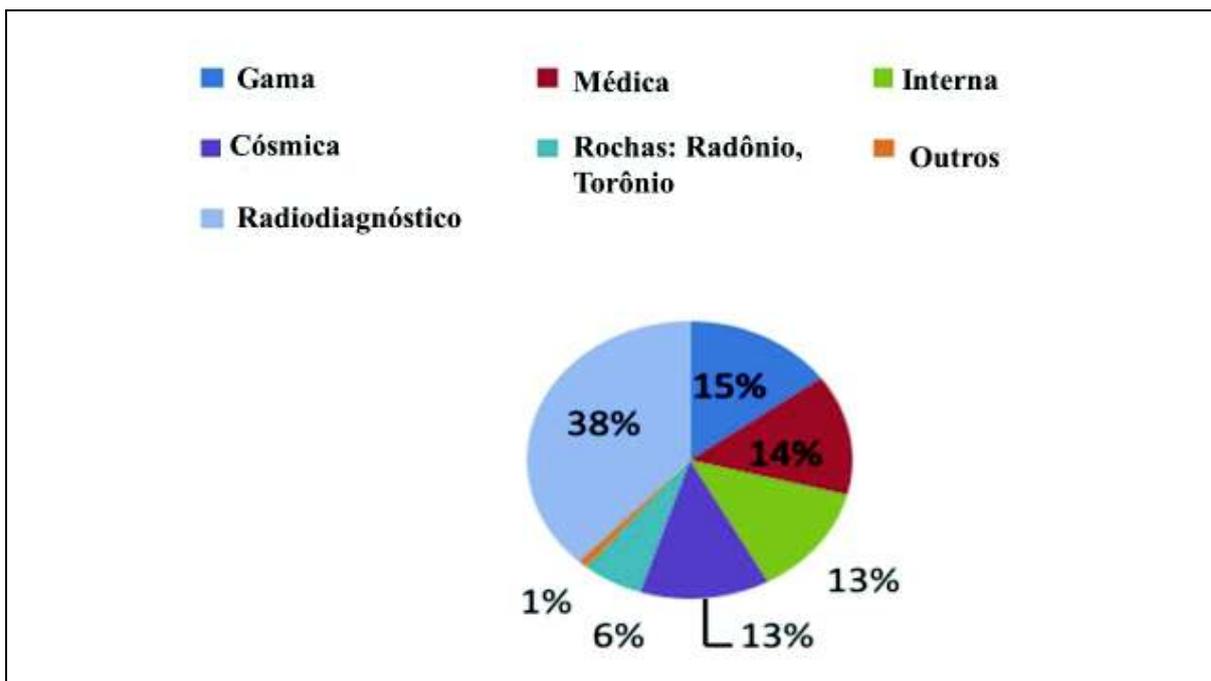
principalmente na medicina, na indústria e nas usinas nucleares (OKUNO, 2013). Essa nova realidade potencializou o estudo da radiobiologia e os riscos à saúde dos profissionais que trabalham na área de radiologia devido ao aumento da demanda (QIAN et al, 2016; LEURAUD et al, 2015; CNEN, 2014; SHIRAZI et al, 2007; DA SILVA, 2000).



**Figura 3.** Tipos de instalações radioativas no Brasil.

**Fonte.** CNEN, 2014.

De acordo com a Figura 4, a exposição à RI representa 38% da dose populacional anual devido ao uso de serviços de radiodiagnóstico, o que corresponde a uma taxa significativa correspondente ao aumento na demanda do grupo dos profissionais que atuam na área da radiologia (UNEP, 2016). Estes dados fazem parte de pesquisas que avaliaram os efeitos nocivos à saúde relacionados ao aumento da exposição à radiação, o que levou a atuação de órgãos competentes à normatização para um aumento do controle de radioproteção (HUHN, 2014; SHIRAZI et al, 2007).



**Figura 4.** Exposição da população às radiações naturais e artificiais.

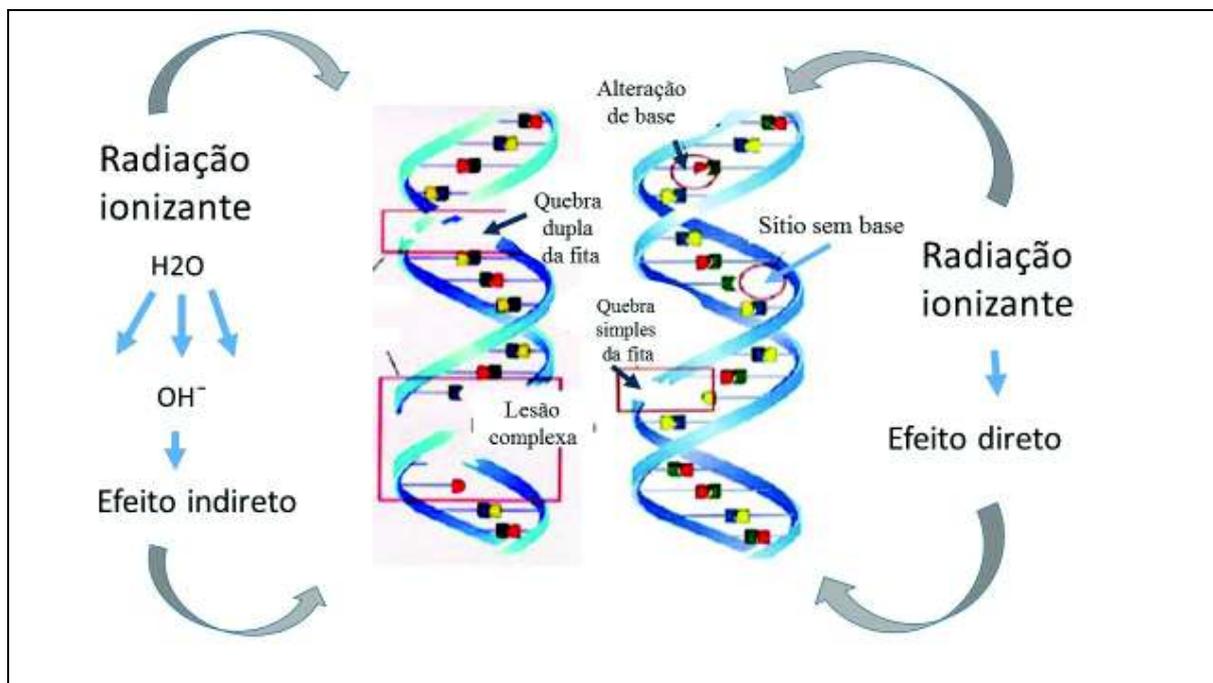
**Fonte.** Adaptado de HUHN, 2014.

Dentre os mais importantes tipos de geradores de RI destacam-se os tubos de raios X, os aceleradores de partícula, os irradiadores com radioisótopos e as fontes de nêutrons. Esses dois primeiros dispositivos utilizam a eletricidade como fonte de energia para acelerar partículas e gerar radiação. Os irradiadores utilizam radioisótopos como fonte de radiação, acoplados a um sistema blindado de exposição e guarda da fonte. As fontes de nêutrons utilizam reações nucleares produzidas por partículas alfa emitidas por um material radioativo em um determinado alvo e os outros podem emitir partículas  $\beta$ ,  $\alpha$  e/ou  $\gamma$  - beta, alfa e gama respectivamente (CNEN, 2014; KHAN, 2003; BIRAL, 2002; SCAFF, 1997).

### **2.3 Efeitos biológicos da exposição às radiações ionizantes**

O efeito biológico corresponde à resposta de parte ou todo o organismo mediante um agente agressor conforme ilustrado na Figura 5 (AMARAL, 2002). Pode variar em função da dose e efeito conhecidos como efeitos determinísticos e estocásticos, respectivamente (THOME et al, 2018). As manifestações decorrentes do dano causado dependem do tecido e do período que foi exposto, podendo produzir um efeito imediato ou tardio (CHUA et al, 2011), de acordo com a irradiação (GHOBADI et al, 2017) e da linhagem celular germinativa ou somática atingida (SILVA et al, 2016; SHIRAZI et al, 2007; DA SILVA, 2000). Neste

contexto, o dano à molécula de DNA pode ser mensurado pela correlação entre dose e efeito (AZAN et al, 2012; COSTA et al, 2011).



**Figura 5.** Representação esquemática simplificada dos efeitos direto e indireto das radiações ionizantes sobre a molécula de DNA.

**Fonte.** Adaptado de CNEN, 2014.

A exposição a uma dose baixa, onde o dano celular não sinaliza aparente prejuízo ao tecido ou órgão pode sinalizar uma deficiência no sistema de reposição ou reparo (VANDEVOORDE et al, 2016; OLIVE et al, 2008). Caso ocorra uma exposição com grau mais elevado, a ocorrência e severidade do dano são diretamente proporcionais à dose sendo relacionados a apoptose (QIAN et al, 2016). Esta ocorrência é conhecida como efeito determinístico e pode desencadear uma série de agravos como eritema, bolhas, catarata, necrose e até depressão do tecido hematopoiético (DA CRUZ et al, 2008).

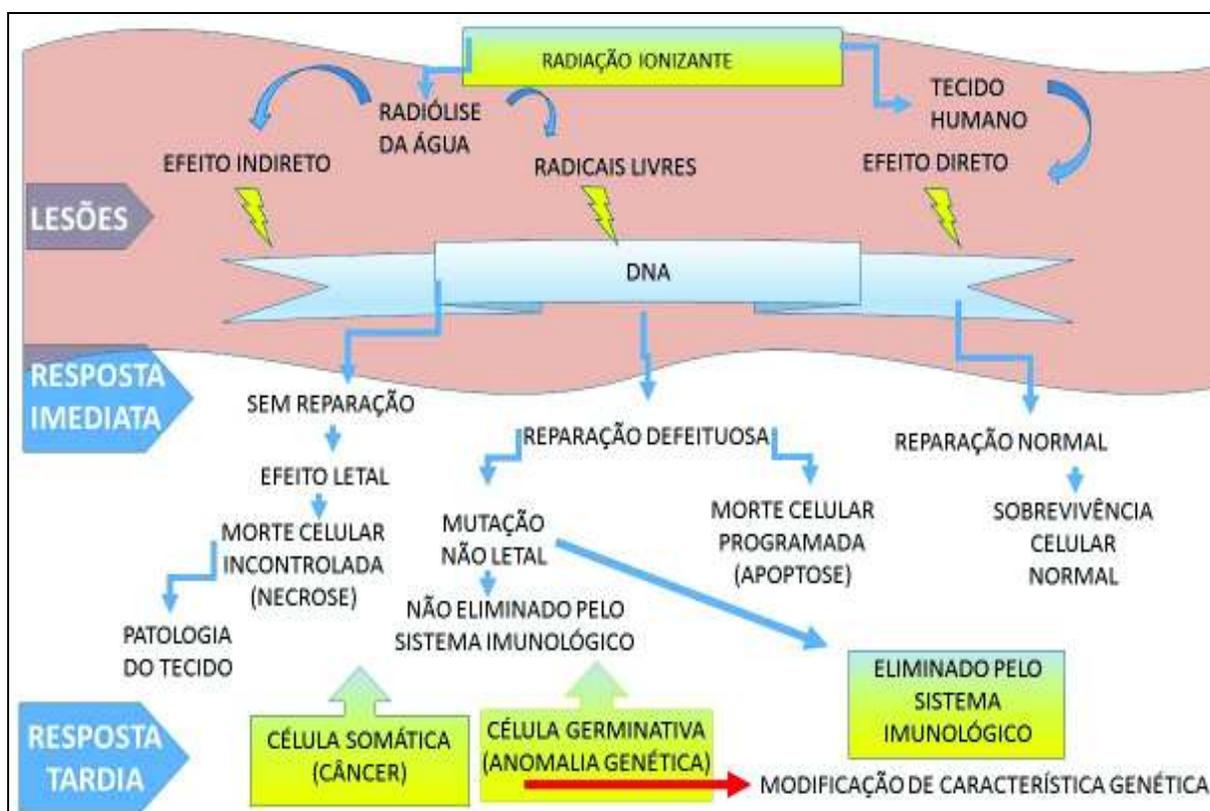
Os efeitos estocásticos podem surgir pela exposição a doses baixas por períodos longos e induzir danos manifestados com o tempo através da diminuição da longevidade, como o acúmulo de mutações e alterações cromossômicas, destacando-se o desenvolvimento de células tumorais devido ao efeito tardio desta exposição (DA CRUZ et al, 2008; OLIVE et al, 2008; DA SILVA, 2000).

Os efeitos agudos decorrentes da alta dose se manifestam no organismo em um curto período apresentando sinais e sintomas como náuseas, diarreia, perda de peso e queda de

cabelo, porém o restabelecimento da saúde deste indivíduo pode ocorrer sem demora dependendo de cada caso (GÜNALP et al, 2014).

A energia liberada pela radiação pode alterar o funcionamento das células, induzindo transformações celulares, proteicas e rupturas no material genético interrompendo a divisão do ciclo celular normal e os processos metabólicos desencadeando instabilidade genética e prejudicando a expressão gênica (QIAN et al, 2016; RIBEIRO et al, 2008; SHIRAZI et al, 2007; BENDER et al, 1988).

Dependendo da célula que foi irradiada, os danos podem atingir tecidos e órgãos com consequências diretas no organismo e em suas funções, gerando estresse celular (QIAN et al, 2016). Esses efeitos estão associados ao dano no DNA (FENECH, 2000) desencadeando aberrações cromossômicas (MADDILETI et al, 2002), alterações no processo de proliferação celular (GHOBADI et al, 2017), resposta inflamatória (CANDÉIAS; TESTARD, 2015), morte celular (QIAN et al, 2016), mutação (VRAL et al, 2011) e o aumento do risco de carcinogênese (EKEN et al, 2010). A Figura 6 ilustra os vários efeitos que a radiação desencadeia no organismo (GÜNALP et al, 2014; SARTORI et al, 2008).



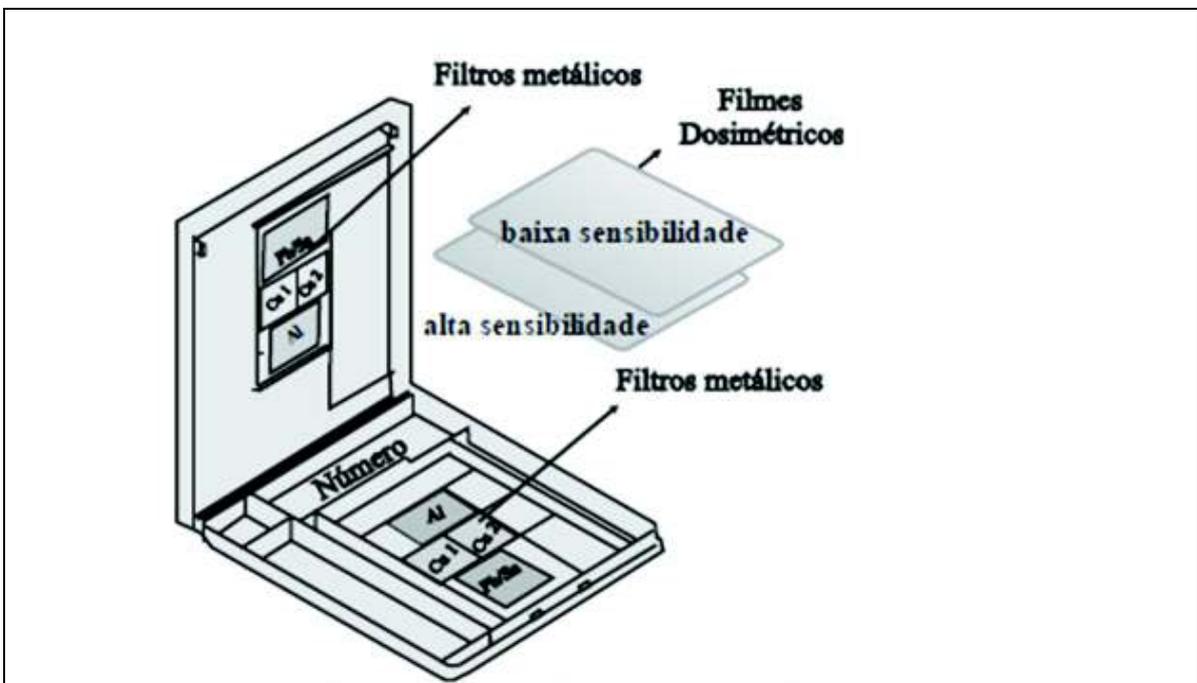
**Figura 6.** Quadro representativo dos diversos processos envolvidos na interação da radiação ionizante com as células do tecido humano, e o tempo estimado para sua ocorrência.

**Fonte.** Adaptado de CNEN, 2014.

## 2.4 Dosimetria e suas aplicações

A dosimetria é um método físico que utiliza um monitor para medir a dose absorvida efetiva do corpo inteiro, órgão ou tecido humano que está exposto a RI. Para cada ambiente com fonte radioativa existe um tipo de monitor. No caso dos profissionais que trabalham na área da saúde nos setores de radiologia, normalmente é utilizado o dosímetro de tórax, pois abrange uma maior extensão do corpo para o monitoramento individual (VRAL et al, 2011; AMARAL, 2002).

Este aparelho possui um filme dosimétrico conforme a Figura 7, que faz a captação da dose acumulada sendo avaliada mensalmente por um laboratório devidamente credenciado junto CNEN, para o controle da exposição mensal.



