

**Universidade Federal de Pernambuco**  
**Centro de Ciências Biológicas**  
**Programa de Pós-Graduação em Genética**

**Priscilla Luna Góis de Souza**

**Avaliação da Taxa de Alterações Cromossômicas em  
Sangue Humano Irradiado em Campo Misto Nêutron-  
Gama**

**Recife**  
**2013**

Catálogo na fonte  
Elaine Barroso  
CRB 1728

**Souza, Priscilla Luna Góis de**

**Avaliação da taxa de alterações cromossômicas em sangue humano irradiado em campo misto nêutron-gama/ Priscilla Luna Góis de Souza – Recife: O Autor, 2013.**

**86 folhas : il., fig., tab.**

**Orientadora: Neide Santos**

**Coorientadora: Fabiana Farias de Lima Guimarães**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Genética, 2013.**

**Inclui bibliografia e anexos**

- 1. Citogenética humana 2. Radiação 3. Cromossomos I. Santos, Neide (orientadora) II. Guimarães, Fabiana Farias de Lima III. Título**

**572.8**

**CDD (22.ed.)**

**UFPE/CCB- 2013- 228**

**Priscilla Luna Góis de Souza**

**Avaliação da Taxa de Alterações Cromossômicas em  
Sangue Humano Irradiado em Campo Misto Nêutron-  
Gama**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Genética.

**Orientadora:** Neide Santos

**Coorientadora :** Fabiana Farias de Lima Guimarães

**Recife**

**2013**

**Priscilla Luna Góis de Souza**

**Avaliação da Taxa de Alterações Cromossômicas em Sangue  
Humano Irrradiado em Campo Misto Nêutron-Gama**

**Aprovado em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_**

**Banca Examinadora:**

---

**Dra. Neide Santos - Orientador**  
**Universidade Federal de Pernambuco**

---

**Dr. Joelan Angelo de Lucena Santos**  
**Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste**

---

**Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo**  
**Universidade Federal de Pernambuco**

---

**Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra**  
**Universidade Federal de Pernambuco**

**Recife**  
**2013**

***Dedico à minha mãe, Gisele de Luna Góis, por ser a principal responsável pela minha formação e crescimento tanto pessoal como profissional.***

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus pela minha existência e pelas pessoas que Ele colocou em minha vida, pelos desafios a mim submetidos e por todas as conquistas alcançadas ao longo do meu caminho.

À minha mãe, Gisele Góis, pessoa que tanto admiro, por ser mais do que mãe, ser pai, irmã e amiga. Agradeço pelo seu incondicional amor, ensinamentos, conselhos, cuidados e dedicação durante todos os dias de minha vida. Por possibilitar meu ingresso à vida acadêmica. Pelo apoio e incentivo não apenas no decorrer deste trabalho, mas em todos meus objetivos de vida, não medindo esforços para auxiliar-me a alcançá-los.

À minha família, pessoas que tive a honra e o privilégio de tê-las como tal. Agradeço pelo amor, pelos ensinamentos e pela presença em todas as importantes etapas de minha vida, e por vibrarem comigo em cada conquista.

Ao meu noivo, Oscar Bastos, pelo seu amor, carinho, cuidado, atenção, paciência e compreensão. Por estar sempre ao meu lado, apoiando-me em minhas decisões e auxiliando-me em meus objetivos, inclusive na realização desta obra. Por ser, além de tudo, meu melhor amigo e por sempre acreditar no meu potencial e nas minhas conquistas.

À Dr<sup>a</sup>. Fabiana Farias de Lima Guimarães pela maravilhosa oportunidade a mim concedida para desenvolver mais este trabalho – além da minha Monografia – e por fornecer as condições e o espaço físico necessários à realização do mesmo. Por sempre buscar a melhoria do Laboratório de Dosimetria Biológica do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (LDB – CRCN/NE) e de sua equipe.

Pela orientação, ensinamentos acadêmicos, confiança, dedicação e amizade ao longo de quase cinco anos.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Neide Santos pelos ensinamentos citogenéticos e acadêmicos. Pela grande simpatia e amizade desde a minha Iniciação Científica. Pela grande oportunidade de ingressar, como sua aluna, no Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Genética da UFPE (PPGG/UFPE). Pela orientação, dedicação, incentivo, constante preocupação e sugestões ao longo desta obra.

Ao Prof. Dr. Eudice Correia Vilela pela colaboração e importante participação viabilizando as irradiações das amostras estudadas.

Ao Dr. Joelan Ângelo pela amizade e carinho, pela obtenção do cálculo das doses, por colaborar com as irradiações das amostras e por toda solidariedade e auxílio prestados.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Mendonça, cujas aulas da Graduação foram responsáveis por despertar meu interesse pela Radiobiologia e, conseqüentemente, por direcionar a minha vida acadêmica. Agradeço pela grande simpatia e sugestões na elaboração desta obra.

Ao Mestre Odinilson Brandão, não apenas pela sincera amizade e contribuição para com meu aprendizado científico, mas por ser um dos principais responsáveis pela implementação da Dosimetria Biológica no LDB-CRCN/NE, sem a qual seria inviável a realização deste trabalho.

À Suy Hwang, por contribuir para com o progresso do LDB-CRCN/NE e, conseqüentemente, para com o desenvolvimento dos projetos nele realizados. Por sugestões e auxílio durante a realização desta pesquisa.

Às amigas e alunas do LDB, Mariana Esposito, Paula Bruno e Julyanne Goes pela colaboração na obtenção dos resultados desta obra. Pelas construtivas

discussões científicas. Pela grande amizade, carinho e agradável convívio em Laboratório.

Aos amigos da sala dos alunos RP-22 (DIRAD-CRCN/NE), Poliane Ângelo, Wellington Andrade e Marcílio Silveira pela amizade e atenção durante a realização desta pesquisa, e por tornarem extremamente agradável o ambiente de trabalho.

Às amigas e alunas de Mestrado do PPGG/UFPE, Aleide Melo e Luana Oliveira pela grande amizade, carinho, atenção e auxílio durante o Curso.

Ao PPGG/UFPE e a todos os professores que contribuíram com seus conhecimentos e experiências para com minha formação acadêmica.

Ao CRCN/NE pela oportunidade de executar esse trabalho.

À FACEPE pelo apoio financeiro.



**“Nunca dê as costas a um possível futuro sem antes ter certeza de que não há nada a aprender com ele”.**

**(Richard Bach)**

## Resumo

As frequências de alterações cromossômicas instáveis em linfócitos periféricos são uma poderosa ferramenta para avaliação de dose absorvida em casos de superexposição accidental recente à radiação ionizante. A dosimetria biológica dos campos de nêutrons e sua caracterização física e biofísica ainda é um tema complexo em pesquisas sobre radiação. Deste modo, existe uma necessidade de uma maior compreensão quanto à exposição de nêutrons e sua avaliação de risco. O objetivo deste trabalho foi analisar as frequências de alterações cromossômicas instáveis induzidas por campo misto nêutrons-gama e estabelecer suas curvas dose-resposta. O sangue obtido de um doador saudável foi exposto a duas fontes de campo misto nêutron-gama  $^{241}\text{AmBe}$  no Laboratório de Calibração com Nêutrons (LCN - CRCN/NE - PE - Brasil), resultando em doses absorvidas 0,256, 0,412, 0,497, 0,660, 0,723, 0,964 e 1,254Gy. Metáfases mitóticas foram obtidas através da cultura de linfócitos para análise cromossômica. Foi observada uma dependência linear-quadrática entre dose absorvida e as frequências de alterações cromossômicas, apesar de se esperar uma dependência linear para campos mistos nêutron-gama. No entanto, o tipo de radiação utilizada no presente estudo é composto por 50% de vetor gama, possivelmente, uma razão pela qual as curvas dose-resposta observadas sejam linear-quadrática. Além disso, analisando-se a distribuição intercelular, nas doses de 0,256, 0,497 e 1,254Gy, para fragmentos acêntricos e anéis cromossômicos, parece haver uma tendência a uma sobredispersão significativa, enquanto que para os dicêntricos, diferentemente, parece comportar-se melhor como uma distribuição de Poisson. As curvas descritas neste trabalho contribuirão para o desenvolvimento do Laboratório de Dosimetria Biológica (LBD) e serão utilizadas como base para ensaios futuros nas investigações relativas à interação de campos mistos nêutron-gama com sistemas biológicos e à dosimetria biológica.

**Palavras-chave:** biodosimetria; nêutron; gama; citogenética.

## Abstract

Frequencies of unstable chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes are a powerful tool for early biological dose assessment in cases of accidental overexposures to ionizing radiation. A criticality accident, less frequent than those with  $\gamma$ -ray or X-ray but more complex in its evaluation, involves a neutron-gamma mixed field. Biological dosimetry of neutron fields and their physical and biophysical characterization is still a complex topic in radiation research. Hence, there is a need for greater understanding of neutron exposure and its risk assessment. The aim of the present study was to analyze the frequencies of unstable chromosome alterations induced by neutron-gamma mixed field and to establish their dose-response curves. Blood was obtained from one healthy donor and exposed to mixed field neutron-gamma sources  $^{241}\text{AmBe}$  at the Neutron Calibration Laboratory (NCL – CRCN/NE – PE – Brazil), resulting in absorbed doses of 0.256, 0.412, 0.497, 0.660, 0.723, 0.964 and 1.254Gy. Mitotic metaphase cells were obtained by lymphocyte culture for chromosomal analysis. Results showed a linear-quadratic dependence between radiations absorbed dose and chromosomal aberrations frequencies, despite a linear dependence be expected to a neutron-gamma mixed field. However, the radiation type used in the present study has in its composition 50% of gamma vector, possibly a reason why the observed dose-response curves are linear-quadratic. Furthermore, the intercellular distribution of acentric fragments and chromosome rings, analyzed at 0.256 Gy, 0.497 Gy and 1.254 Gy, seems to trend to a significant overdispersion, while the dicentrics distribution, otherwise, seems to behave better as a Poisson distribution. Dose-response curves described in this paper will contribute to the Laboratory of Biological Dosimetry (LBD) deployment and will be used as basis for future essays in investigations concerning the interaction of neutron-gamma mixed fields with biological systems and the biodosimetry.

**Key words:** biodosimetry; neutron; gamma; cytogenetic.

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> – Espectro da fonte de $^{241}\text{AmBe}$ (IAEA, 2001a).	8
<b>Figura 2</b> – Típicas curvas dose-resposta linear e linear quadrática, ilustrando como a RBE altera com a frequência de alterações (IAEA, 2011).	15
<b>Figura 3</b> – Relação generalizada entre RBE e LET (IAEA, 2011).	16
<b>Figura 4</b> – Metáfase com os principais tipos de alterações cromossômicas instáveis radioinduzidas. 1- Cromossomos dicêntricos; 2- Anel cromossômico; 3- Fragmentos acêntricos (IAEA, 2001b).	32
<b>Figura 5</b> – Setup de irradiação das amostras montado no Laboratório de Irradiação com Nêutrons do CRCN. A e B – representações das fontes de $^{241}\text{AmBe}$ ; C – representação da amostra a ser irradiada.	43
<b>Figura 6</b> – Metáfases mitóticas com alterações cromossômicas após irradiação. a) Metáfase com anel cromossômico (seta preta) e fragmento acêntrico (seta vermelha). b) Metáfase com dois cromossomos dicêntricos (setas pretas) e seus fragmentos acêntricos associados (setas vermelhas).	50
<b>Figura 7</b> – Curva dose-resposta gerada pelo CABAS para os dicêntricos.	50
<b>Figura 8</b> – Curva dose-resposta gerada pelo CABAS para os anéis cromossômicos.	51
<b>Figura 9</b> – Curva dose-resposta gerada pelo CABAS para os fragmentos acêntricos.	51
<b>Figura 10</b> – Curva dose-resposta gerada pelo CABAS para os dicêntricos somados aos anéis cromossômicos.	52

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> – Tipos de radiação ionizante e suas composições (Bagshaw, 2012).	4
<b>Tabela 2</b> – Variação da radiosensibilidade de acordo com o grupo celular (Garcia, 2002).	17
<b>Tabela 3</b> – Amostras irradiadas em diferentes intervalos de tempo e suas doses correspondentes.	44
<b>Tabela 4</b> – Valores da dose absorvida calculados por simulação computacional.	45
<b>Tabela 5</b> – Frequência de alterações cromossômicas instáveis para as amostras dos grupos controle referentes a sete diferentes doses absorvidas (0,000Gy) devido à irradiação em feixe misto nêutron-gama.	50
<b>Tabela 6</b> – Coeficientes obtidos pelo CABAS e as razões $\alpha/\beta$ para cada alteração cromossômica instável analisada.	53
<b>Tabela 7</b> – Distribuição intercelular da frequência de dicêntricos em amostras não-irradiadas (0,000Gy) e irradiadas em um campo misto nêutron-gama com três diferentes doses absorvidas (Gy).	53
<b>Tabela 8</b> – Distribuição intercelular da frequência de anéis cromossômicos em amostras não-irradiadas (0,000Gy) e irradiadas em um campo misto nêutron-gama com três diferentes doses absorvidas (Gy).	54
<b>Tabela 9</b> – Distribuição intercelular da frequência de fragmentos acêntricos em amostras não-irradiadas (0,000Gy) e irradiadas em um campo misto nêutron-gama com três diferentes doses absorvidas (Gy).	54

## Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

Item	Definição
$^{241}\text{AmBe}$	Amerício berílio
$^{252}\text{Cf}$	Califórnio
CRCN-NE	Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste
DSB	<i>Doublestrand break</i> - quebra de fita dupla do DNA
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> – Ácido desorribonucléico
FISH	Hibridização <i>in situ</i> fluorescente
Gy	Gray
Gy Eq	Equivalente Gray
H ·	Radical livre de Hidrogênio
IRSN	Instituto de Radioproteção e Segurança Nuclear
IAEA	<i>International Atomic Energy Agency</i>
LET	<i>Linear Energy Transfer</i> (Transferência Linear de Energia)
LDB	Laboratório de Dosimetria Biológica
LCN	Laboratório de Calibração com Nêutrons
keV	Kiloeletron volt
MeV	Megaeletron volt
N	Nêutron
NEA	Agência de Energia Nuclear
NK	Células natural killer
· OH	Radical livre de hidroxila
PNB	Programa Nuclear Brasileiro
$^{293}\text{Pu-Be}$	Chumbo Berílio

$^{226}\text{Ra}$ -Be	Rádio Berílio
RBE	<i>Relative Biological Effectiveness</i> - Efetividade Biológica Relativa
REB	Reparo por excisão de bases
REN	Reparo por excisão de nucleotídeos
RGG	Reparação genômica global
RH	Recombinação homóloga
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> – Ácido ribonucleico
RNH	Recombinação de extremidade não-homóloga
RTA	Reparação de transcrição acoplada
SSB	<i>Single-strand breaks</i> -quebra de fita simples do DNA
ssDNA	<i>Single-stranded DNA</i> - DNA de cadeia simples
A	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gama

## Sumário

<b>Resumo</b>	viii
<b>Abstract</b>	ix
<b>Lista de Figuras</b>	x
<b>Lista de Tabelas</b>	xi
<b>Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos</b>	xii
<b>1. Introdução</b>	1
<b>2. Revisão da Literatura</b>	3
<b>2.1 Radiação ionizante</b>	3
<b>2.1.1 Nêutrons</b>	5
<b>2.1.1.1 Fontes de <math>^{241}\text{AmBe}</math></b>	7
<b>2.1.2 Interação da radiação com a matéria</b>	8
<b>2.2 Interação da radiação ionizante com o tecido humano</b>	10
<b>2.2.1 Efetividade biológica relativa</b>	13
<b>2.2.2 Radiossensibilidade celular</b>	16
<b>2.3 Lesões e reparo do DNA</b>	17
<b>2.3.1 Reparo por excisão de bases</b>	19
<b>2.3.2 Reparo por excisão de nucleotídeos</b>	20
<b>2.3.3 Reparo de DSBs</b>	21



2.3.3.1 Recombinação não-homóloga	22
2.3.3.2 Recombinação homóloga	23
2.4 Dosimetria biológica	24
2.4.1 Bioindicadores para a radiação ionizante	25
2.4.2 Linfócitos humanos	26
2.4.3 Análise citogenética e alterações cromossômicas	29
2.4.4 Curva dose-resposta	36
3. Objetivos	40
3.1 Objetivo Geral	40
3.2 Objetivos Específicos	40
4. Material e Métodos	41
4.1 Local da pesquisa	41
4.2 Seleção de doador e coleta de amostras	41
4.3 Irradiação das amostras	41
4.4 Cultivo de células	44
4.5 Preparação das lâminas	45
4.6 Análise microscópica	45
4.7 Análise dos dados	45
4.8 Análise estatística	46
5. Resultados	48

<b>6. Discussão</b>	<b>54</b>
<b>7. Conclusões</b>	<b>62</b>
<b>8. Referências Bibliográficas</b>	<b>63</b>
<b>9. Anexos</b>	<b>69</b>
<b>Anexo 1</b>	<b>69</b>
<b>Anexo 2</b>	<b>70</b>
<b>Anexo 3</b>	<b>72</b>
<b>10. Currículo Lattes atualizado (correspondente ao período do curso)</b>	<b>77</b>

## 1. Introdução

Acidentes ocupacionais ou superexposição de indivíduos à radiação ionizante, geralmente, envolvem radiações com baixa Transferência Linear de Energia (LET), como os raios X e  $\gamma$ . Um acidente crítico de maior complexidade em sua avaliação, porém menos frequente, envolve radiação de um campo misto nêutron-gama (radiação com alta LET). A dosimetria de nêutrons e a caracterização física e biofísica dos campos de nêutrons, ainda é um tema complexo em pesquisas sobre radiação, principalmente devido à ocorrência de interações nucleares e à ampla faixa de energia de interesse prático.

Há um número significativo e crescente de instalações de geradores de nêutrons e aplicações industriais de radiações com potencial para promover exposições ocupacionais de nêutrons. Com exceção dos sobreviventes da bomba atômica em Hiroshima e dos acidentes com trabalhadores em usinas nucleares, a maioria das pessoas é exposta de maneira ocupacional ou terapêutica a doses muito baixas de nêutrons. Além disso, há uma preocupação com a exposição ocupacional à radiação cósmica de tripulação comercial, questão que tem sido tratada ao nível internacional.

A biodosimetria tem apresentado maior importância, uma vez que a dosimetria física fornece informações limitadas quando se trata de exposições complexas. Além disso, a biodosimetria é utilizada em todas as situações em que a dose absorvida de corpo inteiro é desconhecida ou incerta, como em exposições acidentais ou ocupacionais; ou nos casos em que a avaliação de dose por meio de dosimetria física não é possível; ou, ainda, para validar a estimativa de dose desta.

Durante os últimos 30 anos, a análise de alterações cromossômicas e a detecção de alterações instáveis (dicêntricos, anéis cromossômicos e fragmentos acêntricos) têm sido utilizados para a estimativa de danos causados ao genoma por clastógenos físicos e químicos. A análise de cromossomos dicêntricos é, ainda hoje, a técnica mais utilizada pelos laboratórios de dosimetria biológica. A análise da frequência de dicêntricos e de anéis cromossômicos permite uma boa estimativa da dose equivalente do 'corpo inteiro' recebida pela mistura de linfócitos expostos e não expostos contidos em uma amostra de sangue, e é precisa em casos de superexposição aguda, homogênea e recente.

Com isso, a dosimetria citogenética tem sido apontada como uma ferramenta confiável e útil para o direcionamento do tratamento médico das vítimas de acidentes com radiação ionizante. Além da dosimetria em exposição accidental, suas aplicações são diversas, como na avaliação de efeitos citogenéticos radioinduzidos em astronautas.

No Brasil, existem em torno de 5 laboratórios de biodosimetria, sendo que nenhum deles realiza ainda dosimetria biológica para nêutrons. O Laboratório de Dosimetria Biológica (LDB) do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CRCN-NE) é um deles e conta com a vantagem de possuir um laboratório de irradiação para nêutrons e ter implementado a técnica para estabelecer curvas de calibração dose-resposta para campo misto nêutron-gama.

Deste modo, existe uma necessidade de uma maior compreensão e realização de mais estudos quanto aos efeitos biológicos dos nêutrons de baixa e alta energia e sua avaliação do risco, uma vez que pouco se têm discutido sobre os mecanismos físicos responsáveis por tais danos celulares associados a eles.

## **2. Revisão da Literatura**

### **2.1 Radiação Ionizante**

A radiação ionizante refere-se a partículas subatômicas e à radiação eletromagnética que, interagindo com um átomo, pode direta ou indiretamente causar a perda de um elétron desse átomo ou mesmo quebrar seu núcleo. Quando esses eventos ocorrem no tecido humano podem ser observados efeitos na saúde, caso haja falha dos mecanismos de reparos biológicos. A radiação ionizante é parte natural do ambiente, sendo emitida por algumas células normais do tecido humano, emanada a partir do solo e de alguns materiais de construção, e são também oriundas da radiação cósmica galáctica (Bagshaw, 2012).

