

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE HUMANA E MEIO
AMBIENTE**

JULYANNE CONCEIÇÃO GOES DE MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA TAXA DE ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS INSTÁVEIS EM
SANGUE HUMANO IRRADIADO POR RAIOS X: ESTABELECIMENTO DE
CURVA DOSE-RESPOSTA**

Vitória de Santo Antão

2017

JULYANNE CONCEIÇÃO GOES DE MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA TAXA DE ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS INSTÁVEIS EM
SANGUE HUMANO IRRADIADO POR RAIOS X: ESTABELECIMENTO DE
CURVA DOSE-RESPOSTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo

Coorientação: Dr^a. Fabiana Farias de Lima

Vitória de Santo Antão

2017

Catálogo na fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Ana Ligia F. dos Santos, CRB4-2005

M539a Mendonça, Julyanne Conceição Goes de.
Avaliação da taxa de alterações cromossômicas instáveis em sangue humano irradiado por raios x: estabelecimento de curva dose-resposta./ Julyanne Conceição Goes de Mendonça. - Vitória de Santo Antão, 2017.
81 folhas: fig., tab.

Orientadora: Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo.

Coorientadora: Fabiana Farias de Lima.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, 2018.

1. Raios x. 2. Dosimetria. 3. Alterações cromossômicas. I. Melo, Ana Maria Mendonça de Albuquerque (Orientadora). II. Lima, Fabiana Farias de (Coorientadora). III. Título.

612.014 485 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-038/2018

JULYANNE CONCEIÇÃO GOES DE MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA TAXA DE ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS INSTÁVEIS EM
SANGUE HUMANO IRRADIADO POR RAIOS X: ESTABELECIMENTO DE
CURVA DOSE-RESPOSTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente.

Aprovada em: 20 de Fevereiro de 2017

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Dr^a. Neide Santos
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Dr^a. Edvane Borges da Silva
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Ao meu querido avô José de Goes e ao meu padrasto Israel Cruz.

AGRADECIMENTOS

À Deus, primeiramente, por ter me guiado desde o momento da seleção até o momento de escrever os resultados desta pesquisa.

Ao meu avô José de Goes (in memoriam), que infelizmente não está presente, mas é peça fundamental para eu ter chegado até a defesa desta dissertação. A minha avó que mesmo com seu pouco conhecimento, sempre me incentivou à dedicar-me aos estudos.

Ao meu esposo Diego, por sempre acreditar que eu seria capaz de alcançar meus objetivos e que sempre esteve disposto e me colocar para cima quando os resultados não se mostravam tão satisfatórios ou quando o tempo não se mostrava “amigo”.

A minha mãe, por ter ser minha fonte de inspiração como mulher guerreira que não desiste mesmo com o aparecimento dos obstáculos, e por acreditar no meu potencial, sempre.

A minha sogra Carla, pelas orações incessantes e por sempre estar disposta a me dar uma palavra de apoio nas horas difíceis e por confiar na minha vitória, mesmo antes de alcança-la.

Ao meu padrasto Israel (in memoriam), que sempre me incentivou a buscar mais e mais conhecimento.

As minhas queridas e amadas amigas Carla Santos e Mariana Cavalcanti, cada uma com seu jeito diferente me apoiando e à sua maneira se orgulhando das minhas conquistas.

À Dr^a Fabiana Farias de Lima por sempre acreditar no meu potencial me confiando não só uma pesquisada atrelada ao LDB como também outras tarefas importantes como representante do laboratório. Obrigada pelo apoio, pelas conversas nos momentos de desespero no decorrer da pesquisa, sem isso não seria capaz de concluir tudo a tempo.

À Prof^a Dr^a Ana Mendonça por ter despertado em mim o interesse pela radiação ionizante através de sua aulas didáticas e cheias de conhecimento sem complexidade e por me ajudar no desenvolvimento desse trabalho através da sua orientação.

As minhas queridas amigas e integrantes do Laboratório de Dosimetria biológica, Aída, Laís e Mari por me auxiliarem quando precisei resolver problemas corriqueiros do desenvolvimento da pesquisa, pelas conversas descontraídas que tiravam a tensão do trabalho e pela confiança que sempre depositaram em mim. Em especial, agradecer a Mariana Esposito por sempre se mostrar disposta a ajudar nesses quase 5 anos de CRCN-NE, com as dúvidas na

estatística, com as correções de texto, nos procedimentos, enfim, por tudo, meu muito obrigada.

Ao corpo técnico do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CNEN/CRCN-NE), que me auxiliaram durante as irradiações das amostras.

Aos professores da Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente pelas aulas ministradas transmitindo novos conhecimentos referentes as linhas de pesquisa do programa.

Aos técnicos que compõem a secretaria da Pós pela disponibilidade em ajudar e facilitar a resolução de problemas durante o mestrado, além da gentileza e cuidado que sempre demonstraram aos estudantes.

Ao Centro Regional de Ciências Nucleares, por disponibilizar sua infraestrutura para execução da pesquisa.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

RESUMO

Desde a descoberta da radiação ionizante e conseqüentemente das suas propriedades, houve um aumento crescente em sua utilização, que por sua vez trouxe a preocupação com os danos biológicos que a mesma poderia causar em indivíduos exposto. Em função disso, surgiu a dosimetria citogenética: método que pode ser usado como complemento ou na ausência da dosimetria física, relacionando a frequência de alterações cromossômicas encontradas no sangue do indivíduo exposto e a dose absorvida. Por meio de curvas de calibração dose-resposta. O objetivo desse trabalho foi verificar as frequências das alterações cromossômicas instáveis em linfócitos de sangue humano irradiado por Raios x de 250 kVp com diferentes doses absorvidas e, posteriormente, estabelecer as curvas de calibração dose-resposta. A irradiação foi realizada no serviço de Metrologia do CRCN-NE/CNEN em um equipamento de raios X PANTAK, modelo HF 320. As amostras sanguíneas tiveram seus linfócitos cultivados em meios de cultura e, após os processamentos, foram obtidas as metáfases. As alterações cromossômicas analisadas foram os cromossomos dicêntricos, em anel e os fragmentos acêntricos isolados. Houve um aumento das frequências de todas as alterações cromossômicas com o aumento da dose absorvida. As curvas de calibração de dicêntricos e de dicêntricos + anéis apresentaram bons ajustes com os valores dos coeficientes $Y = 0,0013 + 0,0279D + 0,0545D^2$ ($X^2 = 10,36/GL=6$) e $Y = 0,0013 + 0,0251D + 0,0630D^2$ ($X^2 = 7,43/GL=6$), respectivamente. O estabelecimento dessas curvas possibilita ao Laboratório de Dosimetria Biológica do CRCN/NE estimar a dose absorvida por indivíduos ocupacionalmente expostos e em casos de acidentes radiológicos.

Palavras-Chave: Biodosimetria. Dicêntricos. Raios x.

ABSTRACT

Since the discovery of ionizing radiation and consequently of its properties, there has been an increase in its use, which in turn has brought concern for the biological damage that it could cause in exposed individuals. As a result, cytogenetic dosimetry appeared: a method that can be used as a complement or in the absence of physical dosimetry, relating the frequency of chromosomal changes found in the blood of the exposed individual and the absorbed dose, by means of dose-response calibration curves. The objective of this study was to verify the frequencies of unstable chromosomal changes in human blood lymphocytes irradiated by x-rays of 250 kVp with different absorbed doses and, subsequently, to establish dose-response calibration curves. The irradiation was performed at the CRCN-NE / CNEN metrology service on a PANTAK X-ray equipment, model HF 320. The blood samples had their lymphocytes cultured in culture media and, after the processing, the metaphases were obtained. The analyzed chromosomal alterations were the dicentric, ring chromosomes and the isolated acentric fragments. There was an increase in frequencies of all chromosomal changes with increased absorbed dose. The calibration curves of dicentric and dicentric + rings presented good adjustments with values of the coefficients $Y = 0.0013 + 0.0279D + 0.0545D^2$ ($X^2 = 10.36/GL=6$) and $Y = 0.0013 + 0.0251D + 0.0630D^2$ ($X^2 = 7.43/GL=6$), respectively. The establishment of these curves enables the Laboratory of Biological Dosimetry of the CRCN / NE to estimate the dose absorbed by occupationally exposed individuals and in cases of radiological accidents.

Keywords: Biodosimetry. Dicentric. X-ray.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -Representação simplificada de um tubo de raios x e seus componentes.....	20
Figura 2 - Representação do efeito fotoelétrico	24
Figura 3 - Efeito Compton.....	25
Figura 4 - Efeito de Produção de pares	26
Figura 5 - Efeito direto e indireto	27
Figura 6 - Representação da relação entre RBE e LET	28
Figura 7 - Esquema representativo da radiosensibilidade para cada fase do ciclo celular	31
Figura 8 - Representação da formação de um dicêntrico	40
Figura 9 - Formação do cromossomo em anel	40
Figura 10 - Fragmento acêntrico	41
Figura 11 - Representação de curvas de calibração dose-resposta para diferentes LET's	42
Figura 12 - Imagens de metafases obtidas e contabilizadas no decorrer deste trabalho	58
Figura 13 - Curvas de calibração obtidas pelo programa Dose Estimate.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Efeitos agudos da radiação em adultos.....	30
Tabela 2 - Frequências obtidas das diferentes alterações cromossômicas em relação à dose absorvida.....	59
Tabela 3 - Distribuições intercelulares de dicêntricos, dicêntricos + anéis e de fragmentos isolados.....	60
Tabela 4 - Coeficientes das curvas de calibração.....	63
Tabela 5 - Valores de p determinados pelo Dose Estimate	64
Tabela 6 - Coeficientes obtidos pelo Dose Estimate e as razões α/β para cada alteração cromossômica analisada.....	64
Tabela 7 - Frequência de dicêntricos do sangue controle.....	65
Tabela 8 - Frequência de dicêntricos em diferentes trabalhos.....	67
Tabela 9 - Coeficientes das curvas de calibração dose-resposta para dicêntricos e dicêntricos + anéis relatadas na literatura para Raios X.....	68

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Coeficiente alfa
β	Coeficiente beta
χ^2	Qui-quadrado
Y	Frequências das alterações cromossômicas
C	Frequência de dicêntricos na dose 0 Gy
D	Dose absorvida

LISTA DE ABREVIATURAS

AP	<i>Apurinic/apyrmidinic sites</i> - Sítios Apurínicos ou Apirimidínicos
BER	<i>Base Excision Repair</i> – Reparo por Excisão de Base
CRCN-NE	Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste
DSB	<i>Double-strand Break</i> – Quebras de Fita Dupla
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> – Ácido Desoxirribonucléico
Gy	Gray - Unidade de Dose Absorvida
HR	<i>Homologous Recombination</i> – Recombinação Homóloga
IAEA	<i>International Atomic Energy Agency</i>
KVp	<i>Kilovoltagem</i>
LET	<i>Linear Energy Transfer</i> - Transferência Linear de Energia
NER	<i>Nucleotide Excision Repair</i> - Reparo por Excisão de Nucleotídeos
NHEJ	<i>Non-homologous end-Joining</i> - União de Extremidades Não-Homólogas
RBE	<i>Relative Biological Effectiveness</i> - Efetividade Biológica Relativa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3.1 Radiação Ionizante	17
3.1.2 Tipos de Radiação Ionizante.....	17
3.2 Perspectiva histórica dos Raios X	19
3.2.1 Mecanismos de produção dos Raios X.....	20
3.2.2 Aplicações dos Raios X.....	21
3.2.3 Interação dos Raios X com a matéria	23
3.3 Mecanismos de ação da radiação ionizante	23
Fonte: (AUDRECCI, 2013).....	26
3.3.1 Efeitos biológicos da radiação ionizante	26
3.3.2 Efeitos agudos da Radiação	29
3.4 Radiossensibilidade celular	30
3.4.1 Lesões no DNA induzidas por Raios X.....	32
3.4.2 Vias de reparo do DNA	33
3.5 Princípios básicos para proteção radiológica	34
3.6 Dosimetria física	35
3.7 Dosimetria biológica	36
3.7.1 Linfócitos como Bioindicadores de exposição aos Raios X.....	37
3.7.2 Dosimetria Citogenética	39
3.7.3 Curva de Calibração dose-resposta.....	42
4 RESULTADOS	58
4.1 Análise das alterações cromossômicas	58
5 DISCUSSÃO	64
6 CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS	72
ANEXOS	81

1 INTRODUÇÃO

A relação entre biodiversidade e saúde humana ocorre em diversos aspectos, começando por nossa alimentação, utilização de medicamentos, vacinas, e conseqüentemente exposição a agentes químicos e físicos presentes em nosso entorno. Dos agentes químicos podemos destacar os defensivos agrícolas utilizados nas lavouras e como agentes físicos a utilização das radiações ionizantes. Atualmente, a monitoração da saúde humana utiliza de forma abrangente a exposição à radiação ionizante seja por meio de radiodiagnósticos ou de terapias que a utilizam. Portanto, estudar os efeitos destas interações com os seres humanos, bem como desenvolver técnicas de monitoração torna-se uma abordagem importante na prevenção dos danos biológicos.