**Figura 7.** Monitor individual utilizado pelo Instituto de Radiologia e Dosimetria.

**Fonte.** CNEN, 2014.

De acordo com a Portaria 453/98 a dosimetria serve para qualificar a regulação e fiscalização nos serviços de radiologia intervencionista e radiodiagnóstica, além da proteção da saúde destes profissionais (BRASIL, 1998). Neste contexto, a CNEN preconiza como proteção radiológica o conjunto de medidas que visam proteger o ser humano e seus descendentes e especifica que o limite de dose de exposição a RI anual considerando um período entre janeiro a dezembro dentro de um mesmo ano, seja de 20 mSv com média em 5

anos não excedendo 50 mSv em um único ano (CNEN, 2014; SANTOVITO et al, 2013; ICRP, 2007)

Conforme a Comissão Internacional de Proteção Radiológica (ICRP), a exposição dos indivíduos expostos ocupacionalmente à RI deve ser respeitada, de tal modo que a dose efetiva e a dose equivalente em todo o corpo, não excedam os limites especificados no quadro da Figura 8. (HARRISON; STREFFER, 2007).

Limites de Dose Anuais		
Grandeza	Órgão	<i>Indivíduo ocupacionalmente exposto</i>
<i>Dose efetiva</i>	Corpo inteiro	20 mSv
<i>Dose equivalente</i>	Cristalino	20 mSv <i>(Alterado pela Resolução CNEN 114/2011)</i>
	Pele	500 mSv
	Mãos e pés	500 mSv

**Figura 8.** Limites máximo da dose anual que os profissionais expostos ocupacionalmente a radiação ionizante estabelecido pelo Ministério da Saúde.

**Fonte.** Adaptado de CNEN, 2014.

Estas medidas de precaução foram tomadas, por considerarem um dos quesitos mais importantes no monitoramento de quem atua na área da radiologia, visto que a princípio, o motivo de maior preocupação com os danos causados no organismo era devido a exposições acidentais ou agudas, pela alta dosagem em um curto período, como ocorreu no acidente do Césio 137 em 1987 na cidade de Goiânia (MILIĆ et al., 2015; COSTA, 2011; DA CRUZ et al., 2008; DA SILVA, 2000).

A Portaria 453/98, criada em circunstâncias delicadas devido a este acidente que ocorreu no Brasil, estabeleceu normatizações e especificações em geral relativas a radioproteção radiológica no que se refere à utilização dos aparelhos de raios-X, controle de

qualidade, manutenções de equipamentos, requisitos de proteção radiológica para o funcionamento dos estabelecimentos que operam com diagnósticos de raios-x, responsabilidades regulatórias do Ministério da Saúde relacionadas à produção, comercialização e utilização de produtos e equipamentos emissores de radiações ionizantes (BRASIL, 1998).

Visando à preservação da saúde e a necessidade de mitigar os efeitos da radiação, o ICRP correlacionou alguns princípios de radioproteção importantes para otimização, cuidado, controle, análise da dosimetria e radioproteção em todos os procedimentos envolvidos levando em consideração a exposição ocasional da população em geral e dos trabalhadores da área de radiologia e diagnóstico de imagem (SANTOVITO et al, 2013; AZAM et al, 2012; ICRP, 2007; DA CRUZ et al, 1997).

Os quatro princípios de proteção radiológica devem ser respeitados sendo o primeiro, o princípio da justificação, onde nenhuma prática envolvida com exposição à radiação deve ser adotada a menos que produza suficiente benefício ao indivíduo exposto ou à sociedade. O segundo princípio da otimização estabelece os cuidados no planejamento das práticas e instalações e admite que toda exposição à radiação deve ser tão baixa quanto razoavelmente exequível, levando-se em conta fatores sociais e econômicos. O terceiro princípio da limitação de dose afirma que a exposição do indivíduo, resultante da combinação de todas as práticas relevantes, deve ser sujeita a limites de dose ou a algum tipo de controle de risco no caso de exposições potenciais. O quarto princípio, implementa os cuidados na manipulação de equipamento e instalações visando minimizar exposições acidentais (IAEA, 2007; BRASIL, 1998).

Atualmente, uma nova preocupação vem tomando grandes proporções pelas evidências de que o dano genômico radioinduzido nos profissionais das áreas da radiologia está correlacionada ao contato prolongado a uma baixa dose de RI (LEURAUD et al, 2015; KANAGARAJ et al, 2015; MILIĆ et al, 2015; BOURAOUI et al, 2013; EKEN et al, 2010).

Vários estudos relatam que a predisposição genética associada a fatores de risco pela exposição a agentes químicos, biológicos e físicos podem causar danos ao organismo, porém a exposição ocupacional a RI é considerada a mais importante devido à sua associação aos riscos de desenvolvimento do câncer (AZZAM et al, 2012; SHIRAZIA et al, 2007).

A dosimetria citogenética é uma importante ferramenta diagnóstica utilizada como método de análise eficiente e de baixo custo, com capacidade de detectar alterações cromossômicas através da proliferação celular da linhagem de linfócitos (SADATULLAH et

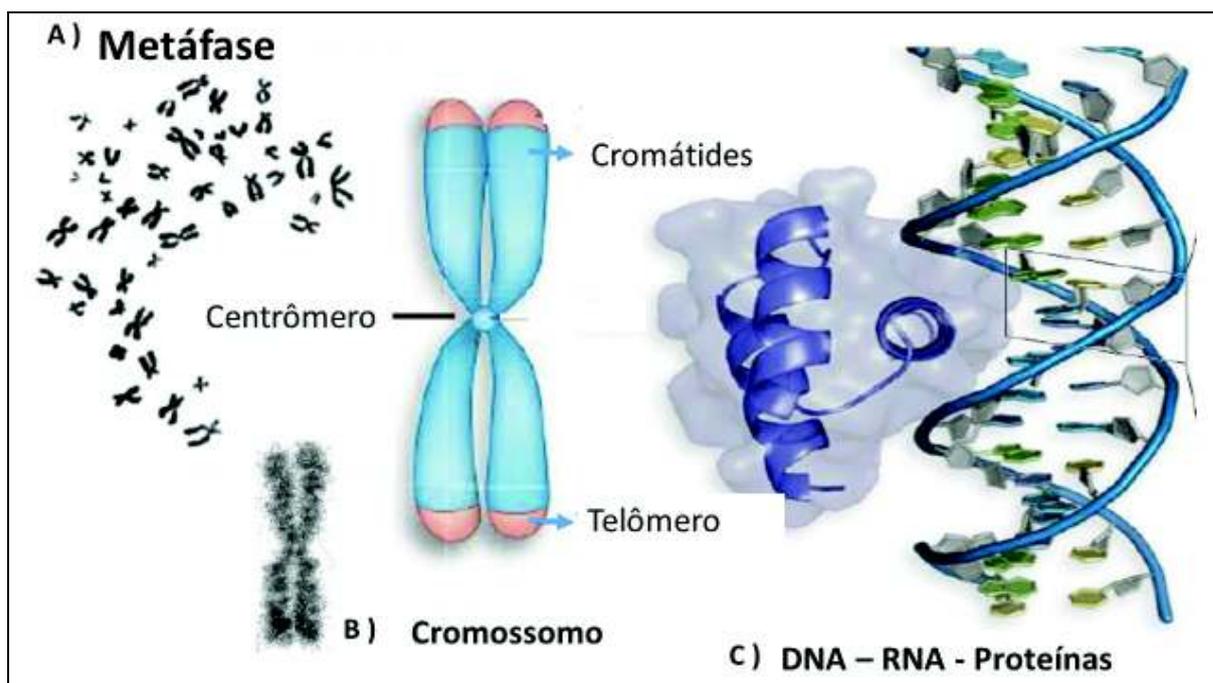
al, 2013; QIAN et al, 2016; MILIĆ et al, 2015; SANTOVITO et al, 2013; DA CRUZ, 2011; CHO et al, 2009).

A citogenética abrange todo o estudo que envolve os cromossomos, suas características quanto ao nível de organização estrutural, morfológicas e funções dependendo da variação de cada do organismo e sua evolução celular (GUERRA, 1988). Sua aplicabilidade está baseada em pesquisas científicas em radiobiologia, um estudo que envolve a exposição do indivíduo à RI e sua probabilidade de indução a mutações cromossômicas. Fatores modificadores da resposta e efeito biológico como o estado físico do indivíduo, sexo e idade ou hábitos comprometedores como o tabagismo, etilismo também devem ser considerados levando em consideração que podem ser agentes potencializadores de danos à saúde (SILVA et al, 2016; SHIRAZI et al, 2007).

## **2.5 Ciclo celular**

As células são unidades básicas de todos os organismos responsáveis pela manutenção do metabolismo e das estruturas que carregam os genes para a preservação da integridade do genoma e preservação da informação genética. Dentre as várias atividades que as células vivas realizam, a divisão se destaca como a mais importante devido à renovação celular constante em alguns tecidos (DJOKOVIA-DAVIDOVIC et al, 2016; DA SILVA, 2000).

No núcleo da célula contém a informação hereditária organizada na forma de cromossomos, os quais são conhecidos como estruturas celulares que carregam os genes compostos por proteínas, RNA e DNA. Os cromossomos podem ser facilmente visualizados e identificados nas células somáticas durante a metáfase na divisão celular (Figura 9) (COX et al, 2012; COSTA et al, 2011).



**Figura 9.** Identificação de cromossomos derivados uma metáfase (à esquerda), morfologia de um cromossomo metafásico (no centro) e estrutura molecular do cromossomo.

**Fonte.** Adaptado de Cox et al, 2012.

Seu material genético é organizado em pares de cromossomos homólogos sendo cada um derivado do genitor paterno e do materno. Em condições normais, uma célula mãe dá origem a duas células filhas de tamanho reduzido mantendo a integridade do conteúdo genético, através da divisão celular (SNUSTAD; SIMMONS, 2012; KLUB et al, 2010).

Uma análise muito útil é a biodosimetria, que utiliza cultura de linfócitos de sangue periférico para avaliar as diversas alterações celulares que ocorrem no ciclo celular (QIAN et al, 2016; DJOKOVIA-DAVIDOVIC et al, 2016).

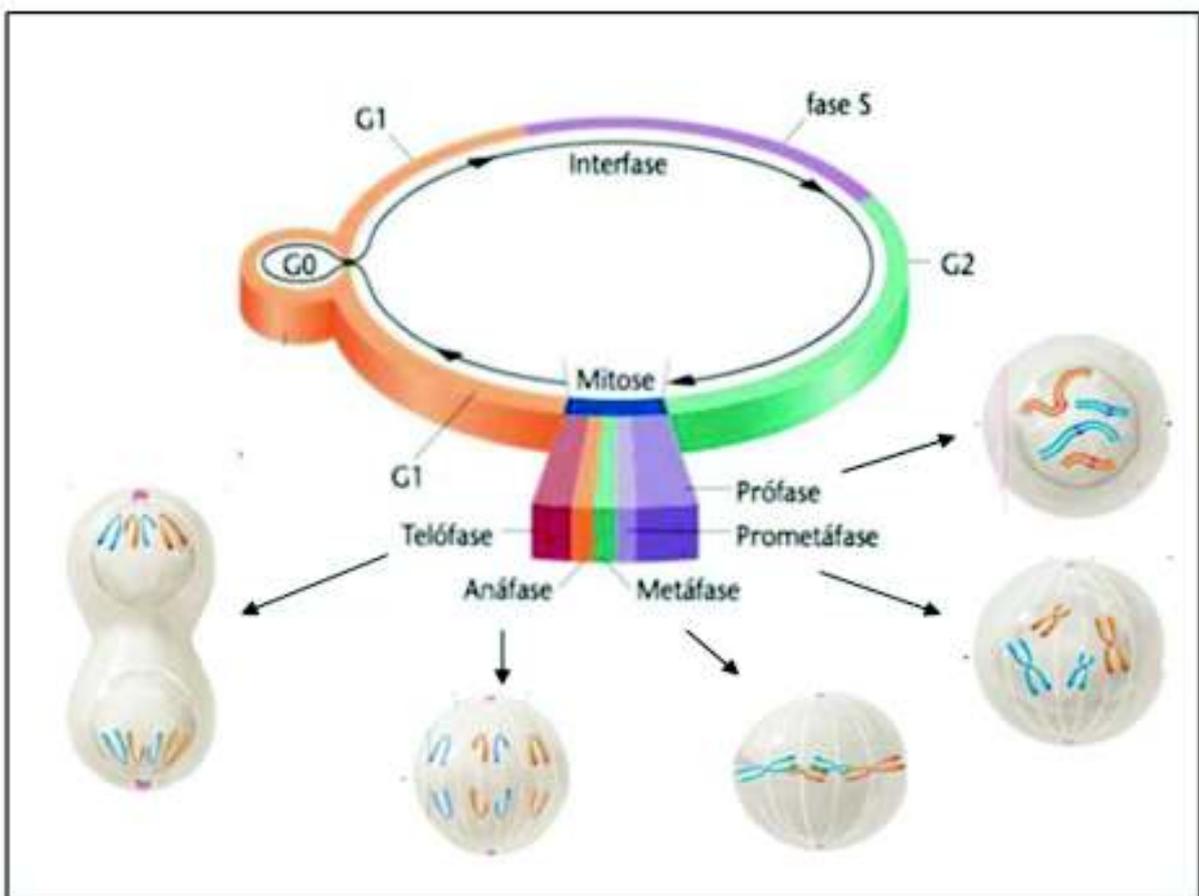
Compreender a divisão celular, a diferenciação celular, os mecanismos de reparo e morte celular nos permite identificar alguns distúrbios importantes melhor visualizados na fase interfásica do ciclo mitótico, que possam estar associados aos efeitos deletérios da interação entre a RI e as células somáticas (WIMAN; ZHIVOTOVSKY, 2017; NUSSBAN et al, 2002).

O ciclo celular eucariótico consiste em interfase e mitose e começa pela fase G<sub>1</sub> onde ocorre a síntese do material cromossômico. A seguir, a célula pode entrar em repouso permanecendo em uma fase G<sub>0</sub> ou passar para a fase S na qual o genoma irá se duplicar e seguir para a fase G<sub>2</sub>, gerando o armazenamento de energia para desencadear a mitose, síntese de RNA e de proteínas (SNUSTAD; SIMMONS, 2012; KLUB et al, 2010).

As células que se mantem na fase G<sub>0</sub> apesar de não se proliferarem, permanecem metabolicamente ativas e viáveis podendo não se dividirem mais ou serem estimuladas novamente e voltar a diferenciação na fase G<sub>1</sub> (KLUB et al, 2010). Na fase G<sub>2</sub> é onde o sistema de reparo atua, caso haja algum erro no mecanismo da replicação (MALUF et al, 2011).

A mitose é um período de atividade intensa e contínua distribuídas em fases distintas devido a cada evento específico correspondente iniciado pela prófase, pró-metáfase, metáfase, anáfase e por último a telófase. As estruturas e funções celulares podem ser visualizadas nas diferentes fases (NUSSBAM et al, 2002).

A duração do ciclo celular varia conforme a fase, o tipo celular e as condições em que a célula se encontra. As fases da divisão do ciclo celular estão representadas na Figura 10 (SNUSTAD; SIMMONS, 2012; KLUB et al, 2010).



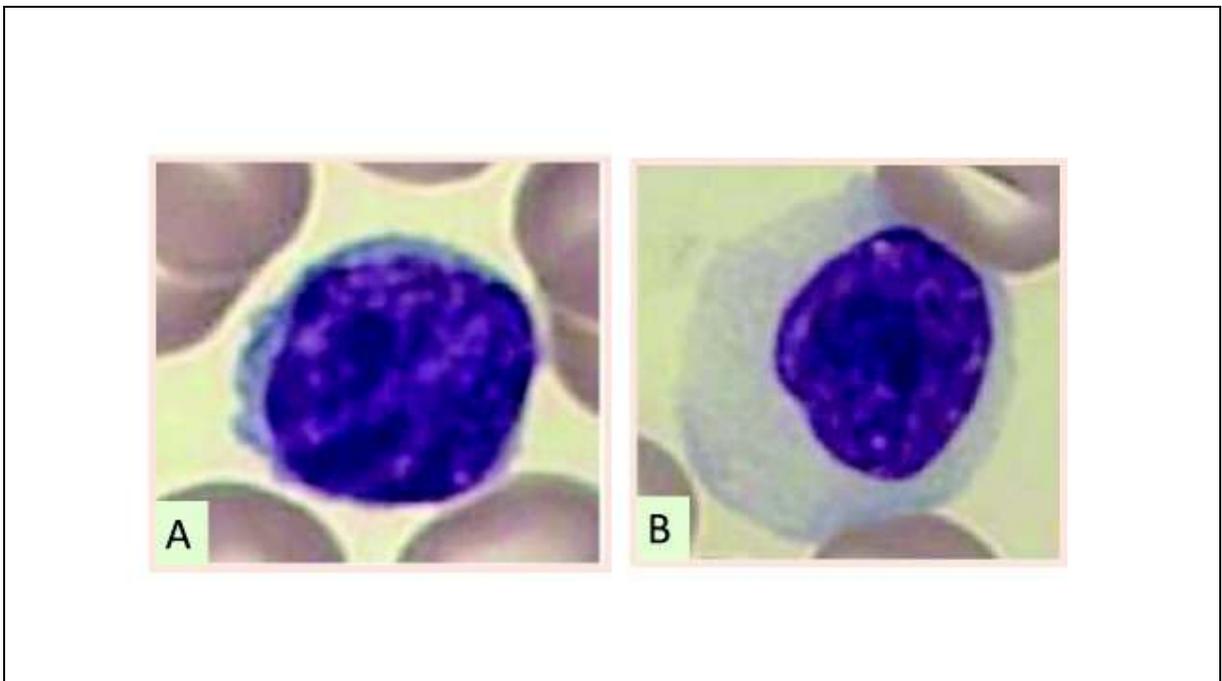
**Figura 10.** Fases do ciclo celular em divisão.

**Fonte.** Adaptado de KLUB et al, 2010.

## 2.6 Linfócitos T

Dentre as células do sangue, os linfócitos são as células mais envolvidas na resposta imune e constituem 20% a 25% dos leucócitos, o que corresponde a ~2% das células circulantes na corrente sanguínea periférica (KHAN et al, 2017; ALBERTS et al 2002).