As radiações ionizantes são caracterizada pela sua capacidade de ionizar qualquer meio que atravesse, através da retirada de um ou mais elétrons dos átomos do material. A ionização ocorre por transferência de toda ou parte da energia da radiação incidente aos átomos e se dá através de diversos mecanismos, dependendo das características da radiação e dos átomos irradiados (Scaff, 1997; Khan, 2003). Outro processo relacionado com a ionização é a excitação que se produz quando a energia cedida ao elétron não é suficiente para arrancá-lo do átomo, mas suficiente para que seja promovido para um estado de energia maior. O átomo, assim excitado, volta ao seu estado normal, emitindo luz de comprimento de onda característico (Scaff, 1997)

Os tipos de radiação ionizante e as suas propriedades (Bagshaw, 2012) são mostradas na tabela 1.

**Tabela 1** – Tipos de radiação ionizante e suas composições.

<b>Tipo de Radiação</b>	<b>Composição</b>
<b>Partículas <math>\alpha</math></b>	2 prótons + 2 nêutrons (núcleo do Hélio)
<b>Partículas <math>\beta</math></b>	Um elétron negativo ( $\beta^-$ ) ou positivo ( $\beta^+$ )
<b>Raios <math>\gamma</math></b>	Radiação eletromagnética
<b>Raios X</b>	Radiação eletromagnética
<b>Nêutrons</b>	Nêutrons livre

Fonte: (Bagshaw, 2012).

A superfície da Terra é um ambiente relativamente benigno com relação às partículas de radiação ionizante. As duas principais fontes naturais de radiação ionizante sobre um corpo planetário são o decaimento de isótopos radioativos presentes na superfície e o fluxo de raios cósmicos oriundos do espaço. Os raios cósmicos são partículas subatômicas carregadas ou núcleos atômicos que são acelerados a altas energias (Dartnell, 2011).

O nosso planeta é constantemente “bombardeado” por radiação ionizante de alta energia conhecida como radiação cósmica galáctica, proveniente de fora do sistema solar e, esporadicamente, exposto a rajadas de partículas energéticas do sol referidas como eventos de partículas solares (Bagshaw, 2012). As partículas de radiação cósmica galáctica, ao penetrarem na atmosfera da Terra, colidem com os núcleos de Oxigênio, Nitrogênio e outros átomos da atmosfera, gerando radiações ionizantes particuladas adicionais. Aquelas que entram na atmosfera e aquelas que nela são geradas são coletivamente chamadas de radiação cósmica galáctica (NCRP, 1995; Bagshaw, 2012).

Nas altitudes de voos comerciais, esta radiação cósmica galáctica consiste principalmente de nêutrons, prótons, elétrons, pósitrons e fótons (NCRP, 1995; Bagshaw, 2012). Os espectros de nêutrons, nessas altitudes, têm características

semelhantes às encontradas em ambientes de elevada energia de aceleração, particularmente aqueles espectros acima de 20MeV (IAEA, 2001a).

Tripulantes de aeronaves estão expostos a elevados níveis de radiação cósmica de origem galáctica e solar. A intensidade das diferentes partículas que compõem a radiação cósmica atmosférica, as suas distribuições de energia e os seus potenciais efeitos biológicos variam com a altitude, latitude geomagnético e o ponto do tempo do ciclo de atividade magnética do Sol (Bagshaw, 2012). Assim, é crescente a preocupação com a exposição ocupacional de tripulação comercial à radiação cósmica. Todavia, não se tem fornecido sérias considerações ao monitoramento individual dessas pessoas. As medições têm sido feitas com mais cautela para caracterização do ambiente de radiação e a provável exposição resultante (IAEA, 2001a).

### **2.1.1 Nêutrons**

O nêutron é uma partícula de matéria mais pesada que o núcleo de um átomo de hidrogênio e não ocorre livre na natureza, apenas como um dos elementos fundamentais em todos os núcleos atômicos, que são mais pesados do que o hidrogênio comum. Quando certos tipos de desintegrações de núcleos atômicos são produzidos, os nêutrons são ejetados com alta energia. Esses nêutrons energizados são chamados nêutrons rápidos. Uma vez que são desprovidos de cargas, não ionizam diretamente, fato que explica seu poder de penetração na matéria. A ionização que causam é resultados da ocorrência de colisões com o núcleo dos átomos. Estes núcleos, sendo altamente densos e carregados, ionizam fortemente (Stasiulevicius, 1995).

Os nêutrons podem ser subdivididos em intervalos de energia e classificados de acordo com sua energia cinética. De acordo com Santos (2003), a classificação para dosimetria neutrônica é a seguinte:

Térmicos: Energia média  $< 0,4$  eV

Intermediários: Energia média entre 0,4 eV e 200 keV

Rápidos: Energia média entre 200 keV e 10 MeV

Relativísticos: Energia média  $> 10$  MeV.

Não há nenhuma ocorrência natural significativa de emissores de nêutrons, pois a ocorrência natural de um núcleo instável em razão do excesso de nêutrons transforma nêutrons em prótons e libera partículas  $\beta$  ao invés de nêutrons (IAEA, 1985). O Califórnio ( $^{252}\text{Cf}$ ) é a fonte mais comum de fissão espontânea – emite nêutrons rápidos, além de radiação  $\gamma$  e  $\beta$ . Para ser usado como uma fonte de nêutrons é encapsulado em *containers* com espessura suficiente para que só radiação  $\gamma$  e nêutrons rápidos emergjam da fonte (Knoll, 2010).

Outra forma de produzir fontes de nêutrons é a partir de reações nucleares em fontes radioisotópicas, onde fontes são fabricadas por meio da mistura de um isótopo<sup>1</sup> emissor  $\alpha$  ou  $\gamma$  com outros elementos alvos de número atômico menor. A reação mais comum é o bombardeamento do Berílio com partículas  $\alpha$  e as fontes de nêutrons de uso mais frequente são as de  $^{241}\text{AmBe}$ ,  $^{226}\text{RaBe}$  e  $^{293}\text{PuBe}$ . No caso de radioisótopos emissores gama, o resultado são fontes de fotonêutrons, nas quais apenas dois núcleos alvos são empregados, o Berílio ( $^9\text{Be}$ ) e o Deutério ( $^2\text{H}$ ), e os emissores  $\gamma$  mais comuns são  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{124}\text{Sb}$ ,  $^{72}\text{Ga}$  e  $^{24}\text{Na}$  (Knoll, 2010).

---

<sup>1</sup> Isótopos são formas de um elemento que tem o mesmo número atômico e diferente número de massa (Argonne National Laboratory, 2005).



Os aceleradores de partículas são amplamente utilizados na medicina para irradiações de pacientes com câncer, bem como em experimentos de física nuclear e produção de radionuclídeos. Nestes casos, os nêutrons são produzidos mais comumente na colisão de íons aceleradas com átomos de H ou seus isótopos alvos ou por reações ( $\gamma, n$ ) oriundas do *bremsstrahlung* de aceleradores de elétrons (Knoll, 2010).

Nos últimos anos, verificou-se um crescimento considerável de técnicas que utilizam nêutrons ou radiações que os gerem indiretamente, por exemplo:

- Técnicas industriais, como radiografia com nêutrons, para controle de qualidade envolvendo materiais hidrogenados, prospecção de petróleo e outros (Casali, 1995; Vilela, 1996).
- Aplicações em medicina, no tratamento de tumores, utilizando a técnica BNCT (*Boron Neutron Capture Therapy*), aceleradores de partículas carregadas de alta energia que geram resíduos fótons de energia suficiente para produzir fotonêutrons (Campos, 2000; Coelho, 2003).

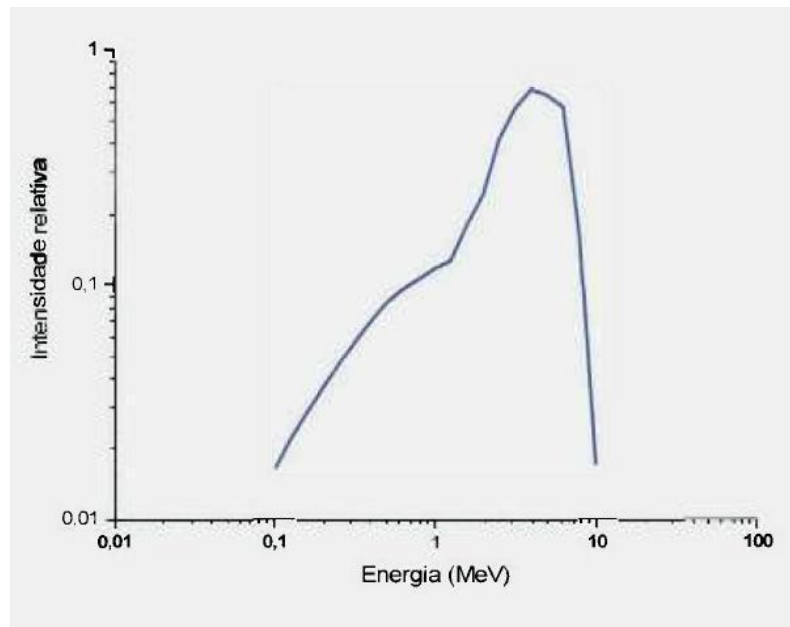
#### 2.1.1.1. Fontes de $^{241}\text{AmBe}$

Uma fonte comum de nêutrons é composta de  $^{241}\text{Am}$  e Berílio (Argonne National Laboratory, 2005). Esta fonte de  $^{241}\text{AmBe}$  é a mais utilizada comercialmente por causa de seu tempo de meia vida longo<sup>2</sup>, 433 anos. Esta fonte é produzida a partir da mistura compactada de óxido de Amerício e de Berílio metálico em pó (Souto, 2007).

---

<sup>2</sup> Tempo de meia vida: Intervalo de tempo, contando a partir de um certo instante, necessário para que metade dos átomos radioativos decaiam (Tauhata et al., 2003).

A partícula  $\alpha$  emitida durante o decaimento radioativo de  $^{241}\text{Am}$  e emissão de fótons de 59,5keV são absorvidos pelo Berílio-9, produzindo Carbono-12 e um nêutron. Assim, utilizando o bombardeio do Berílio com partículas  $\alpha$  provenientes de um radionuclídeo a ele misturado, gera-se campos de nêutrons de alto fluxo, a partir das reações nucleares nele produzidas (Argonne National Laboratory, 2005). O espectro energético da fonte de  $^{241}\text{AmBe}$  (Fig. 1) compreende nêutrons com energias entre 100 keV e 10MeV. A moda<sup>3</sup> da energia dos nêutrons emitidos é 4,5MeV (IAEA, 2001a).



**Figura 1** – Espectro da fonte de  $^{241}\text{AmBe}$  (IAEA, 2001a)

### 2.1.2 Interação da radiação com a matéria

No processo de transferência de energia de uma radiação incidente para a matéria, as radiações que têm carga, como elétrons, partículas  $\alpha$  e fragmentos de fissão, atuam principalmente por meio de seu campo elétrico e transferem sua

---

<sup>3</sup> Moda: A moda de um conjunto de dados, em geral representada por  $M$ , é o valor que ocorre mais frequentemente (Triola, 2005).

energia para muitos átomos ao mesmo tempo, e são denominadas radiações diretamente ionizantes. As radiações que não possuem carga, como as radiações eletromagnéticas e os nêutrons, são chamadas de radiações indiretamente ionizantes, pois interagem individualmente transferindo sua energia para partículas carregadas, que irão provocar novas ionizações (Tauhata et al., 2003, Knoll, 2010).

As radiações eletromagnéticas de interesse são as radiações X e  $\gamma$ . Devido ao seu caráter ondulatório, ausência de carga e massa de repouso, essas radiações podem penetrar em um material, percorrendo grandes espessuras antes de sofrer a primeira interação. A penetrabilidade dos raios X e  $\gamma$  é muito maior que a das partículas carregadas, e a probabilidade do tipo de interação depende muito do valor de sua energia (Tauhata et al., 2003).

Há numerosos mecanismos de interação possíveis da radiação  $\gamma$  com a matéria, entretando os três tipos mais importantes são: efeito fotoelétrico, espalhamento Compton e produção de pares. Esses processos levam a uma transferência completa ou parcial da energia do fóton, resultando no desaparecimento ou espalhamento do mesmo (Knoll, 2010).

Na interação dos nêutrons com a matéria ocorre um processo diferente ao das partículas carregadas e a da radiação eletromagnética; sua interação se dá por meio de reações nucleares. A ausência de carga dos nêutrons faz com que a interação do nêutron com os campos elétricos atômicos seja desprezível, sendo assim, a interação ocorre diretamente com os núcleos. E, ao contrário da radiação  $\gamma$ , as radiações secundárias são frequentemente núcleos de recuo com alto poder de ionização, principalmente para materiais hidrogenados (Lamarsh, 1983).

Dentre os processos de interação dos nêutrons com a matéria, os principais são: espalhamento elástico, espalhamento inelástico, reações por absorção e reações de fissão. Essas interações dependem da energia cinética do nêutron incidente e da seção de choque do material com que ele interage (Lamarsh, 1983).

## **2.2 Interação da radiação ionizante com o tecido humano**

Na interação da radiação ionizante com o material biológico o que ocorre em termos bastante amplos é a transferência de energia da radiação para as biomoléculas das células. Nesse processo, ocorre ionização e excitação dos átomos da matéria viva com a absorção de energia da radiação. Na ionização, o elétron é ejetado do átomo e na excitação, o elétron ganha energia passando para uma camada orbital mais energética (Hall, 1994).

Considerando que as moléculas biológicas são constituídas, principalmente, por átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, os elétrons que provavelmente serão ejetados de um átomo, no caso de irradiação de um ser vivo, serão elétrons de átomos destes elementos. Para que ocorra ionização em um material biológico, a energia da radiação deve ser superior ao valor da energia de ligação dos elétrons ligados aos átomos destes elementos (Nouailhetas et al., 2010).

A transformação de uma molécula específica (água, proteína, açúcar, DNA, RNA) pela ação das radiações leva a consequências que devem ser analisadas em função do papel biológico desempenhado pela molécula atingida. O efeito desta transformação deve ser acompanhado nas células, visto serem estas as unidades morfológicas e fisiológicas dos seres vivos. Da mesma maneira, a

geração de novas entidades químicas no sistema também deve ser analisada considerando seu impacto na célula irradiada (Nouailhetas et al., 2010).

O efeito biológico de uma exposição às radiações ionizantes é normalmente resultado de um dano que ultrapassa os limites de eficiência dos mecanismos adaptativos do organismo. A severidade do dano varia segundo a idade, sexo, estilo de vida, tipo de tecido irradiado, dentre outros fatores. A principal característica do efeito biológico causado pela radiação é a modificação morfológica e/ou fisiológica da estrutura celular (Amundson et al., 2001).

Quando algum tipo de radiação ionizante – eletromagnética ou particulada – é absorvida por um material biológico, há possibilidade que a radiação venha a interagir diretamente com os alvos celulares, como o DNA (ação direta da radiação) (Silva, 2009). Assim, os danos diretos ocorrem quando a energia depositada excita elétrons dentro de biomoléculas, o que leva à ionização ou radiólise (Dartnell, 2011). É o processo dominante para radiações com alta Transferência Linear de Energia (LET – *Linear Energy Transfer*)<sup>4</sup>, tais como nêutrons, partículas  $\alpha$  e fragmentos de fissão (Silva, 2009).

No entanto, a radiação interage principalmente com a água (as células são compostas por 40-70% de água), o que conduz ao mecanismo indireto de danos da radiação. Água irradiada sofre ionização e radiólise, resultando na produção de elétrons aquosos livres ( $e^-_{aq}$ ) e das espécies altamente reativas com os elétrons não emparelhados e os radicais livres, tais como  $H\cdot$  e  $\cdot OH$ , ou os seus produtos de recombinação tais como peróxido de Hidrogênio (Dartnell, 2011).

---

<sup>4</sup> LET: Transferência Linear de Energia é a energia que é depositada ao longo do trajeto da radiação, excluindo a porção de energia que é depositada por “bremsstrahlung” (radiação de freamento) (Knoll, 2010).

Estas espécies químicas podem danificar moléculas orgânicas como o DNA, proteínas, lípidos, carboidratos etc (ação indireta da radiação). É um mecanismo dominante para radiações de baixo LET, como os raios X, partículas  $\beta$  e radiação  $\gamma$ . Os efeitos biológicos da radiação, então, resultam de danos ocorridos ao DNA que é considerado ser o alvo preferencial de muitos agentes, tanto físicos como químicos (Silva, 2009).

Uma consequência da distribuição de ionização para radiações de diferentes LET está na distribuição de frequência de alterações cromossômicas entre as células. Com baixo LET, ou baixa densidade de radiação ionizante, a ionização em qualquer dose específica será distribuída aleatoriamente entre as células e, conseqüentemente, o dano ao DNA também será distribuído aleatoriamente entre as células. No pressuposto de que existe uma probabilidade igual de que qualquer dano pode ser potencialmente convertido em uma alteração, então, a alteração também será distribuída aleatoriamente entre as células. Isto foi demonstrado em irradiações com raios X e radiação  $\gamma$ , onde as alterações citogenéticas induzidas adequam-se à distribuição de Poisson<sup>5</sup> (IAEA, 2011).

Com LET elevado, ou radiações densamente ionizantes, as interações de ionização serão distribuídas de maneira não-aleatoria entre as células, a energia será depositada como "pacotes discretos" (IAEA, 2011). Radiações de alto LET (nêutrons ou partículas  $\alpha$ ) produzem poucas interações com muitos eventos primários (ionizações, excitações) muito próximos. Há uma série de danos no

---

<sup>5</sup> A distribuição de Poisson é uma distribuição de probabilidade discreta. Ela expressa, por exemplo, a probabilidade de um certo número de eventos ocorrerem num dado período de tempo, caso estes ocorram com uma taxa média conhecida e caso cada evento seja independente do tempo decorrido desde o último evento (Leitão, 2010).

mesmo ponto e a falta de reparo desses danos induz células com muitas alterações (Vaurijoux et al., 2012).

Com a exposição à radiação de alta LET, existe uma elevada probabilidade de uma interação produzir um dicêntrico (Vaurijoux et al., 2012). Assim, o número de interações será muito menor do que comparado a radiações de baixo LET em doses equivalentes. Além disso, em qualquer frequência média de alteração observada, haverá mais células com múltiplas alterações e células com nenhuma alteração do que o esperado a partir de uma distribuição de Poisson (IAEA, 2011).

### **2.2.1 Efetividade biológica relativa**

Os vários tipos de radiação produzem efeitos biológicos diferentes. Isso porque cada radiação deposita no material biológico quantidades diferentes de energia por unidade de comprimento de percurso ou por unidade de volume irradiado (Garcia, 2002). Assim, para poder comparar os efeitos biológicos das diversas radiações, criou-se um fator de correção chamado Efetividade Biológica Relativa (RBE - *Relative Biological Effectiveness*). O RBE é a medida relativa da efetividade de diferentes tipos e energias de radiação em induzir um determinado efeito à saúde. É definida como a razão inversa das doses absorvidas de dois diferentes tipos e energias de radiação que produziriam o mesmo grau de um efeito biológico definido (CNEN, 2011).

Para um determinado tipo de radiação  $A$ , e supondo constantes todas as variáveis físicas e biológicas, exceto o tipo de radiação, a RBE é adimensional e é representada matematicamente por:

$$RBE (A) = \text{Dose referência} / \text{Dose teste} \quad (1)$$

onde, Dose referência é a dose absorvida<sup>6</sup> na qual se observa um nível específico de resposta/efeito e Dose teste é a dose absorvida da radiação A necessária para produzir o mesmo efeito (Cember, 1996).

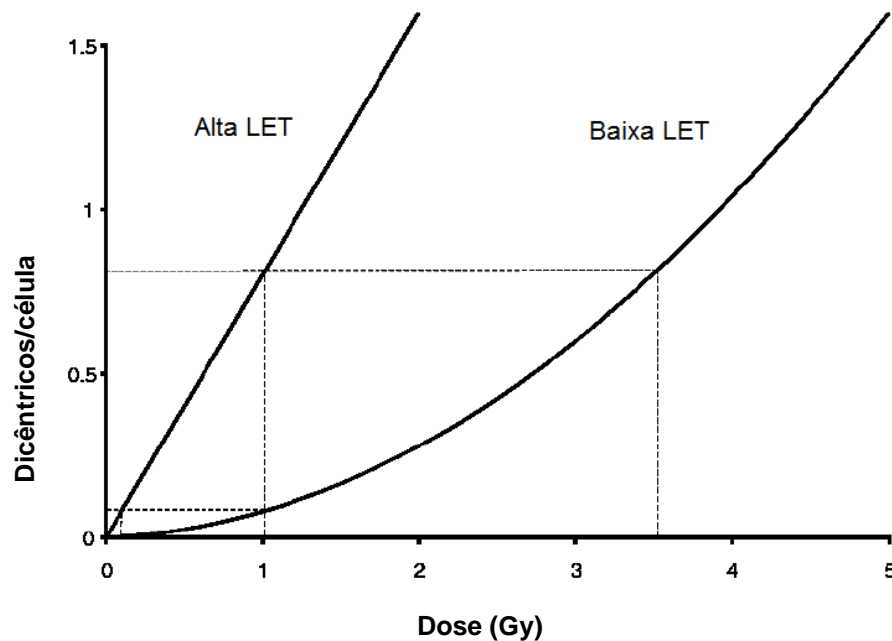
A RBE pode ser considerada como sendo função da qualidade da radiação, expressa em termos de LET. Em muitos sistemas, a RBE aumenta com a LET até cerca de 100 keV/μm, depois diminui. A rigor, a RBE para uma determinada radiação não é somente dependente da LET, mas também da dose, da taxa de dose, do fracionamento da dose e de fatores intrínsecos do indivíduo exposto (Cember, 1996).