Organismos vivos estão expostos naturalmente à ação das radiações, sejam elas provenientes de fontes naturais ou artificiais. As radiações ionizantes eletromagnéticas são ondas de alta energia (raios X ou raios gama) que, ao interagirem com a matéria, desencadeiam uma série de ionizações, transferindo energia aos átomos e moléculas presentes no campo irradiado e promovendo, assim, alterações físico-químicas intracelulares (BIRAL, 2002). Estes eventos nem sempre se apresentam de forma deletéria ou nociva, pois os efeitos biológicos produzidos dependem de vários fatores, tais como, o tipo de radiação, a área irradiada, a dose absorvida, além das funções e características da estrutura danificada devido à existência de diferentes graus de radiosensibilidade (BOLUS, 2001).

Desde sua descoberta, as radiações ionizantes (RIs) têm tido um aumento crescente em sua utilização, incluindo diversas áreas relacionadas à indústria, à medicina e, até mesmo, à agricultura. Esse crescimento ampliou a probabilidade de ocorrência de acidentes, que por sua vez acabaram servindo de subsídio para os estudos sobre os efeitos biológicos produzidos por ela. Atualmente, as exposições ocupacionais são vistas como as principais causas do crescimento de incidentes envolvendo fontes e equipamentos que emitem radiação, visto que são os trabalhadores ocupacionais que estão continuamente sendo expostos as RIs durante suas atividades (UNSCEAR, 2008).

Dentre as atividades radiológicas, as que mais contribuem para o aumento da exposição ocupacional estão na área médica, uma vez que as Ris são amplamente utilizadas como ferramenta de diagnóstico e tratamento de doenças. Em decorrência disto, os profissionais de saúde acabam apresentando os maiores níveis de exposição à radiação e sendo acompanhados pelas agências internacionais e órgãos fiscalizadores de radioproteção (LINET *et al.*, 2010).

Essas são algumas das razões que tornam o conhecimento dos efeitos deletérios da radiação ionizante de grande importância social, acrescentando-se ainda questões como testes de triagem para o câncer, o futuro da energia nuclear, a exploração espacial tripulada e, até mesmo, o terrorismo radiológico (GONZALEZ; DARBY, 2004).

Por todos esses motivos há um grande empenho no desenvolvimento de técnicas que auxiliem na compreensão dos danos biológicos que surgem após exposições dos organismos a certas doses de radiação ionizante, são elas: o teste do letal dominante (TALLARICO, 2004), ensaio do cometa (VILELLA, 2006; GRAZEFKE, 2008); teste do micronúcleo (PAVLICA, 2000; FERNANDES *et al.*, 2008; GODOY, 2008) e alterações cromossômicas (RAMALHO *et al.*, 1988; LLOYD, 1997). Estes métodos visam analisar os danos biológicos sofridos pelos indivíduos expostos à radiação e estimar a dose absorvida pelos mesmos.

O surgimento da dosimetria biológica permitiu estimar a dose absorvida, por meio da observação dos danos que foram gerados nas moléculas de DNA, utilizando técnicas de análise citogenética (SZLUINSKA *et al.*, 2007). O grande interesse sobre os danos nesta molécula, deve-se ao fato de que é no DNA que estão armazenadas as informações de conservação das atividades necessárias para manutenção da célula. Ademais, existem várias evidências que indicam o DNA como molécula-alvo da ação genotóxica da radiação, tendo em vista sua elevada radiosensibilidade (HALL; GIACCIA, 2006).

Esta técnica é útil em situações em que a dose absorvida de corpo inteiro é desconhecida ou incerta, como em exposições acidentais ou ocupacionais, ou até mesmo em casos em que a dosimetria física não permita a avaliação da dose absorvida (IAEA, 2011). As células utilizadas para a este fim são os linfócitos humanos presentes no sangue, responsáveis pela resposta imunológica e que são altamente radiosensíveis. Este método se baseia na contagem da frequência das alterações cromossômicas instáveis (dicêntricos, fragmentos acêntricos e anéis cromossômicos).

Com base no estudo destas alterações, são construídas curvas de calibração dose-resposta, que ao serem desenvolvidas por cada laboratório, acabam por apresentar diferenças em seus protocolos e é por este motivo que a Agência Internacional de Energia Atômica indica que todo laboratório que forneça o serviço de Dosimetria Biológica tenha sua própria curva de calibração (IAEA, 2011).

Assim, de forma estratégica, este trabalho contribuirá para o avanço tecnológico no campo da dosimetria biológica no estado de Pernambuco e Região Nordeste, inserindo o CRCN-NE em programas de intercomparações realizados por instituições nacionais e internacionais e possibilitando a prestação de serviço na referida área.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Padronizar a curva de calibração dose-resposta para raios X no Laboratório de Dosimetria Biológica (LDB) do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CRCN-NE/CNEN) que poderá ser utilizada na avaliação das doses absorvidas por trabalhadores, pacientes e indivíduos expostos por este tipo de radiação.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar as frequências das alterações cromossômicas instáveis em sangue humano irradiado com diferentes doses absorvidas de raios X de 250 kVp.
- Analisar as alterações cromossômicas em linfócitos humanos após exposição a raios X.
- Estudar a distribuição intercelular das alterações cromossômicas instáveis (dicêntricos, anéis cromossômicos e fragmentos acêntricos) para cada dose absorvida.
- Estabelecer curvas dose-resposta para estes diferentes tipos de alterações cromossômicas instáveis.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Radiação Ionizante

A radiação ionizante é parte natural do ambiente, sendo emanada a partir do solo e de alguns materiais de construção, e até mesmo oriunda da radiação cósmica (BAGSHAW, 2012), podendo ainda ser proveniente de fontes artificiais como as encontradas na área médica e industrial (BIRAL, 2002).

Este tipo de radiação possui a capacidade de fazer com que os elétrons se desprendam de átomos, provocando alterações estruturais que podem ser nocivas ou não e neste processo acaba formando um par de íons, positivo e negativo. Os elétrons estão ligados aos átomos por forças elétricas de diferentes valores que dependem da sua proximidade ao núcleo, sendo os mais próximos os que contêm maior força de atração. Portanto, para que a radiação ionizante seja capaz de arrancar um elétron é necessário que sua energia seja maior do que a força de ligação entre este elétron e o átomo/molécula com a qual está interagindo (OKUNO; YOSHIMURA, 2010).

São radiações ionizantes tanto as partículas carregadas eletricamente, como partículas alfa e pósitrons, que vão ionizando os átomos que encontram em sua trajetória até o momento que perdem toda sua energia, quanto as ondas eletromagnéticas como os raios X e gama. Diferentemente de partículas carregadas, as ondas eletromagnéticas perdem toda ou quase toda energia numa única interação com átomos (OKUNO, 2013).

3.1.2 Tipos de Radiação Ionizante

- **Partícula Alfa (α)**

As partículas alfa são positivamente carregadas, sendo constituídas de dois prótons e dois nêutrons, portanto, mais pesada que um elétron, tornando o seu alcance pequeno (OKUNO *et al.*, 1986). A carga positiva que a partícula possui é igual ao dobro da carga do próton que as impede de penetrar mais do que uma polegada de ar ou de uma folha de papel (PEREIRA, 2014). Por estes motivos as partículas alfas não tem poder de penetração nas camadas de células mortas da pele, sendo então uma exposição externa pouco representativa. No entanto, dentro do corpo, os emissores alfa são muito significativos e isso se deve pelas inúmeras interações que ela faz com os átomos vizinhos, depositando toda a energia em um volume muito pequeno ($3 \times 10^{-9} \text{ cm}^3$ no músculo). Um depósito de energia desta magnitude dentro do núcleo de uma célula irá praticamente garantir a sua destruição. Por esta razão,

precauções extremas devem ser tomadas para evitar a entrada de fontes de radiação alfa no organismo por inalação, ingestão ou punção (MOREIRA, 2011).

- **Partícula beta (β)**

As partículas beta são elétrons (β^-) e pósitrons (β^+) que, por serem relativamente menores e mais leves, são muito mais penetrantes que as partículas alfa, ainda que apenas por alguns milímetros numa folha de alumínio (OKUNO *et al.*, 1986). É uma forma relativamente menos danosa de radiação ionizante e, para ser detectada por contadores Geiger, geralmente depende da espessura da parede do tubo Geiger-Müller ou a existência de uma janela na extremidade deste tubo (PEREIRA, 2014).

- **Nêutrons**

Os Nêutrons são partículas sem carga e não produzem ionização diretamente, mas o fazem indiretamente, transferindo energia para outras partículas que, por sua vez podem produzir ionização. Percorrem grandes distâncias através da matéria, antes de interagir por colisão com o núcleo dos átomos que compõem o meio (STASIULEVICIUS, 1995). A exposição à radiação de nêutrons, tanto de fontes externas como internas ao organismo, é preocupante devido ao dano biológico que estas podem causar, dano este que é consideravelmente maior do que aquele provocado pela mesma dose de radiação gama ou beta (MOREIRA, 2011).

- **Radiação Gama/ Raios X**

São ondas eletromagnéticas de curto comprimento e alta frequência, resultando em alta energia. Tem alto poder de penetração e é detectável em contadores Geiger com dimensões compatíveis com a energia, sendo fortemente absorvida por materiais de alto peso atômico como o chumbo (PEREIRA, 2014). Os raios gama, devido ao seu comportamento ondulatório e ausência de carga e massa de repouso, podem penetrar em um material, percorrendo grandes espessuras antes de sofrer sua primeira interação (OKUNO *et al.*, 1986). Assim como os raios gama, os raios X são ondas eletromagnéticas que se diferem por se originar fora do núcleo, pela desexcitação dos elétrons. De todo espectro das ondas eletromagnéticas somente os raios X e gama são radiação ionizante, isto é, têm energia suficiente para ionizar átomos (OKUNO *et al.*, 1986).

3.2 Perspectiva histórica dos Raios X

Os raios X foram descobertos de forma acidental, em 1895, onde os laboratórios de física de diversas universidades investigavam a condução de raios catódicos através dos tubos de Crookes (BUSHONG, 2011; OKUNO, 2013). Eles eram obtidos pela aplicação de uma corrente elétrica de alta voltagem entre os eletrodos negativo (cátodo) e positivo (ânodo), situados em polos opostos em uma ampola de vidro fechada a vácuo. Durante os experimentos foi descoberto uma das muitas propriedades dos raios catódicos, que era sua capacidade de ultrapassar as paredes de vidro da ampola, porém não alcançavam distância maior que 8 cm (FILOMENO, 2009).

Foi em 8 de Novembro de 1895 que o físico alemão Wilhelm C. Röntgen trabalhando em uma sala totalmente escura e cobrindo o tubo de Crookes com papel fotográfico negro, observou uma atípica fluorescência em uma tela coberta por platinocianeto de bário. Roentgen então passou a colocar anteparos entre a ampola e a placa, que foram desde vidro, madeira até a sua própria mão, porém a luminosidade persistia e ao colocar sua mão percebeu que poderia observar seus ossos. Devido as características apresentadas, Röntgen tinha ciência de que tal fenômeno não poderia estar sendo provocado pelos raios catódicos, pois eles não tinham energia suficiente para cobrir aquela distância, que era de aproximadamente 2 m, e muito menos atravessar aqueles anteparos. Concluiu, assim, que se tratava de outro tipo de radiação invisível e desconhecida (FILOMENO, 2009)

Em 28 de dezembro de 1895, Röntgen entregou à Sociedade Físico-Médica de Wurzburg, Alemanha, um relatório preliminar de sua descoberta, descrevendo as pesquisas que fizera nas sete semanas anteriores: os objetos tornavam-se transparentes diante dos novos raios que, por serem desconhecidos, chamou-os de raios X (XAVIER *et al.*, 2007)

No Brasil, as primeiras ampolas de raios X foram trazidas pelo médico baiano Dr. Alfredo de Brito, que se encontrava em viagem de estudos pela Europa, em 1886. Nesta mesma época, acontecia a Guerra de Canudos, na Bahia, e os raios X foram utilizados para localizar projéteis ou fraturas em 70 soldados da União. Descobertas em 1895, as potencialidades médicas dos raios X foram logo apreciadas pela comunidade mundial e já em 1897, surgia a primeira sociedade britânica de radiologistas, denominada Royal College of Radiologists (FILOMENO, 2009).