Os linfócitos são células arredondadas e discretamente incidentadas com tamanho e morfologia heterogêneas, encontradas com uma variação de tamanho entre 6 a 11 $\mu$ m de diâmetro, denominados pequenos núcleos e possuem maior proporção entre a concentração de núcleo e citoplasma, sendo visualmente mais escuros devido à alta condensação da cromatina. Os núcleos maiores medem cerca de 10 a 12  $\mu$ m, contendo uma maior quantidade de citoplasma em relação ao núcleo, sendo chamados de linfoblastos ou linfócitos grandes (Figura 11) (MONTANARI, 2016; ABBAS et al, 2015; MALE et al, 2006).



**Figura 11.** Análise de um linfócito pequeno (A) com maior concentração de cromatina. Análise de um linfócito grande (linfoblastos) (B).

**Fonte.** Adaptado de Abbas, 2015.

No adulto, alguns tecidos se desenvolvem mais rapidamente como a medula óssea, a pele e especialmente o sistema linfocitário (BENDER, 1988). Este mantém suas células interconectadas pelo sistema linfático através de capilares linfáticos os quais permitem a livre circulação de linfócitos entre os fluidos, os tecidos e os órgãos linfoides, se tornando essencial para a resposta imune rápida (ABBAS et al, 2015; ALBERTS et al, 2009).

O primeiro mecanismo de defesa do organismo é o sistema imune representado por barreiras físicas como a pele e por meio de uma cascata de ação imediata aos agentes invasores. Caso o organismo entre em contato com agentes patogênicos, o sistema imunológico ativa a resposta humoral pela mediação de macrófagos, neutrófilos e células exterminadoras naturais conhecidas como natural killer (NK), representando uma resposta inespecífica além de participar da regulação da resposta imune (ABBAS et al, 2015; ZIPFEL, 2009; MALE et al, 2006).

Quando o primeiro sistema não consegue eliminar o agente estranho, o organismo aciona o sistema imune adaptativo composto pelos linfócitos que são responsáveis pela surpreendente especificidade das respostas imunes adaptativas pela ativação das células T e B. Apesar de possuírem funções diferentes, eles atuam em conjunto, sendo os linfócitos T mediados por diversas vias de sinalização celular que vai ativar a resposta imune adaptativa específica do antígeno, enquanto que os linfócitos B se diferenciam em plasmócitos secretando imunoglobulinas (anticorpos) para combater patógenos e agentes infecciosos (CHAPLIN; DAVID, 2010; ZIPFEL, 2009).

O timo e a medula óssea são órgãos linfóides primários e fazem parte da formação e maturação dos linfócitos T e B. Algumas destas células podem migrar através da circulação para os tecidos linfóides secundários ou periféricos que são linfonodos, o baço e sistema imune cutâneo e mucoso, os quais favorecem o início mais rápido da resposta imune adaptativas devido à memória imunológica (ABBAS et al, 2015; OWEN, 2015).

Um grupo de linfócitos podem permanecer inativos ou em repouso na fase de pré-síntese de DNA (fase G<sub>0</sub>) do ciclo celular. Nesta fase, os linfócitos B e T não podem ser distinguidos morfológicamente. Após a ativação do antígeno, uma célula B ou T se prolifera e amadurece se diferenciando para gerar células efetoras e de memória permanecendo circulantes no sangue periférico (DJOKOVIC-DAVIDOVIC et al, 2016; DA SILVA, 2000).

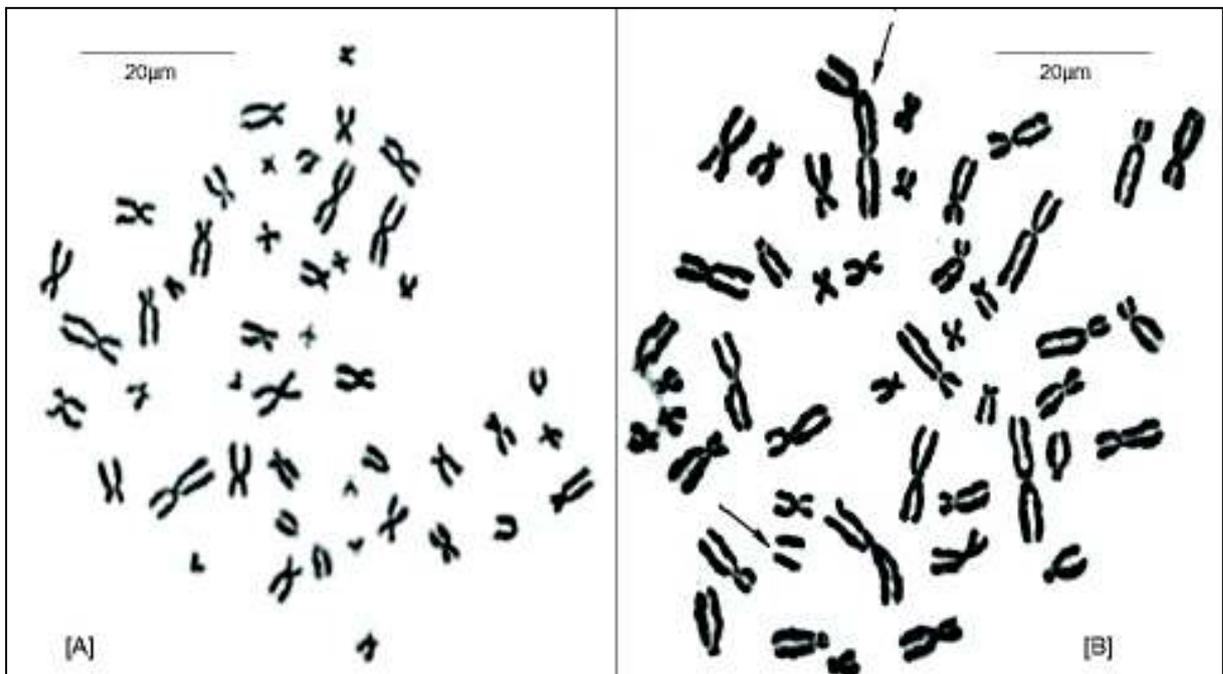
Sun e colaboradores (2014) relataram que somente as células B e T do sistema imune adaptativo possuem capacidade de expansão clonal, alta especificidade e produção de células de memória, entretanto, apenas os linfócitos T possuem uma vida mais prolongada estimada em 3 a 4 anos. Por isso, se tornaram biomarcadores essenciais na biodosimetria por serem considerados as células mais radiosensíveis que compõem o sistema hematopoiético e capazes de estimar o índice de dano genômico acumulado da RI (DJOKOVIC-DAVIDOVIC et al, 2016; QIAN et al, 2016; ABBAS et al, 2015; EKEN et al, 2010; CHO et al, 2009; FENECH, 1993).

Ghobadi e colaboradores (2017) demonstram que as RIs podem induzir alterações celulares e ativar o sistema imunológico. Este fato se tornou um ponto de discussão relevante para investigar o mecanismo de modulação da resposta imunitária e sua interação entre as moléculas do organismo exposto a radiação para avaliar seu potencial mutagênico e genotóxico (HERRERA et al, 2016; COSTA et al, 2011; EKEN et al, 2010).

### 2.7 Análise cromossômicas em linfócitos T de sangue periférico

Moorhead et al. (1960) publicaram um método utilizando a cultura de linfócitos de sangue periférico estimulados por um mitógeno específico, para aumentar a proliferação celular e posteriormente, utilizaram um bloqueador de fuso mitótico na metáfase para paralisar o processo da mitose, permitindo a visualização de cromossomos humanos.

Ao longo dos anos, os estudos desta técnica evoluíram possibilitando uma análise cromossômica mais criteriosa utilizando cromossomos metafásicos devido ao seu alto grau de condensação e espalhamento em metáfase, permitindo assim a identificação e contagem dos pares de cromossomos autossômicos e sexuais, definição da morfologia, além da detecção de diversas aberrações cromossômicas (GUERRA, 1988).



**Figura 12.** Fotomicrografia de cromossomos metafásicos humanos. Em (A) metáfase exibindo número cromossômico e estrutura sem alterações. Em (B) metáfase evidenciando cromossomo dicêntrico e fragmento acêntrico (apontado pelas setas). Ampliação de 1000X.

**Fonte.** Domina et al, 2014.

O genoma humano é constituído por um complexo de moléculas e DNA compactado e distribuídos em 23 pares de cromossomos, sendo 22 pares de autossomos e um par sexual, caracterizados pelo seu cariótipo de acordo com a morfologia e número de cromossomos. Em um indivíduo diplóide normal os núcleos de suas células contêm 46 cromossomos, facilmente visualizados em microscopia ótica pela cultura de células em divisão, logo após a duplicação do DNA (MALUF et al, 2011; BENDER et al, 1988).

Assim, qualquer mudança que interfira no ciclo celular, alterando a estrutura do DNA ou o número de cromossomos, irá resultar em mutações e anormalidades (QIAN et al, 2016) definidas como aberrações cromossômicas observadas em estudos citogenéticos (GUERRA; SPIZA, 2002) e classificadas de acordo com a análise de cromossomos metafásicos dos linfócitos periféricos (ULSH et al, 2015; BOURAOUI et al, 2013; EKEN et al, 2010; TOUIL et al, 2000).

Djokovia-Davidovic et al. (2016) relatam que a instabilidade genômica induzida pela RI está associada ao aumento da frequência de aberrações cromossômicas. As consequentes mutações presentes no genoma podem ter sido induzidas ou aparecer espontaneamente, envolvendo alterações metabólicas da célula, proliferação celular, produtos de mediadores inflamatórios, falha no sistema de reparo, enfim, fatores importantes que podem desencadear morte celular ou um processo de carcinogênese. São identificadas através de aberrações cromossômicas correspondente à dose da radiação (MORGAN; SOWA, 2007; NATARAJAN, 2002).

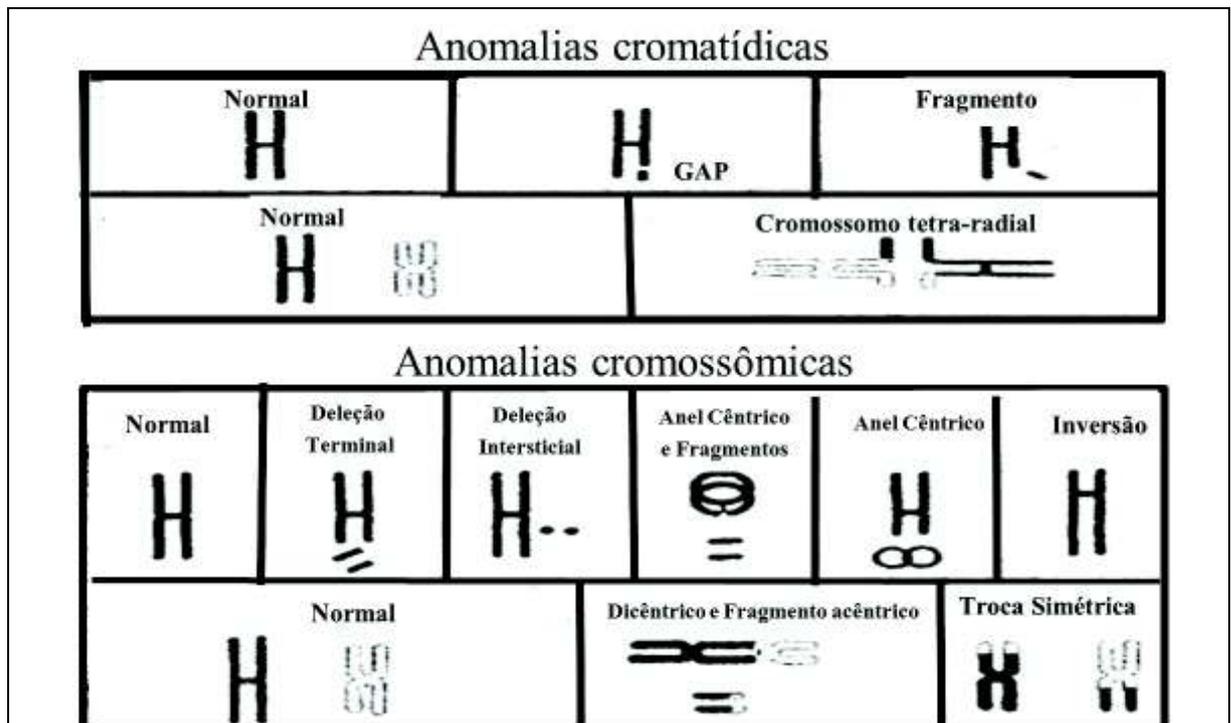
Quando os eventos da radiação causam alterações no número dos cromossomos, correspondendo ao aumento ou diminuição de um, mais de um ou um conjunto completo de cromossomos duplicados ou deletados, são chamadas mutações numéricas. São divididas em aneuploidia e euploidia. Na aneuploidia ocorrem fenômenos de deleção ou duplicação de um gene, de um segmento cromossômico em sua estrutura levando ao aumento ou diminuição de um cromossomo ou mais. São consideradas poliploidia, quando ocorre alteração envolvendo todo o conjunto cromossômico, ou seja, um conjunto haploide a mais nas células, além do conjunto básico (MALUF et al, 2011; KLUB et al, 2010; GRIFFITHS et al, 2008).

A aneuploidia é uma anormalidade espontânea derivada de erros de não disjunção na divisão celular com consequente perda ou ganho de um cromossomo inteiro. Ocorre geralmente na mitose ou meiose das cromátides desencadeando vários tipos de rearranjos (HASSOLD et al, 2007; TOUIL et al, 2000). É considerada a anomalia cromossômica mais comum detectada no cariótipo humano, por causar algumas anomalias como defeitos

congênitos, abortos espontâneos (HASSOULD et al, 2007) e retardo mental (ROOMS et al, 2007; GRIFFITHS et al, 2008). Na espécie humana, a poliploidia é incompatível com a vida, porém é muito utilizado na agricultura e horticultura para o aumento de produtividade e melhoramento genético (SNUSTAD; SIMMONS, 2012).

As mutações estruturais induzidas pela radiação nas células da fase de síntese de DNA ou fase G<sub>1</sub>, irá resultar em anomalias cromossômicas por gerar quebra envolvendo ambas as cromátides. Se as aberrações forem observadas durante o ciclo S e G<sub>2</sub> devido a erros da replicação do DNA, formarão quebras cromatídicas devido à lesão em uma das cromátides denominadas anomalia cromatídica (IAEA, 2011).

O número de quebras envolvidas, a forma como estes segmentos irão se interagir entre as extremidades quebradas vai determinar os tipos de rearranjos que serão formados (MALUF et al, 2011; IAEA, 2011). A Figura 13 apresenta alguns tipos de aberrações identificadas em cromossomos metafásicos induzidos por eventos ionizantes (UNEP, 2016; VRAL et al, 2011; TUCKER, 2010).



**Figura 13.** O quadro caracteriza os vários tipos de rearranjos e aberrações cromossômicas formadas.

**Fonte.** Adaptado de Cunha, 2015.

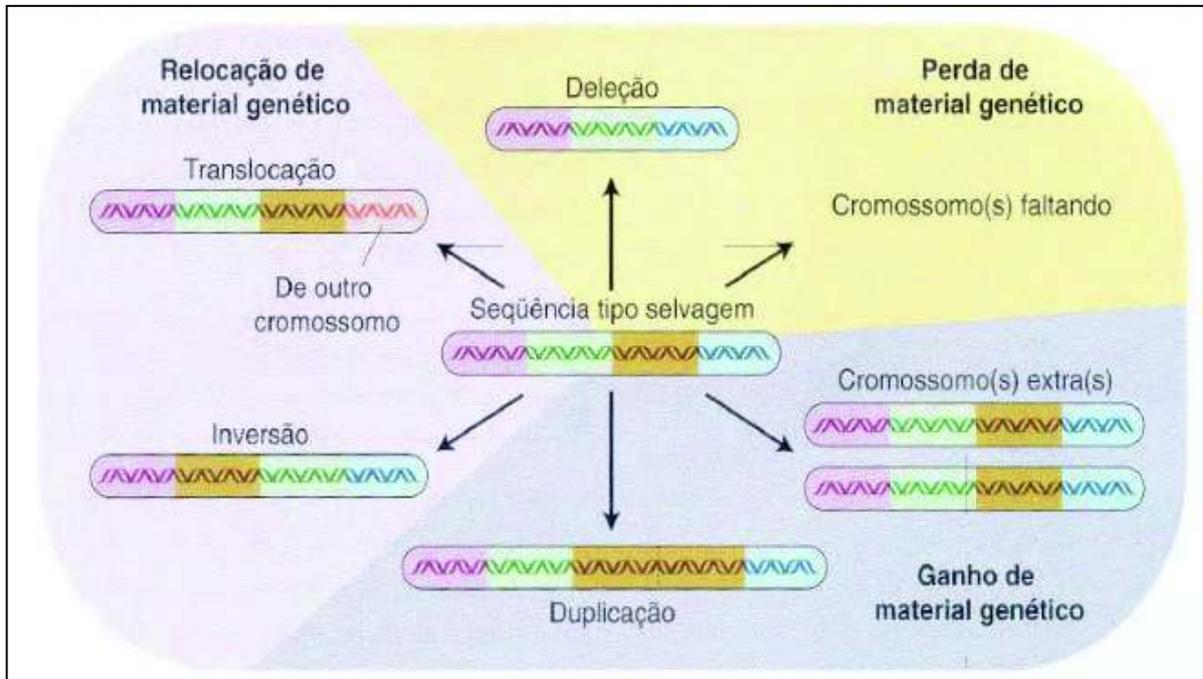
De acordo com a Agência de Energia Atômica Internacional (2011), a RI pode induzir alguns rearranjos cromossômicos identificados somente em cromossomos metafásicos, sendo categorizadas conforme Bender et al. (1988) abaixo:

- Quando envolve uma lesão em uma das cromátides pode gerar a deleção de um braço curto ou longo do cromossomo ou formar um GAP ou lacuna, mas se houver o rompimento de um segmento será denominada como uma deleção terminal ou pontual originando um fragmento.
- Caso envolva duas quebras no cromossomo e um pequeno segmento cromossômico localizado entre as quebras se perder, a deleção será denominada intersticial geralmente identificadas pela presença de pequenos segmentos na metáfase chamados de “*minute*”.
- As deleções cromossômicas com perda maiores de segmentos teloméricos irão formar anéis cromossômicos e fragmentos acêntricos.
- A trocas ou rearranjos cromossômicos envolvendo dois cromossomos pode formar uma troca simétrica entre as cromátides pareadas.
- Nas quebras de extremidades teloméricas dois cromossomos distintos podem formar um cromossomo dicêntrico com dois centrômeros e fragmentos acêntricos
- Entre dois cromossomos dicêntricos pode ocorrer intercâmbio de cromátides ocasionando um cromossomo tetra-radial.