A figura 2 mostra as típicas formas linear e linear-quadrática das curvas dose-resposta para dicêntricos obtidas com radiações de alta e baixa LET, respectivamente.

---

<sup>6</sup> Dose absorvida (D) é uma grandeza dosimétrica fundamental expressa por  $D = d\varepsilon / dm$ , onde  $d\varepsilon$  é a energia média depositada pela radiação em um volume elementar de matéria de massa  $dm$ . A unidade no sistema internacional é o Joule por Kilograma (J/kg) denominada Gray (Gy) (CNEN, 2011).

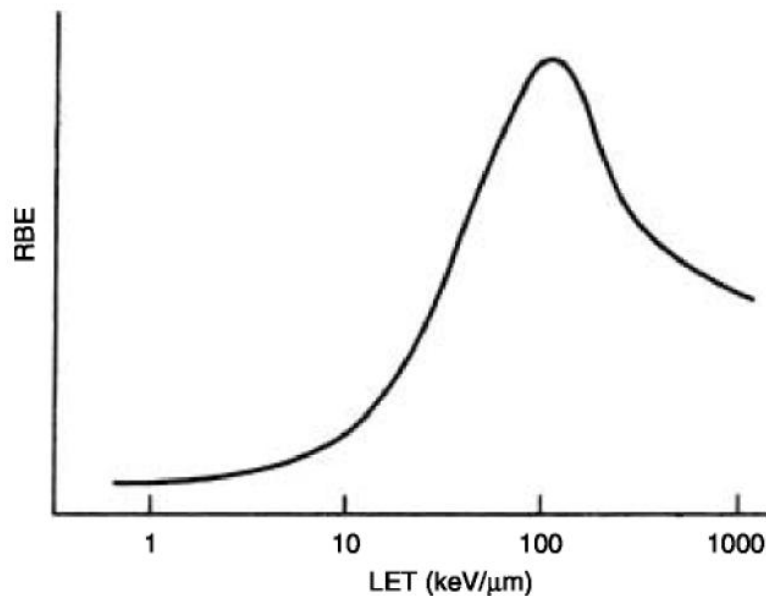




**Figura 2** – Típicas curvas dose-resposta linear e linear-quadrática, ilustrando como a RBE altera com a frequência de alterações (IAEA, 2011).

A RBE com uma frequência elevada de dicêntricos, que estaria associada com altas doses, é ilustrada pela linha tracejada horizontal superior que intercepta as duas curvas nas doses 1,0 e 3,5Gy. O RBE é a razão entre as duas doses que é  $3.5/1.0 = 3.5$ . A linha horizontal tracejada mais inferior intercepta a curva nas doses 0,1 e 1,0Gy, resultando em uma maior RBE:  $1.0/0.1 = 10$  (IAEA, 2011).

A partir da análise de muitos parâmetros (incluindo mutações, morte celular e alterações cromossômicas) foi demonstrado que a RBE varia de acordo com a LET. A curva resposta é ilustrada na figura 3.



**Figura 3** – Relação generalizada entre RBE e LET (IAEA, 2011).

Esta curva mostra que a RBE aumenta até um valor ótimo de cerca de 100keV/μm e, em seguida, diminui para valores mais elevados de LET. A interpretação desta curva é melhor considerada para a indução de alterações cromossômicas (IAEA, 2011). A diminuição da RBE, nas regiões de elevada LET tem sido geralmente aceita como um efeito de saturação, resultante de desperdício da energia destrutiva, denominado "overkilling" (Takatsuji et al., 1999).

### **2.2.2 Radiossensibilidade celular**

As células que apresentam grande atividade mitótica, bem como aquelas mais indiferenciadas, são mais sensíveis à radiação ionizante (Bergonié e Tribondeau, 1959). Por isso, o sistema hematopoiético e o reprodutivo são mais agredidos durante uma exposição às radiações ionizantes do que o tecido nervoso e o parênquima renal. Em virtude da grande atividade mitótica, as células

neoplásicas são, via de regra, mais sensíveis do que as células normais e isso permite que seja utilizado as radiações ionizantes para tratar alguns tipos de tumores malignos por meio da radioterapia. A radiosensibilidade varia de acordo com a atividade metabólica e com fatores estruturais inerentes a cada tipo celular. A tabela 2 mostra a radiosensibilidade de algumas células de mamíferos (Garcia, 2002).

**Tabela 2** – Variação da radiosensibilidade de acordo com o grupo celular.

Célula	Radiossensibilidade	Capacidade de divisão	Nível de diferenciação
1. Eritroblastos, células das criptas intestinais, células basais da epiderme	++++	++++	+
2. Mielócitos e espermátocitos	+++	++++	++
3. Células dos rins, fígado, pâncreas e tireoide	++	++	+++
4. Neurônios e células musculares	+	-	++++

+ (menor intensidade)/ ++++ (maior intensidade)

Fonte: Garcia (2002).

No caso dos linfócitos, observa-se a diminuição do número destas células presentes na circulação sanguínea quando ocorre irradiação do corpo inteiro, resultando em doses absorvidas de 2 a 10Gy. Isto ocorre devido à sensibilidade destas células à radiação ionizante (Léonard, 2005; IAEA, 2001b), sendo, por isso, exceção à lei da radiosensibilidade de Bergonié e Tribondeau (1959), uma vez que são células altamente diferenciadas.

### 2.3 Lesões e reparo do DNA

O DNA contido em nossas células é constantemente exposto e bastante vulnerável a uma série de agentes que podem causar-lhe danos (Neal e Meek,

2011). Embora haja uma tendência de maior preocupação quanto às fontes ambientais de danos no DNA (como agentes químicos, radiação ultravioleta (UV) e radiação ionizante), uma célula humana repara mais de 10.000 lesões por dia no DNA para neutralizar fontes de danos endógenos. O DNA possui uma meia-vida de depuração espontânea que pode gerar sítios desprovidos de bases em fitas de DNA a uma taxa estimada em 2.000-10.000 lesões por célula humana por dia. De fato, propõe-se que a maior parte da maquinaria de reparo do DNA tenha se desenvolvido para lidar com danos no DNA gerado pelos subprodutos do metabolismo celular – espécies reativas de Oxigênio, agentes alquilantes endógenos e quebras de fita única e dupla do DNA resultantes de colapso de forquilhas de replicação do DNA ou de destruição oxidativa de resíduos de desoxirribose (Peterson e Côté, 2004).

Entre os diversos tipos de lesões que podem ocorrer no DNA, a quebra de fita dupla do DNA (*doublestrand break* – DSB) é considerada uma das mais citotóxicas (Kass e Jasin, 2010). Estudos mostram que uma única DSB pode ser fatal para uma célula, caso não haja reparos, e que o reparo incorreto das DSBs pode resultar, em larga escala, em rearranjos cromossômicos que, em última análise, pode levar à carcinogênese. As DSBs de DNA são geradas tanto por fontes exógenas, como por fisiológicas. Entre os agentes exógenos estão a radiação ionizante e agentes genotóxicos, tais como inibidores da topoisomerase de DNA ou de agentes de *cross-linking* de DNA, que são muitas vezes utilizados para a quimioterapia (Neal e Meek, 2011).

As DSBs também podem ser geradas por agentes endógenos, tais como espécies reativas de Oxigênio, gerado por respiração celular, de ações enzimáticas fora do alvo, tais como clivagem inadvertida por nucleases, e de

estresse mecânico sobre os cromossomos (Neal e Meek, 2011). Além disso, as DSBs são intermediárias essenciais durante eventos de recombinação programada, como a meiose e desenvolvimento de linfócitos (Symington e Gautier, 2011).

Devido à crítica natureza de manutenção do DNA, tanto para a sobrevivência celular quanto para a fidelidade genética, os organismos desenvolveram uma série de mecanismos complexos e altamente regulados que funcionam para reparar danos causados ao DNA (Neal e Meek, 2011). A falha para reparar tais lesões pode levar a uma taxa de mutação deletéria, à instabilidade genômica ou à morte celular. Em eucariotos superiores, a lesão em genes responsáveis pelo reparo ao DNA e / ou de regulação do ciclo celular pode conduzir ao desenvolvimento de doenças como o câncer (Peterson e Côté, 2004).

### **2.3.1 Reparo por excisão de bases**

O reparo por excisão de bases (REB) é um mecanismo pelo qual as células reparam lesões de nucleotídeos derivadas de dano de base ocasionada por espécies reativas de Oxigênio, irradiação, produtos químicos genotóxicos, desaminação espontânea ou por ocorrência natural de sítios desprovidos de bases (apurimidínicos e apurínicos – AP). Os sítios AP e de quebra de fita simples do DNA (*single-strand breaks* - SSB), que necessitam de processamento final, podem ser reparados através desta via, uma vez que são formados como intermediários na via de REB (Xu et al., 2008). A maior parte dos danos no DNA é causada por agentes endógenos metabólicos, como a oxidação. O sistema de REB detecta eficientemente tal dano de base dentre uma enorme quantidade de

bases normais no DNA, remove esse dano e restaura a base normal para manter a integridade do genoma (Hitomi et al., 2007; Xu et al., 2008).

Comparado a outros tipos de mecanismos de reparo do DNA como o reparo por excisão de nucleotídeos, os sistemas de reparo por excisão de bases são verticalmente bem conservados, de bactérias a seres humanos, em termos de componentes do núcleo de sua maquinaria. Nas células, no entanto, o REB atua em redes complexas de proteínas, que variam entre os diferentes tipos de organismos e que não são independentes de outras regulações metabólicas do DNA, incluindo a replicação e transcrição (Hitomi et al., 2007).

O REB ocorre, de maneira geral, em duas etapas: primeiro, o reconhecimento específico do dano e excisão realizada por glicosilase direcionadas para lesões de base distintas, e em segundo lugar, um estágio de dano geral durante a qual centrais resultantes de intermediários e 3'terminal do sítio AP são processadas por nucleases de estrutura específica, tais como FEN-1, seguido de síntese de reparo do DNA e de ligação. Embora diversos tipos de danos de base de DNA ocorram nas células, todos os organismos desenvolveram meios eficientes e específicos para encontrar, remover e reparar tais danos de base. Além disso, como este é o dano mais comum ao DNA, o REB é uma das principais vias para proteção celular da molécula (Hitomi et al., 2007).

### **2.3.2 Reparo por excisão de nucleotídeos**

O sistema de reparo por excisão de nucleotídeos (REN) está envolvido na remoção de uma grande variedade de lesões que distorcem a hélice do DNA, tais como dímeros de pirimidina ciclobutano e 6-4 fotoprodutos, produzidos por exposição à luz UV, ligações cruzadas intracadeia (*intrastrand cross-links*), e

adutos volumosos induzidos por vários carcinógenos (Sugasaw et al., 2001; Bergink et al., 2006). Mais de 30 proteínas estão envolvidas nesse sistema de reparo (Bergink et al., 2006).

Defeitos no REN promovem a fotossensibilidade extrema e predisposição ao câncer de pele observada na síndrome Xeroderma Pigmentoso. Sete grupos de complementação do Xeroderma Pigmentoso foram identificados, o que representa genes XPA-G de reparações distintas (De Laat et al., 1999; Bergink et al., 2006).

A ocorrência do REN eucariótico envolve pelo menos duas subvias distintas, reparação genômica global (RGG) e reparação de transcrição acoplada (RTA). A subvia RGG pode operar em qualquer local no genoma, e a sua eficácia varia de acordo com o tipo de lesão, por exemplo, os 6-4 fotoprodutos são eliminados do genoma global muito mais rápido do que os dímeros de pirimidina ciclobutano. Em contraste, a RTA remove especificamente lesões que bloqueiam RNA polimerases sobre as fitas de transcrição de genes ativos. Ao contrário do RGG, essa subvia elimina diferentes lesões em taxas similares e contribui para a rápida recuperação da atividade transcricional após o DNA ter sido danificado, garantindo a manutenção de funções celulares normais e de sobrevivência (Sugasaw et al., 2001; Bergink et al., 2006).

### **2.3.3 Reparo de DSBs**

As vias classicamente envolvidas no reparo de DSBs do DNA nas células eucariotas são: a recombinação de extremidade não-homóloga (RNH) e recombinação homóloga (RH). A RNH é uma via eficaz que funciona ao longo do ciclo celular e envolve a ligação de DNA terminal com o mínimo de

processamento no local da união final, enquanto a RH, ocorrendo especialmente nas fases S e G<sub>2</sub> do ciclo celular, utiliza uma sequência homóloga não danificada como um modelo de reparo, de preferência a cromátide-irmã, e é considerado o método mais preciso para reparar DSBs no DNA (Kass e Jasin, 2010; Symington e Gautier, 2011).

### **2.3.3.1 Recombinação não-homóloga**

A recombinação não-homóloga (RNH) representa o mecanismo mais simples para restaurar a DSBs e a integridade de cromossomos (Symington e Gautier, 2011). Proteínas de RNH foram inicialmente identificadas através da sua exigência de resistência à radiação ionizante e recombinação V(D)J no sistema imune. A RNH pode unir as extremidades do DNA com um número de diferentes estruturas. Como resultado, esta via faz uso de um número de etapas de processamento que podem incluir a clivagem antes da ligação (Kass e Jasin, 2010).

A RNH envolve a religação das duas extremidades do DNA, e pelo fato dessa reação não ser guiada por um molde de DNA, está propensa a erros (Peterson e Côté, 2004). Embora a RNH tenha o potencial para introduzir mutações prejudiciais, uma vez que a maior parte do genoma de eucariotos superiores consiste em DNA não essencial, as consequências de introduções de mutações nem sempre são prejudiciais. De fato, em alguns casos, a indução de mutações através do reparo de DSB por RNH pode até ser benéfica, por exemplo, na recombinação V(D)J, onde união sujeita a erro de segmentos V, D, e J acrescenta considerável diversidade ao repertório imunológico (Neal e Meek, 2011).



### 2.3.3.2 Recombinação homóloga

A recombinação homóloga (RH) é uma importante via de reparo de DSB em todos os eucariotos e tem uma vantagem distinta sobre outros mecanismos, a de ser livre de erros (Peterson e Côté, 2004). RH é iniciada por ressecção de terminações de DNA no local da DSB para produzir 3' - DNA de cadeia simples (*single-stranded DNA* – ssDNA), que são capazes de invadir a fita dupla do DNA contendo uma sequência homóloga (Kass e Jasin, 2010).

A RH requer membros do grupo de epistasia *RAD52*, definida pelo genes de levedura *RAD50*, *RAD51*, *RAD52*, *RAD54*, *RAD55*, *RAD57*, *RAD59*, *MRE11* e *XRS2*. Estes genes são altamente conservados entre todos os eucariontes, destacando a importância dessas proteínas para a sobrevivência celular (Peterson e Côté, 2004).

Esse sistema de troca de informação genética entre as sequências alélicas exerce funções essenciais na meiose e mitose. Além disso, mantém estabilidade genômica somática, promovendo reparo preciso das DSBs induzidas pela radiação ionizante e outros agentes, reparando os telômeros incompletos que surgem quando a enzima telomerase não é funcional, reparo do DNA de ligação cruzada, e a reparação de forquilhas de replicação danificadas. Embora as células possuam vias alternativas de reparo, como a recombinação não-homóloga, estas podem não estar operante em todas as fases do ciclo celular, elas nem sempre agem em lesões de forquilhas de replicação ou não são tão precisos quanto a RH na reparação de quebras cromossômicas (Filippo et al., 2008).

## **2.4 Dosimetria biológica**

A dosimetria biológica é um tema importante no campo da radioproteção. A preocupação principal é estimar a dose de radiação através da medição de alterações biológicas em indivíduos expostos à radiação. Além disso, pode ser possível prever os efeitos futuros sobre a saúde por um estudo de acompanhamento em longo prazo dos efeitos da radiação (Jin et al., 1998). É utilizada em todas as situações em que a dose absorvida de corpo inteiro é desconhecida ou incerta, como em exposições acidentais ou ocupacionais, ou nos casos em que a avaliação de dose por meio de dosimetria física não é possível. Mesmo em situações em que a medição física é viável, uma estimativa independente através de métodos biológicos pode ser de grande utilidade, servindo de covalidação à dosimetria física (IAEA, 2001b).

A dosimetria biológica não mede a exposição em tempo real e, sim, as modificações biológicas induzidas pela radiação, havendo indicadores de exposição e de efeito. Muitas vezes, os dois aspectos se sobrepõem, como no caso de efeitos determinísticos induzidos por altas doses, assim como para a clínica da Síndrome Aguda da Radiação, que é caracterizada por danos na pele e nos sistemas hematopoiético, gastrointestinal e cerebrovascular, onde a gravidade das lesões depende da quantidade da dose absorvida. No caso de efeitos estocásticos, induzidos por doses baixas, os biomarcadores utilizados para medir a dose absorvida, nem sempre implicam em um prejuízo claro de saúde. No entanto, muitas vezes foi demonstrado que um aumento da frequência desses indicadores está associado com um aumento do risco de indução de câncer e pode ser indicativo de radiosensibilidade (Giovanetti et al., 2012).

Dois métodos são comumente utilizados na dosimetria biológica: o método citogenético convencional, onde se realiza a contagem de alterações cromossômicas instáveis (cromossomos dicêntricos, anéis e fragmentos cromossômicos) e FISH (“Fluorescence *in situ* Hybridization”), que é um método baseado no uso de sondas fluorescentes para visualização e contagem de alterações cromossômicas estáveis (translocações, por exemplo), diminuindo o grande tempo gasto com o processo de cariotipagem necessário para contagem de alterações instáveis (Amaral, 2002).

#### **2.4.1 Bioindicadores para as radiações ionizantes**

O termo “bioindicador” ou “biomarcador” é utilizado em um sentido amplo para incluir qualquer medida que reflita uma interação entre um sistema biológico e um agente ambiental, que podem ser físicos, químicos ou biológicos (WHO, 1993). Vários são os parâmetros biológicos que podem estar alterados como consequência da interação entre o agente químico e o organismo, entretanto, a determinação quantitativa destes parâmetros usados como indicadores biológicos ou biomarcadores, só é possível se existir correlação com a intensidade da exposição e/ou o efeito biológico da substância. Desta forma, o biomarcador compreende toda substância ou seu produto de biotransformação, assim como qualquer alteração bioquímica precoce, cuja determinação nos fluidos biológicos, tecidos ou ar exalado, avalie a intensidade da exposição e o risco à saúde (WHO, 1996).

Para que um parâmetro biológico seja considerado bioindicador para a radiação ionizante, de maneira geral, é necessário que contemple os seguintes critérios (Voisin et al., 2004):

- Ser específico para a radiação ionizante, de forma que agentes químicos ou genotóxicos não produzam alterações similares;
- Ser de mensuração relativamente fácil, possibilitando uma rápida avaliação após um acidente radioativo;
- Refletir a dose recebida de acordo com as circunstâncias de exposição. Isto significa que relações dose-efeito devem ser estabelecidas e podem ser calibradas por diversos fatores como radiações de diferentes naturezas e taxas de dose.

A complexidade do biomonitoramento é diminuída através dos diversos métodos de avaliação associados aos métodos de monitoração física e ambiental. Efeitos moleculares precoces, gerados pela interação da radiação ionizante com o organismo humano são considerados bioindicadores, incluindo alterações cromossômicas, estudadas principalmente em linfócitos humanos (Rodrigues et al., 2005).

#### **2.4.2 Linfócitos humanos**

Os linfócitos são as únicas células do corpo capazes de reconhecer e distinguir de modo específico os diversos determinantes antigênicos e são, consequentemente, responsáveis por duas características definidoras da resposta imunológica adquirida, especificidade e memória. Existem diversas subpopulações de linfócitos que diferem em sua maneira de reconhecer os antígenos e em suas funções (Abbas et al., 2008).