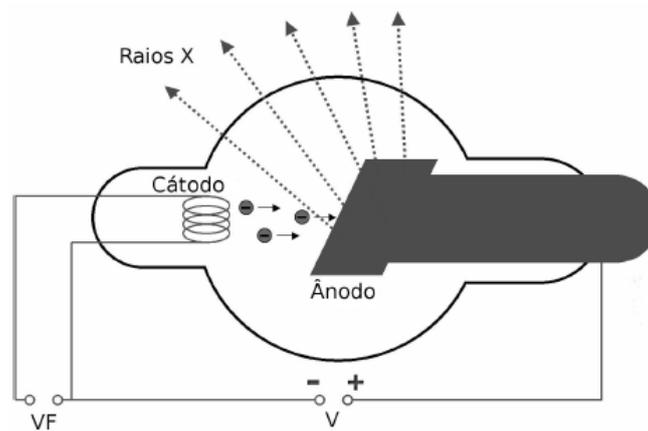
Em 2009, o Museu de Ciências de Londres criou uma lista das 10 maiores invenções e descobertas da ciência para comemorar seus 100 anos de existência, o equipamento de Raios X ficou em primeiro lugar na lista, sendo considerado de alto impacto no passado, presente e

futuro da ciência e tecnologia e desbancando descobertas como a penicilina e a estrutura do DNA (BIRAL, 2002).

3.2.1 Mecanismos de produção dos Raios X

A velocidade de propagação dos Raios X é de $c = 3.108 \text{ m/s}$ no vácuo (ICRP, 1991; ACR, 1993). São produzidos artificialmente em um tubo onde elétrons que consiste em um polo negativo chamado de ânodo (alvo) e um polo positivo chamado de cátodo. Quando uma diferença de potencial (ddp) é aplicada ao filamento de tungstênio do cátodo, os elétrons formam uma nuvem e são acelerados em direção ao anodo. Quando isso ocorre há o choque dos elétrons no alvo e em sua eletrosfera, ocasionando os processos que irão formar a radiação (ROS, 2000), como demonstrado na figura 1. Vale ressaltar que 99% da energia cinética produzida é transformada em calor e 1% em fótons de raios X (OKUNO, 2013). Existem dois mecanismos de produção de raios X que dependem do tipo de interação entre os elétrons e o alvo: Raios x característico e de Freamento ou “bremsstrahlung” (BURGENER, 1991).

Figura 1-Representação simplificada de um tubo de raios x e seus componentes



Fonte: (BONIFACIO, 2007).

A Radiação de Bremsstrahlung ocorre quando o elétron passa próximo do núcleo de número atômico elevado ou da eletrosfera de um átomo. Como o núcleo tem carga positiva e a eletrosfera negativa, ao colidir com o átomo, o elétron sempre sofrerá atração ou repulsão, sendo portanto atraído pelo núcleo e repellido pela eletrosfera e desviando-se da sua trajetória original e perdendo parte de sua energia cinética (SOARES, 2006). Esta energia perdida é

emitida na forma de raios X que é conhecido como “bremsstrahlung” ou radiação de freamento. Dependendo da distância entre a trajetória do elétron incidente e o núcleo, o elétron pode perder parte ou até toda sua energia. Isto faz com que os raios X de “bremsstrahlung” tenham um espectro de energia contínuo, desde valores baixos até a energia máxima que é igual à energia cinética do elétron incidente (RODRIGUES, 2011).

Em outro mecanismo, ao interagir com o átomo e promover a retirada de um elétron da camada interna, ocorre o processo de ionização do mesmo. Para que isso ocorra a energia externa transferida pelo elétron incidente tem que ser suficiente para ocasionar uma quebra da energia de ligação que mantém os elétrons presos as suas órbitas. A passagem dos elétrons de um estado menos ligado para outro mais ligado acarreta em excesso de energia que é liberada na forma de radiação eletromagnética, também chamada de radiação característica (SOARES, 2006; PEREIRA, 2013).

3.2.2 Aplicações dos Raios X

- **Radioterapia**

A capacidade dos Raios X para fins terapêuticos foi sugerida pouco tempo depois da sua descoberta, através da observação de reações dermatológicas que posteriormente passaram a ser chamadas de dermatites e que são frequentemente vistas como o resultado da exposição continuada aos raios X (KASSABIAN, 1907). Sua aplicação rapidamente se estendeu às mais diversas especialidades da medicina, surgindo, a partir de então, numerosos casos de sucesso no tratamento de diferentes condições patológicas, através de modificações na metodologia aplicada em cada situação particular (FRANKEL, 1996).

Os aparelhos de raios X foram os primeiros equipamentos produzidos em escala industrial no início na década de 40 para a radioterapia, que é uma especialidade clínica que utiliza radiação ionizante no tratamento de pacientes com patologias do foro oncológico. O principal objetivo da radioterapia é a administração de uma dose elevada de radiação, num volume tumoral previamente definido, causando os mínimos danos possíveis nos tecidos adjacentes, resultando na diminuição ou erradicação do tumor por morte celular (INCA, 2007).

- **Diagnósticos**

Na odontologia, por exemplo, as imagens radiográficas são extremamente importantes para a complementação dos exames clínicos, visando o diagnóstico e auxiliando a determinação de corretos planos de tratamento. A utilização de aparelhos de raios X e de outros recursos específicos para o exercício da radiologia é regulamentada pela Portaria nº 453 da Secretaria de Vigilância Sanitária, de 1º de junho de 1998 (CASTRO, 2013). Há ainda os exames básicos de Raios X, como a radiografia do tórax (RXT) que é o procedimento de diagnóstico mais comumente utilizado no mundo (ANVISA, 1998).

- **Radiografia Industrial**

Esta é uma técnica de ensaio não destrutiva que tem como finalidade o controle de qualidade em soldas e materiais fundidos, permitindo diagnosticar condições de peças, componentes e equipamentos industriais, verificando a existências de possíveis falhas internas ou descontinuidades oriundas de processo de fabricação. Ela consiste no uso dos Raios X que atravessam um material de aço inox ou carbono, resultando em uma chapa radiográfica. As aplicações da técnica de radiografia industrial são muitas, sendo muito utilizadas em refinarias de petróleo e polos industriais (RAMIRES, 2000).

- **Controle de qualidade na agronomia**

Com a crescente demanda por sementes de espécies florestais nativas, houve a necessidade de desenvolvimento de tecnologias para a avaliação da qualidade dessas sementes e dentre essas técnicas, destaca-se o uso de raios X. Essa técnica foi inicialmente utilizada por Simak e Gustafsson (1953), na avaliação da qualidade de sementes de *Pinus sylvestris* L. O uso da radiografia por meio de raios X de baixa energia para avaliação da qualidade física das sementes é recomendado pela ISTA (1996) que o considera um método rápido e que não altera a qualidade das sementes, sendo indicado para detectar e analisar as estruturas internas das sementes, permitindo a visualização de alterações e más formações (SOUSA, 2008). Portanto, a técnica de raios X auxilia na determinação da viabilidade das mesmas, tendo como finalidade a seleção e descarte de sementes ou lotes de qualidades físicas e fisiológicas inferiores (OLIVEIRA, 2000). A informação sobre a ocorrência de sementes danificadas e vazias é desejável, já que essas sementes influenciam nos resultados de germinação dos lotes (CRAVIOTTO *et al.*, 2002).

Ainda na agronomia existe uma preocupação geral com a preservação da saúde, motivada tanto por fatores humanos quanto econômicos, que levou a busca de técnicas que

diminuíssem os riscos de contaminação através de uma dieta limpa de agentes patógenos presentes na superfície ou no interior dos alimentos. Essa preocupação tem como finalidade, impedir doenças de origem alimentar e, também, de minimizar problemas relacionados com os tempos de armazenamento (ESTEVEZ, 1997; OMAZE, 2004).

A irradiação de alimentos é um tratamento físico que consiste na exposição dos alimentos à radiação ionizante por um tempo pré-determinado e suficiente para causar as alterações desejáveis, tais como a inibição de brotamentos, retardo na maturação, redução da carga microbiana, eliminação de micro-organismos patogênicos, esterilização, desinfecção de grãos, cereais, frutas e especiarias. Este tipo de tratamento foi autorizado, em muitos países, depois de testes toxicológicos e nutricionais que confirmaram a segurança de alimentos irradiados com doses de até 10 kGy (BENDINI, 1998) e por possuírem benefícios que incluem: melhora na higiene do alimento, redução de desperdícios e extensão da vida de prateleira (OH et al., 2003).

Alguns tipos específicos de radiação são utilizadas para fins de irradiação de alimentos, dentre elas estão os raios X com energias de até 5 MeV ou elétrons acelerados com energias de até 10 MeV, fazendo parte, portanto, do padrão geral para este fim (SANTOS, 2003).

3.2.3 Interação dos Raios X com a matéria

Sob o ponto de vista da física, as radiações, ao interagirem com um meio material, podem provocar ionização, excitação, ativação do núcleo ou emissão de radiação de freamento, conforme descrito a seguir (XAVIER, 2006):

A excitação ocorre quando o elétron do átomo não é ejetado, devido à energia da radiação que incidiu sobre ele ser insuficiente para ejetá-lo e apenas fazê-lo ficar em um estado excitado. Já quando a radiação transfere uma energia suficiente para “arrancar” um elétron do átomo ocorre ionização. Os elétrons ejetados podem ter energias cinéticas suficientes para realizar novas ionizações e assim por diante. A ativação do núcleo ocorre em uma reação nuclear quando a energia da radiação incidente é maior que a energia de ligação dos elementos que compõem os núcleos (prótons e nêutrons). Este tipo de interação só ocorre em altas energias da radiação incidente ($E > 10 \text{ MeV}$) e gera um novo núcleo (YOSHIMURA, 2009).

3.3 Mecanismos de ação da radiação ionizante

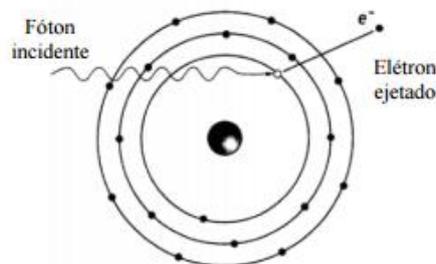
Na faixa de energia em que se encontram os Raios X, podem existir diversas interações possíveis com o núcleo ou com elétrons das camadas de um átomo, porém existe a possibilidade de que não ocorra nenhuma interação. Sendo assim, radiações eletromagnéticas, como a citada, podem percorrer uma determinada distância sem modificar o material que está sendo utilizado e sem modificar-se (YOSHIMURA, 2009).

As principais interações das radiações com a matéria se dividem basicamente em (i) Efeito fotoelétrico; (ii) Efeito Compton; (iii) Produção de pares (YOSHIMURA, 2009; ADREUCCI, 2013).

- **Efeito fotoelétrico**

No efeito fotoelétrico o fóton desaparece, um íon é formado e o elétron livre resultante, produto da ionização, é colocado em movimento com uma energia igual à energia original do fóton menos a energia de ligação que esse elétron tinha com o átomo. Neste efeito, o fóton interage com elétrons fortemente ligados, tendo como resultado dessa interação a expulsão de um elétron, onde 80% de toda absorção fotoelétrica ocorre com elétrons da camada K do material absorvedor (COSTA, 2010; RODRIGUES, 2011). Com este efeito, o átomo é deixado em um estado excitado emitindo uma radiação característica quando retorna ao seu estado fundamental (JOHNS, 1983), como representado na figura 2.

Figura 2 - Representação do efeito fotoelétrico

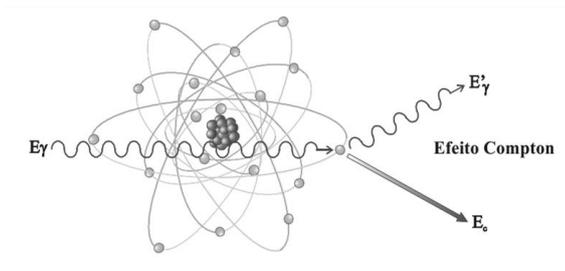


Fonte: (BARBOZA, 2006)

- **Efeito Compton**

Ocorre quando um fóton de alta energia interage com um elétron que acaba recebendo parte dessa carga energética e o restante dela fica com um fóton dentro do material, porém em uma direção diferente da original (RODRIGUES, 2011; HENRIQUES, 2012).