Natarajan (2002) ressalva a importância de identificar e quantificar as aberrações cromossômicas instáveis utilizadas na dosimetria citogenética como biomarcadores. Os tipos mais comuns são classificados como cromossomos sem telômero ou em anel que se perdem por inteiro por não se replicar, ou cromossomos dicêntricos que são puxados simultaneamente para pólos opostos na anáfase, porém não são incorporados em nenhuma célula filha; e ainda a presença de fragmentos acêntricos, que irão se perder nas divisões celulares por não serem levados para os pólos na mitose ou meiose (KAVANAGH et al, 2013; GRIFFITHS et al, 2008).

Os rearranjos estáveis originados pela quebra cromossômica podem ocasionar aberrações cromossômicas como duplicações, translocação, inversão e deleção

desempenhando um papel importante na evolução dos organismos (Figura 14) (NATARAJAN, 2002).



**Figura 14.** Tipos de mutações cromossômicas com relocação, ganho e perda de material genético.

**Fonte.** Griffiths et al, 2008.

Em consequência desses processos, os rearranjos cromossômicos resultam em alterações estruturais não balanceadas com mudança da dosagem gênica por perda ou ganho de segmentos cromossômicos (Deleção e Duplicação), ou podem ser balanceadas por não haver perda nem ganho de material, apenas redistribuição ou troca na ordem dos cromossomos pelo mecanismo de rearranjo dos segmentos cromossômicos (Inversão e Translocação) (VANDEVOORDE et al, 2016; DJOKOVIA-DAVIDOVIC et al, 2016; GRIFFITHS et al, 2008).

O segmento pode ser duplicado e gerar uma duplicação ou se perder, ocasionando uma deleção. Se a parte deletada se inverter e for relocado no mesmo cromossomo, é chamada de inversão, porém se for colocada em outro cromossomo será constituído uma translocação. Quanto maior o segmento perdido ou duplicado, maior o desequilíbrio gênico e suas alterações fenotípicas (KLUB et al, 2010; ROOMS et al, 2007; TOUIL et al, 2000).

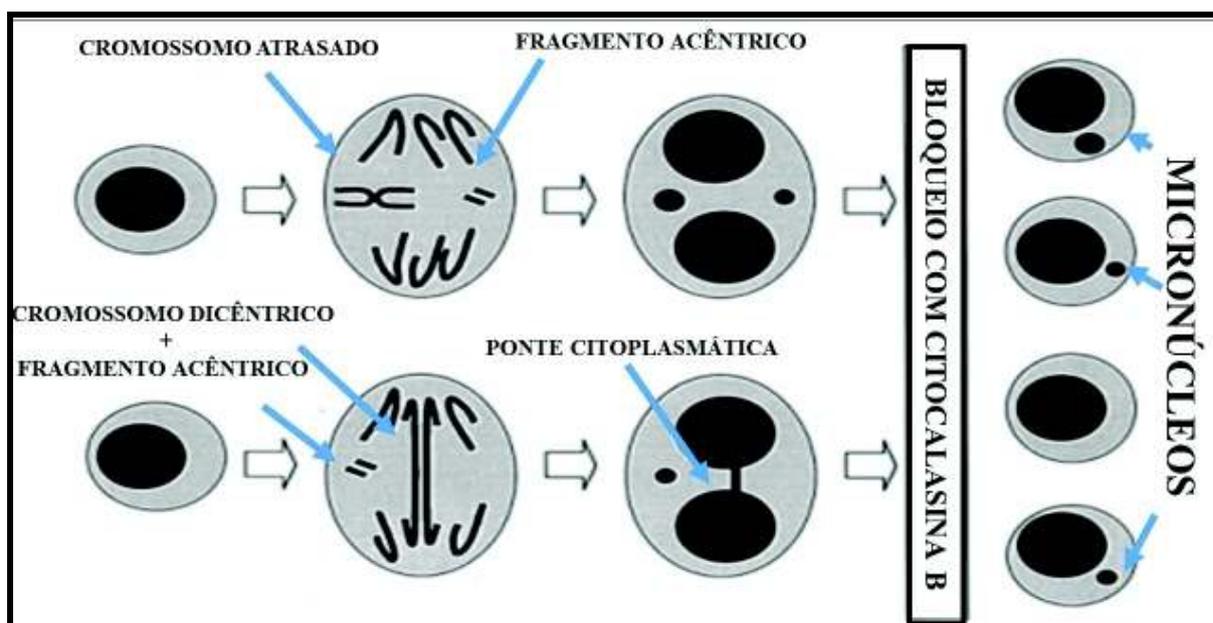
## **2.8 Análise de micronúcleos**

Vários estudos foram desenvolvidos para identificação de biomarcadores preditivos dos efeitos da RI na busca de uma técnica que pudesse detectar e quantificar os danos citogenéticos que a exposição à radiação pode causar (CHUA et al, 2011; EKEN et al, 2010) pressupondo que o efeito genotóxico no organismo seja causado pelo acúmulo de mutações e transformações celulares (MURGIA et al, 2008; BONASSI et al, 2004)

A metodologia que se destacou foi o teste de micronúcleo com bloqueio da citocinese proposta por Fenech e Morley (1986), utilizando cultura de linfócitos humanos para medição da frequência de micronúcleos (MN) devido à capacidade que os MNs têm de expressar um índice de confiança das quebras e perdas de cromossomos radioinduzidos (PARDINI et al, 2017; EKEN et al, 2010; CHO et al, 2009). Os MN são originados durante a divisão celular derivados da não disjunção cromossômica geralmente ocasionadas por lesões no DNA não reparadas devido à ineficiência do sistema de reparo (SILVA et al, 2016; FENECH; MORLEY, 1986).

O termo micronúcleo corresponde a um aglomerado com aparência de um pequeno núcleo, além do núcleo celular propriamente dito formado por fragmentos ou cromossomos inteiros que são perdidos ou não incluídos no núcleo principal das células filhas durante a metáfase, envoltos em um envelope nuclear que assume a morfologia de um núcleo interfásico igual aos núcleos principais se apresentando como estruturas extra cromossômicas (VRAL et al, 2011; TOUIL et al, 2000; FENECH, 2008).

As características fundamentais observadas para a detecção do micronúcleo são a sua morfologia, a qual deve ser igual à dos núcleos principais, porém um pouco menores, com variação no diâmetro entre 1/3 a 1/6 do diâmetro do núcleo principal; devem estar situados no mesmo citoplasma que os núcleos principais mantendo a mesma coloração dos demais sem apresentar refringência da luz microscópica; e o micronúcleo deve estar separado do núcleo principal sem estar sobreposto a este (Figura 15) (MURGIA et a, 2008; FENECH, 2000).



**Figura 15.** Ilustração da formação de micronúcleos a partir de cromossomos inteiros com atraso na migração para os polos, cromossomos dicêntricos e fragmentos acêntricos.

**Fonte.** Adaptado de Fenech, 2000.

O método é aplicado no estágio binuclear do ciclo celular pelo bloqueio da citocinese com adição de citocalasina B, um inibidor do anel de microfilamentos impedindo a divisão citoplasmática das células binucleadas na cultura celular mantendo preso o micronúcleo envolto pelo citoplasma. A identificação do micronúcleo não define nitidamente sua origem, conforme pode-se observar na Figura 16, uma célula binucleada obtida pelo método de bloqueio de citocinese com a presença de um micronúcleo (FENECH, 2000; FENECH; MORLEY,198).

Neste cenário, os estudos citogenéticos podem contribuir para uma melhor compreensão dos impactos biológicos da exposição humana às radiações, complementando assim a dosimetria física de profissionais expostos ocupacionalmente a RI.

### **3 Objetivos**

#### **3.1 Objetivo geral**

O objetivo deste estudo consiste na avaliação citogenética de técnicos em radiologia expostos ocupacionalmente à radiação ionizante.

#### **3.2 Objetivos específicos**

1. Determinar a frequência de aberrações cromossômicas instáveis em técnicos em radiologia expostos ocupacionalmente à radiação ionizante caracterizado como grupo exposto;
2. Comparar a frequência de aberrações cromossômicas instáveis radioinduzidas encontrada em indivíduos expostos com a frequência de aberrações cromossômicas instáveis encontrada no grupo controle;
3. Determinar a frequência de micronúcleos em técnicos em radiologia expostos ocupacionalmente à RI caracterizado como grupo exposto;
4. Comparar a frequência de micronúcleos radioinduzidos encontrada nos indivíduos expostos com a frequência de micronúcleos encontrada no grupo controle;
5. Estabelecer correspondência entre os dados obtidos nesta análise com os resultados de outros estudos, fornecendo maiores informações para a dosimetria biológica individual.

## **4 Materiais e métodos**

### **4.1 Coleta de dados**

O projeto foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa/Sistema Nacional de Informações Sobre Ética em Pesquisas envolvendo Seres Humanos CEP/PUC GOIÁS (Número do Parecer: 2.530.366). Todos os participantes foram submetidos a um questionário, conforme Apêndice IX, para avaliação do tempo de exercício que atuam na área, quais os tipos de aparelho que manusearam, tempo de exposição à radiação ionizante, ocorrência de exposição acidental ocupacional à radiação ionizante, dados pessoais e intercorrência de possíveis fatores externos relativos a hábito tabagista, hábito etilista, exames e/ou procedimentos cirúrgicos realizados anualmente, utilização de medicamentos de uso contínuo após a integração na área de radiologia que possam interferir no resultado da análise cromossômica, bem como assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (Apêndice X). Todos os participantes que fazem uso do tabaco, álcool ou medicamentos de uso contínuos foram inclusos no estudo.

O delineamento sobre o estudo foi apresentado aos técnicos em radiologia que aceitaram participar do estudo voluntariamente, em reunião durante o 1º Encontro da Avaliação da Saúde Genética do Trabalhador em Radiologia, organizado pela equipe executora deste estudo. Este encontro além de apresentar os detalhes técnicos deste estudo, ressaltou a importância do monitoramento de populações expostas às radiações, inclusive os aspectos de saúde, sinais e sintomas e demais complicações da exposição humana às radiações ionizantes.

### **4.2 Grupo amostral**

O grupo exposto (GE) foi constituído por 20 técnicos em radiologia, expostos ocupacionalmente à radiação ionizante, com idade variando entre 25 e 65 anos, com mais de 3 anos de exercício da profissão, com atuação em hospitais públicos e clínicas particulares do Estado de Goiás, que manuseiam e/ou se expõem à alguma forma de radiação e de ambos os sexos. Um grupo de 21 indivíduos randomicamente escolhidos entre a população de Goiânia, sem histórico de exposição à radiação ionizante recente, foi utilizado como grupo controle (GC) com sexo e idade pareados ao GE. Os linfócitos foram obtidos por punção venosa de 10 mL de sangue periférico, utilizando seringa estéril e descartável, contendo o anticoagulante heparina sódica 5000 U/mL.

### **4.3 Cultura de linfócitos T**

Para cada amostra biológica, foram separadas alíquotas de plasma, anel leucocitário e hemácias. Para cada indivíduo foram estabelecidas duas culturas, sendo uma para análise de aberrações cromossômicas e a outra para análise de micronúcleos. O meio utilizado no procedimento foi o Meio Completo RPMI-1640 por ser um meio composto por vários componentes com sais, aminoácidos e vitaminas, necessários para o crescimento celular normalmente utilizado em culturas de células de animais e de humanos. O Meio RPMI-1640 foi enriquecido com soro fetal bovino, pela capacidade deste de estimular o crescimento celular como um nutriente para a célula, juntamente com a Fitohemaglutinina (PHA) - proteína extraída de uma lectina da família *Phaseolus vulgaris*, com capacidade de induzir os linfócitos T maduros circulantes na corrente sanguínea, em linfoblastos estimulando novas divisões e proliferação celular (BENDER et al, 2009; FENECH; MORLEY et al, 1986).

As concentrações dos componentes em cada cultura foram de 4 mL meio completo RPMI-1640 acrescido 1 mL de sangue periférico heparinizado, 0,1 mL de L-Glutamina, 1 mL de soro fetal bovino, 0,1 mL de PHA, utilizando câmara de fluxo laminar. As culturas de linfócitos foram realizadas em à 37° C com 5% de CO<sub>2</sub>.

### **4.4 Cultura para análise de micronúcleos**

A análise dos micronúcleos foi feita pelo método adaptado proposto por Fenech e Morley (1986), que utilizou para o bloqueio da citocinese a citocalasina B como procedimento de escolha para identificação de micronúcleos observados em células binucleadas.

Após 44 horas (hs) de cultura, foram adicionados no Meio 30 µL de citocalasina B (6µg/mL). As culturas foram devolvidas à estufa por mais 28 hs. No final das 72 hs, a cultura foi ressuspensa e transferida para tubos cônicos estéreis e centrifugados por 10 minutos a 1000 rpm. O sobrenadante foi aspirado e descartado. Foi acrescentado lentamente na parede do tubo, 10 mL de solução hipotônica previamente pré-aquecida de KCl (0,075 M), com agitação a 1000 rpm e levado para a estufa à 37° C por 30 minutos. Decorrido este tempo foram adicionados 3 mL de solução fixadora Carnoy (que consiste em 3 partes de álcool metílico para 1 parte de ácido acético) gelada e mantida à temperatura ambiente por 10 minutos. Centrifugou-se a 1000 rpm por 10 minutos, e posteriormente o sobrenadante foi desprezado e o sedimento foi lavado novamente com a solução fixadora. Este procedimento foi repetido por duas ou três vezes até a obtenção da camada esbranquiçada e límpida de

linfócitos em aproximadamente 1 mL de Carnoy. O precipitado final, após ressuspensão, foi gotejado em lâminas de vidro limpas e desengorduradas.

#### **4.5 Cultura para análise de aberrações cromossômicas**

De acordo com Moorhead et al. (1960) adaptado, para cada indivíduo foi estabelecido uma cultura para análise de aberrações cromossômicas instáveis. Após 47 hs de cultivo foi acrescentado 0,1 mL de colchicina no Meio para bloqueio da divisão celular na metáfase e posteriormente foi devolvido para a estufa à 37°C. Após 48 hs a amostra foi transferida para um tubo cônico de 10 mL estéril e centrifugada a 1.000 rpm por 10 minutos sendo desprezado o sobrenadante em seguida até obter 1 mL de material. Foi acrescentado lentamente na parede do tubo, 10 mL de solução hipotônica previamente pré-aquecida de KCl (0,075 M), com agitação a 1000 rpm e levado para a estufa à 37° C por 30 minutos. Decorrido este tempo foram adicionados 3 mL de solução fixadora Carnoy gelado e mantido em temperatura ambiente por 10 minutos. Centrifugou-se a 1000 rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento foi lavado com solução fixadora. Este procedimento foi repetido por duas ou três vezes até a obtenção da camada esbranquiçada e límpida de linfócitos em aproximadamente 1 mL de Carnoy. O precipitado final, após ressuspensão, foi gotejado em lâmina de vidro.

#### **4.6 Preparo das lâminas, gotejamento e coloração**

As lâminas foram limpas com álcool, desengorduradas com sabão e água e armazenadas em recipiente contendo água destilada e mantidas na geladeira. A lâmina foi retirada do reservatório e colocada na horizontal em banho-maria à 60° C para fazer o gotejamento de 3 a 4 gotas da amostra ressuspendida.

Foram preparadas 5 a 8 lâminas para cada caso. As lâminas secaram em temperatura ambiente e toda sua superfície foi corada utilizando solução de Giemsa 4 % por 5 minutos. Foi retirado o excesso do corante em papel adsorvente e após secas, foram analisadas sob microscopia de luz.

#### **4.7 Análise de aberrações cromossômicas**

A análise cromossômica foi feita em cromossomos metafásico analisadas inicialmente em microscopia de luz na objetiva de 10X, sendo observadas metáfases com qualidade técnica, e posteriormente com óleo de imersão na objetiva de 100X. Foram incluídas

metáfases contendo mais de 45 cromossomos, bom espalhamento e o mínimo de sobreposição. As análises incluíram a qualidade da coloração, a integridade dos cromossomos e presença de alterações cromossômicas numéricas e/ou estruturais. Para cada participante foram analisadas 100 metáfases.

#### **4.8 Análise de micronúcleos**

As lâminas de micronúcleos foram analisadas inicialmente em microscopia de luz branca na objetiva de 10X, sendo observadas células binucleadas e posteriormente na objetiva de 40X e confirmadas na objetiva de 100X. As análises incluíram a qualidade da coloração, a preservação e integridade dos núcleos bem delimitados pelo citoplasma, presença ou ausência de micronúcleos. Para cada participante foram analisadas 1000 células binucleadas.

#### **4.9 Análise de dados**

A análise estatística descritiva foi realizada para caracterizar o GE e GC, assim como as informações observadas no questionário aplicado aos grupos estudados, assim como para determinar as frequências de micronúcleos e as frequências de aberrações cromossômicas instáveis de ambos os grupos.