Os linfócitos B, por exemplo, são as únicas células capazes de produzir anticorpos. Eles reconhecem antígenos extracelulares (incluindo os que se

encontram na superfície celular) e se diferenciam em células secretoras de anticorpos, funcionando, assim, como mediadores da imunidade humoral. Os linfócitos T, as células de imunidade celular, reconhecem os antígenos de microrganismos intracelulares, destruindo-os ou destruindo as células infectadas. Eles se constituem de populações funcionalmente distintas das quais as que foram mais bem caracterizadas: as células T auxiliares e as células T citolíticas ou citotóxicas. Uma terceira classe de linfócitos, as células *natural killer* (NK), está envolvida na imunidade natural contra vírus e outros organismos extracelulares (Abbas et al., 2008).

Todos os linfócitos derivam de células-tronco da medula óssea, entretanto, os linfócitos T sofrem um processo de desenvolvimento no timo e os linfócitos B, na medula óssea (em adultos). Em um esfregaço sanguíneo convencional, essas células variam grandemente tanto em tamanho (6 a 10µm) quanto em morfologia e estas diferenças podem ser observadas ao nível da relação núcleo-citoplasma, da morfologia do núcleo e da presença ou ausência de grânulos azurofílicos (Roitt et al, 1999).

A população de linfócitos de um adulto é estimada em cerca de  $5 \times 10^{11}$  células das quais aproximadamente 2% estão presentes na corrente sanguínea. Estas levam apenas cerca de 30 minutos para percorrer todo o trajeto sanguíneo e são continuamente trocados principalmente com linfócitos no pulmão, baço, fígado, medula óssea e linfonodos. Os linfócitos têm uma vida média de 3 anos, porém o seu tráfego e sua substituição podem ser afetados pela apoptose generalizada das células linfáticas após uma exposição à radiação (IAEA, 2001b; Léonard, 2005).

A contagem de linfócitos pode ser reduzida (linfopenia) ou, em alguns casos, aumentada (linfocitose) devido a drogas, à infecção e a vários distúrbios clínicos não relacionados com a radiação. A síndrome hematopoiética é desenvolvida após exposição à radiação no intervalo de doses absorvidas entre 2-3Gy e 8Gy, enquanto progenitores hematopoiéticos mitoticamente ativos são incapazes de se dividir após uma exposição de corpo inteiro > 2-3Gy, o que resulta em uma situação de crise hematológica durante as semanas seguintes (Waller et al., 2009).

Em doses absorvidas mais baixas (<2Gy) a radiação induz citopenias brandas sem dano significativo na medula óssea. A linfopenia do sangue periférico pode desenvolver-se nas primeiras 6-24 horas após uma exposição de moderada a altas doses absorvidas. Além da indução da apoptose, cujo efeito não é observado antes do primeiro ciclo celular, a radiação altera as propriedades de recirculação dos linfócitos (Giovanetti et al., 2012).

Além de radiosensíveis, os linfócitos humanos periféricos são células diferenciadas encontradas predominantemente na fase pré-sintética de DNA do ciclo celular (ou seja, a fase  $G_0$ ) e são capazes de armazenar os danos biológicos causados pela radiação ionizante por um período de meia-vida de 3 anos. Apenas 0,2% ou menos de linfócitos periféricos estão na fase auto-sintética do ciclo celular e estes, provavelmente, originam-se do *pool* de grandes células linfóides representando linfócitos estimulados ou células plasmáticas imaturas. Células deste grupo podem dar lugar a raras mitoses encontradas ocasionalmente no sangue periférico (IAEA, 2001b).

Devido à facilidade de obtenção do sangue através de uma forma não-invasiva, os linfócitos circulantes têm sido empregados como células-alvo para

estimar dose absorvida de radiação ionizante em caso de acidentes. Uma vez que a irradiação *in vitro* e *in vivo* de linfócitos induz a produção de danos cromossômicos semelhantes por unidade de dose, a dose absorvida pode ser estimada através da comparação da frequência de alterações observada nos linfócitos de vítimas do acidente com a curva dose-resposta gerada a partir de experimentos *in vitro* (IAEA, 2001b).

Desta forma, até o momento, a produção de alterações cromossômicas em linfócitos sanguíneos periféricos em seres humanos tem sido bioindicadores de exposição à radiação (Rodrigues et al., 2005; IAEA, 2001b), apesar das alterações cromossômicas instáveis serem eliminadas seletivamente durante a renovação celular, inviabilizando a dosimetria biológica retrospectiva anos após a exposição (Léonard et al., 2005).

#### **2.4.3 Análise citogenética e alterações cromossômicas**

Como proposto por Hutchinson (1966), há 46 anos, o principal alvo de mutagênicos, como a radiação ionizante, é o DNA. Juntamente com as proteínas, o DNA constitui os cromossomos, localizados no núcleo de cada célula eucariótica. Durante a mitose ou meiose, os cromossomos condensam-se e tornam-se mais facilmente identificáveis. Em humanos foram identificados 23 pares cromossômicos. Inicialmente, os pares de cromossomos foram classificados de acordo com o tamanho e forma, após a utilização de técnicas de bandejamento a capacidade de uma identificação mais precisa dos cromossomos e das regiões cromossômicas foi aperfeiçoada (Giovanetti et al., 2012).

A análise de alterações cromossômicas permite detectar a ação de agentes clastogênicos que produzem quebras cromossômicas; agentes aneugênicos, que

interferem no processo de segregação cromossômica, provocando alteração na distribuição dos cromossomos durante a divisão celular; e agentes alquilantes que interagem diretamente com o DNA formando adutos covalentes (técnica de troca de cromátides-irmãs) (Lohmann, 1995).

As alterações cromossômicas podem ser numéricas ou estruturais e envolver um ou mais autossomos, cromossomos sexuais, ou ambos. Os rearranjos estruturais resultam de quebra cromossômica, seguida de reconstituição numa combinação anormal. Estes rearranjos são definidos como balanceados, se o conjunto de cromossomos possuir o complemento normal de informações genéticas, ou não-balanceados, se houver informações a mais ou a menos. Alguns rearranjos são estáveis, capazes de passar por divisões celulares inalterados, enquanto outros são instáveis. Para ser estável, um cromossomo rearranjado deve ter elementos estruturais normais, incluindo um único centrômero funcional e telômeros (Thompson et al., 2008).

Essas lesões induzidas pelos agentes clastogênicos na estrutura cromossômica podem ser reparadas, restabelecendo a configuração original; pode ocorrer um erro no reparo, resultando em rearranjos cromossômicos ou permanecer sem reparo, originando uma deleção cromossômica (Silva, 2001). Dessa forma, a presença de alterações cromossômicas é um indicativo de que as células sofreram um dano ao DNA decorrente de algum agente indutor.

A radiação ionizante é um agente extremamente potente na indução de alterações cromossômicas em todos os tipos de células *in vivo* e *in vitro*, em qualquer fase do ciclo celular. No entanto, dependendo do estágio do ciclo celular, diferentes tipos podem ser produzidos: se a célula for exposta na fase  $G_0$  ou  $G_1$  do ciclo celular, a alteração resultante será do tipo cromossômica; na fase  $G_2$ , do

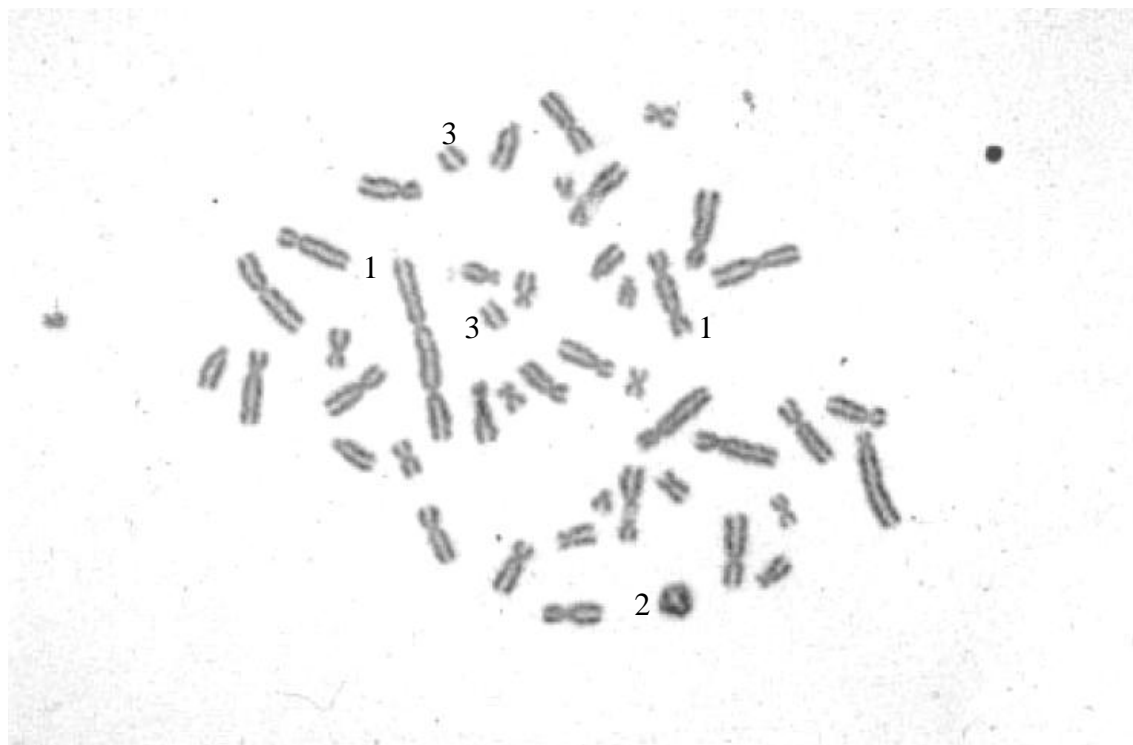


tipo cromatídica e na fase S, haverá uma mistura dos dois tipos de alterações (Carrano e Natarajan, 1987; Natarajan e Kesavan, 2005). Vale ressaltar que as frequências das alterações aumentam com a dose absorvida devido à radiação ionizante e à produção dessas alterações cromossômicas, como dicêntricos, é similar tanto *in vivo* quanto *in vitro* (Natarajan e Kesavan, 2005).

As mais típicas alterações radioinduzidas (Fig.4) são: (1) os dicêntricos, com dois centrômeros, decorrente de duas quebras em dois cromossomos não-homólogos fundidos, e com um fragmento terminal sem centrômero; (2) os anéis, que se desenvolvem a partir de duas quebras em um cromossomo. Se os dois pontos de interrupção são muito próximos um dos outros são produzidos dois anéis muito pequenos, os minutes ou deleções intersticiais; (3) as deleções terminais ou fragmentos acêntricos, decorrentes de uma única quebra no DNA. Alguns autores consideram apenas dicêntricos e anéis. Mas estes são raros e os erros estatísticos associados são grandes em doses baixas (Shevchenko, 1998; Edwards et al., 2007).

Entretanto, desde a introdução por Bender e Gooch (1966), a análise de dicêntricos, em linfócitos sanguíneos periféricos em seres humanos como indicadores de exposição à radiação, tem sido, até o momento, o melhor método para a determinação da dose de radiação, pois apresenta uma relação dose resposta precisa, é pouco influenciável por fatores externos e independe do tipo de radiação (Prasanna et al., 2002). Outras vantagens residem na possibilidade de obtenção de um grande número de linfócitos em poucos mililitros de sangue, onde estes constituem uma população celular sincronizada no estágio  $G_0$ , com longa vida média e uma baixa incidência de alterações cromossômicas espontâneas (Moura et al., 1986). Além disso, os linfócitos apresentam uma vida-

média relativamente longa (3 anos) e circula por todos os tecidos (Lohmann, 1995).



**Figura 4** – Metáfase com os principais tipos de alterações cromossômicas instáveis radioinduzidas. 1- Cromossomos dicêntricos; 2- Anel cromossômico; 3- Fragmentos acêntricos (IAEA, 2001b).

Por muitos anos, a avaliação de alterações e rearranjos cromossômicos em linfócitos humanos de sangue periférico tem sido utilizada como dosímetro biológico para o cálculo das doses absorvidas numa exposição real ou suspeita à radiação. Em caso de exposição ou suspeita de exposição excessiva a radiações ionizantes, é importante avaliar de forma mais rápida e precisa quanto possível a dose recebida pelo indivíduo exposto ou potencialmente superexposto, possibilitando a adoção do melhor programa de ação médica e a obtenção de estimativas de risco de forma prospectiva (Terzoudi e Pantelias, 2006).

A análise de dicêntricos está de acordo com a maioria dos critérios anteriormente citados para um bioindicador. A frequência de dicêntricos e anéis cromossômicos permite uma boa estimativa da dose equivalente do 'corpo inteiro' devido a mistura de linfócitos expostos e não expostos contidos em uma amostra de sangue. Este bioindicador de dose é preciso em casos de superexposição aguda, homogênea e recente (Voisin et al., 2004). Uma vez que 50% destes tipos de alterações são eliminados em cada mitose, as células precisam ser examinadas em sua primeira divisão 46-48h após o início da cultura (Leonard et al., 2005).

O limite inferior de detecção de dicêntricos em linfócitos humanos é de cerca de 0,1Gy para raios  $\gamma$  e a dose mais alta possível de ser medida está dentro da faixa de dose letal<sup>7</sup>. Nas doses mais elevadas, as exposições parciais do corpo podem ser detectadas e algumas correções podem ser feitas para se levar em conta o tempo desde a exposição (Edwards et al., 2007).

A principal desvantagem da análise de dicêntricos é o fato do dano ser instável, uma vez que as células danificadas são removidas do conjunto de linfócitos de sangue periférico à medida que estas células são substituídas (Lloyd et al., 1980). A este respeito, a introdução da técnica de FISH (Pinkel et al., 1986) permite que as alterações mais persistentes, como translocações, sejam analisadas proporcionando uma retrospectiva confiável e de longo prazo à dosimetria (Lindholm e Edwards, 2004).

As translocações persistem com o tempo, desde que sejam contabilizadas e analisadas em células estáveis. Mais dados, particularmente a partir do acompanhamento de exposição acidental aos seres humanos, são necessários

---

<sup>7</sup> A dose letal média fica entre 4 e 4,5 Gy. Isto significa que, de 100 pessoas irradiadas com esta dose, metade morre (Tauhata, 2003).

para confirmação da técnica. Ainda há variação de destaque na produção de translocações nos indivíduos controle, mesmo depois de feitas correções para idade, de maneira que mais trabalhos com relação a outros fatores potenciais de confusão são justificados (Edwards et al., 2007).

Estudos prospectivos de seguimento têm demonstrado que os indivíduos com níveis elevados de alterações cromossômicas estruturais podem ter um risco elevado para o desenvolvimento de câncer, enquanto essa associação não foi observada com outros biomarcadores (Hagmar et al., 1994; Bonassi et al., 1995). Isso coloca o ensaio de alterações cromossômicas como um indicador confiável de risco radiológico (Rodrigues et al., 2005).

O *National Council on Radiation Protection & Measurements* tem avaliado os riscos potenciais para usuários de voos em elevadas altitudes associados à radiação e reconhece a necessidade de novas pesquisas na área da radiobiologia de nêutrons (NCRP, 1995). Da mesma forma, estudos vêm sendo realizados com tripulantes de programas espaciais. Em linfócitos de astronautas, por exemplo, a análise citogenética fornece uma medida direta valiosa de dano *in vivo* devido à radiação espacial, o que leva em conta fatores como incertezas quanto à localização de dosímetros em tripulantes, a eficiência biológica de radiação de campo-misto, possíveis variações individuais de radiosensibilidade, e a potencial interação entre microgravidade e radiação que complicam ainda mais a avaliação de risco (Kawata et al., 2004). Um aumento de alterações cromossômicas em linfócitos periféricos e a incidência de câncer em membros de tripulação espacial têm sido registrados (Obe et al., 1999; Snigiryova et al., 2012).

Apesar de estar havendo este foco em radiobiologia de nêutrons, poucos ainda são os laboratórios de dosimetria biológica envolvidos com esse tipo de

radiação. Em julho de 2002, por exemplo, a Agência de Energia Nuclear (NEA) e o Instituto de Radioproteção e Segurança Nuclear (IRSN) – entidades sediadas na França – realizaram uma intercomparação dosimétrica envolvendo dosimetria biológica e física. Neste exercício foram enviadas amostras irradiadas para 13 laboratórios com dose absorvida conhecida para que cada um deles estimasse esta dose através da contagem de dicêntricos e posterior correlação em suas respectivas curvas de calibração. Tal cálculo foi feito por todos os laboratórios para amostras expostas a raios  $\gamma$ , mas não para nêutrons. Na verdade, apenas quatro laboratórios possuíam curvas de calibração para nêutrons (Roy et al., 2004), mostrando a carência de dados relativos a dosimetria biológica de nêutrons e a consequente necessidade de pesquisas envolvendo esse tipo de radiação.

No Brasil, é importante observar, ainda, que as discussões em nível interministerial sobre o Programa Nuclear Brasileiro - PNB, como têm sido amplamente divulgadas, estão em andamento para atender ao Plano Decenal de Energia (PDE 2007-2016) e ao Plano Nacional de Energia 2030 (PNE 2030), inclusive com previsão do início da operação da Usina Angra 3 para o final de 2016. E, a partir das diretrizes de planejamento estabelecidas pelo PNE 2030, a Eletrobrás Eletronuclear deu início ao procedimento de seleção de locais candidatos para as futuras centrais nucleares brasileiras (Eletrobras Eletronuclear, 2011; CNEN, 2010).

A primeira etapa de seleção do local já foi concluída e alguns sítios na Zona do Sertão de Pernambuco, às margens do Rio São Francisco, na divisa com o Estado da Bahia passarão pela segunda etapa de seleção, onde serão aprofundados os estudos de local e identificados sítios específicos tecnicamente

adequados para localização das futuras centrais nucleares brasileiras (Eletrobras Eletronuclear, 2011; CNEN, 2010). Com isso, o número de indivíduos ocupacionalmente expostos às radiações na Região Nordeste irá aumentar e, como consequência, há possibilidade de desenvolvimento de leucemia ou outros tipos de câncer, além de mutações hereditárias, caso não sejam adotadas práticas de radioproteção adequadas (Goodhead, 1993; Rodrigues et al., 2005).

#### **2.4.4 Curva dose-resposta**

Em meados da década de 60, a radiação ionizante era conhecida por sua capacidade de induzir alterações cromossômicas em metáfases de linfócitos periféricos humanos. Desde então, o ensaio de alterações cromossômicas tem sido amplamente utilizado como um biomarcador sensível para a reconstrução da dose após a exposição à radiação, tendo sido geradas centenas de curvas doses-respostas com essa finalidade (Liu et al., 2009; Vinnikov e Maznyk, 2012).

Em particular, a análise de dicêntricos e anéis cromossômicos tem sido considerada como o método padrão para estimativa da biodosimetria com base na sua relação dose-resposta bem estabelecida com exposição à radiação e os seus baixos níveis na população em geral (Liu et al., 2009). Dessa forma, a construção das curvas dose-resposta é uma exigência fundamental da dosimetria biológica (IAEA, 2001b).

A comparação da frequência de alteração cromossômica após a irradiação por raios-X de corpo inteiro de pacientes e irradiação *in vitro* do sangue do mesmo indivíduo mostrou que não há diferença significativa entre elas (Leonard et al., 1995), demonstrando que as curvas de calibração podem ser utilizadas

para a conversão de uma frequência observada de alterações cromossômicas em um indivíduo exposto a determinada dose.

A relação dose-efeito das curvas de muitos laboratórios geralmente indica um bom ajuste ao modelo linear-quadrático, como esperado. Este tipo de ajuste requer o uso do método da máxima verossimilhança, que não está disponível em pacotes comerciais de *software* estatísticos. Apesar de vários laboratórios de dosimetria biológica possuírem seus próprios programas estatísticos genéricos, eles não são de fácil utilização e não interfaceiam com aplicações de gráficos científicos (Wilkins et al., 2008).

A curva de dose-resposta é geralmente aceita como ajustada à equação (2):

$$Y = a + \alpha D + \beta D^2 \quad (2)$$

onde Y é a frequência de dicêntricos, D é a dose absorvida, 'a' é a frequência de *background*, ou seja, das amostras controle (não expostas à radiação);  $\alpha$  é o coeficiente linear e  $\beta$  é o coeficiente quadrático da dose. A relação  $\alpha/\beta$  é igual à dose em que os componentes linear e quadrático contribuem igualmente para a formação das alterações cromossômicas instáveis (IAEA, 2001b; IAEA, 2011).

O ajuste adequado da curva requer um número suficiente de graus de liberdade e, portanto, de preferência, cerca de 10 doses devem ser utilizadas na faixa de 0,25-5,0Gy. Para radiação de baixo LET não é necessário utilizar doses mais altas que 5,0Gy, uma vez que a saturação do número de alterações, nestas doses, promoverá uma distorção do coeficiente  $\beta$ . Para a radiação de alta LET,

uma dose máxima de 2,0Gy seria razoável. Como a maioria dos acidentes de radiação envolvem doses inferiores a 1,0Gy, a região de baixas doses da curva será particularmente importante para estimar as doses absorvidas. Várias doses, no mínimo quatro, são necessárias para reduzir a incerteza estatística associada ao coeficiente de rendimento, devendo as mesmas estar na faixa de 0,25-1,0Gy (IAEA,2001a).