Figura 3 - Efeito Compton



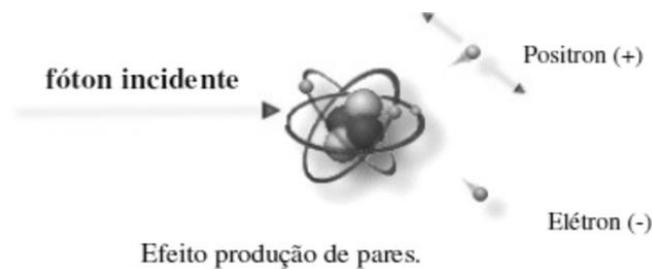
Fonte: (TAUHATA *et al.*, 2003).

Se o fóton ainda possui bastante energia, o processo pode ser repetido. O espalhamento de Compton ocorre em todos os materiais e predominantemente com fótons de média-energia (entre 0.5 e 3.5 MeV). Ele é também observado com fótons de luz visível ou de frequências mais altas (RODRIGUES, 2011).

- **Produção de pares**

O termo produção de pares se refere à criação de uma partícula elementar e sua antipartícula, geralmente a partir de um fóton (RODRIGUES, 2011). O processo de produção de pares ocorre na presença de um raio incidente que possui uma energia igual ou maior a 1,02 MeV, como representado na figura 4. Neste caso, ao passar perto de um núcleo de número atômico elevado, o fóton desaparece e produz um par de partículas: um elétron e um pósitron. Posteriormente, o pósitron volta a se combinar com o elétron do meio e desintegra gerando dois fótons com energia de 0,51 MeV cada. (ADREUCCI, 2013).

Figura 4 - Efeito de Produção de pares



Fonte: (AUDRECCI, 2013).

3.3.1 Efeitos biológicos da radiação ionizante

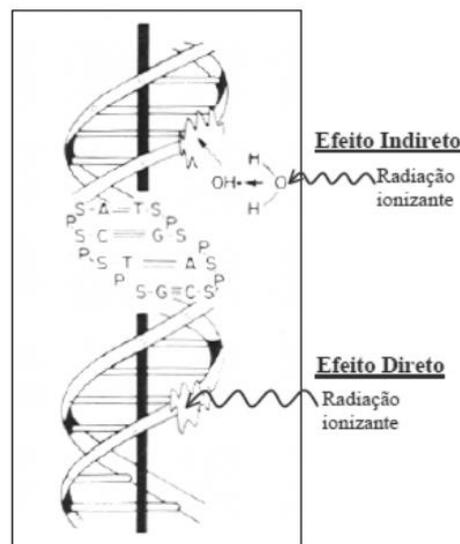
A radiação ionizante, pela sua elevada energia, é capaz de penetrar na matéria, ionizar os átomos, romper ligações químicas e causar danos nos tecidos biológicos, desenvolvendo eritema, dermatite, lesão vascular e alopecia, cataratas e ainda alterações em nível do sistema hematopoiético, gastrointestinal, neuronal e vascular. A exposição a doses elevadas de radiação ionizante pode ainda resultar na destruição de células ou na indução de tumor (MOREIRA, 2011).

Lesões induzidas em um organismo pela radiação começam sempre com alterações em nível atômico e molecular. As alterações biológicas como consequência do efeito da radiação tornam-se aparentes após o período de latência, que pode variar desde minutos, até semanas ou mesmo anos, dependendo do sistema biológico e da dose inicial. Somente uma parte da energia da radiação depositada provoca alterações químicas; a maior parte da energia é depositada como calor, que acaba tendo pouco significado biológico (BUSHBERG, 2002).

A sequência de alterações pode ser explicada da seguinte forma: O primeiro estágio tem uma duração muito pequena, logo após a absorção da radiação. Nesse estágio ocorre o fenômeno físico da ionização e da excitação de átomos do corpo humano. No segundo estágio, chamado físico-químico, as ligações químicas das moléculas são rompidas com a formação de radicais livres. O terceiro estágio tem uma duração de poucos segundos e é um estágio químico, no qual os radicais livres formados, que são altamente reativos, ligam-se a moléculas importantes da célula, tais como as proteínas, as enzimas e até mesmo nas moléculas de DNA, danificando-as. O quarto estágio ocorre quando surgem os efeitos bioquímicos e fisiológicos com alterações morfológicas e funcionais dos órgãos (RODRIGUES, 2011; OKUNO, 2013).

A ionização do material biológico pode ocorrer por meio de dois mecanismos de ação: mecanismo direto e mecanismo indireto como pode ser observado na figura 5 (OKUNO, 2013). Na ação direta, uma macromolécula biológica, como o DNA, por exemplo, fica ionizada ou excitada por uma partícula ionizante, ou seja, a radiação interage diretamente sobre ela causando determinada alteração. Já a ação indireta resulta de interações entre a radiação e o meio, como o citoplasma, por exemplo, o que cria espécies quimicamente reativas, que por sua vez interagem com a molécula alvo. Como 70% a 85% da massa dos sistemas vivos é composta por água, a grande maioria das lesões induzidas por radiação é realizada através da ação indireta em moléculas de água. A absorção da radiação por uma molécula de água resulta em H_2O^+ ou H_2O^- . Estes íons são muito instáveis e dissociam-se formando um radical livre. Os efeitos danosos dos radicais livres são reforçados pela presença de oxigênio, aumentando o poder de lesão na célula (MOREIRA, 2011).

Figura 5 - Efeito direto e indireto

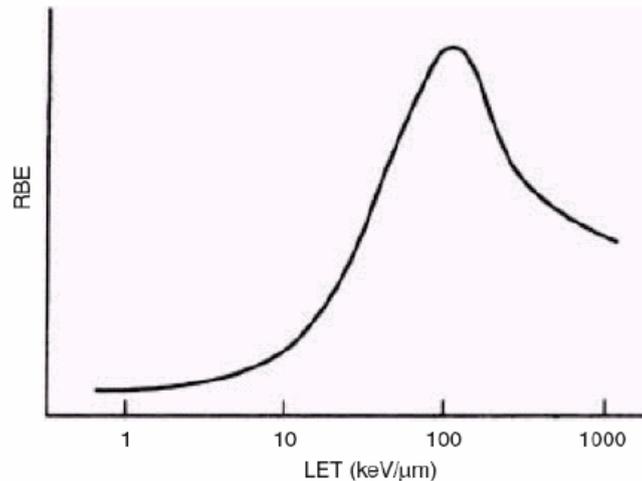


Fonte: (HALL, 2012)

Após a sequência de estágios que levam até a ocorrência dos efeitos biológicos, a célula pode promover mecanismos de reparo como resposta. Para que isso ocorra há a dependência de alguns parâmetros físicos, a Transferência Linear de Energia (LET) e da eficiência Biológica Relativa (RBE). A relação entre LET e RBE depende do efeito biológico considerado. No organismo humano, RBE aumenta continuamente à medida que a LET aumenta, pois quanto maior for a densidade de ionizações ao longo da trajetória da radiação maior será a possibilidade de dano celular. No entanto, a partir de um valor de LET de 100

keV/ μm , há mais ionizações do que o necessário para produzir um determinado efeito biológico, portanto, há desperdício de energia e conseqüentemente uma diminuição da RBE, como pode ser observado na figura 6 (IAEA, 2011).

Figura 6 - Representação da relação entre RBE e LET



Fonte: (IAEA, 2001).

A manifestação dos efeitos biológicos pode ocorrer de duas maneiras: o efeito determinístico e o efeito estocástico. O efeito determinístico tem uma clara relação entre a dose absorvida e o efeito causado no indivíduo, ou seja, a severidade do efeito é diretamente proporcional à dose absorvida. Existe um limiar de dose para que o efeito aconteça cujo valor depende do tipo de radiação e do tecido irradiado e estes efeitos, traduzem-se no aparecimento de eritema cutâneo, indução de cataratas, perda de cabelo e indução de esterilidade (KATZ, 2000; PISCO, 2003).

Uma de suas principais conseqüências é a morte celular em grande escala, pois se poucas células morrerem, o efeito pode nem ser sentido, entretanto, se um número muito grande de células de um órgão entrar em apoptose, o seu funcionamento pode ser prejudicado (STONE *et al.*, 2003; TURNER, 2007). Até certo tempo acreditou-se que as reações teciduais eram conseqüências que surgiam logo depois da exposição, porém os estudos epidemiológicos dos sobreviventes das bombas atômicas lançadas pelos americanos no Japão começaram a mostrar evidências de que há efeitos bastante tardios que resultam de danos nos tecidos (OKUNO, 2013).

Os efeitos determinísticos diferem dos efeitos estocásticos no fato de necessitarem de doses muito mais altas para produção de qualquer efeito (BUSHBERG, 2002). Os efeitos

estocásticos não têm uma relação clara entre dose absorvida e o efeito e, por isso, não há um limiar de dose, entretanto a probabilidade de sua indução é proporcional à dose absorvida recebida (TURNER, 2007).

A dose absorvida é uma grandeza não estocástica e uma das mais importantes para a radiobiologia e a radioterapia, pois mede a quantidade de energia absorvida em qualquer meio, para qualquer tipo de radiação (partículas carregadas ou não). Além disso, é utilizada para medir os efeitos biológicos produzidos pelas radiações ionizantes nos tecidos (JOHNS, 1983; PODGORSK, 2003). Quanto ao efeito, se o tecido for exposto à uma mesma dose absorvida, quanto menor for a taxa de dose, maior a probabilidade de ocorrer regeneração no tecido (IAEA, 2011).

3.3.2 Efeitos agudos da Radiação

Uma pessoa pode apresentar num intervalo de tempo pequeno de até alguns dias o que se chama síndrome aguda da radiação ao ser exposta de forma aguda a uma dose absorvida elevada. Esta forma de exposição provoca maior dano celular do que a mesma dose absorvida durante um período prolongado (MOREIRA, 2011; OKUNO, 2013). Este tipo de exposição pode provocar modificações nas células mais sensíveis do organismo e podem se manifestar em horas, dias ou semanas após a exposição. Estes efeitos se dividem em síndrome hematopoiética, síndrome gastrointestinal, síndrome pulmonar e síndrome cerebral (VELUDO, 2011). A tabela 1 exemplifica os efeitos agudos da radiação de acordo com o intervalo de doses absorvidas.

Tabela 1 – Efeitos agudos da radiação em adultos

FORMA	DOSE ABSORVIDA	SINTOMATOLOGIA
Hematopoiética	2-6 Gy	Função medular atingida: Linfopenia, leucopenia, trombocitopenia, anemia.
Gastrointestinal	4-7 Gy	Diarreia, vômitos, hemorragias (morte em 5-6 dias)
Pulmonar	8-9 Gy	Insuficiência respiratória aguda, coma (morte em 14- 36 horas)
Cerebral	Superior a 10 Gy	Morte em poucas horas por colapso

Fonte: (NOUAILHETAS, 2003).

Os sintomas geralmente começam após 6 horas do momento da exposição e diminuem no período conhecido como latente, que nada mais é do que um “período de incubação” e que vai depender da dose de radiação absorvida. Este período é finalizado a partir do momento que começam a aparecer os primeiros sinais clínicos das lesões, momento de manifestação da doença e que pode durar de 2 a 3 semanas. Caso o paciente sobreviva à fase de manifestação da doença, a recuperação está praticamente assegurada; no entanto, o paciente terá maior probabilidade de desenvolver tumor e a sua descendência de apresentar anormalidades genéticas (BUSHBERG, 2002; MOREIRA, 2011).

3.4 Radiossensibilidade celular

O conceito de radiossensibilidade está associado a uma característica intrínseca e individual e relaciona-se ao surgimento de efeitos adversos causados pela radiação ionizante sobre o organismo humano (TWARDELLA; CHANG-CLAUDE, 2002).