Os resultados da frequência micronúcleos e a frequência de aberrações cromossômicas instáveis do grupo exposto e do grupo controle foram organizados em planilhas do Microsoft Excel®, constituindo um banco de dados anexados como apêndices do I ao VIII. Foi utilizada a análise estatística de *Kruskal-Wallis*®, utilizando o pacote estatístico *BioStat L.E. ® 5.0* para comparar as médias da idade do grupo controle e do grupo exposto e para comparar as médias das frequências de micronúcleos e das frequências de aberrações cromossômicas instáveis. Para todos os testes, o valor de  $p \leq 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## 5 Resultados e discussão

### 5.1 Teste de micronúcleos

Os resultados descritivos do grupo amostral, incluindo sexo, idade, análise do consumo de tabaco e álcool e a média das frequências dos micronúcleos encontram-se apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Média e desvio padrão da idade, sexo, tabagismo, etilismo.

<b>Grupo</b>	<b>Média da Idade/DP (anos)</b>	<b>Sexo (M/F)</b>	<b>Tabagista (%)</b>	<b>Etilista (%)</b>
<b>Grupo Controle (n=21)</b>	<b>39,7±11,1</b>	<b>15/6</b>	<b>9,5</b>	<b>61,9</b>
<b>Grupo Exposto (n=20)</b>	<b>40,0±9,9</b>	<b>16/4</b>	<b>18,2</b>	<b>63,6</b>

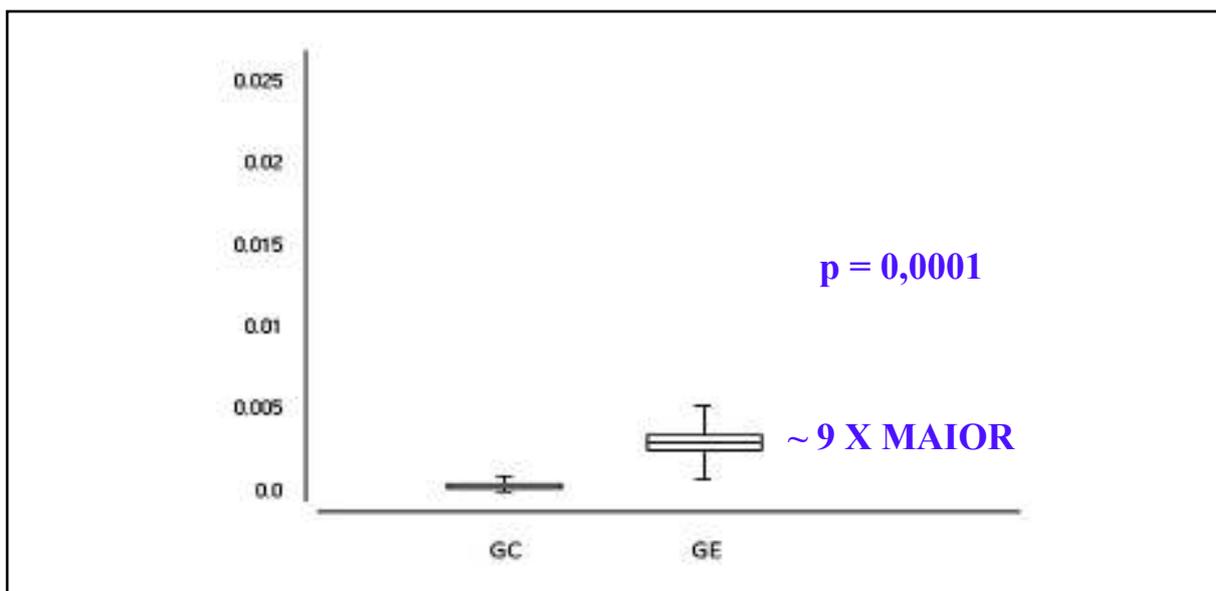
**Legenda.** DP = Desvio padrão; M = Sexo masculino; F = Sexo feminino.

O grupo controle (GC) foi constituído por 21 indivíduos sendo 15 homens (71,4%), com idade variando entre 22 anos a 60 anos e 6 mulheres (28,6%), com idade entre 27 anos a 62 anos. A média da idade e desvio padrão no grupo controle foi de 39,7±11,1.

O grupo exposto (GE) foi constituído por 20 indivíduos, sendo 16 homens (80%), com idade variando entre 25 anos a 63 anos e 4 mulheres (20%), com idade entre 36 anos a 52 anos. A média da idade e desvio padrão no grupo exposto de 40±9,9 anos.

Quanto ao consumo de tabaco e de álcool no GC, 9,5% são tabagistas e 61,9% são etilistas, enquanto que no GE, 18,2% são tabagistas e 63,6% etilistas.

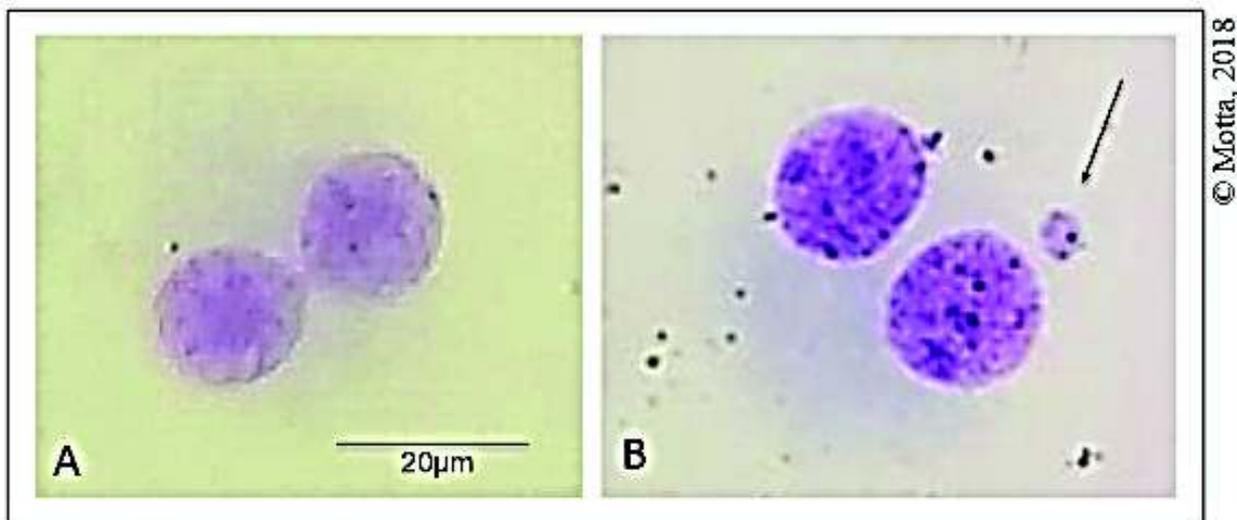
A Figura 16 apresenta a média das frequências de micronúcleos e desvio padrão foi de 0,0004±0,001 para o GC e de 0,0035±0,003 para o GE, uma diferença significativa ( $p=0,0001$ ) de 8,75X maior no GE, quando comparada com o GC.



**Figura 16.** Média frequência de micronúcleos do grupo controle (GC) e do grupo exposto (GE). Teste Kruskal-Wallis.

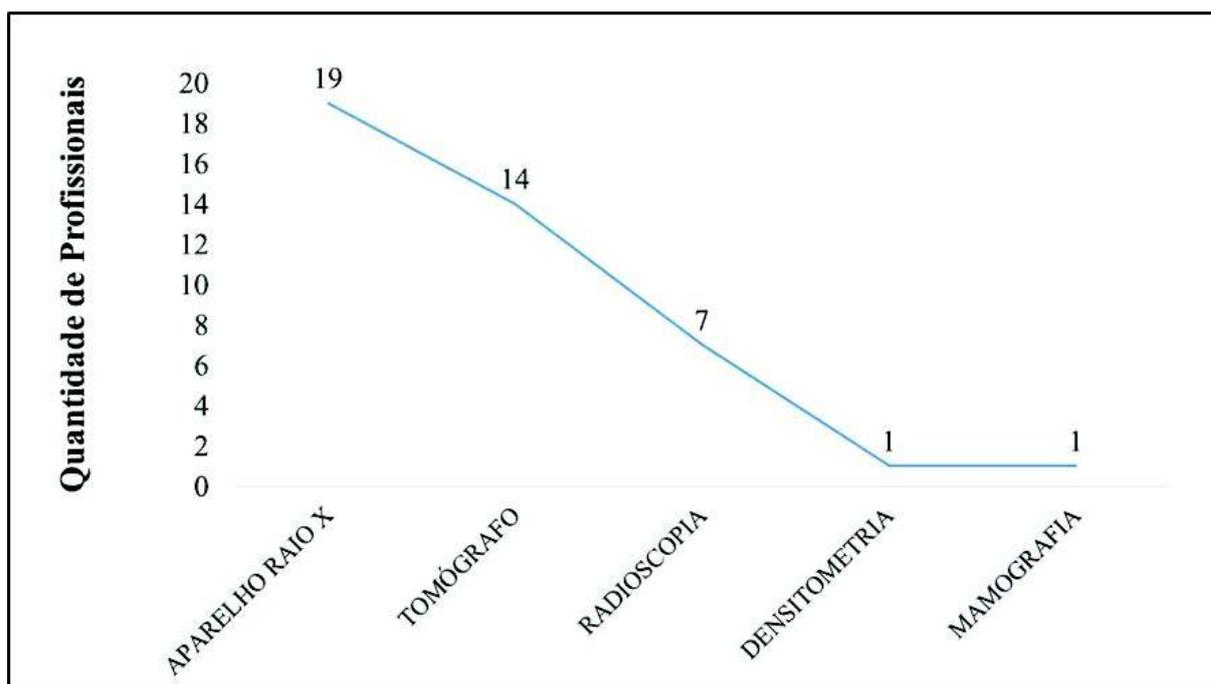
Esses resultados estão de acordo com a literatura, visto que a exposição às radiações pode induzir o aumento na frequência de micronúcleos. Os MNs têm sido considerados bons marcadores de exposição aguda e/ou crônica aos agentes mutagênicos (SILVA et al, 2016). Por outro lado, neste estudo o tabagismo, etilismo, a idade e o sexo dos indivíduos não influenciaram na frequência dos micronúcleos.

Estudos de Gajski e colaboradores (2017) mostram que o consumo de tabaco e álcool pode interferir na frequência desses marcadores, sendo importante um delineamento equilibrado entre os indivíduos expostos com os indivíduos pertencentes ao grupo controle, combinando-os por sexo e idade (GAJSKI et al., 2017; BOURAQUI et al., 2013). A Figura 17 evidencia um linfócito T binucleado exibindo micronúcleo observado em indivíduos expostos ocupacionalmente à radiação ionizante



**Figura 17.** Fotomicrografia de linfócitos T binucleados de indivíduos ocupacionalmente expostos à radiação ionizante. Em [A] célula binucleada sem micronúcleo. Em [B] célula binucleada apresentando micronúcleo conforme indicado pela seta. Aumento 1000X.

A Figura 18 mostra a quantidade de indivíduos do grupo exposto (GE) que relatou trabalhar em mais de uma instituição com fontes de radiação diversas, manuseando diferentes tipos de instrumentos até o ano de 2017. Dentre os 20 técnicos em radiologia avaliados, 95% dos profissionais manusearam aparelhos de raios X, 70% aparelhos de tomografia, 35% aparelhos de radioscopia, 5% aparelhos de densitometria e 5% aparelhos de mamografia.



**Figura 18.** Quantidade de profissionais inclusos na análise da média das frequências de micronúcleos e quais tipos de aparelhos que manusearam, respectivamente.

## 5.2 Teste de quebras cromossômicas

Os resultados descritivos do grupo amostral, incluindo sexo, idade, análise do consumo de tabaco e álcool e a média das frequências das aberrações cromossômicas instáveis, quebras cromatídicas, cromossômicas, fragmentos acêntricos e cromossomos em anel, encontram-se apresentados na Tabela 2.

O grupo controle (GC) foi constituído por 11 indivíduos sendo 7 homens (63,7%), com idade variando entre 22 anos a 51 anos e 4 mulheres (36,3%), com idade entre 27 anos a 42 anos. A média da idade e desvio padrão no grupo controle foi de  $37,2 \pm 8,0$ .

O grupo exposto (GE) foi constituído por 11 indivíduos, sendo 9 homens (81,8%), com idade variando entre 25 anos a 63 anos e 2 mulheres (18,2%), com idade entre 36 anos a 49 anos. A média da idade e desvio padrão no grupo exposto de  $43,4 \pm 12$  anos.

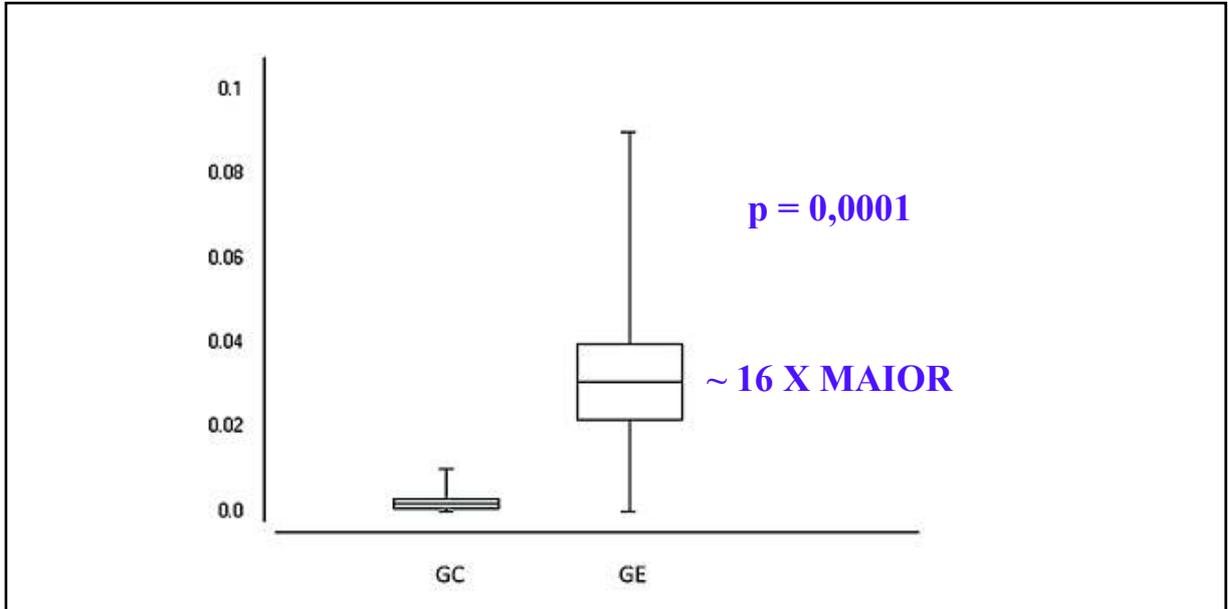
**Tabela 2.** Média e desvio padrão da idade, sexo, tabagismo, etilismo dos grupos controle e exposto.

<b>Grupo</b>	<b>Média da Idade/DP (anos)</b>	<b>Sexo (M/F)</b>	<b>Tabagista (%)</b>	<b>Etilista (%)</b>
<b>Grupo Controle (n=11)</b>	<b>37,2±8,0</b>	<b>7/4</b>	<b>18,2</b>	<b>63,6</b>
<b>Grupo Exposto (n=11)</b>	<b>43,4±12,0</b>	<b>9/2</b>	<b>9,1</b>	<b>54,5</b>

**Legenda.** DP = Desvio padrão; M = Sexo masculino; F = Sexo feminino.

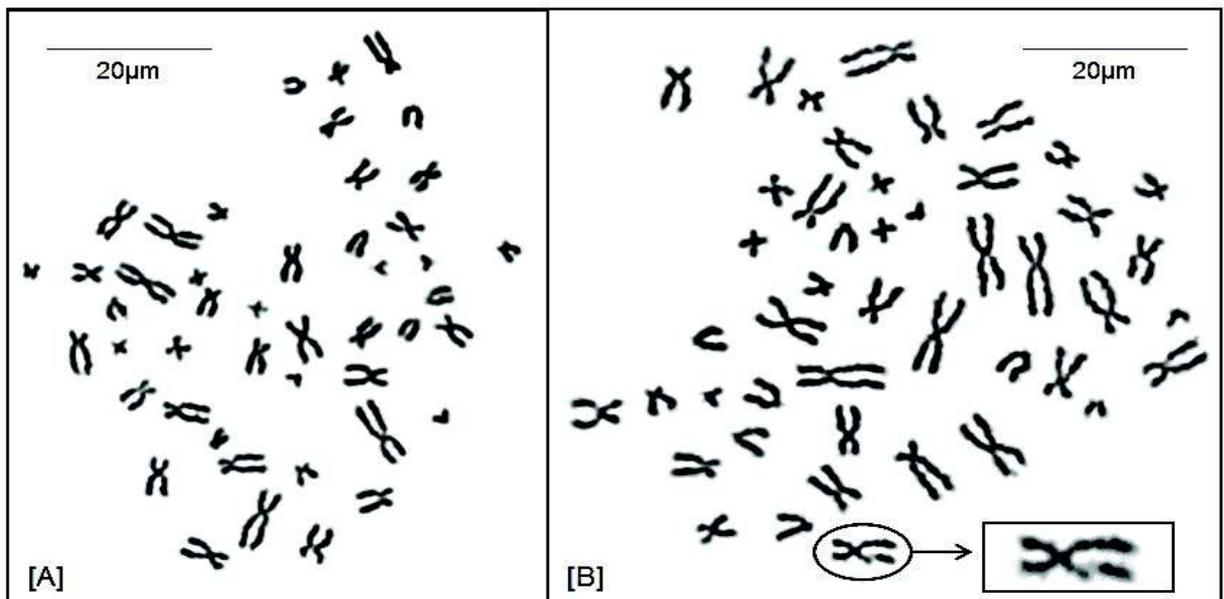
Quanto ao consumo de tabaco e de álcool no GC, 18,2% são tabagistas e 63,6% são etilistas, enquanto que no GE, 9,1% são tabagistas e 54,5% etilistas.