Para a formação de dicêntricos e dos anéis cromossômicos são necessárias duas lesões e estas podem ser produzidas por interações únicas de ionização ou por duas interações independentes devido à radiação. Fragmentos acêntricos requerem uma ou duas lesões e podem também ser produzidos por duas interações independentes ou interações únicas. O componente  $\beta$  da equação (2) corresponde à interação dupla e o  $\alpha$ , à interação única (Lloyd, 1976).

A curva de dose-efeito para alterações cromossômicas em linfócitos do sangue periférico é geralmente linear ou linear-quadrático por natureza. Para radiação com baixa LET a resposta é linear-quadrático, enquanto para radiação de maior LET a resposta é linear com componentes  $\beta$  igual a zero (Acharya et al., 2009).

Também foi descrito que os componentes linear ( $\alpha$ ) e quadrático ( $\beta$ ) das curvas dose-resposta variam de acordo com a qualidade de radiação. Resposta linear indica a contribuição de danos a partir de um evento de interação única, o qual é independente do tempo e proporcional à dose ( $D$ ). O componente quadrático é devido a lesões de duas ou mais interações, o que é dependente do tempo e proporcional ao quadrado da dose ( $D^2$ ). Isto implica que o componente quadrático é potencialmente susceptível à taxa de dose ou a efeitos dose-fracionada. No entanto, a dose de radiação, a fluência de partícula, a energia da



radiação utilizada e do modo em que a energia é depositada pode afetar os componentes linear e quadrático da curva dose-resposta (Acharya et al., 2009).

Apesar das melhorias nas técnicas e adoção pelos laboratórios de mais programas estatísticos para análise de dados, diferenças significativas entre os laboratórios ainda permanecem. A interpretação da dose utilizando uma curva de calibração produzida em outro lugar pode introduzir incertezas extras substanciais e, portanto, é recomendado que todo laboratório que pretenda realizar dosimetria biológica deva estabelecer sua própria curva dose-resposta (IAEA, 2001b).

O programa computacional CABAS (Deperas et al., 2007), desenvolvido especificamente para a dosimetria biológica, possibilita a determinação de parâmetros de ajuste para o estabelecimento de curvas de calibração baseadas não só em alterações cromossômicas instáveis, como também em micronúcleos e alterações cromossômicas estáveis visualizáveis por FISH.

O *software* consiste em (i) o módulo principal de ajuste da curva e de estimativa de dose, (ii) um módulo de cálculo da dose nos casos de exposição parcial do corpo, (iii) um módulo para calcular o número mínimo de células necessárias para detectar uma certa dose de radiação, e (iv) um módulo de cálculo da dose no caso de uma exposição prolongada ou fracionada (Deperas et al., 2007).

Além disso, o programa está disponível gratuitamente para download em <http://www.pu.kielce.pl/ibiol/cabas> e vem sendo utilizado por grupos de pesquisa em dosimetria biológica, no sentido de uniformizar a análise dos dados, possibilitando ainda intercomparações mais seguras (Brandão, 2009).

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Analisar as frequências de alterações cromossômicas instáveis, em sangue periférico humano, após irradiação em um campo misto nêutron-gama.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

1. Determinar as frequências das alterações cromossômicas instáveis, em linfócitos humanos, após irradiação em campo misto nêutron-gama.
2. Estabelecer curvas dose-resposta para os diferentes tipos de alterações cromossômicas instáveis.
3. Analisar a distribuição intercelular das alterações cromossômicas instáveis em três doses absorvidas, em linfócitos humanos, devido à irradiação em campo misto nêutron-gama.

## **4. Material e Métodos**

### **4.1 Local da pesquisa**

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Dosimetria Biológica do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (LDB – CRCN-NE/CNEN), e faz parte de um projeto aprovado pelo Comitê de Ética do CCS/UFPE envolvendo pesquisas com seres humanos da Universidade Federal de Pernambuco sob o número de protocolo 094/08 (Anexo 1).

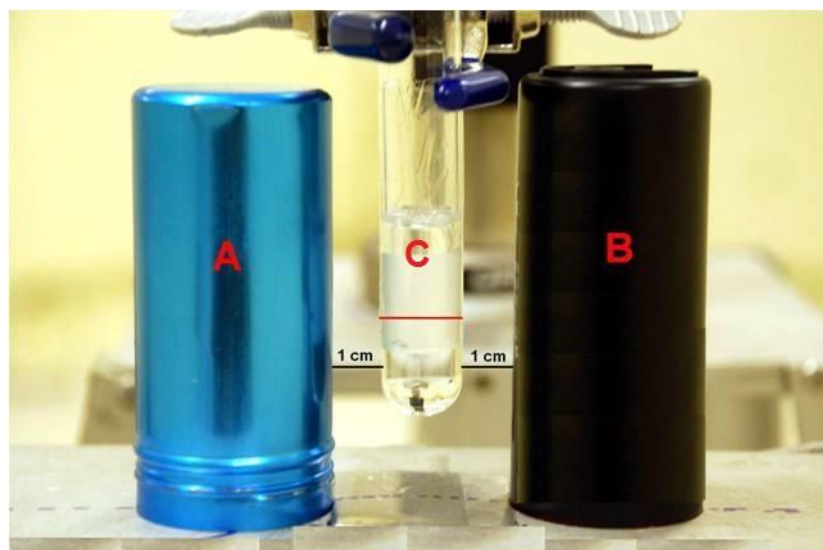
### **4.2 Seleção de doador e coleta de amostras**

Um voluntário saudável e não-fumante foi selecionado, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2). Segundo critério utilizado por Gajendiran et al. (2001), foi realizado anamnese por meio de questionário (Anexo 3) para verificar se nos últimos seis meses antes da coleta o voluntário havia sido exposto à radiação terapêutica, raios-X diagnóstico, vacinação viral ou consumiu drogas ilícitas. Não tendo sido detectado nenhum fator no questionário que pudesse alterar substancialmente os resultados obtidos, foram, posteriormente, coletadas sete amostras de sangue periférico (10ml cada), por punção venosa, em seringa estéril descartável contendo heparina sódica na concentração de 5000U/ml.

### **4.3 Irradiação das amostras**

Cada amostra de sangue foi separada em duas alíquotas de 5ml, sendo uma, considerada o controle, não irradiada, e mantida à temperatura ambiente e outra irradiada num campo misto nêutron-gama.

A irradiação foi realizada no Laboratório de Calibração de Nêutrons (LCN – CRCN-NE/CNEN) com duas fontes de nêutrons rápidos de  $^{241}\text{AmBe}$  (fluência na posição de irradiação da ordem de  $10^4$  nêutrons/cm<sup>2</sup> cada). A distância entre as fontes e a amostra foi de 3,75cm – o centro da amostra foi assumido para ser o centro geométrico do líquido no tubo, tomando como eixo principal a perpendicular à direção do feixe (Fig. 5) e foi utilizada uma barreira de polietileno de 2mm para assegurar o equilíbrio eletrônico.



**Figura 5** – Setup de irradiação das amostras montado no Laboratório de Irradiação com Nêutrons do CRCN. A e B – representações das fontes de  $^{241}\text{AmBe}$ ; C – representação da amostra a ser irradiada.

Na posição de irradiação, o espectro foi determinado utilizando um sistema de esferas de Bonner fabricado pela LUDLUM Measurements Inc., modelo 42-5 e as doses absorvidas na posição de irradiação das amostras foram estimadas por meio de um arranjo experimental modelado utilizando o código Monte Carlo -

MCNP5<sup>8</sup>, sendo consideradas todas as dimensões reais e os diferentes materiais envolvidos no arranjo.

Para estabelecimento de curvas dose-respostas com radiações de alta LET, a IAEA (2001) recomenda uma avaliação com o valor máximo de 2,0Gy. Desta forma, as amostras foram irradiadas de acordo com a tabela 3. Após a exposição, as amostras de sangue (irradiadas e controle) foram cultivadas.

**Tabela 3** – Amostras irradiadas em diferentes intervalos de tempo e suas doses correspondentes.

Amostra	Tempo de irradiação	Dose absorvida (Gy)
A <sub>1</sub>	3 horas e 43 minutos	0,256 ± 0,001
A <sub>2</sub>	6 horas	0,412 ± 0,001
A <sub>3</sub>	7 horas e 12 minutos	0,497 ± 0,002
A <sub>4</sub>	9 horas e 35 minutos	0,660 ± 0,002
A <sub>5</sub>	10 horas e 30 minutos	0,723 ± 0,002
A <sub>6</sub>	14 horas	0,964 ± 0,003
A <sub>7</sub>	18 horas 11 minutos	1,254 ± 0,004

Para a determinação da dose absorvida no volume de sangue irradiado neste trabalho foram gerados 10<sup>8</sup> nêutrons, sendo levados em consideração, para efeito de cálculo, aqueles que interagiram com o sangue. Ao fim do processamento computacional, o MCNP5 gerou um arquivo de saída no qual exibiu o valor da dose absorvida. Este valor foi tratado de acordo com os fatores

<sup>8</sup> Código computacional que tem caráter multifuncional e possibilita a investigação de geometrias generalizadas com fótons, nêutrons e elétrons, bem como por sistemas mistos envolvendo fótons e elétrons ou nêutrons e fótons. Ainda, permite a modelação de geometrias complexas com a utilização de superfícies pré-definidas (Sweezy et al., 2005).

de conversão específicos para a fonte de  $^{241}\text{AmBe}$ , disponível na ISO 8529-1 (2001). A tabela 4 mostra os valores obtidos por simulação computacional.

**Tabela 4** – Valores da dose absorvida calculados por simulação computacional.

Fonte	Atividade de cada Fonte	Taxa de Dose Absorvida no Volume Sensível (Nêutrons)	Taxa de Dose Absorvida no Volume Sensível (Nêutron + Gama)
$^{241}\text{AmBe}$	20 Ci	$34,43 \pm 0,03 \text{ mGy/h}$	$68,86 \pm 0,07 \text{ mGy/h}$

As condições de temperatura e umidade do LCN – CRCN-NE/CNEN, onde foram realizadas as irradiações, e do LDB – CRCN-NE/CNEN, onde foram mantidas as amostras controles, permaneceram semelhantes durante os experimentos. A temperatura média de ambos os laboratórios correspondeu a  $24^\circ\text{C}$  ( $\pm 0,816$ ) enquanto que a umidade relativa foi de  $45,25\%$  ( $\pm 4,113$ ).

#### 4.4 Cultivo de células

As preparações cromossômicas foram obtidas a partir de cultura de linfócitos, onde foram adicionadas 0,5ml de sangue total nos frascos de cultura contendo 4ml de meio RPMI 1640 (Sigma) suplementado com 1ml de soro bovino fetal (Biological Industries) e 0,2ml de fitohemaglutinina (Biological Industries). Em seguida, os frascos foram mantidos na estufa a  $37^\circ\text{C}$ , por 48 horas. Após 46 horas foi adicionado 0,1ml de *colcemid* 0,0016% (Biological Industries). Ao completar 48 horas de cultivo, o material foi centrifugado por 6 minutos a 1800rpm, o sobrenadante desprezado e adicionado 7ml de KCl previamente aquecido a  $37^\circ\text{C}$ , para que ocorresse o choque hipotônico. Após a hipotonia, os tubos foram colocados em banho-maria a  $37^\circ\text{C}$  por 15 minutos. Em seguida, os

tubos foram novamente centrifugados por 6 minutos a 1800rpm, o sobrenadante retirado e adicionado o fixador metanol:ácido acético (3:1) até completar 8ml.

#### **4.5 Preparação das lâminas**

Após o processo de fixação foram confeccionadas lâminas a partir do precipitado de células ressuspenso em 1ml de solução fixadora e as lâminas foram colocadas para secar à temperatura ambiente durante 24 horas. Em seguida, as lâminas foram coradas com Giemsa a 5% durante 7 minutos para posterior análise cromossômica.

#### **4.6 Análise microscópica**

A análise das alterações cromossômicas foi realizada no microscópio óptico (Leica DM500). As lâminas foram examinadas em sua totalidade e, ao menos, 500 metáfases viáveis contadas por grupo (controle e irradiado). Entende-se por viáveis aquelas metáfases que não mostram nenhuma sobreposição de cromossomos, com 46 centrômeros (IAEA, 2001a).

As alterações cromossômicas analisadas foram os cromossomos dicêntricos, anéis cromossômicos e fragmentos acêntricos. Vale ressaltar que os dicêntricos contabilizados são aqueles associados à presença de seus fragmentos acêntricos, segundo preconizado pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, 2001a).

#### **4.7 Análise dos dados**

A construção das curvas dose-resposta foi realizada pelo programa computacional CABAS (Deperas et al., 2007), utilizando-se o número de alterações cromossômicas e o número de células analisadas referentes a cada dose absorvida. O *software* foi utilizado para ajuste da relação dose-resposta linear-quadrática para as alterações citogenéticas pelo método da máxima verossimilhança.

#### 4.8 Análise estatística

As distribuições intercelulares das alterações citogenéticas observadas nas amostras que foram irradiadas com doses absorvidas de 0,256Gy, 0,497Gy e 1,254Gy foram analisadas por meio do teste 'u' de Papworth (1970). A média do número das alterações cromossômicas observadas por célula ( $y$ ) é dada para cada dose ( $D$ ) juntamente com a variância relativa ( $\sigma^2/y$ ) e o índice de dispersão ( $u$ ). Os valores de  $u$  foram calculados utilizando a relação:

$$u = \frac{[\sigma^2/y - 1][N - 1]}{\sqrt{2[N - 1][1 - 1/Ny]}} \quad (3)$$

onde,  $N$  é o número de células contabilizadas e  $Ny$ , o número de alterações.

$\sigma^2$  é a variância calculada pela relação:

$$\sigma^2 = \frac{(0-y)^2 N_0 + (1-y)^2 N_1 + (2-y)^2 N_2 + \dots + (i-y)^2 N_i}{(N_0 + N_1 + N_2 + \dots + N_i) - 1} \quad (4)$$

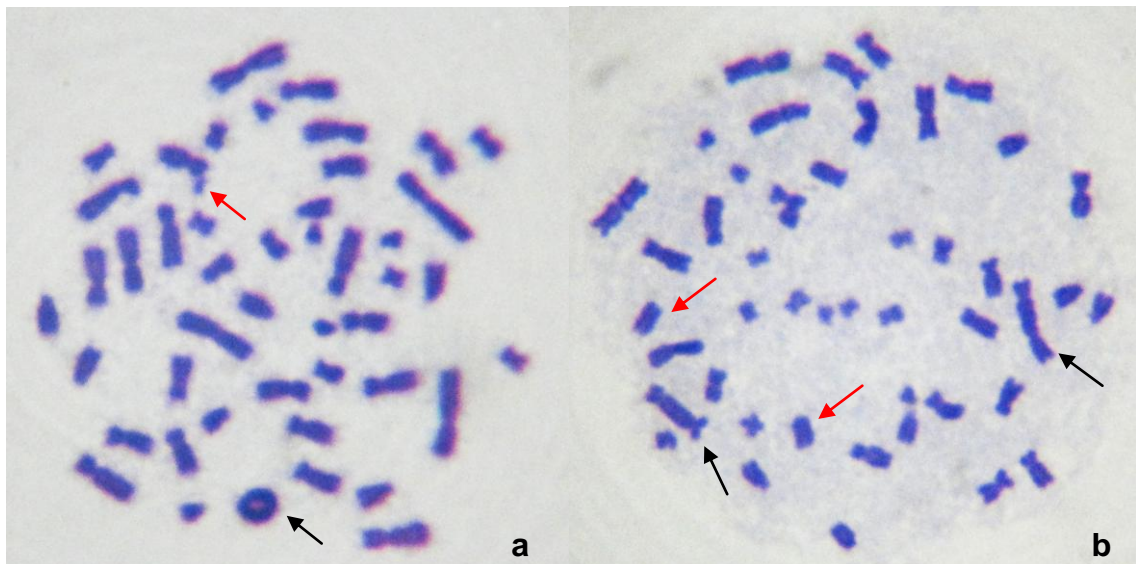
onde  $N_0, N_1, N_2 \dots N_i$  referem-se ao número de células que apresentam 0, 1, 2,...  $i$  alterações, respectivamente (Papworth, 1970).



O teste estatístico 'u' é uma unidade normalizada da variância relativa ( $\sigma^2/y$ ), que para uma distribuição de Poisson deve ser uma unidade (IAEA, 2011). Valores positivos e negativos de "u" indicam sobredispersão e subdispersão, respectivamente, quando comparadas à distribuição perfeita de Poisson ( $u = 0$ ). Se o valor de  $u$  é maior que  $\pm 1,96$ , então a dispersão é significativa ao nível de confiança de 95% (Edwards et al., 1979).

## 5. Resultados

As alterações cromossômicas instáveis (Fig. 6), observadas em amostras do sangue periférico, expostas e não expostas a um campo misto nêutron-gama, foram contabilizadas em um total de 11.876 metáfases. O número e a frequência dessas alterações para o grupo controle (0,000Gy) e para o grupo irradiado com sete diferentes doses absorvidas (0,256Gy, 0,412Gy, 0,497Gy, 0,660Gy, 0,723Gy, 0,964Gy e 1,254Gy) estão representados na tabela 5.



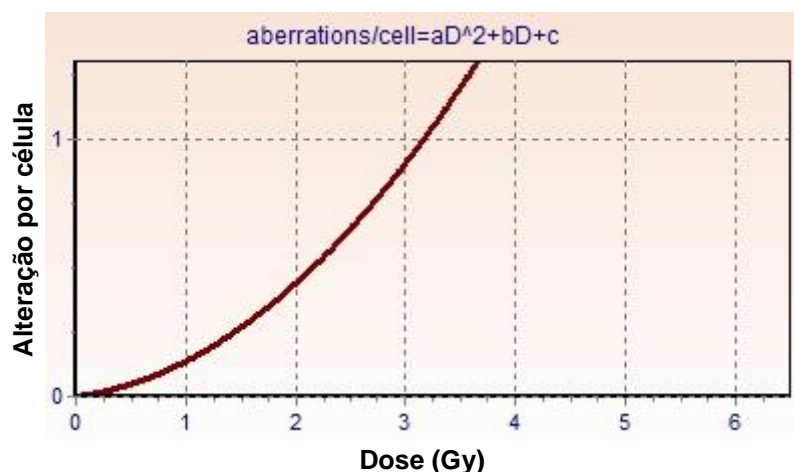
**Figura 6** – Metáfases mitóticas com alterações cromossômicas após irradiação. a) Metáfase com anel cromossômico (seta preta) e fragmento acêntrico (seta vermelha). b) Metáfase com dois cromossomos dicêntricos (setas pretas) e seus fragmentos acêntricos associados (setas vermelhas).

**Tabela 5** – Frequência de alterações cromossômicas instáveis para as amostras dos grupos controle (0,000Gy) e irradiado com sete diferentes doses absorvidas (Gy) em feixe misto nêutron-gama

Dose (Gy)	Nº de Células Analisadas	Nº de Dicêntricos	Dicêntricos por Célula	Nº de Anéis	Anéis por Célula	Nº de Fragmentos	Fragmentos por Célula
0,000	6104*	06	0,0010	02	0,0003	40	0,0065
0,256	586	19	0,0324	05	0,0085	30	0,0512
0,412	1024	33	0,0322	10	0,0097	20	0,0195
0,497	726	46	0,0634	12	0,0165	120	0,1652
0,660	725	41	0,0565	21	0,0289	97	0,1338
0,723	902	73	0,0804	23	0,0255	97	0,1075
0,964	1020	95	0,0931	31	0,0304	95	0,0931
1,254	789	189	0,2395	32	0,0405	227	0,2877

\* Total de células analisadas nas sete amostras controle, sendo cada uma correspondente a cada dose absorvida.