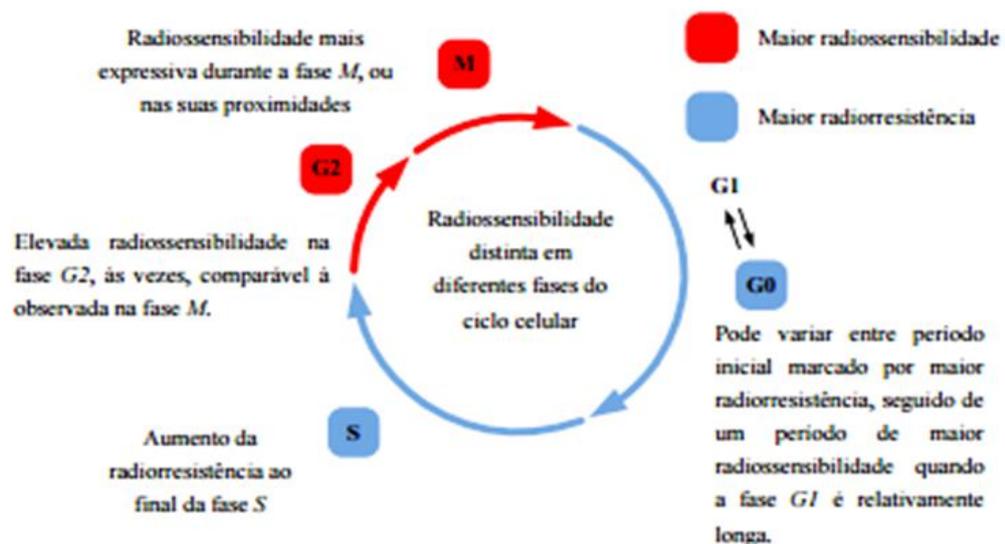
Segundo Bergonié e Tribondeau a sensibilidade é uma função do estado metabólico do tecido, além da diferenciação e proliferação células que estão sendo irradiadas (ARENA, 1971 apud STELL, 1996). Este conceito tornou-se conhecido como a “Lei de Bergonié e Tribondeau” e estabelece que a radiossensibilidade dos tecidos vivos pode variar da seguinte maneira:

- Quanto mais diferenciada for a célula, maior é sua resistência à radiação, sendo as células diferenciadas mais radiorresistentes por não passarem por mitose, ao contrário das indiferenciadas que se dividem e produzem novas células para sua população.

A radiosensibilidade das células é diretamente proporcional à sua atividade reprodutiva e inversamente proporcional ao grau de diferenciação (GOSSELIN, 2011). No que concerne as fases do ciclo celular, as fases G2 e M apresentam maior radiosensibilidade, correspondendo a efeitos máximos imediatamente antes e durante a divisão celular, como pode ser visto na figura 7 (GOSSELIN, 2011).

- Quanto mais jovem for o tecido ou órgão, mais radiosensível ele será;
- Quanto maior a atividade metabólica, maior a radiosensibilidade,
- Quando a taxa de proliferação celular e a taxa de crescimento tecidual aumentam, a radiosensibilidade também aumenta.

Figura 7 - Esquema representativo da radiosensibilidade para cada fase do ciclo celular



Fonte: (FERREIRA, 2015).

Até a década de 1980, poucos radiologistas achavam que a radiosensibilidade de células tumorais humanas tinha importância prática para a radioterapia (STELL, 1996). Atualmente os efeitos adversos apresentados no tratamento tornam a tolerância à irradiação das células dos tecidos saudáveis circunvizinhos ao tumor um dos principais fatores limitantes da dose prescrita. Cerca de 10 % dos pacientes submetidos ao tratamento radioterápico apresentam efeitos adversos graves manifestados principalmente nos tecidos saudáveis, o que pode levar a uma diminuição na qualidade de vida e limitar o controle do tumor por causa da

dose de radiação administrada (BARNETT et al, 2009; POPANDA et al, 2008; STEWART, 2003).

3.4.1 Lesões no DNA induzidas por Raios X

O DNA é um polinucleotídeo com uma sequência específica de unidades de desoxirribonucleotídeos, ligados covalentemente por ligações 3', 5'- fosfodiéster e atua como transportador da informação genética (COX, 2012). Segundo estudos feitos na radiobiologia, o DNA é a molécula-alvo dos efeitos biológicos das radiações. Após uma dose de 1 Gy, verificam-se cerca de 1000 lesões nas bases, cerca de 1000 quebras de cadeia simples e cerca de 40 quebras de cadeia dupla (VON SONNTAG, 2007).

Fatores como atividade e eficiência dos mecanismos de defesa e, principalmente, a capacidade de reparo do DNA são fundamentais no que diz respeito à indução do dano causado pela radiação e a permanência ou não de lesões nesta molécula. Dentre a ampla variedade de lesões que podem ser causadas ao DNA, pode se incluir os danos de base, a quebra de fitas simples e duplas, ocorrência de ligações cruzadas, entre outras (HALL, 2000).

Em meio a esses danos primários, um dos principais danos é a quebra na fita dupla do DNA, aparentemente no mesmo sítio (RODRIGUES et al., 2005). Mesmo sendo considerado primário, é um dos danos mais difíceis de ser reparado e está relacionado a uma gama significativa de efeitos biológicos, como mutações, malformações e o câncer. No entanto, as células possuem mecanismos de reparo que tendem a corrigir essas alterações. Isso é feito por ação de várias enzimas e acaba por preservar a estabilidade genômica. Porém quando esses danos não podem ser reparados ou isso é feito de forma errônea, aumenta-se o potencial mutagênico e carcinogênico daquela lesão (JACKSON, 2002; SANKARANARAYANAN, 2006).

O processo que antecede a reparação funciona como uma cascata de sinalizações, sendo o sinal inicial a lesão ao DNA causada pela radiação. Esse sinal acaba sendo captado por proteínas específicas que agem de diferentes formas, podendo bloquear o ciclo celular nas células que estão em divisão, executar o reparo da celular ou levá-la a apoptose (KIMURA, 2012). Os *checkpoints* são pontos de parada durante o ciclo celular onde ocorre análise da estrutura do material genético para promover o reparo de modo a não repassar o dano durante a progressão do ciclo. O aparecimento de mutações no genoma de uma célula é considerado um fator preponderante para a indução de um câncer por ação das radiações, no entanto, nem

todas as mutações evoluem obrigatoriamente para alguma doença (PRESTON, 2003; KIMURA, 2012).

3.4.2 Vias de reparo do DNA

Quando o reparo não ocorre de forma correta, as lesões no DNA podem levar ao acúmulo de mutações que interferem no crescimento celular normal e assim podem contribuir para o aparecimento de uma patologia. Sendo assim, o processo de reparação acaba tendo papel fundamental na garantia de viabilidade celular (GIL, 2008) e funciona como uma ação de reversão feita pela maquinaria do DNA, a fim de impedir a morte celular, isto é, caso o reparo ocorra de forma rápida e eficiente (HEGI *et al.*, 2005; QIU, 2013).

As 4 principais vias de reparo do DNA são: excisão de bases (BER – Base Excision Repair), excisão de nucleotídeos (NER – Nucleotide Excision Repair), pareamento errôneo (MMR – Mismatch Repair) e reparo de quebra na dupla-fita (DSBR – Double Strand Break Repair) que inclui recombinação homóloga (HR – Homologus Recombination) e junção não homóloga de extremidades (NHEJ – Non Homologus End Joining) (QIAN *et al.*, 2011; WOOD *et al.*, 2001).

- **Reparo por excisão de bases**

O reparo realizado por BER é o principal agente no que diz respeito a lesões causadas pelo metabolismo da própria célula. Esse tipo de reparo identifica e corrige quebras de fita simples, como acontece na ação dos Raios X. Este processamento envolve enzimas DNA-glicosilases, cada uma delas fazendo o reconhecimento de um tipo de base alterada e catalisar sua remoção hidrolítica, formando um sítio apurinico (HOEIJMAKERS, 2001). Esses sítios aparecem frequentemente no DNA por hidrólise espontânea e pela ação de agentes lesivos. Sítios AP não corrigidos podem afetar a replicação do DNA e facilitar o processo de mutação (BAUTE; DEPICKER, 2008).

- **Reparo por excisão de nucleotídeos**

O reparo realizado pela via NER se inicia pela identificação de uma lesão volumosa, as enzimas da via entram em ação promovendo a clivagem da ligação fosfodiéster da fita anormal dos dois lados da lesão com alguns nucleotídeos a mais como margem de segurança. A DNA helicase remove o oligonucleotídeo lesado e a DNA polimerase preenche o espaço

que ficou vazio, já a DNA ligase fica responsável em ligar a fita ao fragmento que foi sintetizado (ALBERTS *et al.*, 2010; JAGIRDAR *et al.*, 2013).

- **Reparo do pareamento errôneo MMR**

Realiza a remoção dos nucleotídeos que foram pareados de maneira errônea pela DNA polimerase. Para que isso ocorra, a via reconhece o erro, recruta os fatores de MMR para que possam fazer o rastreamento da fita que contém o erro e por fim ocorra uma nova síntese da parte excisada (HOEIJMAKERS, 2001).

- **Recombinação Homóloga e junção não-homóloga de extremidades**

As vias de reparo HR e NHEJ identificam e corrigem um dos principais danos à molécula de DNA, as quebras de dupla-fita, que são recorrentes como resultados de irradiações por Raios X (ZHOU ; PAULL, 2013). Após a detecção da quebra, uma cascata de reações é ativada com a finalidade de parar o ciclo celular, evitando que o erro seja passado para as próximas fases (ZHOU ; ELLEDGE, 2000; KHANNA & JACKSON, 2001). Na via HR, a quebra no DNA é corrigida utilizando a cromátide irmã como molde no momento da replicação (ZHOU & PAULL, 2013). Assim que a quebra é detectada, uma exonuclease degrada parte da extremidade 5' deixando a extremidade 3' livre, que logo vai se integrar à cromátide irmã e uma polimerase preenche a quebra usando-a como molde (ALBERTS *et al.*, 2010). Caso a célula esteja em G1, é ativada a via NHEJ, na qual um complexo protéico protege e aproxima as extremidades da quebra e recruta uma ligase que promove a reação de ligação (HOEIJMAKERS, 2001) sem a necessidade de molde, porém com maior probabilidade de ocorrer erros (KHANNA & JACKSON, 2001; VAN GENT *et al.*, 2001).

3.5 Princípios básicos para proteção radiológica

A proteção radiológica, que também pode ser chamada de radioproteção, refere-se a um conjunto de medidas que visam proteger o homem, seja paciente ou trabalhador ocupacionalmente exposto, dos possíveis efeitos causados pela radiação ionizante, ainda se incluem nessas medidas, os descendentes das pessoas expostas e o meio ambiente de forma geral. Essas medidas procuram minimizar esses efeitos por meio do aperfeiçoamento dos equipamentos utilizados nos procedimentos radiológicos, assim como também na diminuição das doses absorvidas (XAVIER, 2010).

A proteção radiológica se baseia em três princípios (ICRP, 2007; OKUNO, 2013; CNEN, 2014):

- Princípio da justificativa - qualquer exposição à radiação deve ser justificada de modo que o benefício supere qualquer malefício à saúde;
- Princípio da otimização da proteção - a proteção radiológica deve ser otimizada de forma que o número de pessoas expostas e a probabilidade de exposições que resultem em doses mantenham-se tão baixos quanto possa ser razoavelmente exequível, considerando os fatores econômicos e sociais; Nesse processo de otimização, deve ser observado que a dose, no caso de exposições médicas de pacientes, deve ser entendida como uma aplicação necessária e suficiente para atingir os propósitos a que se destina (CNEN, 2014). Nos serviços de radiodiagnóstico, a intenção é realizar um exame preciso, de qualidade e com segurança (KIM *et al.*, 2013). A exposição ocupacional associada à mamografia, por exemplo, é considerada baixa, devido à utilização de baixa tensão, resultando numa diminuição da radiação espalhada. Raramente uma sala utilizada estritamente para mamografia requer proteção de chumbo da mesma, apenas é utilizada uma barreira de proteção colocada entre o técnico e o paciente (BUSHONG, 2004).
- Princípio da aplicação de limites de dose - as doses individuais devem obedecer aos limites estabelecidos em recomendações nacionais que se baseiam em normas internacionais. A recomendação para a exposição ocupacional é um limite de dose efetiva média de 20 mSv (milisiverts) por ano em 5 anos consecutivos, não podendo exceder a 50 mSv em um único ano qualquer (ICRP, 2007; OKUNO, 2013; CNEN, 2014).

3.6 Dosimetria física

A dosimetria física avalia a dose absorvida por meio de instrumentos sensíveis à radiação (dosímetros), que fazem uma medição e quantificação de forma direta ou indireta. Um sistema dosimétrico é útil tanto como detector individual como também para detecção de radiação ionizante em um ambiente. Alguns exemplo típicos de detectores são: fotográficos gasosos, semicondutores, termoluminescentes e químicos (KNOLL, 1989; PODGORSKAK, 2004).