A Figura 19 apresenta a média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis e desvio padrão foi de  $0,002 \pm 0,004$  para o GC e de  $0,031 \pm 0,030$  para o GE, uma diferença significativa ( $p=0,0001$ ) de 15,5X maior no GE, quando comparada com o GC.



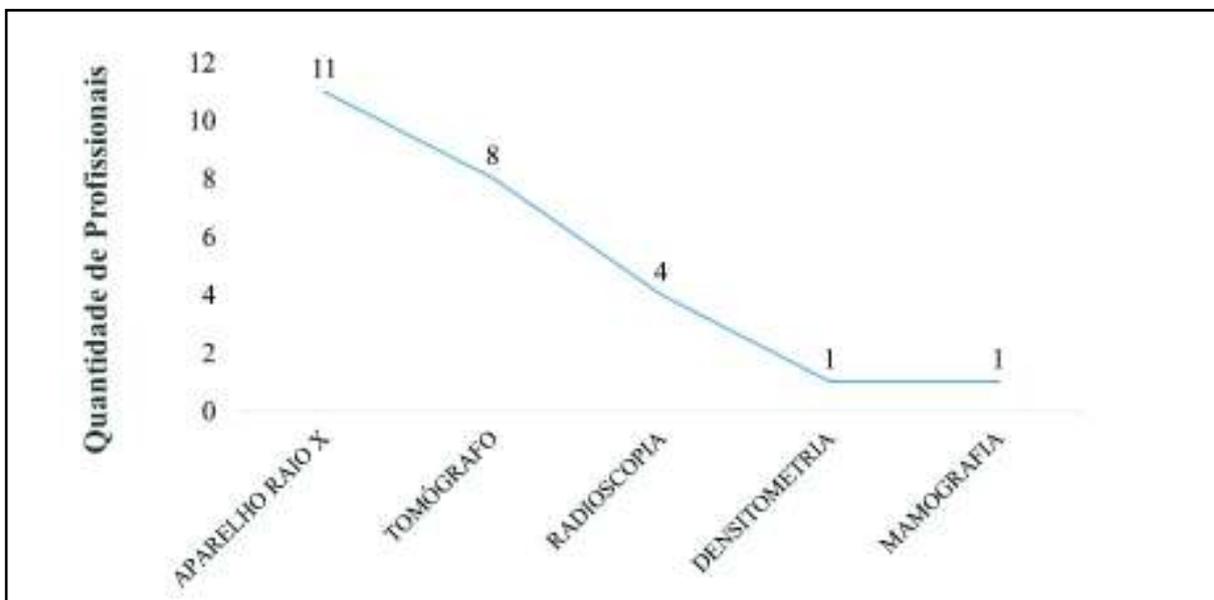
**Figura 19.** Média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis do grupo controle (GC) e do grupo exposto (GE). Teste Kruskal-Wallis.

A Figura 20 destaca uma metáfase exibindo uma quebra cromatídica em um de seus cromossomos observada em indivíduos expostos ocupacionalmente à radiação ionizante.



**Figura 20.** Fotomicrografias de cromossomos metafásicos humanos. Em [A] metáfase exibindo número cromossômico e estrutura sem alterações. Em [B] metáfase evidenciando cromossomo (destacado no círculo) com quebra cromatídica em um dos braços longos (ampliado em destaque). Ampliação de 1000X.

Dentre os 11 indivíduos expostos que fizeram parte da análise de aberrações cromossômicas instáveis, 55% dos profissionais manusearam aparelhos de raio X, 40% aparelhos de tomografia, 20% aparelhos de radioscopia, 5% aparelhos de densitometria e 5% aparelhos de mamografia (Figura 21).



**Figura 21.** Quantidade de profissionais incluídos na análise da média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis e os tipos de aparelhos que manusearam, respectivamente.

Qian e colaboradores (2016) analisaram 1392 trabalhadores chineses expostos a RI, sendo que destes, 621 trabalhadores eram expostos à radiação do setor de saúde e 771 eram trabalhadores com exposição em empresas industriais. Neste estudo, tanto a frequência de micronúcleos quanto a frequência de aberrações cromossômicas instáveis, nos dois grupos de trabalhadores expostos, foi significativamente maior quando comparadas com as frequências observadas no grupo controle.

Estes dados corroboram com os achados deste estudo, indicando que a exposição a RI pode causar uma elevação na média das frequências de micronúcleos e de aberrações cromossômicas instáveis.

Abtahi e colaboradores (2017) apresentaram um estudo que permitiu fazer uso da dosimetria citogenética para comprovar os danos que a RI pode provocar no organismo, sendo utilizado o teste de micronúcleos como escolha de metodologia mais empregada. Por ser pouco complexo e de fácil acesso, é muito adequado para o monitoramento de pessoas expostas acidentalmente ou ocupacionalmente a RI. Os resultados permitiram determinar os danos cromossômicos induzidos proporcionais a dose exposta, estimando a medição dos efeitos biológicos identificadas pela quantificação de micronúcleos. Este resultado confirma a

hipótese levantada no nosso estudo, justificando o uso da técnica de micronúcleo por ser de baixo custo e eficaz para a detecção de agravos ao genoma humano.

Manivannan e colaboradores (2018) realizaram um estudo para detectar aberrações cromossômicas pela exposição às altas doses de radiação, utilizando pacientes com câncer antes e depois da primeira fração da radioterapia. Os autores concordam que a dosimetria biológica é um importante complemento para avaliação de exposição acidental e/ou ocupacional a RI, porém, a análise de indução de danos cromossômicos em linfócitos T do sangue periférico em cultura de 48 horas demanda um tempo para obtenção do resultado tornando-a ineficaz para cuidados imediatos devido à gravidade de uma alta exposição acidental. Foram identificadas as aberrações cromossômicas do tipo cromossomo em anel e cromossomo dicêntrico, assim como fragmentos acêntricos anteriores a terapia, e posteriormente, houve um aumento significativo dose induzida nas frequências destes marcadores de exposição, confirmando a relação dose dependente em todos os voluntários do estudo. Este resultado infere que a exposição a RI induz aberrações cromossômicas instáveis dependendo da dose que o organismo está sendo exposto.

Segundo o estudo de Djokovic-Davidovic e colaboradores (2016) foram feitas análises citogenéticas periódicas de 65 profissionais de medicina nuclear com dose cumulativa de 5 anos, medida por dosímetro de monitoramento de dose individual através do exame periódico, utilizada para quantificação de aberrações cromossômicas instáveis e micronúcleos. Estes profissionais são ocupacionalmente expostos a baixas doses de ionização a radiação de acordo com o Regulamento sobre Limites de Exposição a RI e Medições para Avaliação dos Níveis de Exposição-Boletim Oficial RS 86/2011.

De acordo com os resultados dos autores foi observada uma frequência aumentada de aberrações cromossômicas instáveis no último teste realizado indicando incremento nos danos cromossômicos induzido pela exposição da radiação ionizante, mesmo que seja em baixas doses. Diferentemente neste estudo, quando comparado com os nossos resultados, não houve diferença significativa nas frequências de aberrações cromossômicas instáveis quando comparados no exame periódico inicial e final, sugerindo que a dose cumulativa de 5 anos não influencia o aumento das frequências de aberrações cromossômicas instáveis. Essas análises ainda demonstram um aumento das células do sistema imune, supostamente devido ao aumento do estresse oxidativo que induz a ação do sistema de reparo (DJOKOVIC-DAVIDOVIC et al, 2016).

Ghobadi e colaboradores (2017) fizeram experimentos com ratos divididos em grupos diversos, para avaliar a radiação e dose de melatonina utilizando concentrações diferentes administradas antes, durante e após a indução de radiação. O estudo teve como proposta, confirmar o efeito direto nas células e nos tecidos adjacentes em que a radiação ionizante causa o estresse oxidativo no organismo. Como consequência deste processo, estão envolvidas as rupturas de DNA, aberrações cromossômicas, resposta inflamatória, morte celular, mutagênese, formação de micronúcleos e risco de carcinogênese.

Utilizando o método de micronúcleos, os autores demonstraram que um grupo utilizando a melatonina teve um resultado de acordo com as diferentes doses administradas, sendo que seu uso pode reduzir significativamente a atividade oxidativa induzida pela radiação, agindo como um inibidor das alterações cromossômicas, devido à redução na frequência de micronúcleos, sendo considerado um radioprotetor (GHOBADI et al, 2017).

Técnicas e avanços tecnológicos estão sendo desenvolvidos para melhorar o rendimento das informações e resultados mais afinados, com perspectivas de que seja possível a detecção precoce e prevenção mais significativa para a saúde do profissional exposto ocupacionalmente a RI, como o uso de plataformas de alto rendimento, citometria de fluxo para analisar a expressão de  $\gamma$ H2AX induzida por radiação, otimização de pontuação microscópica, identificação da indução de dano e seu mecanismo de reparo, com o intuito de melhorar a triagem radiológica para todos indistintamente (VINNIKOV, 2017; QIAN et al, 2016; ACHEL et al, 2016; BARNARD et al, 2014).

O teste de micronúcleos e o estudo das aberrações cromossômicas instáveis têm sido considerados como uma metodologia padrão ouro para avaliar danos induzidos no DNA causados pela exposição à radiação ionizante em humanos, por conseguir detectar indução de danos pela exposição em baixas doses com alta especificidade (BERTUCCI, 2016).

## 6 Conclusão

Os resultados dos testes de micronúcleos e de aberrações cromossômicas induzidas pela exposição ocupacional em trabalhadores em radiologia permitem concluir que:

- A frequência de aberrações cromossômicas instáveis em técnicos em radiologia expostos ocupacionalmente à radiação ionizante caracterizado como grupo exposto foi de 0,031;
- A frequência de aberrações cromossômicas instáveis do grupo exposto foi ~16 vezes maior do que no grupo controle;
- A frequência de micronúcleos em técnicos em radiologia expostos ocupacionalmente à RI caracterizado como grupo exposto foi de 0,0035;
- A frequência de micronúcleos do grupo exposto foi ~ 9 vezes maior do que no grupo controle.
- O teste de micronúcleos e o teste de quebras cromossômicas permitiram diferenciar o grupo de profissionais expostos à radiação ionizante de indivíduos não expostos, sendo estes testes considerados bons marcadores de exposição;
- Estudos adicionais contendo um maior número de indivíduos devem ser propostos na tentativa de contribuir para uma maior elucidação dos efeitos biológicos da radiação ionizante em humanos.

Apesar de algumas limitações pela falta de informações do grupo de indivíduos expostos para um melhor delineamento e interpretação dos resultados, os dados gerados visam ajudar a uma melhor compreensão dos efeitos que a radiação ionizante causa no organismo, principalmente por sua associação com a carcinogênese.

## 7 Referências

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. L.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. Boston: Elsevier, 2015.
- ABTAHI, S. M. M. et al. 2017. **Dependence of micronuclei assay on the depth of absorbed dose**. *Reports of practical oncology and radiotherapy*, v. 22, p. 470-476.
- ACHEL, D. G.; SERAFIN, A. M.; AKUDUGU, J. M. 2016. **Flow cytometry-assisted quantification of cH2AX expression has potential as a rapid high-throughput biodosimetry tool**. *Radiat Environ Biophys*, v. 55, n. 3, p. 349-57.
- [AINSURY, E. A. et al. 2014. Inter-and intra-laboratory comparison of a multibiodosimetric approach to triage in a simulated, large scale radiation emergency. \*Int J Radiat Biol\*, v. 90, n. 2, p. 193-202.](#)
- ALBERTS, G. C. et al. 2009. **Assessment of genetic damage in peripheral blood of human volunteers exposed (whole-body) to a 200 IT, 60 Hz magnetic field**. *Int J Radiat Biol*, v. 85, n. 2, p. 144-152.
- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J. **Biologia molecular da célula**. 4ª edição. Nova Iorque: Garland Science, 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26921/>. Acesso em: 16 jul 2017.
- AMARAL, A. 2002. **Trends in Biological Dosimetry: an overview**. *Arquivo Brasileiro de Biologia e Tecnologia*, Curitiba, v. 45 (Número Especial). Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-89132002000500017](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132002000500017). Acesso em: 20 jun 2017.
- AZZAM, E. I.; JAY-GERIN, JEAN-PAUL; PAIN, D. 2012. **Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury**. *Cancer Letters*, v. 327, n. 1-2, p. 48-60. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383511007592?via%3Dihub>. Acesso em: 06 ago 2017.
- AZEVEDO, A. C. P. **Radioproteção em serviços de saúde**. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro. 2012. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/biossegurancahospitalar/dados/material10.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2017.
- BARBOZA, A. E.; MARTINS, C. P. de S. **Metodologia de investigação de doses elevadas em radiodiagnóstico médico**. Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD). Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Sociedade Brasileira de Proteção Radiológica – SBPR. Rio de Janeiro, RJ, Brasil, abr. 2013.
- BARROZO, P. **Introdução à Física Nuclear e de Partículas Elementares**/Andrei Smirvon. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe, CESAD, 2012.
- BARNARD, S. et al. 2014. **The first gamma-H2AX biodosimetry intercomparison exercise of the developing European biodosimetry network RENEB**. *Radiat Prot Dosim* v. 164, p. 265-270.

BERTUCCI, A. 2016. **In vitro RABiT measurement of dose rate effects on radiation induction of micronuclei in human peripheral blood lymphocytes.** *Radiation and environmental biophysics*, v. 55, n. 1, p. 53-59.

BIRAL, A. R. **Radiações Ionizantes para médicos, físicos e leigos.** 1. ed. Florianópolis, 2002.

BONASSI, S. et al. 2004. **Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans: an epidemiologic perspective.** *Cytogenetic Genome Research*, v. 104, n. 1-4, p. 376-382.

BOURAOUI, S. et al. 2013. **A Cytogenetic Approach to the effects of low levels of ionizing radiation (Ir) on the exposed tunisian hospital workers.** *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, v. 26, n. 1, p. 144-154. Disponível em: <http://ijomeh.eu/A-cytogenetic-approach-to-the-effects-of-low-levels-of-ionizing-radiation-ir-on-the-exposed-tunisian-hospital-workers,2222,0,2.html>. Acesso em: 02 ago 2017.

BRASIL. Decreto-lei nº 7.394, de 29 de outubro de 1985. **Regula o Exercício da Profissão de Técnico em Radiologia**, e dá outras providências. Brasília, DF, 29 out. 1985. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/LEIS/L7394.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L7394.htm)>. Acesso em: 16 nov 2016.

BRASIL. Decreto nº 92.790, de 17 de junho de 1986. Regulamenta a Lei nº 7.394, de 29 de outubro de 1985. **Regula o exercício da profissão de Técnico em Radiologia** e dá outras providências. Brasília, DF, 17 jun. 1986. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/D92790.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/D92790.htm)>. Acesso em: 20 nov 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria 453, de 01 de junho de 1998. Diretrizes de Proteção Radiológica em Radiodiagnóstico Médico e Odontológico. **Aprova o Regulamento Técnico** que estabelece as diretrizes básicas de proteção radiológica em radiodiagnóstico médico e odontológico, dispõe sobre o uso dos raios-x diagnósticos em todo território nacional e dá outras providências. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Brasília, DF, jun. 1998. Disponível em: <https://www.phymed.com.br/fisica-medica/site/textos/portaria453.PDF>. Acesso em: 10 dez 2016.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria 485, de 11 novembro de 2005. **NR 32: Segurança e saúde no trabalho em serviços de saúde.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 nov. 2005, seção 1, p. 80.

BRASIL. Comissão Nacional de Energia Nuclear. Ministério de Ciência, Tecnologia e Inovação. **Diretrizes Básicas de Proteção Radiológica.** Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Norma CNEN NN 3.01. Resolução 164/14, mar/2014. Disponível em: <http://appasp.cnen.gov.br/seguranca/normas/pdf/Nrm301.pdf>. Acesso em: 19 out 2016.

BRASIL. Comissão Nacional de Energia Nuclear. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. **Princípios Básicos de Segurança e Proteção Radiológica.** 4 ed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, jul. 2014. Disponível em: <http://www.cnen.gov.br/component/content/article?id=170>. Acesso em: 23 nov 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde, Técnico em Radiologia. **Radiofármacos**, 2016. Disponível em: <<http://rle.dainf.ct.utfpr.edu.br/hipermidia/index.php/9-uncategorised/532-total>>. Acesso em 27 jun. 2016. Acesso em: 03 out 2016.

BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica. **Catálogo Nacional de Cursos Técnicos**. 3. ed. Brasília, p. 37, 2016. Disponível em: [http://portal.mec.gov.br/index.php?option=com\\_docman&view=download&alias=41271-cnct-3-edicao-pdf&category\\_slug=maio-2016-pdf&Itemid=30192](http://portal.mec.gov.br/index.php?option=com_docman&view=download&alias=41271-cnct-3-edicao-pdf&category_slug=maio-2016-pdf&Itemid=30192). Acesso em: 04 dez 2016.

BUDECHESKI, S. de O. 2016. **Avaliação dosimétrica de indivíduos ocupacionalmente expostos (IOE) em medicina nuclear**. *Revista TechnoEn.*, Ponta Grossa, v. 1, n. 13, jan-dez. Disponível em: <http://www.faculdadespontagrossa.com.br/revistas/index.php/technoeng/article/view/179/155>. Acesso em: 10 jan 2017.

CANDÉIAS, S. M.; TESTARD, I. 2015. **The many interactions between the innate immune system and the response to radiation**. *Cancer Letters*, v. 368, n. 2, p. 173-178. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383515000981?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar 2017.

CARDIS, E. et al. 2005. **Risk of cancer after low doses of ionising radiation - retrospective cohort study in 15 countries**. *Bmj*, v. 331, n. 77. Disponível em: <http://www.bmj.com/content/331/7508/77>. Acesso em: 26 nov 2016.

CHAPLIN, M. D. **Overview of the immune response**. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 125 (Suplem, 2), n. 2. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674909028371?via%3Dihub>. Acesso em: 19 mar 2017.