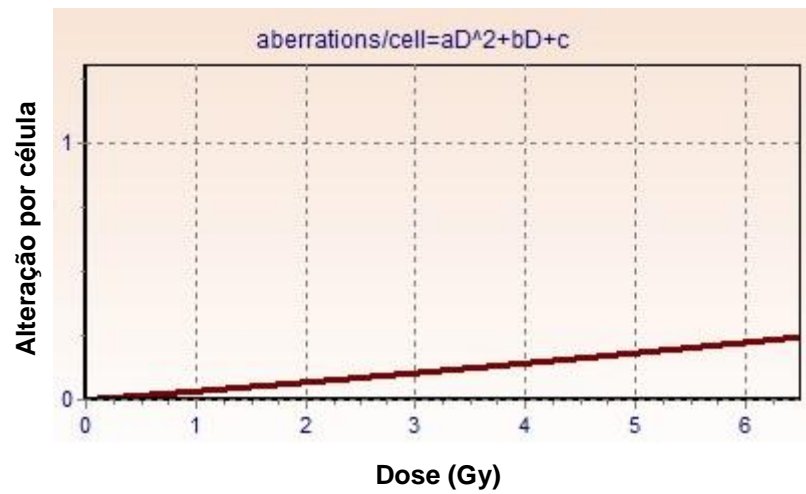
Nas figuras 7, 8, 9 e 10 podem ser verificadas as curvas dose-resposta originadas no CABAS através dos dados experimentais obtidos quanto às análises de dicêntricos, anéis cromossômicos, fragmentos acêntricos e dicêntricos somados a anéis, respectivamente, com as suas equações de ajuste da curva



**Figura 7** – Curva dose-resposta gerada pelo CABAS para os dicêntricos.

A relação de ajuste da curva dose-resposta para os dicêntricos é expressa pela equação (5).

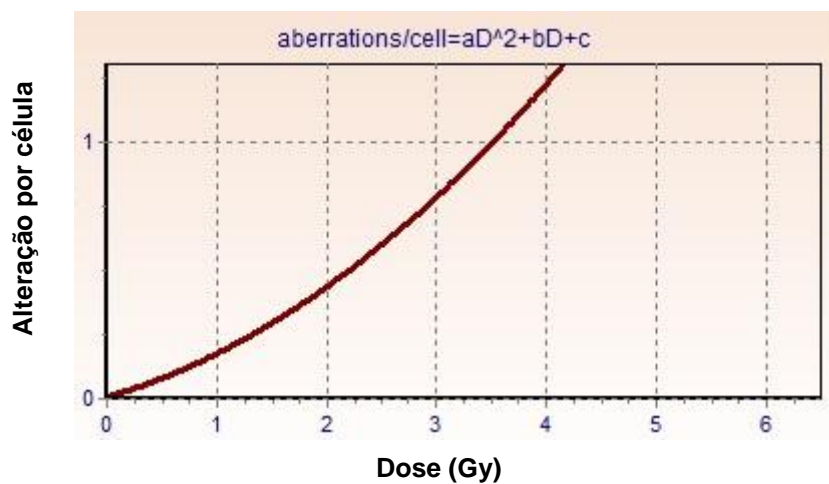
$$Y = 0,0010 + 0,05244D + 0,08262D^2 \quad (5)$$



**Figura 8** – Curva dose-resposta gerada pelo CABAS para os anéis cromossômicos.

A relação de ajuste da curva dose-resposta para os anéis é expressa pela equação (6),

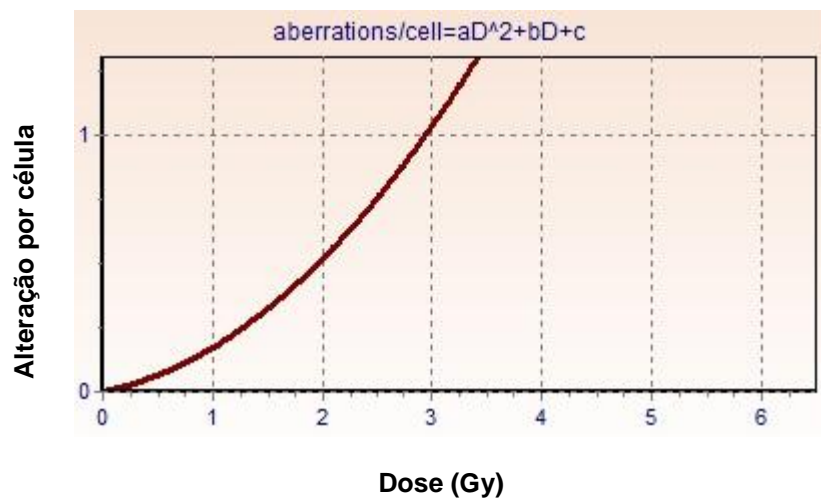
$$Y = 0,0003 + 0,03205D + 0,00083D^2 \quad (6)$$



**Figura 9** – Curva dose-resposta gerada pelo CABAS para os fragmentos acêntricos.

A relação de ajuste da curva dose-resposta para os fragmentos é expressa pela equação (7),

$$Y = 0,0066 + 0,12273D + 0,04515D^2 \quad (7)$$



**Figura 10** – Curva dose-resposta gerada pelo CABAS para os dicêntricos somados aos anéis cromossômicos.

A relação de ajuste da curva dose-resposta para dicêntricos + anéis é expressa pela equação (8),

$$Y = 0,00134 + 0,08133D + 0,08724D^2 \quad (8)$$

Os coeficientes  $\alpha$  e  $\beta$  gerados pelo programa CABAS e os valores das razões  $\alpha/\beta$  correspondente a cada curva dose-resposta, apresentada anteriormente, são mostradas na tabela 6.

**Tabela 6** – Coeficientes obtidos pelo CABAS e as razões  $\alpha/\beta$  para cada alteração cromossômica instável analisada.

Coeficientes	Dicêntricos	Anéis	Fragmentos	Dic + Anéis
$\alpha$	0,05244	0,03205	0,12273	0,08133
$\beta$	0,08262	0,00083	0,04515	0,08724
<b>Razão <math>\alpha/\beta</math></b>	0,635	38,614	2,718	0,932

As distribuições intercelulares dos dicêntricos, anéis cromossômicos e fragmentos acêntricos – analisadas através do teste  $u$  de Papworth (1970) –, nas doses absorvidas 0,256Gy, 0,497Gy, 1,254Gy e em suas amostras controle (0,000Gy), estão representadas nas tabelas 7, 8 e 9, respectivamente.

**Tabela 7** – Distribuição intercelular da frequência de dicêntricos em amostras controle (0,000Gy) e irradiadas em um campo misto nêutron-gama com três diferentes doses absorvidas (Gy).

Dose (Gy)	Células analisadas	Dicêntricos por célula, $y$	Distribuição				$\sigma^2/y$	$U$
			0	1	2	3		
<b>0,000</b>	2379	0,0012	2376	3	–	–	0,99	-0,03
<b>0,256</b>	586	0,0324	568	17	1	–	1,07	1,31
<b>0,497</b>	726	0,0634	682	42	2	–	1,02	0,48
<b>1,254</b>	789	0,2395	622	147	18	2	1,01	0,31

$\sigma^2/y$  (variância relativa);  $u$  (índice de dispersão); 0 (células sem alteração); 1 (células com uma única alteração); 2 (células com duas alterações); 3 (células com três alterações).

**Tabela 8** – Distribuição intercelular da frequência de anéis cromossômicos em amostras controle (0,000Gy) e irradiadas em um campo misto nêutron-gama com três diferentes doses absorvidas (Gy).

Dose (Gy)	Células analisadas	Anéis por célula, $y$	Distribuição			$\sigma^2/y$	U
			0	1	2		
0,000	2379	0,0004	2378	1	–	1	0
0,256	586	0,0085	581	5	–	0,99	-0,13
0,497	726	0,0165	715	10	1	1,15	3,02
1,254	789	0,0405	759	28	2	1,09	1,73

$\sigma^2/y$  (variância relativa);  $u$  (índice de dispersão); 0 (células sem alteração); 1 (células com uma única alteração); 2 (células com duas alterações).

**Tabela 9** – Distribuição intercelular da frequência de fragmentos acêntricos em amostras controle (0,000Gy) e irradiadas em um campo misto nêutron-gama com três diferentes doses absorvidas (Gy).

Dose (Gy)	Células analisadas	Fragmentos por célula, $y$	Distribuição					$\sigma^2/y$	U
			0	1	2	3	4		
0,000	2379	0,0130	2348	31	–	–	–	0,99	-0,44
0,252	586	0,0512	558	26	2	–	–	1,08	1,47
0,497	726	0,1652	621	93	10	1	1	1,15	2,92
1,254	789	0,2877	618	124	39	7	1	1,30	5,87

$\sigma^2/y$  (variância relativa);  $u$  (índice de dispersão); 0 (células sem alteração); 1 (células com uma única alteração); 2 (células com duas alterações); 3 (células com três alterações); 4 (células com quatro alterações).

## 6. Discussão

A frequência de cromossomos dicêntricos verificadas nas amostras controle analisadas (0,0010) (tabela 5) são compatíveis com os valores encontrados por Bauchinger et al. (1995) na França. O nível espontâneo dessas alterações é caracterizado por valores bastante baixos, sendo os dados relativos de dicêntricos amplamente divulgados em publicações mostram uma significativa variabilidade interlaboratorial deste valor (de 0 a  $2,35 \cdot 10^{-3}$  dicêntricos por célula) (Bauchinger et al. 1995). Segundo a IAEA (2001a), os valores normalmente variam de 0,0005 a 0,001, entretanto é importante ressaltar que tais valores variam dentre as diversas macrorregiões do mundo a depender do *background* radioativo e genotóxico da região. Logo, cada laboratório deve estimar os níveis de dicêntricos na macrorregião a que pertence.

Os dados da tabela 5 mostram que os números de dicêntricos observados em cada dose absorvida são predominantemente menores que os valores correspondentes aos fragmentos acêntricos, exceto nas doses absorvidas 0,412Gy (onde foram maiores) e 0,964Gy (onde foram iguais), e maiores que os valores correspondentes aos anéis cromossômicos em todas as doses absorvidas.

Lembrando que os componentes  $\beta$  (quadráticos) das equações correspondem à interação dupla e os  $\alpha$  (lineares), à interação única (Lloyd, 1976) e analisando os coeficientes das funções quadráticas obtidas nas curvas doses-respostas para cada alteração citogenética, pode-se concluir que os cromossomos dicêntricos (equação 5) e dicêntricos somados a anéis (equação 8)



são produzidos tanto por interações únicas (efeito característico de radiações com alta LET) quanto por interações duplas (efeito característico de radiações com baixa LET), sendo este um efeito ligeiramente maior. Com relação aos anéis cromossômicos (equação 6) e aos fragmentos acêntricos (equação 7), conclui-se que são alterações produzidas predominantemente por interações únicas.

Em linfócitos humanos, anéis cromossômicos são muito mais raros do que dicêntricos, correspondendo a aproximadamente 5-10% do valor destes (Shevchenko et al., 1998). Assim uma curva dose resposta para dicêntricos somados aos anéis cromossômicos (Fig. 10) também foi gerada, uma vez que, apesar de alguns autores optarem por ignorar os anéis, outros pesquisadores utilizam-lhes somado aos dicêntricos para realização da estimativa de dose absorvida (IAEA, 2001b).

Para radiação de baixa LET, prótons de alta energia e nêutrons rápidos,, a curva dose-resposta para dicêntricos será melhor ajustada com o modelo linear-quadrático, diferentemente da curva dose-resposta para radiação de alta LET (nêutrons de fissão e partículas  $\alpha$ ), na qual será linear ou próxima à linear (IAEA,2011). Além disso, segundo a IAEA (2011), a curva dose-resposta para dicêntricos induzidos por baixa LET, será uma combinação de eventos entre interações únicas e duplas, sendo o primeiro mais frequente em baixas doses e o último mais frequente em altas doses. Esse comportamento foi observado no presente trabalho, por meio da análise dos coeficientes da curva, como comentado anteriormente.

O valor da razão entre o coeficiente  $\alpha$  e  $\beta$  (razão  $\alpha/\beta$ ) é equivalente à dose de radiação em que os componentes linear e quadrático contribuem igualmente para a indução do dano, ou seja, para a formação das alterações cromossômicas

(Lloyd, 1976; IAEA, 1986; Silva, 2009; IAEA 2011). As razões  $\alpha/\beta$  para os dicêntricos e para dicêntricos somados aos anéis, obtidas no presente estudo (tabela 6), foi de 0,635Gy e 0,932Gy, respectivamente. Isto significa que, com doses inferiores a esses valores nas curvas dose-resposta, as alterações citogenéticas são predominantemente formadas por interações únicas (induzindo duas quebras cromossômicas) e que, com doses superiores, as mesmas são produzidas predominantemente por duas interações independentes. Além disso, quanto menor a razão  $\alpha/\beta$  maior é o número de alterações cromossômicas consequentes de duas interações independentes (Lloyd, 1976; IAEA, 1986; Silva, 2009), sendo este, então, o efeito predominante para os dicêntricos neste estudo.

Diferentemente dos dicêntricos e destes somados aos anéis, o coeficiente quadrático da curva dose-resposta encontrado para os fragmentos acêntricos foi inferior ao coeficiente linear, resultando em uma razão  $\alpha/\beta$  maior, correspondente a um valor de 2,718Gy. Este valor é superior ao intervalo de doses utilizadas no presente estudo (0,25 - 1,205Gy). Com relação aos anéis cromossômicos, isoladamente, o coeficiente quadrático da curva de dose-resposta é ainda mais baixo em relação ao coeficiente linear e, portanto, a razão  $\alpha/\beta$  para os anéis foi de 38,614Gy (valor muito superior ao intervalo de doses aqui apresentadas).

Embora as frequências das alterações cromossômicas instáveis produzidas pelo campo misto nêutron-gama deste trabalho ajustem-se melhor a uma função quadrática, as alterações produzidas por interações únicas foram predominantes entre os três tipos de alterações citogenéticas analisadas (com exceção dos dicêntricos). É importante notar que, para radiação  $\gamma$  a baixas doses, fragmentos acêntricos predominam presumivelmente pelo fato de que, em baixas doses, os eventos de interações únicas são responsáveis pela maioria das alterações e

alguns dos fragmentos acêntricos devem resultar de lesões (quebras) únicas, sendo estas lesões únicas mais prováveis de serem produzidas do que duas lesões diferentes por uma única interação (Lloyd, 1976).

O campo misto nêutron-gama utilizado neste trabalho possui uma contribuição de radiação  $\gamma$  correspondente a aproximadamente 50% do feixe de radiação e com uma baixa energia, cerca de 60keV. Assim, há possibilidade de que o alto valor encontrado para o coeficiente linear correspondente aos fragmentos acêntricos possua uma contribuição dos efeitos de interações únicas devido à radiação  $\gamma$  do feixe misto, além de uma predominância de interações únicas provocadas pelos nêutrons. Contudo, é importante lembrar que a formação de fragmentos não é específica da radiação, uma vez que os mesmos podem ser produzidos devido a outros agentes clastogênicos. Consequentemente, este tipo de alteração cromossômica não é utilizado isoladamente para estimativas de dose de radiação (Coşkun et al., 2000).

Quanto aos anéis cromossômicos, alguns laboratórios os utilizam em suas curvas de calibração, mas por estas alterações ocorrerem raramente, sua inclusão pode ser considerada, por alguns autores, de pouca diferença prática. No entanto, há relatos ocasionais de um anel para cada três dicêntricos (Sevankaev et al. 1995; Edwards et al., 2007), porém a origem deste fato é ainda incerta. Essa maior proporção de anéis encontrada pode estar relacionada com exposições que aconteceram muito tempo antes da obtenção do material biológico para o procedimento de cultura celular, com exposições em longo prazo ou a baixa taxa de dose, uma vez que o anel cromossômico pode permanecer mais facilmente na divisão celular *in vivo* do que o dicêntrico (Edwards et al., 2007).

Há possibilidade, então, de que alguns dos anéis cromossômicos contabilizados nas amostras irradiadas deste experimento estejam superestimados quando comparados ao número de dicêntricos, uma vez que tais amostras foram expostas a uma irradiação com baixa taxa de dose ( $68,86 \pm 0,07 \text{ mGy/h}$ ). Isso pode ter contribuído com o coeficiente linear obtido na curva dose-resposta desta alteração cromossômica. Contudo, não se descarta a possibilidade de os nêutrons terem contribuído mais eficientemente com os eventos de interações únicas e a consequente formação destas alterações.

Os efeitos biológicos dos componentes de dose de alta e baixa LET são, geralmente, assumidos como sendo independentes uns dos outros. Enquanto existem dados sobre a Eficácia Biológica Relativa (RBE) de nêutrons de energias variáveis, ainda não se sabe muito sobre os mecanismos possíveis de interação entre o componente gama e o componente de alta LET de um feixe de nêutrons (Wojcik et al., 2012).

Em estudo anterior, em 1984, de irradiação no ar com um feixe misto nêutron-gama em terapia com nêutrons de reator (*Reactor Neutron Therapy* - RENT), foi também encontrada uma relação dose-resposta linear-quadrática para a produção de dicêntricos em linfócitos humanos (Bauchinger et al., 1984). Sobre o estudo, Schmid et al. (1998) comentam que, embora a contaminação de raios  $\gamma$  do feixe RENT fosse cerca de 20% da dose de nêutrons, a existência de um coeficiente quadrático  $\beta$  é surpreendente, mesmo levando-se em conta as diferentes eficiências biológicas dos dois tipos de radiação.

Quanto à distribuição intercelular de alterações (tabelas 7, 8 e 9), observa-se que o aumento da dose absorvida resultou em um aumento do número de alteração por célula entre todas as alterações citogenéticas. Com relação ao

índice de dispersão ( $u$ ), para os dicêntricos (tabela 7), este valor variou entre -0,03 (em 0,000Gy) e 1,31 (em 0,252Gy), não apresentando subdispersão ou sobredispersão significativa em nenhum dos valores obtidos – quando comparados com a distribuição perfeita de Poisson ( $u=0$ ). Vale ressaltar que valores fora do intervalo  $\pm 1,96$  indicam uma dispersão significativa a um nível de confiança de 95%.

No caso dos anéis cromossômicos (tabela 8), foram obtidos índices de dispersão variando entre -0,13 (em 0,000Gy) e 3,02 (em 0,493Gy), sendo este último valor o único com sobredispersão significativa. Para os fragmentos acêntricos (tabela 9), foi observada uma maior variação nos valores de ' $u$ ', de -0,44 (em 0,000Gy) a 5,87 (em 1,205Gy), sendo esta a alteração com mais sobredispersões significativas (dois entre os três valores de ' $u$ ' referente às amostras irradiadas).

A irradiação por raios X ou  $\gamma$  produz uma distribuição de dano muito bem representada pela distribuição de Poisson. Em contraste, os nêutrons e outros tipos de radiação de alta LET produzem distribuições que apresentam sobredispersão, quando a variância ( $\sigma^2$ ) excede a média ( $y$ ). Se a relação entre a variância e a média ( $\sigma^2/y$ ) é uma função da dose, é ainda uma questão em aberto (IAEA, 2011). Assim, a distribuição dos dicêntricos, para as doses absorvidas realizadas no presente trabalho, parece comportar-se melhor como uma distribuição de Poisson. As demais alterações citogenéticas, diferentemente, parecem tender a uma sobredispersão.

Mais uma vez, neste estudo, notam-se as possíveis relações entre uma maior produção de dicêntricos e radiação de baixa LET, bem como uma maior produção de fragmentos acêntricos e anéis cromossômicos e radiação de alta

LET. Inclusive, com relação à distribuição de fragmentos acêntricos, foram observados desvios com relação à Poisson para a maioria das doses absorvidas. Contudo, é necessária uma avaliação com outras doses absorvidas para uma melhor definição quanto ao comportamento da distribuição dessas alterações cromossômicas produzidas por campo misto nêutron-gama.

As análises dos efeitos dos diferentes tipos de radiação ionizante em sistemas biológicos são muito importantes não apenas de um ponto de vista radiobiológico, mas também para propostas terapêuticas e para uma melhor compreensão do potencial mutagênico e carcinogênico no caso de exposição accidental ou ocupacional (Silva et al., 2009). Um número significativo de indivíduos tem sido potencialmente exposto de maneira ocupacional por um período prolongado a baixas doses de nêutrons, assim como a doses devido à fotonêutrons nas proximidades de aceleradores lineares. Além disso, existe uma crescente preocupação com tripulantes e membros de companhias aéreas (cerca de um milhão em todo o mundo) uma vez que são expostos a doses mensuráveis de nêutrons (Hall e Brenner, 1992).

As relações dose-resposta para radiações eletromagnéticas estão bem estabelecidas, mas há poucos dados para nêutrons, principalmente estudos utilizando diferentes intervalos de energias (Silva et al., 2009). E, no presente estudo, foram analisados exatamente os efeitos citogenéticos na produção de alterações cromossômicas devido à irradiação de linfócitos em campo misto nêutron-gama.

Além disso, com o crescimento contínuo da indústria nuclear, reatores nucleares para geração de energia e a introdução de fontes de nêutron em radioterapia, é importante o estudo contínuo dos efeitos citogenéticos induzidos

por nêutrons, uma vez que há poucos dados disponíveis na literatura e é crescente o número de indivíduos expostos (Lloyd et al., 1976; Littlefield et al., 2000; Roy et al., 2004; Silva et al., 2009).

O estabelecimento de um laboratório de biodosimetria competente que seja capaz de realizar análise citogenética para a estimativa da dose é de suma importância em um país como o Brasil, onde a utilização de grande quantidade de substâncias radioativas para fins pacíficos estão em vigor.