Apesar de ser um sistema numérico relativamente simples, nem sempre é possível ou fácil realizar a dosimetria física. Isso ocorre, como por exemplo, em situações de exposições acidentais ou ocupacionais nas quais os indivíduos irradiados não portam dosímetros, ou os portam de maneira incorreta ou não frequente; ou ainda nos casos nos quais as condições de

irradiação não são conhecidas. Além disso, os valores de dose nem sempre fornecem a percepção real do risco para os indivíduos irradiados. Nesses tipos de situações, existe a possibilidade de correlacionar a dose absorvida por um indivíduo e os danos causados aos Biomarcadores, técnica conhecida como dosimetria biológica (AMARAL, 2002).

3.7 Dosimetria biológica

A dosimetria biológica é uma técnica de estimativa de dose absorvida por um indivíduo exposto ocupacionalmente ou acidentalmente à radiação ionizante, através da observação de biomarcadores. Sendo assim, é de grande importância no diagnóstico e tratamento clínico desses indivíduos, visto que, é um método que pode tanto suplementar os resultados da dosimetria física quanto ser utilizado de forma independente quando aplicado à proteção radiológica (HADJIDEKOVA *et al.*, 2010; MONTEIRO GIL *et al.*, 2000).

Considerando que a exposição à radiação ocorra na presença de um dosímetro físico, a estimativa de dose nas primeiras semanas após o ocorrido, é feita através da associação dos dois métodos: físico e biológico, porém, caso a estimativa de dose pela dosimetria física não seja possível, o único método possível para quantificar a dose é a biodosimetria (AINSBURY *et al.*, 2011; LLOYD, 1997; RODRIGUES *et al.*, 2005).

No caso de um acidente nuclear, onde uma grande gama de indivíduos foram expostos e onde os mesmo não possuíam dosímetro físico, a dosimetria biológica aliada às características clínicas do indivíduo, possibilitam uma rápida identificação de quem foi exposto ou não à radiação, além de um encaminhamento para tratamento médico a curto prazo (IAEA, 2011). Em acidentes radiológicos, a estimativa de dose absorvida dos indivíduos que foram expostos é de grande importância, pois, quando a exposição é superior a 1 Gy, a informação a respeito da dose serve para determinar a terapia que deverá ser aplicada, além de gerar um alerta à equipe médica referente à possibilidade de ocorrer efeitos determinísticos após semanas ou meses da exposição. No caso das exposições abaixo de 1 Gy é necessário informar o médico acerca dos dados dosimétricos, já que é de sua responsabilidade orientar o paciente acerca da probabilidade de ocorrer efeitos estocásticos, como o desenvolvimento de câncer, por exemplo (IAEA, 2011).

Para estimar a dose absorvida a partir da dosimetria biológica, se faz necessária uma correlação entre ela e a presença de biomarcadores. Esses marcadores biológicos são parâmetros que foram modificados por ação da radiação ionizante, podendo-se citar dentre eles, a queda de células hematopoiéticas, as alterações cromossômicas e o aparecimento de

micronúcleos, sendo os dois últimos os mais utilizados em casos de exposições acidentais e ocupacionais, passando assim a ser chamada de dosimetria citogenética (IAEA, 2001). 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 (AMORIM, 2003). Atualmente, o ensaio de cromossomos dicêntricos é considerado o “padrão ouro” da biodosimetria e, com os avanços obtidos dessa técnica, é possível estabelecer a conversão da frequência de alterações cromossômicas observadas em uma determinada dose absorvida (DI GIORGE et al., 2011; IAEA, 2011).

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).

Existem alguns requisitos básicos para que um sistema dosimétrico citogenético seja empregado, como o efeito escolhido para a estimativa de dose deve ser específico para a radiação ionizante, deve ser detectável tão próximo quanto possível do *background* da radiação e apresentar boa resposta para uma série relevante de doses; além disso, estimar a dose de maneira rápida, reprodutível e exibir uma relação dose – resposta que possa ser avaliada experimentalmente (DEHOS, 1990; MULLER ; STREEFER,1991).

3.7.1 Linfócitos como Bioindicadores de exposição aos Raios X

Os linfócitos apresentam dois aspectos particulares no sistema imunológico, a capacidade de defesa específica e de gerar memória imunológica (HOOFFBRAND, 2008). Levando-se em consideração as características fisiológicas, os linfócitos se dividem em três diferentes populações de células: os linfócitos T, linfócitos B e linfócitos NK (ZAGO *et al.*, 2001).

Os linfócitos T correspondem a 65 - 80% dos linfócitos circulantes e originam-se de um precursor na medula óssea que posteriormente migra para o timo onde a maturação destas células se completa. Eles estão envolvidos em processos de imunidade celular e na regulação da síntese de anticorpos (RAPAPORT, 1990; ZAGO *et al.*, 2001).

Os linfócitos B correspondem de 5 a 15% dos linfócitos circulantes e originam-se de um precursor na medula óssea onde, nos mamíferos, é iniciado no processo de maturação dessas células. Eles participam dos processos de imunidade humoral e é o precursor da principal célula formadora de anticorpos do organismo (plasmócito) (RAPAPORT, 1990; ZAGO *et al.*, 2001). 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).

Os linfócitos do sangue periférico são reconhecidos como células altamente radiosensíveis, porém são exceção à regra de radiosensibilidade celular (a “Lei de Bergonié e Tribondeau”) a qual afirma que (BUSHONG, 1997; D’IPPOLITO, 2005):

- Quanto mais madura a célula, maior será a sua resistência à radiação;
- Quanto menor a diferenciação celular maior a probabilidade de indução de morte por ação das radiações ionizantes;
- Quanto maior o nível de atividade metabólica maior também será a radiosensibilidade da célula;
- Quanto maior a taxa de proliferação celular e a taxa de crescimento tecidual a radiosensibilidade também aumenta.

Além de serem radiosensíveis, os linfócitos são células diferenciadas encontradas no sangue periférico na fase G0 do ciclo celular e são capazes de armazenar os danos biológicos causados pela radiação ionizante por um período de vida média de 3 anos (IAEA, 2001).

A contagem de linfócitos pode ser reduzida (linfopenia) ou, em alguns casos, aumentada (linfocitose) devido à 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 2-3 Gy e 8 Gy, enquanto progenitores hematopoiéticos mitoticamente ativos são incapazes de se dividir após uma exposição de corpo inteiro > 2-3 Gy, 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 à 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).

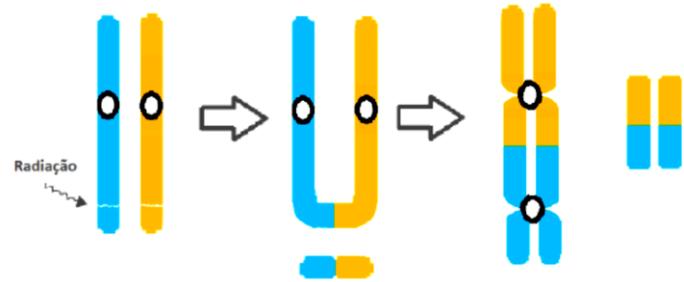
Devido a todas essas características, os linfócitos circulantes têm sido empregados como células-alvo para estimar a dose absorvida de indivíduos expostos a radiação ionizante. Uma vez que a irradiação *in vitro* e *in vivo* de linfócitos induz a produção semelhante de danos cromossômicos por unidade de dose absorvida, esta pode ser estimada através da comparação da frequência de alterações observada nos linfócitos de vítimas de um acidente com a curva dose-resposta gerada a partir de experimentos *in vitro* (IAEA, 2011).

3.7.2 Dosimetria Citogenética

A dosimetria citogenética é um caso particular de biodosimetria que utiliza as modificações que ocorrem a nível de DNA como biomarcadores de exposição à radiação ionizante, sendo os principais biomarcadores as alterações cromossômicas e os micronúcleos presentes em linfócitos do sangue periférico (AEIA, 2001). Estudos comprovam que a quantificação dessas alterações cromossômicas pode ser utilizada na percepção de risco à saúde do indivíduo que foi exposto, sendo assim podendo ser considerado como um importante biomarcador para predisposição ao câncer (AU *et al.*, 2001; MAFFEI *et al.*, 2004).

As alterações cromossômicas podem ser classificadas em estáveis e instáveis. As estáveis são divididas em translocações (ocorre quando há quebra de dois cromossomos e trocas recíprocas ou não de segmentos quebrados entre eles), deleções (ocorre perda de material cromossômico) e inversões (quando ocorrem pontos de quebra e ligação no mesmo braço ou no oposto). Esse tipo de alteração tende a permanecer nas células ao longo dos processos de divisão celular (NATARAJAN, 1998; FERNANDES, 2005). Já as alterações instáveis são perdidas ao longo da divisão celular e se apresentam principalmente na forma de cromossomos dicêntricos. Estes se formam pelas quebras de dois cromossomos, podendo as quebras ocorrerem nos dois cromossomos devido a mesma interação ou de duas interações distintas. Esses dois cromossomos se unem formando o cromossomo dicêntrico que é acompanhado do fragmento acêntrico (Figura 8) (SILVA, 1997; IAEA, 2011).

Figura 8 - Representação da formação de um dicêntrico

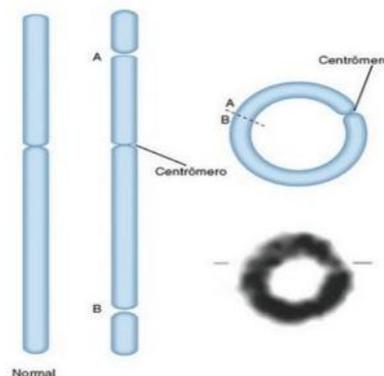


Fonte: (ANTUNES, 2012).

O nível basal da população em geral é de um dicêntrico a cada 1000 células analisadas. Por ser baixo, os dicêntricos se tornam alterações específicas à radiação ionizante e permite que o limite para análise e detecção seja em torno de 0,1 Gy para radiações de baixa LET (AINSBURY *et al.*, 2011; PINTO *et al.*, 2010; IAEA, 2011). Essas características fazem do ensaio de dicêntricos o padrão ouro na dosimetria citogenética, principalmente em casos de exposição inesperada (BLAKELY *et al.*, 2005).

Há ainda, nas alterações instáveis, a ocorrência dos anéis cromossômicos. Sua formação decorre de uma alteração estrutural resultante de duas quebras que ocorrem nas extremidades de um único cromossomo (braço curto e braço longo) e uma subsequente fusão das extremidades rompidas (Figura 9). Os cromossomos em anel são raros, no entanto já foram detectados em todos os cromossomos humanos (THOMPSON, 1993).

Figura 9 - Formação do cromossomo em anel



Fonte: (GENÉTICA MÉDICA, 2010)

Uma outra alteração de importante observação na dosimetria citogenética são os fragmentos acêntricos isolados (Figura 10), que podem ser resultado de deleções cromossômicas terminais ou intersticiais de tamanhos variados (ROY *et al.*, 2012)

Figura 10 - Fragmento acêntrico



Fonte: Adaptada de Antunes (2012).

Alguns laboratórios de dosimetria biológica somam a avaliação de dicêntricos com os cromossomos em anel, principalmente devido à baixa incidência dos anéis, mesmo assim, o dicêntrico é o principal biomarcador para os danos cromossômicos, por ser quase exclusivamente específico à radiação com pouca diferença no *background* radioativo e pouca variação interindividual (WONG *et al.*, 2013).

A frequência de dicêntricos e anéis cromossômicos permite uma boa estimativa da dose equivalente do 'corpo inteiro' devido à mistura de linfócitos expostos e não expostos contidos em uma mesma amostra de sangue. Sendo assim, a técnica se mostra eficiente 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, visto que são alterações instáveis, as células precisam ser examinadas em sua primeira divisão em torno de 46-48h após o início da cultura (LEONARD *et al.*, 2005).

Estudos tentaram demonstrar se havia diferença significativa na frequência das alterações cromossômicas após exposição *in vivo* e *in vitro*, entretanto observou-se que não houve distinção expressiva nas duas situações. Assim, a relação dose-efeito obtida após a irradiação *in vitro* de uma amostra de sangue, pode ser usada para estimar os efeitos da irradiação *in vivo* (AMARAL, 2002).