CHO, Y. H. et al. 2009. **Micronucleus-centromere assay and DNA repair gene polymorphism in lymphocytes of industrial radiographers**. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 680, n. 1-2, p. 17-24. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571809003064?via%3Dihub>. Acesso em: 20 jan 2017.

CHUA, M. L. K. et al. 2011. **Residual DNA and chromosomal damage in ex vivo irradiated blood lymphocytes correlated with late normal tissue response to breast radiotherapy**. *Radiotherapy and Oncology*, v. 99, n. 3, p. 362-366. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167814011002805?via%3Dihub>. Acesso em: 15 abr 2017.

COSTA, E. O. A. *Estudo Genético Retrospectivo de Mutações Germinativas em LOCIS TR de Indivíduos Potencialmente Expostos à Radiação Ionizante*. 53p. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2010.

COSTA, E. O. A. et al. 2011. **The effect of low-dose exposure on germline microsatellite mutation rates in humans accidentally exposed to caesium-137 in Goiânia**. *Mutagenesis*, v. 26, n. 5, p. 651-655. Disponível em: <https://academic.oup.com/mutage/article/26/5/651/1033761>. Acesso em: 28 jun. 2017.

DOUDNA, J. A.; COX, M. **Biologia Molecular Princípios e Técnicas**. Porto Alegre: Artmed, 2012.

CRUVINEL, J. A. A. et al. 2014. **Avaliação de Auto-Anticorpos em Células HEp-2 nos Indivíduos Expostos ao <sup>137</sup>Cs no Acidente Radioativo de Goiânia.** *Estudos*, v. 41, n. 3, p. 603-613.

DA CRUZ, A. D. et al. 1997. **Radiation risk estimation in human populations: Lessons from the radiological accident in Brazil.** *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 373, n. 2, p. 207-214. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027510796001996>. Acesso em: 16 mar 2017.

DA CRUZ, A.; GLICKMAN, B. W. 1997. **Monitoring the genetic health of humans accidentally exposed to ionizing radiation of Cesium-137 in Goiania, Brazil.** *International Conference Goiania 10 years later: the radiological accident with Cs-137, Brazil/CNEN*.

DA CRUZ, A. D. et al. 2008. **Microsatellite mutations in the offspring of irradiated parents 19 years after the Cesium-137 accident.** *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 652, n. 2, p. 175-179. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571808000430?via%3Dihub>. Acesso em: 25 mar 2017.

DA SILVA, C. C. *Avaliação Citogenética de Indivíduos Expostos Acidentalmente à Radiação Ionizante de Césio-137 em Goiânia (Brasil)*. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Serviço Público Federal, Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Goiânia, Goiás, 2000.

DJOKOVIC-DAVIDOVIC, J. et al. 2016. **Analysis of chromosomal aberrations frequency, haematological parameters and received doses by nuclear medicine professionals.** *Journal of BU ON.: official journal of the Balkan Union of Oncology*, v. 21, n. 5, p. 1307-1315. Disponível em: <https://jbuon.com/pdfs/1307-1315.pdf>. Acesso em: 04 mar 2017.

DOMINA, E. A.; PYLYPCHUK, O. P.; MIKHAILENKO, V. M. 2014. **Estabilization of human cell genome under the combined effect of radiation and ascorbic acid.** *Exp Oncol.*, v. 36, n. 4, p. 236-240.

EKEN, A. et al. 2010. **Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes of hospital staff occupationally exposed to low doses of ionizing radiation.** *Toxicology and Industrial Health*, v. 26, n. 5, p. 273-280. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0748233710365693>. Acesso em: 29 abr 2017.

FENECH, M.; MORLEY, A. A. 1985. **Measurement of micronuclei in lymphocytes.** *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, v. 147, n. 1-2, p. 29-36. Disponível em: [https://ac.els-cdn.com/0165116185900159/1-s2.0-0165116185900159-main.pdf?\\_tid=spdf-a221c120-6262-464e-8c39-b9ad3292f0da&acdnt=1519668789\\_83fb53144e5318cc8a393432d4dc89da](https://ac.els-cdn.com/0165116185900159/1-s2.0-0165116185900159-main.pdf?_tid=spdf-a221c120-6262-464e-8c39-b9ad3292f0da&acdnt=1519668789_83fb53144e5318cc8a393432d4dc89da). Acesso em: 15 jun 2017.

FENECH, M.; MORLEY, A. A. 1986. **Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: effect of in vivo ageing and low dose X-irradiation.** *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 161, n. 2, p. 193-198. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0027510786900102>. Acesso em: 10 nov 2016.

FENECH, M. 1993. **The Cytokinesis-Block Micronucleus Technique and Its Application to Genotoxicity Studies in Human Populations.** *Environmental Health Perspectives Supplements*, v. 101 (Suppl. 3), p. 101-107. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1521129/pdf/envhper00380-0106.pdf>.

Acesso em: 19 nov 2016.

FENECH, M. 2000. **The in vitro micronucleus technique.** *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, South Australia, Australia, v. 455, n. 1-2, p. 81-95. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027510700000658>.

Acesso em: 12 nov 2016.

FENECH, M. 2007. **Cytokinesis-block micronucleus cytome assay.** *Nature Protocols*, v. 2, n. 5, p. 1084-104. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nprot.2007.77>. Acesso em: 12 nov 2016.

FERNANDES, T. S. et al. **Como identificar exposições parciais às radiações ionizantes? Proposta de um método citogenético.** *Scientia Plena*, v. 9, n. 8, 2013.

FONTES, L. P. *Desenvolvimento de um guia orientativo para dosimetria em tomografia computadorizada.* Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

GAJSKI, G., et al., 2018. **Cytokinesis-block micronucleus cytome assay parameters in peripheral blood lymphocytes of the general population: Contribution of age, sex, seasonal variations and lifestyle factors.** *Ecotoxicology and environmental safety*, 148, 561-570.

GARCIA-SAGREDO, J. M. 2008. **Fifty years of cytogenetics: A parallel view of the evolution of cytogenetics and genotoxicology.** *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1779, p. 363-375.

GHOBADI, A. et al. 2017. **Melatonin Ameliorates Radiation-Induced Oxidative Stress at Targeted and Nontargeted Lung Tissue.** *Journal of Medical Physics*, v. 42, n. 4, p. 241-244, oct./dez. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5744452/>. Acesso em: 23 jan 2017.

GRIFFITHS, A. J. F. et al. **Introdução à Genética.** 9. ed. Georgia, EUA: Guanabara Koogan, 2008.

GUERRA, M. dos S. **Introdução à Citogenética Geral.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

GUERRA, M.; DE SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana.** Ribeirão Preto, SP: Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto, 2002.

GÜNALP, M. et al. 2014. **Ionising radiation awareness among resident doctors, interns, and radiographers in a university hospital emergency department.** *Radiol Med.*, v. 119, n. 6, p. 440-7. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11547-013-0374-8>. Acesso em: 02 jan 2017.

HALM, B. M. et al. 2014.  **$\gamma$ -H2AX foci are increased in lymphocytes in vivo in young children 1 h after very low-dose X-irradiation: a pilot study.** *Pediatr Radiol.*, v. 44, n. 10, p. 1310-7. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00247-014-2983-3>. Acesso em: 18 abr 2017.

HARRISON, J. D.; STREFFER, C. 2007. **The ICRP protection quantities, equivalent and Effective dose: their basis and application.** *Radiation Protection Dosimetry*, v. 127, n. 1-4, p. 12-18.

HASSOLD, T.; HALL, H.; HUNT, P. 2007. **The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going.** *Human Molecular Genetics*, v. 16, n. 2.

HERRERA, F. G.; BOURHIS, J.; COUKOS, G. 2016. **Radiotherapy combination opportunities leveraging immunity for the next oncology practice.** *CA. A Cancer Journal for Clinicians*, v. 67, n. 1, p. 65-85.

HUHN, A. *Programa de proteção radiológica em um serviço hospitalar de radiologia.* Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Enfermagem, Programa de Pós-graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/130987/332826.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 27 mar 2017.

IAEA. International Atomic Energy Agency. **Dosimetry In Diagnostic Radiology: an International Code of Practice.** Technical Reports Series, n. 457. Vienna, 2007.

IAEA. International Atomic Energy Agency. **Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies.** Vienna, 2011.

ICRP. The International Commission on Radiological Protection. **ICRP Publication 103.** The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. Editor J. Valentin, v. 37, n. 2-4, 2007.

KANAGARAJ, K. et al. 2015. **Assessment of dose and DNA damages in individuals exposed to low dose and low dose rate ionizing radiations during computed tomography imaging.** *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 789-790, p. 1-6. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571815001242?via%3Dihub>. Acesso em: 20 fev 2017.

KAVANAGH, J. N. et al. 2013. **DNA double strand break repair: a radiation perspective.** *Antioxidants & Redox Signaling*, v. 18, n. 18, 2458-2472. Disponível em: [https://pure.qub.ac.uk/portal/files/127031066/Kavanagh\\_2013\\_ARS\\_Accepted\\_Version.pdf](https://pure.qub.ac.uk/portal/files/127031066/Kavanagh_2013_ARS_Accepted_Version.pdf). Acesso em: 22 fev 2017.

KAVANAGH, J. N. et al. 2013. **DSB Repair - A radiation perspective.** *Antioxidants & Redox Signaling*, Belfast, v.18, n. 18. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/234120924\\_DSB\\_Repair\\_-\\_A\\_radiation\\_perspective](https://www.researchgate.net/publication/234120924_DSB_Repair_-_A_radiation_perspective). Acesso em: 06 out 2016.

KHAN, F. M. **The Physics of Radiation Therapy**. 3. Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003.

KHAN, H. et al. 2017. **Physiological Changes In Individual Leukocytes In Pregnancy**. *Annals Abbasi Shaheed Hospital & Karachi Medical & Dental College*, v. 22, n. 1, p. 60-63.

LEURAUD, K. et al. 2015. **Ionising radiation and risk of death from leukaemia and lymphoma in radiation-monitored workers (INWORKS): an international cohort study**. *The lancet haematology*, v. 2, n. 7, p. e276-e281. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352302615000940?via%3Dihub>. Acesso em: 09 out 2016.

LEWONTIN, R. C. et al. **Introdução à genética**. 9. ed. Guanabara Koogan, 2008.

LIU, Q. et al. 2009. **Dose estimation by chromosome aberration analysis and micronucleus assays in victims accidentally exposed to 60Co radiation**. *The British Journal of Radiology*, v. 82, p. 1027-1032.

MADDILETI, U. et al. 2002. **Analysis of Chromosomal Aberrations in the Peripheral Lymphocytes of Workers Exposed to Diagnostic X-rays**. *International Journal of Human Genetics*, v. 2, n. 4, p. 265-268.

MALE, D. et al. **Immunology**. 7. Ed. Amesterdã: Elsevier, 2006. Disponível em: <https://manugowdagn.files.wordpress.com/2016/01/immunology-7th-edition-david-male.pdf>. Acesso em: 20 nov 2016.

MALUF, S. W. et al. **Citogenética humana**. Porto Alegre: Artmed, 2011. 334p.

MANIVANNAN, B. et al. 2018. **A comparison of estimates of doses to radiotherapy patients obtained with the dicentric chromosome analysis and the  $\gamma$ -H2AX assay: Relevance to radiation triage**. *Appl Radiat Isto.*, v. 131, p. 1-7.

MILIĆ, M. et al. 2015. **Polymorphisms in DNA repair genes: CBMN cytome assay in workers chronically exposed to low doses of ionising radiation**. *Arh Hig Rada Toksikol*, v. 66, n. 2, p. 109-120.

MONTANARI, T. **Histologia. Texto, atlas e roteiro de aulas práticas**. 3. ed. Porto Alegre: Edição da autora, 2016. 229p. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/livrodehisto>. Acesso em: 05 nov 2016.

MONTORO, A. et al. 2005. **Biological dosimetry in a group of radiologists by the analysis of dicentrics and translocations**. *Radiat Res*, v. 164, n. 5, p. 612-7.

MOORHEAD, P. S. et al. 1960. **Chromosome Preparations of Leukocytes Cultured from Human Peripheral Blood**. *Experimental Cell Research*, v. 20, p. 613-616. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0014482760901385>. Acesso em: 23 jun 2017.

MORGAN, W. F.; SOWA, M. B. 2007. **Non-targeted bystander effects induced by ionizing radiation**. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 616, n. 1-2, p. 159-164. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002751070600323X?via%3Dihub>. Acesso em: 07 jul 2017.

MURGIA, E. et al. 2008. **Validation of micronuclei frequency in peripheral blood - lymphocytes as early cancer risk biomarker in a nested case-control study.** *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 639, n. 1-2, p. 27-34. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027510707003934>. Acesso em: 09 set 2017.

NATARAJAN, A. T. 2002. **Chromosome aberrations: past, present and future.** *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 504, n. 1-2, p. 3-16. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027510702000751#!>. Acesso em: 10 out 2017.

NUSSBAUM, R. L.; McINNES, R. R.; HUNTINGTON, F. W. **Thompson & Thompson Genética Médica.** 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. Acesso em: 23 jul 2017.

OKUNO, E. 2013. **Efeitos biológicos das radiações ionizantes. Acidente radiológico de Goiânia.** *Estudos avançados*, São Paulo, v. 27, n. 77. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40142013000100014>. Acesso em: 28 set 2017.

OLIVE, P. L. et al. 2008. **Residual cH2AX after irradiation of human lymphocytes and monocytes in vitro and its relation to late effects after prostate brachytherapy.** *Radiotherapy and Oncology*, v. 86, p. 336-346. Disponível em: [http://www.thegreenjournal.com/article/S0167-8140\\_\(07\)00455-0/pdf](http://www.thegreenjournal.com/article/S0167-8140_(07)00455-0/pdf). Acesso em: 26 out 2017.

OWEN, J. A. et al. **Kuby Immunology.** 7. ed. Nova Iorque, NY: WH Freeman, 2015.

PARDINI, B. et al. 2017. **Increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of bladder cancer.** *British Journal of Cancer*, v. 116, n. 2, p. 202-210. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/bjc2016411>. Acesso em: 10 mar 2017.

PINTO, M. M. P. de L.; SANTOS, N. F. G.; AMARAL, A. 2010. **Current status of biodosimetry based on standard cytogenetic methods.** *Radiat Environ Biophys*, v. 49, p. 567-581.

QIAN, Qing-Zeng et al. 2016. **Effects of Ionising Radiation on Micronucleus Formation and Chromosomal Aberrations in Chinese Radiation workers.** *Radiation Protection Dosimetry*, v. 168, n. 2, p. 197-203.

RIBEIRO, D. A. et al. 2008. **Cytogenetic biomonitoring in patients exposed to dental X-rays: comparison between adults and children.** *Dentomaxillofacial Radiology*, v. 37, p. 404-407.

ROOMS, L.; REYNIERS, E.; KOOY, R. F. 2007. **Diverse Chromosome Breakage Mechanisms Underlie Subtelomeric Rearrangements, a Common Cause of Mental Retardation.** *Human Mutation*, v. 28, n. 2, p. 177-182. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/humu.20421/epdf>. Acesso em: 06 out 2017.

SADATULLAH, S. et al. 2013. **Radiation Risk Assessment in Professionals working in Dental Radiology area using buccal Micronucleus Cytome Assay.** *The journal of contemporary dental practice*, v. 14, n. 6, p. 1024-1027.

SANTOVITO, A.; CERVELLA, P.; DELPERO, M. 2013. **Increased frequency of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of radiology technicians chronically exposed to low levels of ionizing radiations.** *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 37, n. 1, p. 396-403. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668913002810?via%3Dihub>. Acesso em: 10 nov 2017.

SCAFF, Luiz A. M. **Física da Radioterapia.** São Paulo: Sarvier, 1997.

SHIRAZI, A. et al. 2007. **A Radiobiological Review on Melatonin: A Novel Radioprotector.** *J Radiat Res*, v. 48, n. 4, p. 263-272. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/fc65/f79a9786fe1c443027bca25f091314d717f7.pdf>. Acesso em: 13 set 2017.

SILVA, R. G. et al. 2016. **Genotoxicity and DNA Repair Indicative in Blood Cells after Occupational Exposure to Ionizing Radiation.** *International Archives of Medicine Section: Laboratory Medicine*, v. 9, n. 121. Disponível em: <http://imed.pub/ojs/index.php/iam/article/view/1800/1297>. Acesso em: 10 set 2017.

SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. **Fundamentos da genética.** 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

SUN, J. C.; UGOLINI, S.; VIVIER, E. 2014. **Immunological memory within the innate immune system.** *The Embo Journal*, v. 33 n. 12, p. 1295-1303. Disponível em: <http://emboj.embopress.org/content/33/12/1295>. Acesso em: 17 out 2017.

TAUHATA, L. et al. **Radioproteção e Dosimetria: fundamentos.** Instituto de Radioproteção e Dosimetria. Comissão Nacional de Energia Nuclear. Rio de Janeiro, 10ª Revisão, abr. 2014.

THOME, C. et al. 2018. **Deterministic effects to the Lens of the eye Following Ionizing Radiation Exposure: is there Evidence to Support a Reduction in Threshold Dose?** *Health Phys*, v. 114, n. 3, p. 328-343.

TIMASHEV, S. F. 2015. **Radioactive Decay as a Forced Nuclear Chemical Process: Phenomenology.** *Russian Journal of Physical Chemistry*, v. 89, n. 11, p. 2072-2083. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1134/S0036024415110199.pdf>. Acesso em: 20 dez 2017.

TOUIL, N. et al. 2000. **Analysis of chromosome loss and chromosome segregation in cytokinesis-blocked human lymphocytes: non-disjunction is the prevalent mistake in chromosome segregation produced by low dose exposure to ionizing radiation.** *Mutagenesis*, v. 15, n. 1, p. 1-7.