A validação das curvas através da correlação das frequências de alterações cromossômicas observadas em amostras de diferentes indivíduos após irradiação, com mesma dose absorvida, com as curvas dose-resposta estabelecidas neste trabalho já está em andamento. Pretende-se, ainda, posteriormente, validar as mesmas por meio de intercomparações com outros laboratórios de dosimetria biológica. Além disso, há a perspectiva de certificação dos procedimentos e estrutura laboratorial, habilitando o CRCN-NE a oferecer o serviço de dosimetria biológica para campo misto nêutron-gama.

## 7. Conclusões

1. O número de dicêntricos para o sangue não irradiado se apresentou dentro do intervalo esperado de 0,5 e 1 dicêntrico/1000 metáfases.
2. Quatro curvas dose-resposta para o Laboratório de Dosimetria Biológica (LDB) do Centro Regional de Ciências Nucleares (CRCN/NE) foram estabelecidas, sendo elas para dicêntricos, anéis cromossômicos, fragmentos acêntricos e dicêntricos somados a anéis. Estas curvas precisam ser validadas antes de serem utilizadas como base para ensaios futuros nas investigações relativas à interação de campos mistos nêutron-gama com sistemas biológicos e à dosimetria biológica.
3. A distribuição intercelular dos fragmentos acêntricos e dos anéis cromossômicos parece tender a uma sobredispersão significativa, enquanto que a distribuição dos dicêntricos, diferentemente, parece comportar-se melhor como uma distribuição de Poisson para as doses de 0,256, 0,497 e 1,254Gy.



## 8. Referências Bibliográficas

- Abbas AK, Lichtman AH and Pillail S (2008) *Imunologia Celular e Molecular*. 6ª edição. Elsevier Editora Ltda.
- Acharya S, Sanjeev G, Bhat NN, Siddappa K and Narayana Y (2009) The effect of electron and gamma irradiation on the induction of micronuclei in cytokinesis-blocked human blood lymphocytes. *Radiat environ biophys* 48:197–203.
- Amaral A (2002) Trends in Biological Dosimetry: an Overview. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45:119 – 124.
- Amundson AS, Bittner M, Meltzer P, Trent J, and Fornace AJJ (2001) Biological indicator for the identification of ionizing radiation exposure in humans. *Expert Revista Molecular Diagnostic*, Bethesda - USA 1: 89-97.
- Argonne National Laboratory. Americium. EVS, Human Health Fact Sheet. [www.evs.anl.gov/pub/doc/americium.pdf](http://www.evs.anl.gov/pub/doc/americium.pdf) (10 de setembro de 2012).
- Bagshaw M Cosmic radiation in commercial aviation. King's College London. [www.iaasm.org/documents/Cosmic\\_Radiation.pdf](http://www.iaasm.org/documents/Cosmic_Radiation.pdf) (20 de setembro de 2012)
- Bauchinger M, Koester L, Schmid E, Dresch J and Streng S (1984) Chromosome aberrations in human lymphocytes induced by fission neutrons. *International Journal of Radiation Biology* 45: 449- 457.
- Bauchinger M (1995) Quantification of low-level radiation exposure by conventional chromosome aberration analysis. *Mutat Res* 339:177-189.
- Bender MA and Gooch PC (1966) Somatic chromosome aberrations, induced by human whole-body irradiation: the "Recuplex" criticality accident. *Radiation Res* 29:568-582.
- Bergink S et al. (2006) DNA damage triggers nucleotide excision repair-dependent monoubiquitylation of histone H2A. *Genes Dev* 20:1343-1352.
- Bergonié J and Tribondeau L (1959) Interpretation of some results of radiotherapy and an attempt at determining a logical technique of treatment. *Radiat Res* 11:587–588.
- Brandão JOC (2009) Curva de calibração para dosimetria biológica de campo misto nêutron-gama pelo método citogenético convencional (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco.
- Bonassi S et al. (1995) Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans? Preliminary results of an Italian cohort study. *Cancer Genet Cytogenet* 79: 133–135.
- Campos TPR (2000) Considerações sobre a terapia de captura de nêutrons pelo boro. *Revista Brasileira de Cancerologia* 3:46:283-292.
- Carrano AV and Natarajan AT (1987) Considerations for populations monitorins using cytogenetic techniques. In: *International Commission for protection against environmental mutagens and carcinogens - ICPEMC* 14: 1-28.
- Casali F (1995) Advanced imaging techniques: a new deal for neutron physics. *Revista Del nouvo cimento della societa italiana di física* v.18, n.10.
- Cember H (1996) *Introduction to Health Physics*. Ed. McGraw-Hill.
- Coelho PRP (2003) Terapia de câncer por captura de nêutrons em boro – BCNT. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). <http://www.ipen.br> (8 de outubro de 2003).
- Comissão Nacional de Energia Nuclear – CNEN (2010) Estudo da Cadeia de Suprimento do Programa Nuclear Brasileiro <http://www.cnem.gov.br/acnen/pnb.asp> (20 de setembro de 2012)

- Comissão Nacional de Energia Nuclear – CNEN (2011) Diretrizes Básicas de Proteção Radiológica, CNEN – NN 3.01.
- Copeland K, Parker DE and Friedberg W (2010) FLUENCE TO ABSORBED DOSE, EFFECTIVE DOSE AND GRAY EQUIVALENT CONVERSION COEFFICIENTS FOR IRON NUCLEI FROM 10 MeV TO 1 TeV, CALCULATED USING MONTE CARLO RADIATION TRANSPORT CODE MCNPX 2.7.A. *Radiation Protection Dosimetry* 138:4: 353–362.
- Coşkun M, Top A and Orta T (2000) Biological Dosimetry Following X-ray Irradiation. *Turk J Med Sci* 30:563-569.
- Dartnell LR (2011) Ionizing Radiation and Life. *ASTROBIOLOGY* 11: 6.
- De Laat WL, Jaspers NGJ and Hoeijmakers JHJ (1999) Molecular mechanism of nucleotide excision repair. *Genes Dev* 13:768-785.
- Deperas J, Szłuin M, Deperas-Kaminska M, Edwards A, Lloyd D, Lindholm, C, Romm H, Roy L and Wojcik A (2007) CABAS: a freely available pc program for fitting calibration curves in chromosome aberration dosimetry. *Radiation Protection Dosimetry* 124:2115–123.
- Edwards AA, Lloyd DC, Purrott RJ (1979) Radiation induced chromosomal aberrations and the Poisson distribution. *Radiat Environ Biophys* 116:89–100
- Edwards AA, Szłuin M and Lloyd DC (2007) Reconstruction of doses from ionizing radiation using fluorescence in situ hybridization techniques. *The British Journal of Radiology* 80:S63–S67.
- Eletronuclear (2011) Perguntas e respostas sobre o programa nuclear brasileiro e a catástrofe que atingiu o Japão. <http://www.eletronuclear.gov.br/Not%C3%ADcias/NoticiaDetalhes.aspx?NoticiaID=326> (20 de setembro de 2012)
- Filippo JS, Sung P and Klein H (2008) Mechanism of Eukaryotic Homologous Recombination. *Annu Rev Biochem* 77:229-257.
- Gajendiran N, Tanaka K, Kumaravel TS and Kamada N (2001) Neutron-induced adaptive response studied in go human lymphocytes using the comet assay. *J Radiat Res* 42:91–101
- Garcia EAC (2002) Biofísica. Sarvier Editora de livros médicos Ltda. São Paulo.
- Giovanetti A, Sgura A and Aversa G (2012) Biological dosimetry. How to measure the absorbed dose in different scenarios. Italian national agency for new technologies, energy and sustainable economic development - ENEA.
- Goodhead DT (1993) Biological effects of high energy radiations. *Radiation Protection Dosimetry* 48:1:111-114
- Hagmar L et al. (1994) Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res* 54:2919–2922.
- Hall EJ and Brenner DJ (1992) The biological effectiveness of neutrons: implications for radiation protection. *Radiation Protection Dosimetry* 44:1/4:1-9
- Hall EJ (1994) Radiobiology for the radiologist. JB. 4th edition. Lippincott Company – Philadelphia
- Hitomi K, Iwai S and Tainer JA (2007) The intricate structural chemistry of base excision repair machinery: Implications for DNA damage recognition, removal, and repair. *Dna Repair* 6:410–428
- Hutchinson F, 1966. The Molecular Basis for Radiation Effects on Cells. *Cancer Research* 26 Part 1: 2045-2052.

- International Atomic Energy Agency – IAEA (1986) Biological dosimetry: Chromosomal aberration analysis for dose assessment. Technical Report Series n. 260 Vienna.
- International Atomic Energy Agency – IAEA (2001a) Guidelines on calibration of neutron spectra and detector responses for radiation protection purposes - supplement to technical reports series n. 318, Vienna (TRS 403)
- International Atomic Energy Agency – IAEA (2001b) Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment. Technical Report Series n. 405, Vienna.
- International Atomic Energy Agency – IAEA (2011) Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. EPR-Biodosimetry.
- International Standardization For Organization – ISO (2001) Characteristics and methods of production. U.K. British Standards Institution, ISO n° 8529-1.
- Jin CZ, Liu XL, Zhang ZY and Luo YS (1998) Present status and prospects for biological dosimetry using chromosome aberration analysis. *Radiation Protection Dosimetry* 77: 1/2:29–32.
- Kass EM and Jasin M (2010) Collaboration and competition between DNA double-strand break repair pathways. *FEBS Letters* 584:3703–3708.
- Kawata T, Ito H, George K, Wu H and Cucinotta FA (2004) Chromosome Aberrations Induced by High-LET Radiations. *Biological Sciences in Space* 18:4:216-223.
- Knoll GF (2010) *Radiation Detection and Measurement*. Wiley, John & Sons, Incorporated. 4th edition
- Lamarsh JR (1983) *Nuclear Engineering*. 2ed. Menio Park, California: Addison-Wesley.
- Leitão G. Probabilidade e Estatística. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. <http://www.dca.ufrn.br/~guga/downloads/pcs/aulas/Aula4.pdf> Rio Grande do Norte, Brasil. (5 de dezembro de 2010).
- Léonard A, Rueff AJ, Gerber GB and Léonard ED (2005) Usefulness and limits of biological dosimetry based on cytogenetic methods. *Radiation Protection Dosimetry* 115: 1–4:448–454.
- Lindholm C and Edwards AA (2004) Long-term persistence of translocations in stable lymphocytes from victims of a radiological accident. *Int J Radiat Biol* 80:559-566.
- Littlefield LG, Mcfee AF, Sayer AM, O’neill JP, Kleinerman RA, Maor MH (2000) Induction and persistence of chromosome aberrations in humans lymphocytes exposed to neutrons in vitro or in vivo: implication of findings in ‘retrospective’ biological dosimetry. *Radiation Protection Dosimetry* 88: 1:59-68.
- 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* 82:1027–1032.
- Lloyd DC, Purrott R.J, Dolphin GW and Edwards AA (1976) Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by neutron radiation. *Int Journ Rad Biol* 29:2:169-182.
- Lloyd DC, Purrott RJ and Reeder EJ (1980) The incidence of unstable chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from unirradiated and occupationally exposed people. *Mutat Res* 72:523-532.

- Lohmann THO (1995) Análise da radiosensibilidade de linfócitos periféricos de pacientes com câncer de pele e de indivíduos sadios por meio do método do micronúcleo (Dissertação de Mestrado). IPEN/CNEN-SP, p.1-71.
- Moura MAS, Dottaviano EJ and Pinto JRW (1986) Estudo das alterações cromossômicas como indicadores de dose de radiações ionizantes. *Radiol Bras* 19(4): 214-221.
- Natarajan AT and Kesavan PC (2005) Cytogenetics for dosimetry in cases of radiation accidents and assessing the safety of irradiated food material. *Current science* 89: 2.
- National Consil On Radiation Protection & Measurements - NCRP (1995) Radiation exposure and high-altitude flight. NCRP 12 (Bethesda, MD).
- Neal JA and Meek K (2011) Choosing the right path: Does DNA-PK help make the decision? *Mutation Research* 711:73–86.
- Nouailhetas Y, Almeida CEB and Pestana S. Comissão Nacional de Energia Nuclear – CNEN. Apostila educativa: Radiações Ionizantes e a vida. <http://www.cnen.gov.br> (14 de setembro de 2010).
- Obe G, Facius R, Reitz G, Johannes I and Johannes C (1999) Manned mission to Mars and chromosome damage. *Int J Radiat Biol* 75:429–433.
- Papworth DG (1970) Appendix to paper by savage JRK sites of radiation induced chromosome exchanges. *Curr Top Radiat Res* 6:129–194.
- Peterson CL and Côté J (2004) Cellular machineries for chromosomal DNA repair. *Genes Dev* 18: 602-616.
- Pinkel D, Dtraume T and Gray JW (1986) Cytogenetic analysis using quantitative high-sensitivity fluorescent hybridization. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 83:2934-2938.
- Prasanna PGS, Loats H, Gerstenberg HM, Torres BN, Shehata CW, Duffy KL, Flaura RS, Khusen AW, Jackson WE, Blakely WF (2002) AFRRI's gamma-ray, x-ray, and fission-neutron calibration curves for the dicentric assay: Application of a metaphase finder system. Fort Belvoir, VA, USA: Defense Technical Information Center, Fort Belvoir, VA.
- Rodrigues AS, Oliveira NG, Gil OM, Léonard A and Rueff J (2005) Use of Cytogenetic Indicators in Radiobiology. *Radiation Protection Dosimetry* 115:1–4:455–460.
- Roy L, Buard V, Delbos M, Durand V, Paillole N, Grégoire E, Voisin P (2004) International intercomparison for criticality Dosimetry: the case of biological dosimetry. *Radiation Protection Dosimetry* 110: 1-4: 471–476.
- Roitt I, Brostoff J and Male D (1999) *Imunologia*. 5th edition. Editora Manole Ltda.
- Schmid E, Schraube H and Bauchinger M (1998) Chromosome aberration frequencies in human lymphocytes irradiated in a phantom by a mixed beam of fission neutrons and  $\gamma$ -rays. *Int J Radiat Biol* 73: 3:263- 267
- Santos JAL (2003) Determinação do Fator de Espalhamento em uma Sala de Calibração para Nêutrons Utilizando o Código MCNP4C. SBPC, v.55.
- Sevankaev AV, Lloyd DC, Poletnya OI, Zhloba AA, Moiseenko VV and Edwards AA (1995) Chromosomal aberrations in lymphocytes of residents of area contaminated by radioactive discharges from the Chernobyl accident. *Radiat Prot Dosim* 58:247–54.
- Shevchenko V, Snigiryova G and Rubanovich A (1998) Estimation of absorbed doses on the basis of cytogenetic methods. Report of an International Collaborative Work under the Research Grant of the Toyota Foundation in 1995–1997. *Kyoto University* 216–222

- Silva MA (2001) Efeito citogenético do  $^{153}\text{Sm}$ -EDTMP em linfócitos periféricos de pacientes com câncer metastático (Tese de Doutorado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN, São Paulo.
- Silva MA, Coelho PRP, Bartolini P and Okazaki K (2009) Induction of chromosomal aberrations in human lymphocytes by fission neutrons. In: International Nuclear Atlantic Conference – INAC 2009. ISBN: 978-85-99141-03-8, Rio de Janeiro.
- Snigiryova GP, Novitskaya NN, Fedorenko BS (2012) Cytogenetic examination of cosmonauts for space radiation exposure estimation. *Advances in Space Research* 50:502–507
- Souto EB (2007) Projeto, montagem e caracterização de um dosímetro para radiação de nêutrons (Dissertação de Mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN, São Paulo.
- Stasiulevicius R (1995) Cristais Naturais como monocromadores, Analisadores e Filtros de Ordens Superiores em Difração e Espectrometria de Nêutrons (Tese de Doutorado). IPEN/USP.
- Sugasawa K, Okamoto T, Shimizu Y, Masutani C, Iwai S and Hanaoka F (2001) A multistep damage recognition mechanism for global genomic nucleotide excision repair. *Genes Dev* 15:507-521.
- Symington LS and Gautier J (2011) Double-Strand Break End Resection and Repair Pathway Choice. *Annu Rev Genet* 45:247–71.
- Sweezy JE et al. (2005) MCNP – A general Monte Carlo N-Particle Transport Code, version 5. Report LA – 12625-M. EUA, Laboratório Nacional de Los Alamos.
- Takatsuji T, Yoshikawa I and Sasaki MS (1999) Generalized Concept of the LET-RBE Relationship of Radiation-induced Chromosome Aberration and Cell Death. *J Radiat Res* 40:59-69.
- Tauhata L, Salati IPA, Di Prinzio R and Di Prinzio AR (2003) Radioproteção e Dosimetria – Fundamentos. Instituto de Radioproteção e Dosimetria – CNEN, Rio de Janeiro.
- Terzoudi GI and Pantelias GE (2006) Cytogenetic methods for biodosimetry and risk individualisation after exposure to ionising radiation. *Radiation Protection Dosimetry* 122:1–4:513–520.
- Thompson MW, McInnes RR, Willard HF, Hamosh A and Nussbaum R (2008) *Genética Médica*. Editora Guanabara Koogan, 7. ed.
- Triola MF (2005) *Introdução à Estatística*. 9ª edição. LTC.
- Vaurijoux A, Gruel G, Roch-Lefèvre S and Voisin P (2012) *Biological Dosimetry of Ionizing Radiation, Current Topics in Ionizing Radiation Research*, Mitsuru Neno (Ed.), ISBN: 978-953-51-0196-3, InTech
- Vilela EC (1996) Desenvolvimento e calibração de um dosímetro pessoal para nêutrons utilizando detectores de traços nucleares no estado sólido (Tese de Doutorado). Universidade de São Paulo.
- Vinnikov VA and Maznyk NA (2012) Cytogenetic dose-response in vitro for biological dosimetry after exposure to high doses of gamma-rays. *Radiation Protection Dosimetry* 1–12.
- Voisin P, Roy L and Benderitter M (2004) Why can't we find a better biological indicator of dose? *Radiation Protection Dosimetry* 112: 4: 465–469.
- Waller E et al. (2009) Overview of hazard assessment and emergency planning software of use to RN first responders. *Health Phys* 97(2):145-56.

- Wilkins RC, Romm H, Kao T-C, Awa AA, Yoshida MA, Gordon K (2008) Interlaboratory Comparison of the Dicentric Chromosome Assay for Radiation Biodosimetry in Mass Casualty Events. *Radiation Research* 169(5):551-560.
- Wojcik A, Obe G, Lisowska H, Czub J, Nievaart V, Moss R, Huiskamp R and Sauerwein W (2012) Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes exposed to a mixed beam of low energy neutrons and gamma radiation. *J Radiol Prot* 32:261–274.
- World Health Organization – WHO (1993) International Programme on Chemical Safety (IPCS) – Environmental Health Criteria 155: Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. Geneva.
- World Health Organization – WHO (1996) Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace. Volumes 1 e 2. Geneva.
- Xu G, Herzig M, Rotrekl V and Walter CA (2008) Base excision repair, aging and health span *Mechanisms of Ageing and Development* 129:366–382

## 9. Anexos

### Anexo 1



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 222/2008 - CEP/CCS

Recife, 29 de julho de 2008

Registro do SISNEP FR – 187864

CAAE – 0092.0.172.000-08

Registro CEP/CCS/UFPE Nº 094/08

**Título: “Determinação da curva de calibração para dosimetria biológica de nêutrons através do método citogenético para o CRCN-NE ”**

Pesquisador Responsável: José Odnilson de Caldas Brandão

Senhor Pesquisador:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 29 de julho de 2008.

Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar relatório ao final da pesquisa (31/08/2009).

Atenciosamente

  
Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto  
Coordenador do CEP / CCS / UFPE

Ao

Mestrando José Odnilson de Caldas Brandão

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Energéticas e Nucleares – PROTEN /UFPE



## Anexo 2

### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Convido o Sr(a). \_\_\_\_\_ a participar da pesquisa sob o título Determinação da curva de calibração para dosimetria biológica de nêutrons através do método citogenético para o CRCN-NE.

***Durante a leitura deste documento fui informado que posso interromper para fazer quaisquer perguntas.***

Este estudo tem por objetivo principal avaliar as alterações no DNA nas células de adultos sadios cujas amostras sanguíneas serão irradiadas por fontes radioativas. A partir de variações na dose, será elaborada uma curva de resposta biológica em relação a dose de radiação absorvida.

Tal pesquisa é necessária pois diariamente, seja por motivos médicos ou ocupacionais, a população é cada vez mais exposta às radiações, sendo necessário ter uma idéia do real dano causado nos indivíduos.

Serão coletadas amostras de sangue (10 ml), por punção venosa, em seringas estéreis descartáveis contendo heparina sódica na concentração de 5000 U/mL, de voluntários saudáveis e não-fumantes, após assinatura deste termo. Será ainda realizada anamnese para verificar, além do estado geral de saúde, se nos últimos seis meses antes da coleta os voluntários foram expostos à radiação terapêutica, raio X diagnóstico, vacinação viral ou consumiram drogas ilícitas.