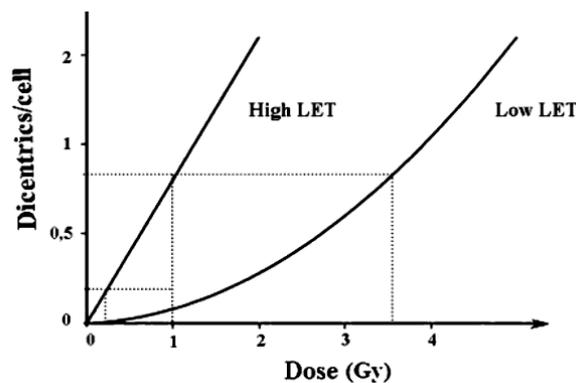
Assim, a dose absorvida é estimada a partir da relação da frequência das alterações cromossômicas instáveis utilizando uma curva de calibração dose-resposta obtida *in vitro* (RODRIGUES *et al.*, 2005; HADJIDEKOVA *et al.*, 2010; IWASAKI *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2013).

3.7.3 Curva de Calibração dose-resposta

Com o intuito de representar matematicamente a relação entre a frequência das alterações cromossômicas e a dose absorvida, faz-se necessário a construção de uma curva de calibração dose-resposta. Levando em consideração que a construção dessa curva se caracteriza por apresentar técnicas que variam de um laboratório para outro, que vão desde o cultivo das células até a leitura das lâminas, logo é indicado que cada laboratório com intenção de prestar o serviço de dosimetria biológica construa sua própria curva de calibração. O uso de uma curva de outro laboratório traz incertezas relevantes em relação à estimativa de dose absorvida (IAEA, 2001).

As curvas de calibração dose-efeito têm formas que variam em função do LET e RBE, como ilustrado na figura 11.

Figura 11 - Representação de curvas de calibração dose-resposta para diferentes LET's



Fonte: Adaptada de AIEA (2011).

Quando se trata de uma radiação de baixa LET, como os raios X, a curva para dicêntricos se encaixa melhor como uma curva quadrática, representada pela equação 1 (IAEA, 2001; PINTO, 2010; IAEA, 2011).

$$Y = C + \alpha D + \beta D^2 \quad (1)$$

onde o Y representa a frequência de alterações, C é a frequência de dicêntricos na dose zero, α e β são os coeficientes e D é a dose absorvida. Nas radiações de baixa LET, a dose de qualquer radiação ionizante será distribuída em forma de um processo de amostragem casual ou acidental, onde as lesões ao DNA se comportarão da mesma forma, levando a assumir que as alterações cromossômicas serão distribuídas aleatoriamente entre as células. Tal fato foi

demonstrado em irradiações com raios X e gama, onde as alterações genéticas seguem a distribuição de Poisson (AMORIM, 2003).

A formação do cromossomo dicêntrico necessita da ocorrência de duas lesões no cromossomo, que podem ser causadas por uma única interação ou por duas. Já os fragmentos só precisam de uma única lesão para se formarem, entretanto podem se formar pela ocorrência de duas. Na equação 1 mostrada, o componente linear (α) está relacionado a resposta de interações únicas e o quadrático (β) relacionado a lesões devido a duas ou mais interações (IAEA, 2011).

Nas radiações de alta LET, como nêutrons e partículas alfa, a curva de calibração é melhor ajustada a uma resposta linear representada pela equação 2.

$$Y = C + \alpha D \quad (2)$$

Os danos gerados por estes tipos de radiações são caracterizados por apresentar efeitos biológicos relativos quantitativamente maiores. Dentre esses danos pode-se destacar a indução de quebras duplas de DNA, que, por ser uma alteração cromossômica de difícil reparo, pode levar à morte ou a mutações. A razão para esta diferença está na quantidade energia depositada na faixa de ionização, o que acaba conduzindo para diferentes eficácias biológicas (IAEA, 2001).

Durante o processo de construção da curva deve ser utilizado o teste de homogeneidade de chi-quadrado (X^2 , *Chi Squared Homogeneity Test*), com a intenção de verificar se os dados obtidos tem diferença significativa ou não com os dados esperados. Claramente o que é considerado ideal é que não haja diferença estatística entre eles, sendo necessário que o valor de p esteja acima de 0,05 (ACHARYA *et al.*, 2009).

Para que a curva seja estabelecida as amostras devem ser irradiadas com valores de dose absorvida compreendendo a faixa de 0,25 Gy – 5 Gy. No caso de radiações de baixa LET, não é necessário doses acima de 5 Gy, porque acima disso ocorre uma saturação de alterações cromossômicas, ou seja, os danos celulares são tão significativos que há mais células em apoptose do que células viáveis para a leitura das alterações. Já para radiações de alta LET, uma dose de 2 Gy já é considerada razoável (IAEA, 2001; IAEA, 2011).

Para que sejam diminuídas as incertezas da construção da curva é necessário que seja estabelecido um limite de confiança de 95%. Esse limite abrange o intervalo que se encontra a verdadeira dose absorvida (IAEA, 2011).

Na análise dos dados obtidos a partir das frequências das alterações cromossômicas, são utilizados alguns programas computacionais específicos que servem tanto para aumentar a velocidade de obtenção da curva, quanto aumentar a exatidão dos resultados. Dentre esses programas está o DOSE ESTIMATE, que permite a construção de curvas de calibração, estimativa de doses e o cálculo de intervalos de confiança, quer seja no caso de exposições parciais ou de corpo inteiro (AINSBURY; LLOYD, 2010).

ARTIGO A SER SUBMETIDO

AVALIAÇÃO DA TAXA DE ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS INSTÁVEIS EM SANGUE HUMANO IRRADIADO POR RAIOS X: ESTABELECIMENTO DE CURVA DOSE-RESPOSTA

Julyanne C. G. Mendonça¹, Mariana E. Mendes^{1,2}, Laís M. Silva¹, Aída M. G. de Andrade¹, Suy F. Hwang¹, Fabiana F. Lima¹, Ana M. M. A. Melo³

july_cgm@yahoo.com.br; fflima@cnen.gov.br; amdemelo@hotmail.com.

¹Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste - CRCN-NE/CNEN

²Departamento de Genética – DG/UFPE

³Departamento de Biofísica e radiologia - UFPE

RESUMO

A dosimetria citogenética relaciona a frequência de alterações cromossômicas encontradas no sangue do indivíduo exposto e a dose absorvida. O objetivo desse trabalho foi verificar as frequências dessas alterações em linfócitos de sangue humano irradiado por Raios x de 250 kVp com diferentes doses absorvidas e estabelecer curvas de calibração dose-resposta. Houve um aumento das frequências de alterações cromossômicas com o aumento da dose absorvida. As curvas de calibração de dicêntricos e de dicêntricos + anéis apresentaram bons ajustes com os valores dos coeficientes $Y = 0,0013 + 0,0279D + 0,0545D^2$ ($X^2 = 10,36/GL=6$) e $Y = 0,0013 + 0,0251D + 0,0630D^2$ ($X^2 = 7,43/GL=6$). O estabelecimento dessas curvas possibilita ao Laboratório de Dosimetria Biológica do CRCN/NE estimar a dose absorvida por indivíduos ocupacionalmente expostos e em casos de acidentes radiológicos.

Palavras-Chave: Biodosimetria, dicêntricos, raios x.

1. Introdução

As radiações ionizantes eletromagnéticas são ondas de alta energia que, ao interagirem com a matéria, desencadeiam uma série de ionizações, transferindo energia aos átomos e moléculas presentes no campo irradiado e promovendo, assim, alterações físico-químicas intracelulares (BIRAL, 2002).

Desde sua descoberta, as radiações ionizantes (RIs) têm tido um aumento crescente em sua utilização, incluindo diversas áreas relacionadas à indústria, à medicina e, até mesmo, à agricultura. Atualmente, as exposições ocupacionais são vistas como as principais causas do crescimento de incidentes envolvendo fontes e equipamentos que emitem radiação, visto que são os trabalhadores ocupacionais que estão continuamente sendo expostos as RIs durante suas atividades (UNSCEAR, 2008).

O surgimento da dosimetria biológica permitiu estimar a dose absorvida, por meio da observação dos danos que foram gerados nas moléculas de DNA, utilizando técnicas de análise citogenética (SZLUINSKA *et al*, 2007). Este método se baseia na contagem da frequência das alterações cromossômicas instáveis (dicêntricos, fragmentos acêntricos e anéis cromossômicos).

Com base no estudo destas alterações, são construídas curvas de calibração dose-resposta, que, ao serem desenvolvidas por cada laboratório, acabam por apresentar diferenças em seus protocolos e é por este motivo que a Agência Internacional de Energia Atômica indica que todo laboratório que forneça o serviço de Dosimetria Biológica tenha sua própria curva de calibração (IAEA, 2001). O objetivo deste trabalho foi padronizar a curva de calibração dose-resposta para Raios X no Laboratório de Dosimetria Biológica (LDB) do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CRCN-NE/CNEN) que poderá ser utilizada na avaliação das doses absorvidas por trabalhadores, pacientes e indivíduos expostos por este tipo de radiação.

2. Materiais e métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Dosimetria Biológica do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste – CRCN-NE e foi autorizada pelo comitê de ética envolvendo pesquisas com seres humanos da Universidade Federal de Pernambuco sob o número de CAAE 09186813.7.0000.5208 e do parecer consubstanciado 269.483

2.1. Seleção de doador e coleta de amostras

Um voluntário saudável e não fumante foi selecionado após a realização de anamnese por meio do preenchimento de questionário para verificar se nos últimos seis meses

antes da coleta ele foi exposto à radiação ionizante para fins terapêutico, raios X diagnóstico, vacinação viral ou consumiu drogas ilícitas. Em seguida foram coletadas 8 amostras de sangue periférico (10mL cada), por punção venosa, em seringa estéril descartável contendo heparina sódica na concentração de 5000U/mL.

2.2. Irradiação das amostras

Cada amostra de sangue foi separada em duas alíquotas de 5 mL, uma, considerada grupo controle, não irradiada e mantida à temperatura ambiente e outra irradiada por raios X de 250kVp. A irradiação foi realizada no serviço de Metrologia do CRCN-NE/CNEN em um equipamento de raios X PANTAK, modelo HF 320.

A distância entre a fonte e a amostra foi de 1m para que a diferença na dose de entrada e de saída na amostra fosse menor que 2%. Foi utilizada uma barreira de polietileno de 1mm para assegurar o equilíbrio eletrônico. Para estimar a taxa de dose absorvida no tecido mole (sangue) a partir do KERMA no ar, foi utilizado o fator de conversão 1,09 (AIEA, 2011). O tempo de irradiação de cada amostra foi de tal forma que fosse depositado doses absorvidas de 0,15Gy; 0,25Gy; 0,5Gy; 1,0Gy; 2,0Gy; 3,0Gy; 4,0Gy e 5,0Gy.

2.3. Cultura celular

Antes do início do cultivo celular, as amostras permaneceram na estufa a 37 °C, por 2 horas, para atuação do reparo celular.

As preparações citológicas para as análises cromossômicas foram obtidas a partir de cultura de linfócitos através da adição de 0,5 mL de sangue total com 4 mL de meio RPMI 1640 (SIGMA) suplementado com 1 mL de soro bovino fetal (GIBCO) e 0,2ml de fitohemaglutinina (GIBCO). Em seguida, as amostras foram mantidas na estufa a 37 °C, por 48 horas. Após 46 horas foi adicionado 0,1 mL de colcemid 10µg/mL (SIGMA). Posteriormente foi feito o choque hipotônico seguido do processo de fixação para que as lâminas fossem coradas com Giemsa a 5 % durante 7 min.