TSAI, S.; HAMBLIN, M. R. 2017. **Biological effects and medical applications of infrared radiation.** *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, n. 170, p. 197-207. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1011134416311691?via%3Dihub>. Acesso em: 16 dez 2017.

TUCKER, J. D. 2010. **Chromosome Translocations and Assessing Human Exposure to Adverse Environmental Agents**. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 51, n. 8-9, p. 815-824, out/dez. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/em.20561/full>. Acesso em: 08 set 2017.

UFRGS. Instituto de Física Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **Radioatividade**. Disponível em <[www.if.ufrgs.br/cref/radio](http://www.if.ufrgs.br/cref/radio)>. Acesso em: 10 out. 2017.

UNEP. United Nations Environment Programme. **Radiação Efeitos e Fontes. O que é radiação? O que a radiação faz a nós? De onde vem a radiação?** Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, Viena, Austria, 2016.

UNSCEAR, S. **Effects and Risks of Ionizing Radiation, Report of the United Nations Scientific Committees on the Effects of Atomic Radiations, Annexes**. New York: United Nations Publications, 2008.

UNSCEAR, S. **Effects And Risks Of Ionizing Radiation United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation**. New York: United Nations Publications, 2016.

VANDEVOORDE, C. et al. 2016. **Radiation Sensitivity of Human CD34+Cells Versus Peripheral Blood T Lymphocytes of Newborns and Adults: DNA Repair and Mutagenic Effects**. *Source: Radiation Research*, v. 185, n. 6, p. 580-590.

VANNEMAN, M.; DRANOFF, G. 2012. **Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment**. *Nature Reviews Cancer*, v. 12, n. 4, p. 237-251.

VINNIKOV, V. A. 2017. **Optimizing the Microscopy Time Schedule for Chromosomal Dosimetry of High-dose and Partial-body Irradiations**. *Genome Integrity*, v. 8, n. 3.

VRAL, A.; FENECH, M.; THIERENS, H. 2011. **The micronucleus assay as a biological dosimeter of in vivo ionising radiation exposure**. *Mutagenesis*, v. 26, n. 1, p. 11-17. Disponível em: <https://academic.oup.com/mutage/article/26/1/11/1063451>. Acesso em: 23 out 2017.

WIMAN, K. G.; ZHIVOTOVSKY, B. 2017. **Understanding cell cycle and cell death regulation provides novel weapons against human diseases**. *J Intern Med*, v. 281, n. 5, p. 483-95.

ZIPFEL, P. F. 2009. **Complement and immune defense: from innate immunity to human diseases**. *Immunology Letters*, v. 126, n. 1-2, p. 1-7. Disponível em: [https://ac.els-cdn.com/S0165247809001801/1-s2.0-S0165247809001801-main.pdf?\\_tid=spdf-ac927975-3196-4237-a234-3ffdb84d7b18&acdnat=1519671453\\_a87e07686797c0d10572730f24d567a9](https://ac.els-cdn.com/S0165247809001801/1-s2.0-S0165247809001801-main.pdf?_tid=spdf-ac927975-3196-4237-a234-3ffdb84d7b18&acdnat=1519671453_a87e07686797c0d10572730f24d567a9). Acesso em: 05 dez 2017.

## 8 Apêndices

**Apêndice I** - Frequências de micronúcleos em 1000 células binucleadas analisadas, média e desvio padrão da idade, média das frequências de micronúcleos e desvio padrão no grupo de indivíduos controle.

No. da amostra N = 21	Idade	Sexo	fMN	Média idade/DP	$\bar{f}$ MN total	DP
C18	22	M	0,000	39,7±11,1	0,0004	0,001
C16	22	M	0,000			
C17	26	M	0,000			
C01	27	F	0,000			
C22	33	M	0,000			
C19	36	M	0,000			
C20	36	M	0,000			
C05	37	M	0,002			
C06	37	F	0,000			
C03	37	M	0,001			
C11	37	M	0,000			
C21	38	F	0,000			
C12	40	M	0,000			
C08	43	M	0,001			
C15	43	M	0,002			
C14	44	M	0,000			
C07	46	F	0,000			
C10	51	F	0,000			
C09	56	M	0,000			
C13	60	M	0,000			
C02	62	F	0,003			

(DP) desvio padrão, (fMN) frequências de micronúcleos, ( $\bar{f}$ MN) média das frequências de micronúcleos.

**Apêndice II** - Frequências de micronúcleos em 1000 células binucleadas analisadas, média e desvio padrão da idade, média das frequências de micronúcleos e desvio padrão no grupo de indivíduos expostos.

No. da amostra N = 20	Idade	Sexo	fMN	Média idade/DP	$\bar{f}$ MN total	DP
E12	25	M	0.004	40,0±9,9	0,0035	0,003
E06	25	M	0.006			
E13	30	M	0.000			
E09	32	M	0.000			
E21	35	M	0.002			
E01	36	F	0.001			
E08	36	M	0.006			
E14	36	M	0.001			
E17	36	M	0.003			
9E15	37	M	0.003			
E02	38	M	0.004			
E10	39	M	0.000			
E07	40	M	0.003			
E04	43	M	0.008			
E19	43	M	0.004			
E03	46	F	0.003			
E20	49	F	0.005			
E11	52	F	0.012			
E16	58	M	0.002			
E05	63	M	0.002			

(DP) desvio padrão, (fMN) frequências de micronúcleos, ( $\bar{f}$ MN) média das frequências de micronúcleos.

**Apêndice III** - Média e desvio padrão da idade e média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis e desvio padrão no grupo de indivíduos controles.

No. da amostra N=11	Idade	Sexo	Total de células analisadas	FA identif.	Anel identif.	GAP identif.	Média idade/DP	$\bar{f}$ ACI total/DP
C18	22	M	100	0	0	0	37,2±8	0,002±0,004
C01	27	F	100	0	0	0		
C19	36	M	100	0	0	0		
C20	36	M	100	0	0	0		
C06	37	F	100	0	0	0		
C05	37	M	100	1	0	0		
C03	37	M	100	0	0	0		
C15	37	M	100	1	0	0		
C07	43	F	100	0	0	0		
C10	46	F	100	0	0	0		
C13	51	M	100	0	0	0		

(FA) fragmento acêntrico, (identif.) identificados, (DP) desvio padrão, ( $\bar{f}$ ACI) média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis.

**Apêndice IV** - Média e desvio padrão da idade e média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis e desvio padrão no grupo de indivíduos exposto.

No. da amostra N=11	Idade	Sexo	Total de células analisadas	FA identif.	Anel identif.	GAP identif.	Média idade/DP	$\bar{f}$ ACI total/DP
E06	25	M	100	2	0	0	42,8±11,4	0,031±0,030
E21	35	M	100	6	2	1		
E01	36	F	100	6	2	0		
E08	36	M	100	0	0	0		
E17	36	M	100	0	1	0		
E02	38	M	100	1	0	0		
E19	43	M	100	3	0	0		
E20	49	F	100	0	0	1		
E11	52	M	100	4	0	0		
E16	58	M	100	4	0	0		
E05	63	M	100	1	0	0		

(FA) fragmento acêntrico, (identif.) identificados, (DP) desvio padrão, ( $\bar{f}$ ACI) média das frequências de aberrações cromossômicas instáveis.

**Apêndice V** - Dados de tabagismo e etilismo correspondentes às análises de micronúcleos no grupo de indivíduos controle.

<b>Caso</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Tabagista</b>	<b>Etilista</b>
C16	22	M	Não	Não
C18	22	M	Não	Não
C17	26	M	Não	Não
C22	33	M	Não	Não
C19	36	M	Não	Não
C20	36	M	Não	Sim
C05	37	M	Sim	Sim
C11	37	M	Não	Não
C03	37	M	Sim	Sim
C08	43	M	Não	Sim
C12	40	M	Não	Sim
C15	43	M	Não	Sim
C14	44	M	Não	Sim
C09	56	M	Não	Sim
C13	60	M	Não	Sim
C01	27	F	Não	Não
C06	37	F	Não	Sim
C21	38	F	Não	Sim
C07	46	F	Não	Sim
C10	51	F	Não	Não
C02	62	F	Não	Sim

**Apêndice VI** - Dados de tabagismo e etilismo correspondentes às análises de aberrações cromossômicas instáveis no grupo de indivíduos controle.

<b>Caso</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Tabagista</b>	<b>Etilista</b>
C18	22	M	Não	Não
C01	27	F	Não	Não
C19	36	M	Não	Não
C20	36	M	Não	Sim
C05	37	M	Sim	Sim
C06	37	F	Não	Sim
C03	37	M	Sim	Sim
C15	37	M	Não	Sim
C07	43	F	Não	Sim
C10	46	F	Não	Não
C13	51	M	Não	Sim

**Apêndice VII** - Dados de tabagismo e etilismo correspondentes às análises de micronúcleos no grupo de indivíduos expostos.

Caso	Idade	Sexo	Tabagista	Etilista
E12	25	M	Sim	Sim
E06	25	M	Não	Não
E13	30	M	Não	Não
E09	32	M	Não	Não
E21	35	M	Não	Sim
E01	36	F	Não	Não
E08	36	M	Não	Não
E14	36	M	Não	Sim
E17	36	M	Sim	Sim
E15	37	M	Sim	Sim
E02	38	M	Não	Sim
E10	39	M	Não	Sim
E07	40	M	Sim	Sim
E04	43	M	Não	Não
E19	43	M	Não	Sim
E03	46	F	Não	Sim
E20	49	F	Não	Não
E11	52	F	Não	Sim
E16	58	M	Não	Sim
E05	63	M	Não	Não

**Apêndice VIII** - Dados de tabagismo e etilismo correspondentes às análises de aberrações cromossômicas instáveis no grupo de indivíduos expostos.

<b>Caso</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Tabagista</b>	<b>Etilista</b>
E06	25	M	Não	Não
E21	35	M	Não	Sim
E01	36	F	Não	Não
E08	36	M	Não	Não
E17	36	M	Sim	Sim
E02	38	M	Não	Sim
E19	43	M	Não	Sim
E20	49	F	Não	Não
E11	52	M	Não	Sim
E16	58	M	Não	Sim
E05	63	M	Não	Não

**Apêndice IX – Questionário: Projeto de Pesquisa: Avaliação Citogenética de Técnicos em Radiologia Expostos Ocupacionalmente à Radiação Ionizante**

Indivíduo nº: \_\_\_\_\_

Iniciais: \_\_\_\_\_

**DADOS**

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

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Documento de Identidade: \_\_\_\_\_ Org. Exp. \_\_\_\_\_

CPF: \_\_\_\_\_ Estado Civil: \_\_\_\_\_

Cônjuge: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_

CEP: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_

Naturalidade: \_\_\_\_\_ Nacionalidade: \_\_\_\_\_

**Filiação:**

Pai: \_\_\_\_\_

Mãe: \_\_\_\_\_

Local de trabalho: \_\_\_\_\_

Função: \_\_\_\_\_

1. Qual sua profissão atual?

\_\_\_\_\_

2. Quais aparelhos já manuseou nas empresas que trabalhou? Citar qual aparelho e o tempo de manuseio em cada área.

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

4. Já sofreu alguma exposição acidental à radiação ionizante sem proteção em algum momento no ambiente de trabalho?

( ) Sim Não ( )

Se sim, qual tipo de exposição e por quanto tempo?

---

5. Possui filhos: ( ) Sim ( ) Não Quantos? \_\_\_\_\_

Nome (s) do filho (s) e idade de cada:

1. \_\_\_\_\_  
2. \_\_\_\_\_  
3. \_\_\_\_\_  
4. \_\_\_\_\_

6. Se for mulher, já sofreu algum aborto? Quantos abortos?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Possui histórico de aborto na família?

\_\_\_\_\_

Se sim, por parte paterna ou materna?

\_\_\_\_\_

7. Você fez alguma cirurgia há 5 anos?

( ) Sim ( ) Não

Se sim, qual? \_\_\_\_\_

8. É fumante atualmente?

( ) Sim ( ) Não Por quanto tempo? \_\_\_\_\_

Já fumou por algum período na vida?

( ) Sim ( ) Não

Se sim, por quanto tempo fumou? \_\_\_\_\_

Por quanto tempo parou de fumar? \_\_\_\_\_

9. Utiliza bebida alcoólica atualmente?

( ) Sim ( ) Não

Se sim, com qual frequência? ( )Diariamente ( )Socialmente ( )Ocasionalmente

Já utilizou em algum momento na vida?

( ) Sim ( ) Não

Se sim, por quanto tempo? \_\_\_\_\_

10. Desenvolveu nos últimos 5 alguma doença de alto risco que seja necessário o uso de medicamento de uso contínuo por mais de 01 ano? (Diabetes, Hipertensão, Colesterol, Nefropatia).

( ) Sim ( ) Não

Se sim, qual (s) e por quanto tempo utilizou?

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

---

---

11. Utiliza algum medicamento de uso contínuo atualmente?

Sim       Não

Se sim, qual e há quanto tempo?

---

---

---

12. Já usou outras substâncias incomuns:

Sim       Não

Se sim, qual e há quanto tempo? \_\_\_\_\_

13. Fez algum exame de rotina se expondo há algum tipo de aparelho com fonte de radiação ionizante, nos últimos 5 anos? (Raio-X, Mamografia, Densitometria óssea, Tomografia etc.)

Sim       Não

Se sim, qual e há quanto tempo? \_\_\_\_\_

---

---

---

Fez algum exame de rotina atualmente?

Sim       Não

Se sim, qual e há quanto tempo? \_\_\_\_\_

---

**Apêndice X - Termo De Consentimento Livre e Esclarecido – Projeto de Pesquisa: Avaliação Citogenética de Técnicos em Radiologia Expostos Ocupacionalmente à Radiação Ionizante - Grupo Exposto**

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), do Projeto de Pesquisa sob o título **Avaliação Citogenética de Técnicos em Radiologia Expostos Ocupacionalmente à Radiação Ionizante**. Meu nome é Cláudio Carlos da Silva, sou o pesquisador responsável, doutor em Biologia Molecular. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, este documento deverá ser assinado em duas vias e em todas as páginas, sendo a primeira via de guarda e confidencialidade do Pesquisador responsável e a segunda via ficará sob sua responsabilidade para quaisquer fins. Em caso de recusa, você não será penalizado (a) de forma alguma. Em caso de dúvida **sobre a pesquisa**, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável **Cláudio Carlos da Silva**, nos telefones: (62) 3946-1385/ (62) 3946-1443, ou através do e-mail **dasilva.genetica@gmail.com**. Em caso de dúvida **sobre a ética aplicada à pesquisa**, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, telefone: (62) 3946-1512, localizado na Avenida Universitária, N° 1069, Setor Universitário, Goiânia Goiás.

I. Este projeto terá uma duração de 2 anos, com o objetivo de avaliar a presença de cromossomos marcadores quanto à sua origem por meio da análise cromossômica convencional contribuindo para a prevenção de danos à saúde dos técnicos em radiologia expostos ocupacionalmente à radiação ionizante. Será feita a inclusão de participantes como grupo controle.

II. A sua participação na pesquisa inclui:

a) Responder um questionário com perguntas relacionadas ao tempo que exerce a função e que são expostos ocupacionalmente à radiação ionizante ocupacionalmente;

b) Coleta de 10 mL de amostra de sangue.

III. A coleta de sangue será realizada no Núcleo de Pesquisas Replicon da PUC Goiás por profissionais habilitados para essa função.

IV. O sangue será coletado no laboratório Replicon da PUC Goiás sob a responsabilidade do pesquisador Cláudio Carlos da Silva. Caso haja a possibilidade de o participante ser incluído em pesquisas futuras, o mesmo deverá assinar um novo TCLE.

- V. O descarte do material ocorrerá segundo as normas e regulamento institucional.
- VI. Os riscos decorrentes da sua participação na pesquisa são mínimos, próprios de qualquer coleta de sangue, que são dor no local e possível aparecimento de manchas roxas (hematomas). Caso ocorra qualquer intercorrência devido à coleta de sangue (crise nervosa, com dificuldade respiratória, aumento da pressão arterial, sudorese intensa), o participante será encaminhado imediatamente ao serviço de assistência à saúde gratuita e integral para dano direto ou indireto, imediato ou tardio em decorrência da sua participação na pesquisa.
- VII. Os benefícios referentes à coleta de sangue serão os resultados obtidos após a realização da análise citogenética convencional e molecular do grupo exposto e controle, que trará informações importantes na identificação de alterações genéticas dos técnicos em radiologia após exposição ocupacional à radiação ionizante.
- VIII. O (a) senhor (a) tem a opção de tomar conhecimento ou não dos resultados genéticos. Se for identificada alguma alteração genética, caso você queira, poderá ser encaminhado ao aconselhamento genético, que é um procedimento de assistência gratuita oferecida pela equipe do projeto.
- IX. A participação no estudo não acarretará custos para você e também não haverá nenhuma remuneração financeira. Os gastos necessários para sua participação na pesquisa serão assumidos pelos pesquisadores. Fica também garantida indenização em casos de danos comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial (justiça comum).
- X. Você será esclarecido (a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento.
- XI. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. O(s) pesquisador (es) irá (ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo e as informações colhidas serão utilizadas somente para fins científicos.
- XII. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas a sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo. Todos os dados que permitam a identificação pessoal serão mantidos em sigilo profissional e científico. Sendo-lhe garantido que todos os resultados obtidos serão utilizados somente para estudos científicos e não irão prejudicar qualquer tratamento que o participante esteja sendo submetido (a).

XIII. Este termo será assinado em duas vias, sendo que uma ficará sob responsabilidade do pesquisador e a outra via será entregue ao participante da pesquisa.

Eu \_\_\_\_\_, RG \_\_\_\_\_, abaixo assinado, discuti com o **Dr. Cláudio Carlos da Silva** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de assistência integral e gratuita por danos diretos e indiretos, imediatos ou tardios quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

Goiânia, \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_, de 20\_\_.

\_\_\_\_\_

Assinatura do participante

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data

\_\_\_\_\_

Assinatura do responsável pelo estudo

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data