Ao participar desta pesquisa, o indivíduo se expõe ao risco de desenvolver hematoma (mancha roxa) no local da retirada de sangue e não será, em momento algum, exposto a quaisquer fontes radioativas.

Tenho consciência de que não receberei qualquer espécie de remuneração por minha participação neste projeto de pesquisa.

Ciente do projeto acima exposto foi ainda explicado que tenho o direito de me recusar a participar, ou, se já houver concordado, posso desistir sem necessidade de explicação. As informações desta pesquisa são confidenciais e minha identidade será preservada, sem que apareça meu nome em nenhum documento de divulgação de resultados ou qualquer dado que possa me identificar.

Nome do voluntário\_\_\_\_\_

Assinatura\_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Testemunha\_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Testemunha\_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

A rogo de \_\_\_\_\_,

assino o presente termo\_\_\_\_\_.

---

José Odinson de Caldas Brandão – Pesquisador Responsável  
Centro Regional de Ciências Nucleares  
Divisão de Radioproteção e Dosimetria  
Fone: (81)37978028

## Anexo 3

### I - DADOS PESSOAIS

1.2 N° do Voluntário: \_\_\_\_\_

1.3 Sexo: M [ 0 ] F [ 1 ] 1.4 Data de Nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ 1.5 Data de hoje \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

1.6 Estado civil:

Solteiro[ 0 ]; Casado[ 1 ]; Viúvo[ 2 ]; Divorciado[ 3 ]; Separado[ 4 ]; Outros [ 5 ]

1.7 Cargo: \_\_\_\_\_ Função: \_\_\_\_\_

1.8 Grau de Instrução (escolaridade):

[ 1 ] não estudou / Primário Incompleto

[ 2 ] primário Completo / Ginásial Incompleto

[ 3 ] ginásio Completo / Colegial Incompleto

[ 4 ] colegial Completo / Superior Incompleto

[ 5 ] superior Completo / Pós-Graduação Incompleta

[ 6 ] pós-Graduação Completa

1.9 Indique nos espaços abaixo a **QUANTIDADE** de itens que existem em sua residência:

Quantos	Quantos	Quantos
[ ] automóvel	[ ] rádio	[ ] máquina de lavar roupa
[ ] banheiro	[ ] videocassete	[ ] empregada mensalista
[ ] aspirador de pó	[ ] geladeira	[ ] TV em cores

Total de Pessoas na Família: [ ]

### II - INDICADORES GERAIS DE SAÚDE

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

[ 1 ] nunca fumei por dia [ 5 ] fumo de dez a vinte cigarros

[ 2 ] parei de fumar há mais de dois anos cigarros por dia [ 6 ] fumo mais que vinte

[ 3 ] parei de fumar a menos de dois anos cachimbo [ 7 ] só fumo charuto ou

[ 4 ] fumo menos de dez cigarros por dia

2.2 Quantos "drinques" você toma **POR SEMANA**: (um drink = 1/2 garrafa de

[ 1 ] nenhum [ 2 ] menos que três [ 3 ] cinco a  
dez [ 4 ] mais que dez

[ 1 ] sempre                      [ 3 ] tenho dificuldade para dormir "bem"

[ 2 ] maioria das vezes        [ 4 ] raramente consigo dormir "bem"

[ 1 ] sim                      [ 2 ] não

[ 1 ] bem                      [ 2 ] cansado                      [ 3 ] pouco cansado

[ 1 ] sim  
de diminuir)      [ 2 ] não (gostaria de aumentar)      [ 3 ] não (gostaria

#### IV - QUESTIONÁRIO DE SAÚDE FÍSICA

4.1 Como você classificaria seu estado de saúde atual?

Ruim	1	Regular	2	Bom	3	Excelente	4
------	---	---------	---	-----	---	-----------	---

4.2 Queixa Principal: \_\_\_\_\_  
]

#### Antecedentes Pessoais:

	Nunca	Já sofreu antes	Sofre atualmente	Desde há ANOS / MESES	Sob Tratamento SIM NÃO	
4.6 Gastrite/Ulcera	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.7 Bronquite/Asma	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.9 Dor no peito aos esforços	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.10 Infarto/Revascularização/Angioplastia	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.11 Hipertensão	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.12 AVC (derrame)	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.13 DST - Dça. sexualmente transmissível	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.14 Infecções urinárias de repetição	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.16 Incontinência urinária	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.20 Dores ou rigidez articulares	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.21 Diabetes mellitus	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.22 Alergias	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.23 Convulsões	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.24 Depressão	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4
4.25 Câncer	0	1	2	<u>    a    </u> <u>    m    </u>	3	4

7.27 Cáries a tratar ? Sim [ 1 ] Não [ 2 ]

7.28 História Familiar:

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

[ 1 ] Angina, Infarto ou morte súbita antes dos 50 anos [ ]

[ 2 ] Angina, Infarto ou morte súbita após os 50 anos [ ] [ 3 ] Diabetes [ ]

[ 4 ] Pressão alta ou AVC [ ]

[ 5 ] Não

sabe [6] Nenhum

[7]Outros: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

O Srº(a) foi submetido a qualquer procedimento envolvendo o uso de radiação nos últimos seis meses? Sim [1] Não [2]

O Srº(a) recebeu qualquer tipo de vacinação nos últimos seis meses? Sim [1] Não [2]

Qual? \_\_\_\_\_

## V - QUESTIONÁRIO DE ESTRESSE FISIOLÓGICO

Os sintomas físicos do estresse são excelentes indicadores numa avaliação. O seguinte questionário nos ajudará a ter uma idéia da severidade do estresse que você está experimentando na sua vida diária, gerando alterações no funcionamento normal de seu organismo. Responda cada número entre 0 e 5, usando a escala abaixo:

0 = nunca 1 = uma a 2 vezes ao ano

2 = quase todos os meses 3 = quase todas as semanas

4 = uma ou mais vezes por semana 5 = diariamente

SINTOMAS CARDIOVASCULAR	SINTOMAS DA PELE
____ taquicardia	____ acne
____ batidas vigorosas e descompassadas do coração	____ caspa
____ mãos suadas e frias	____ transpiração
____ dores ou pontadas na cabeça	____ ressecamento excessivo da pele ou cabelo
SINTOMAS RESPIRATÓRIOS	SINTOMAS IMUNOLÓGICOS
____ respiração rápida ou irregular, ou curta	____ coceira/ardência
____ falta de ar	____ resfriado
____ ataque de asma	____ gripes fortes
____ dificuldade de falar, por pouco controle da respiração	____ rachaduras na pele
SINTOMAS GASTROINTESTINAIS	SINTOMAS METABÓLICOS
____ indisposição estomacal, náuseas e	____ aumento do apetite

vômitos	
_____ constipação	_____ aumento da ansiedade por fumo e doces
_____ diarreia	_____ preocupação generalizada e dificuldade para dormir
_____ dor abdominal aguda	
SINTOMAS MUSCULARES	
_____ dor de cabeça (dor contínua)	
_____ tremores musculares e das mãos	
_____ artrites	

## 10. Curriculum vitae (Lattes)

Fevereiro/2013

Priscilla Luna Góis de Souza

---

### Formação acadêmica/titulação

**2011 - 2013** Mestrado em Genética.

Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil

Título: Verificação da taxa de alterações cromossômicas em sangue humano irradiado em campo misto nêutron-gama, Ano de obtenção: 2013

Orientador: Neide Santos

Co-orientador: Fabiana Farias de Lima

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco

**2007 - 2011** Graduação em Biomedicina.

Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil

Título: Verificação da taxa de alterações cromossômicas em sangue humano irradiado em campo misto nêutron-gama

Orientador: Dra. Fabiana Farias de Lima Guimarães

---

### Formação complementar

**2010 - 2010** Curso de curta duração em Radioproteção e dosimetria citogenética na NR32.

Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares, SBBN, Recife, Brasil

- 2010 - 2010** Curso de curta duração em I Curso de Imunogenética e Captação de Órgãos.  
HLA Diagnóstico, HLA, Brasil
- 2010 - 2010** Curso de curta duração em Curso de Hematologia e Imunohematologia.  
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, SBAC, Brasil
- 2009 - 2010** Curso de curta duração em International English Language Testing System.  
Excel College, EC, Inglaterra
- 2009 - 2009** Curso de curta duração em "Importância dos Fungos na Biotecnologia".  
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2007 - 2009** Inglês.  
Yázigi, YÁZIGI, Brasil
- 2008 - 2008** Extensão universitária em Biologia Molecular do Gene.  
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil

## **Atuação profissional**

### **1. Universidade Federal de Pernambuco - UFPE**

---

## **Vínculo institucional**

**2011 - 2013** Vínculo: Discente de Mestrado , Enquadramento funcional: Bolsista , Carga horária: 60, Regime: Dedicação exclusiva

---

## **Projetos**



Projetos de pesquisa

**2011 - Atual** VERIFICAÇÃO DA TAXA DE ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS  
EM SANGUE HUMANO IRRADIADO EM CAMPO MISTO  
NÊUTRON-GAMA

Descrição: O presente trabalho tem como objetivo estudar a relação entre as frequências de alterações cromossômicas instáveis em diferentes doses absorvidas devido à irradiação de amostra sanguínea em campo misto nêutron-gama. As amostras de sangue de um indivíduo saudável serão expostas a duas fontes de  $^{241}\text{AmBe}$  com doses absorvidas de 0,25 Gy, 0,50 Gy, 0,75 Gy e 1,25 Gy no Laboratório de Calibração com Nêutrons (LCN – CRCN/NE – PE – Brasil). Pretende-se com os resultados obter uma relação entre a dose absorvida e a frequência dessas alterações citogenéticas, e, ainda, possibilitar a utilização dos diferentes tipos de alterações cromossômicas para realização da dosimetria biológica de campo misto nêutron-gama.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1); Mestrado acadêmico (2); Doutorado (4);

Integrantes: Priscilla Luna Góis de Souza (Responsável); Fabiana Farias de Lima; Eudice Coreia Vilela; Joelan Ângelo de Lucena Santos; Mariana Esposito; Paula Bruno Monteiro; Neide Santos

Financiador(es): Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco-FACEPE

**2010 - 2011** Verificação da taxa de alterações cromossômicas em sangue humano irradiado em campo misto nêutron-gama com diferentes doses absorvidas.

Descrição: Este trabalho tem como objetivo dar continuidade ao estudo da relação entre as frequências de alterações cromossômicas instáveis e a irradiação por campo misto nêutron-gama, submetendo-se amostras a mais duas diferentes doses (0,50 Gy e 0,81 Gy).

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (2); Doutorado (3);

Integrantes: Priscilla Luna Góis de Souza (Responsável); José Odinson de Caldas Brandão; Merilane da Silva Calixto; Fabiana Farias Lima; Eudice Coreia Vilela; Joelan Ângelo de Lucena Santos; Neide Santos; Mariana Esposito

**2009 - 2010** Verificação da taxa de alterações cromossômicas em sangue humano irradiado em campo misto nêutron-gama com diferentes doses absorvidas.

Descrição: Com o crescimento contínuo da indústria de energia nuclear e a introdução de fontes de nêutrons na radioterapia, os problemas de proteção radiológica associados tendem a aumentar. A dosimetria física de nêutrons é reconhecida como um campo difícil, e uma vez que a sensibilidade da dosimetria citogenética aumenta com o LET, fica claro que a técnica biológica pode exercer uma importante contribuição na proteção radiológica. Todavia, pouco se têm discutido sobre os mecanismos físicos, associados aos nêutrons de baixa e alta energia, responsáveis por causar danos às células somáticas e germinativas (saudáveis ou tumorais). Logo, é de suma importância realizar uma investigação aprofundada sobre esse aspecto, tornando assim possível realizar uma avaliação mais precisa dos regimes terapêuticos envolvendo nêutrons. Dentre as alterações cromossômicas (AC) utilizadas na dosimetria citogenética destacam-se as alterações assimétricas ou instáveis (dicêntricos, cromossomos em anel e

fragmentos acêntricos), capazes de fornecer uma estimativa real da dose absorvida, que duram por curto período de tempo e as alterações simétricas ou estáveis (translocações recíprocas, não-recíprocas e inserções) que persistem por muitos anos. Em trabalho anterior, no qual uma amostra de sangue periférico foi irradiada por uma fonte ( $^{241}\text{AmBe}$ ) de campo misto nêutron-gama com uma dose específica de 0,96 Gy, observou-se um aumento das alterações cromossômicas instáveis quando comparada ao controle, sugerindo a possibilidade de haver uma relação entre a dose absorvida e a frequência dessas alterações citogenéticas. Todavia, há necessidade de maiores esclarecimentos quanto ao comportamento dessas alterações quando a amostra é submetida a diferentes doses. Este trabalho se propõe a avaliar a variação das frequências de alterações cromossômicas instáveis quando submetidas a diferentes doses absorvidas (0,41 e 0,66 Gy) em campo misto nêutron-gama.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1); Doutorado (2);

Integrantes: Priscilla Luna Góis de Souza; Fabiana Farias de Lima (Responsável); José Odnilson de Caldas Brandão; Merilane da Silva Calixto; Eudice Coreia Vilela; Joelan Ângelo de Lucena Santos; Neide Santos

Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

**2009 - Atual** Implementação do Serviço de Dosimetria Biológica no Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste – CRCN-NE/CNEN

Descrição: Tendo em vista a carência de informações a respeito da dosimetria biológica, principalmente de nêutrons, aliado ao crescente uso das radiações ionizantes nos diversos ramos da ciência, inclusive com a programação

de instalações de usinas nucleares no Nordeste do Brasil atendendo ao Programa Nuclear Brasileiro - PNB, este projeto visa implementar o serviço de dosimetria biológica no Laboratório de Dosimetria Biológica (LDB) do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CRCN-NE/CNEN) a ser utilizado na avaliação das doses absorvidas por trabalhadores, pacientes e indivíduos do público expostos tanto à radiação eletromagnética quanto a nêutrons, como também a ensaios nas investigações relativas à interação das radiações ionizantes com sistemas biológicos. Assim, pretende-se contribuir para a descentralização do conhecimento e para a disseminação da utilização de técnicas nucleares.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (2); Mestrado acadêmico (2); Doutorado (1);

Integrantes: Priscilla Luna Góis de Souza; Fabiana Farias de Lima (Responsável); José Odinson de Caldas Brandão; Eudice Coreia Vilela; Joelan Ângelo de Lucena Santos; Paula Bruno Monteiro; Neide Santos; Suy Hwang; Mariana Esposito Mendes; Julyanne Conceição Goes de Mendonça

**2008 - 2009** Curva dose-resposta para sangue exposto a campo misto nêutron-gama pelo método citogenético convencional

Descrição: Há uma crescente preocupação quanto a tripulantes de companhias aéreas (cerca de um milhão em todo o mundo) ser expostos a doses mensuráveis de nêutrons. Historicamente, ensaios de biodosimetria citogenética têm sido baseados em quantificar alterações cromossômicas assimétricas (dicentricos, anéis cromossômicos e fragmentos acêntricos) em mitose-estimulada de linfócitos T em sua primeira mitose após a exposição às radiações. O aumento dos níveis de danos no cromossomo de linfócitos do sangue periférico são um indicador sensível de exposição à radiação, e são rotineiramente

exploradas para avaliar a dose absorvida de radiação após exposição acidental ou ocupacional. Uma vez que acidentes radiológicos não são comuns, nem todas as nações acham ser economicamente justificável manter um serviço de biodosimetria. No entanto, o acesso confiável a capacidade da dosimetria biológica é completamente crítico em caso de acidente. Neste documento, a curva dose-resposta foi medida pela indução de alterações cromossômicas em linfócitos do sangue periférico após exposição crônica in vitro de campo misto nêutron-gama. O sangue foi obtido a partir de um doador saudável e foi exposto a um campo misto nêutrons-gama a partir de fontes  $^{241}\text{AmBe}$  (20 Ci), no Laboratório de Calibração de Nêutrons (LCN - CRCN / NE - PE - Brasil). As doses absorvidas foram avaliadas em 0,2 Gy, 1,0 Gy e 2,5 Gy. Os cromossomos dicênticos foram observados em metáfase, seguido do bloqueio de colcemid e 1000 metáfases viáveis foram analisadas quanto a presença de dicênticos após corados por Giemsa 5%. Nossos resultados preliminares mostraram uma dependência linear entre a dose de radiação absorvida e frequências de cromossomos dicênticos. A curva dose-resposta descrita no presente documento contribuirá para a construção da curva de calibração, que será utilizado em nosso laboratório de dosimetria biológica.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1); Mestrado acadêmico (1); Mestrado profissionalizante (1); Doutorado (1);

Integrantes: Priscilla Luna Góis de Souza; Fabiana Farias de Lima; José Odinilson de Caldas Brandão; Merilane da Silva Calixto; Eudice Coreia Vilela (Responsável); Joelan Ângelo de Lucena Santos; Neide Santos

Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-  
CNPq

**2008 - 2009** Estabelecimento da taxa de alterações cromossômicas em sangue humano periférico irradiado em campo misto nêutron-gama.

Descrição: O acompanhamento de alterações cromossômicas em linfócitos do sangue periférico tem sido utilizado para determinar a dose de radiação absorvida em indivíduos expostos acidental ou ocupacionalmente à radiação gama. No entanto não há muitos estudos baseado nos efeitos do campo misto nêutron-gama. A radiobiologia de neutros tem grande importância porque em usinas nucleares a nível mundial há várias centenas de milhares de indivíduos monitorados como potencialmente recebendo doses de nêutrons. Neste trabalho, observou-se as frequências de alterações cromossômicas instáveis induzidas por um campo misto nêutron-gama. O sangue, obtido a partir de um doador saudável, foi exposto a duas fontes de campo misto nêutron-gama de  $^{241}\text{AmBe}$  (20 Ci), no Laboratório de Calibração de Nêutrons (LCN - CRCN / NE - PE - Brasil). Os cromossomos foram observados em metáfase, seguido do bloqueio de colcemid e 1000 metáfases viáveis foram analisadas quanto a presença de dicêntricos por dois experientes analistas. Os resultados sugerem que existe a possibilidade de uma relação diretamente proporcional entre dose absorvida de radiação campo misto nêutron-gama e a frequência de alterações cromossômicas instáveis analisadas neste trabalho.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (2); Mestrado profissionalizante (1); Doutorado (1);

Integrantes: Priscilla Luna Góis de Souza; Fabiana Farias de Lima (Responsável); José Odnilson de Caldas Brandão; Merilane da Silva Calixto; Eudice Coreia Vilela; Joelan Ângelo de Lucena Santos; Carlos Henrique Fulgêncio Pereira Vale; Neide Santos

Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

## **Produção**

---

### **Produção bibliográfica**

#### **Artigos completos publicados em periódicos**

1. Brandão, J.O.C., **SOUZA, P. L. G.**, Calixto, M.S., Santos, J.A.L., Santos, Neide, Lima, F.F., Vilela, E.C.

Biological dosimetry for mixed gamma-neutron field. Scientia Plena. , v.7, p.11 - , 2011.

#### **Apresentação de trabalho e palestra**

1. ESPOSITO, M., **SOUZA, P. L. G.**, MONTEIRO, P. B., MENDONCA, J. C. G., Santos, Neide, Lima, F.F.

**'Alterações cromossômicas instáveis induzidas por radiação gama e campo misto nêutron-gama: um estudo comparativo'**, 2012. (Congresso,Apresentação de Trabalho)

2. ESPOSITO, M., **SOUZA, P. L. G.**, MENDONCA, J. C. G., Santos, Neide, Lima, F.F.

**'Chromosomal aberrations analysis after gamma Irradiation at a low dose rate'**, 2012. (Congresso,Apresentação de Trabalho)

3. **SOUZA, P. L. G.**, ESPOSITO, M., MONTEIRO, P. B., Santos, J.A.L., Vilela, E.C., Santos, Neide, Lima, F.F.

**'Intercellular distributioon of dicentrics in lymphocytes for different doses by a mixed neutron-gamma field'**, 2012. (Congresso,Apresentação de Trabalho)

4. **SOUZA, P. L. G.**, ESPOSITO, M., MONTEIRO, P. B., Lima, F.F., Santos, Neide

**'Verificação da taxa de alterações cromossômicas instáveis em linfócitos devido à irradiação por campo misto nêutron-gama'**, 2012. (Outra,Apresentação de Trabalho)

5. **SOUZA, P. L. G.**, Brandão, J.O.C., Calixto, M.S., MENDES, M. E., Santos, J.A.L., SANTOS, N., Vilela, E.C., Lima, F.F.

**'Rate verification of chromosome alterations in human blood irradiated by neutron-gamma mixed field'**, 2011. (Congresso,Apresentação de Trabalho)

6. **SOUZA, P. L. G.**, Lima, F.F., SANTOS, N.

**'Verificação da taxa de alterações cromossômicas em sangue humano irradiado em campo misto nêutron-gama'**, 2011. (Outra,Apresentação de Trabalho)