2.4. Análise Microscópica

A contagem de alterações cromossômicas foi realizada diretamente no microscópio óptico (Leica MD 500), onde apenas células viáveis e no primeiro ciclo completo da

1	1003	78	0,0778	926	76	1				0,94	-1,1509		
2	316	100	0,3160	224	85	6	1			0,86	-1,6906		
3	158	100	0,6329	91	45	14	6	1	1	1,34	2,9900		
4	121	100	0,8264	54	40	21	6			0,96	-0,3002		
5	65	100	1,5385	15	21	13	12	3	1	1,02	0,0980		
Dose (Gy)	Total de metáfases	Dic + anel	Distribuição intercelular Dic + Anel									σ^2/y	<i>U</i>
0	5004	7	Y	0	1	2	3	4	5				
			0,0014	499	7						0,99	-0,0659	
0,15	1030	4	0,0039	102	4						0,99	-0,0767	
0,25	1000	9	0,0090	991	9						0,99	-0,1902	
0,5	1000	36	0,0360	964	36						0,96	-0,7945	
1	1003	84	0,0837	920	82	1					0,94	-1,3301	
2	316	110	0,0000	214	95	6	1				0,81	-2,2298	
3	158	107	0,6772	84	52	14	6	1	1		1,23	2,0300	
4	121	124	1,0248	33	59	22	7				0,67	-2,5304	
5	65	109	1,6769	6	30	13	12	3	1		0,74	-1,4407	
Dose (Gy)	Total de metáfases	Frag	Distribuição intercelular de Frag									σ^2/y	<i>U</i>
0	5004	120	Y	0	1	2	3	4	5	6			
			0,0240	488	120							0,97	-1,1906
0,15	1030	30	0,0291	100	30							0,97	-0,6502
0,25	1000	29	0,0290	971	29							0,97	-0,6382
0,5	1000	151	0,1510	873	106	18	3					1,21	4,6600
1	1003	69	0,0688	935	67	1						0,96	-0,8761
2	316	129	0,4082	214	78	21	3					1,06	0,7590
3	158	78	0,4937	105	35	12	5	1				1,36	3,2200

4	121	89	0,7355	70	26	14	9	2	1,47	3,640
									0	
5	65	54	0,8308	38	13	7	4	1 1 1	2,05	6,010
									0	

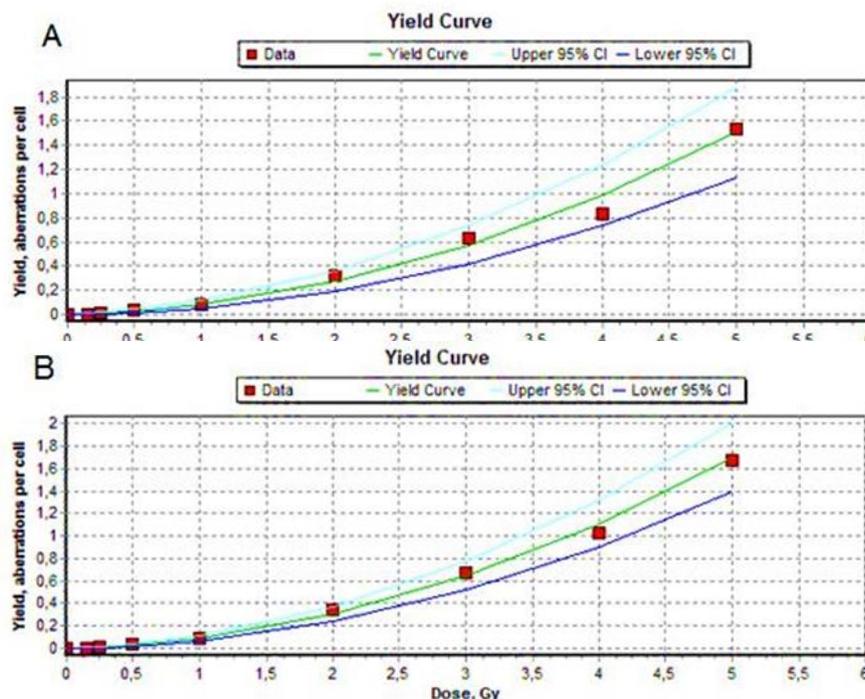
Com o aumento das doses absorvidas, foi observada a presença de células com mais de uma alteração cromossômica. Ao determinar o número dessas células, tornou possível o cálculo do índice de dispersão (σ^2/y) e do valor de u de cada amostra.

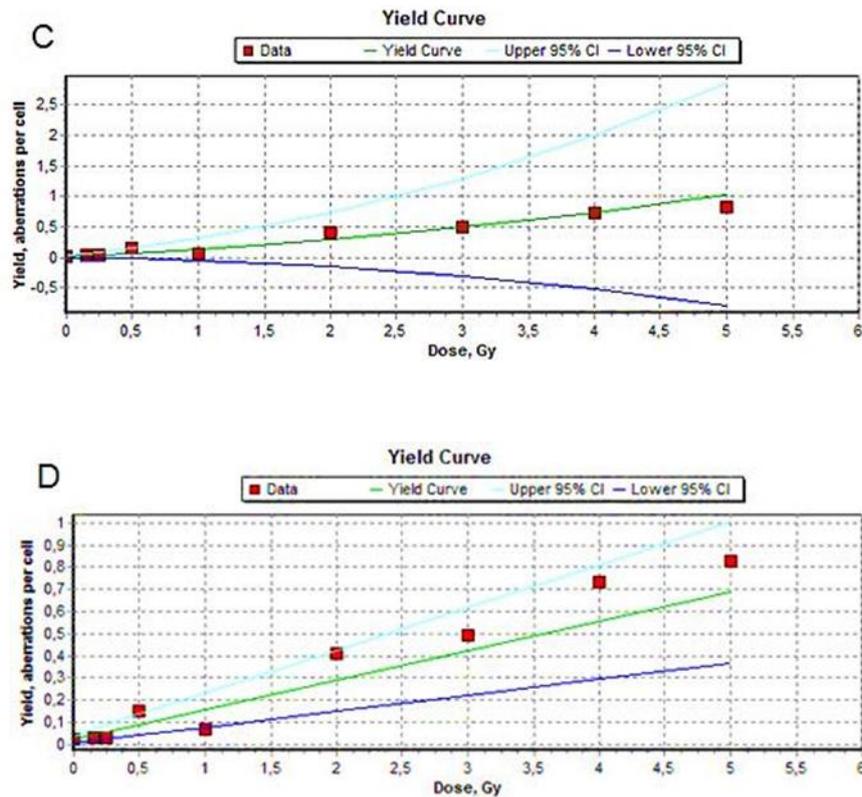
No estudo da distribuição intercelular de dicêntricos foi observada uma tendência a subdispersão desse tipo de alteração cromossômica, as variâncias não excederam as respectivas médias, com exceção das doses 3 Gy e 5 Gy que apresentaram o valor do índice de dispersão maior que um. Então, nessa amostra, os dicêntricos tiveram um comportamento de sobredispersão.

Na distribuição de dicêntricos + anéis também foi observado o comportamento de subdispersão dessas alterações cromossômicas. Analisando a distribuição dos fragmentos isolados, observa-se que não houve um comportamento com uma tendência específica. Pode-se perceber que apresentaram doses absorvidas com subdispersão (doses 0; 0,15; 0,25 e 1 Gy) e com sobredispersão (doses 0,5; 2; 3; 4 e 5 Gy).

Com os valores da frequência e a distribuição das alterações nas células, foram construídas curvas de calibração dose-resposta para dicêntricos, dicêntricos somados a anéis e fragmentos isolados com o programa Dose Estimate (Figura 1), cujos coeficientes encontram-se dispostos na Tabela 2.

Figura 1 - Curvas de calibração obtidas pelo Programa Dose Estimate.





A) para dicêntricos, B) para dicêntricos + anéis por célula, C) para fragmentos isolados e D) curva linear para fragmentos isolados.

Tabela 2 - Coeficientes das curvas de calibração com seus respectivos valores de desvio padrão, de X^2 e de valor de p obtidos pelo programa Dose Estimate.

Curvas de Calibração	C \pm DP	α (Gy ⁻¹) \pm DP	β (Gy ⁻²) \pm DP	X^2	G L	Valor do p
Dicêntricos	0,0013 \pm 0,0007	0,0279 \pm 0,0096	0,0545 \pm 0,0057	10,36	6	0,7035
Dicêntricos + Anéis	0,0013 \pm 0,0006	0,0251 \pm 0,0081	0,0630 \pm 0,0045	7,43	6	0,7607
Fragmentos	0,0233 \pm 0,0093	0,0892 \pm 0,0558	0,0224 \pm 0,0256	125,6	6	0,0000
Fragmentos *	0,0214 \pm 0,0086	0,1331 \pm 0,0308	-	127,2	7	0,0000

Os coeficientes obtidos das curvas de dicêntricos + anéis diferem dos mesmos coeficientes das curvas de dicêntricos e foi observado a diminuição de aproximadamente 10% do valor do coeficiente α e o aumento de 16% do coeficiente β . Já o coeficiente C permaneceu com o mesmo valor ao contabilizar a presença de anéis nas células analisadas. Foram observados que nas curvas quadráticas de fragmentos isolados os valores dos coeficientes C e α diferem também dos coeficientes das curvas lineares.

O comportamento quadrático nas curvas de dicêntricos e dicêntricos+anéis que se visualiza na figura 1 é confirmado por meio dos valores de X^2 calculados que foram próximo aos valores de X^2 tabelados para o referido grau de liberdade ($p > 0,05$), onde para o GL= 6 fica em torno de 12,6. As curvas dose-resposta dos fragmentos isolados não foram bem ajustadas, pois os valores de X^2 foram muito elevados para os dois tipos de função. Os valores de p (Tabela 3) para todos os coeficientes α foram significativos ($p < 0,05$), com exceção da curva linear quadrática para fragmentos isolados que apresentou o $p=0,1613$ ($p > 0,05$).

Tabela 3 - Valores de p determinados pelo Dose Estimate para cada coeficiente C, α e β nas curvas de calibração das diferentes alterações cromossômicas.

Valor de P	C	A	B
Dicêntricos	p= 0,0987	p= 0,0269	p= 0,0001
Dicêntricos + Anéis	p= 0,0605	p= 0,0209	p= 0,0000
Fragmentos	p= 0,0458	p= 0,1613	p= 0,4143
Fragmentos*	p= 0,0422	p= 0,0035	

*Curva ajustada para o modelo linear.

Também foram estudadas as razões entre os coeficientes α/β que representa a dose absorvida na qual os componentes linear e quadrático contribuem igualmente (ou de forma igual) na formação dos dicêntricos, ou seja, mostra o grau de contribuição das interações únicas e/ou duplas na formação da alteração (COSKUN *et al.*, 2000; IAEA, 2011). As razões α/β para as curvas de dicêntricos e de dicêntricos + anéis tiveram os valores acima de 0,5 e as razões α/β da curva de fragmentos isolados ficou em um valor acima de 3 (Tabela 4).

Tabela 4 - Coeficientes obtidos pelo Dose Estimate e as razões α/β para cada alteração cromossômica analisada.

Curvas de calibração	A	B	Razão α/β
Dicêntricos	0,0279	0,0545	0,5119
Dicêntricos + Anéis	0,0251	0,0630	0,3984
Fragmentos	0,0892	0,0224	3,9821

4. Discussão

A dosimetria biológica vem sendo utilizada desde 1962, onde desde então considera-se o dicêntrico como padrão ouro da técnica, passando a ser extensivamente utilizado para estimativa de dose absorvida em proteção radiológica (BENDER E GOOCH, 1962; ROMM *et al.* 2009; AGRAWALA *et al.*, 2010). Seguindo as recomendações da IAEA (2001), que sugerem que cada laboratório tenha sua curva dose-resposta, procedeu-se à implementação de curvas para diferentes alterações cromossômicas instáveis.

A frequência de cromossomos dicêntricos verificadas nas amostras controle deste trabalho (0,0014) são compatíveis com os valores encontrados por Barquinero *et al.* (1999) com 0,00090, Schröder e Heimers (2002) com 0,0016 e Pajic *et al.* (2014) 0,0008.

Segundo os dados da tabela 1, as frequências de dicêntricos observadas apresentaram, nas doses inferiores a 1 Gy, valores menores que a frequência dos fragmentos acêntricos e isso ocorre porque as doses absorvidas ainda são baixas para produzir uma quantidade de dicêntricos considerável. Quanto aos fragmentos, a variação em sua frequência se dá devido a não serem alterações específicas para radiação ionizante e, muitas vezes, tem sua origem indeterminada, aparecendo de forma independente da presença de dicêntricos e anéis por ação de outros agentes que também tem a capacidade de induzir sua formação. Por conta disso, os fragmentos são mais utilizados associados a estas outras alterações cromossômicas (IAEA, 2011). De forma geral, os fragmentos foram aumentando com o aumento da dose absorvida, com exceção das doses de 0,25Gy e 1Gy.

Quanto aos anéis, apareceram em menor frequência que todas as outras alterações, que se explica por serem mais raros do que os dicêntricos em linfócito humano irradiados, correspondendo a aproximadamente 5-10% do valor destes (SHEVCHENKO *et al.*, 1998).

Em curvas de calibração produzidas *in vitro* utilizando raios X é comum observar que uma ou mais doses absorvidas apresentem o valor de u maior ou menor que o intervalo de $\pm 1,96$ (LLOYD *et al.*, 1986; BARQUINERO *et al.*, 1999; SCHRÖDER; HEIMERS, 2002). Os resultados obtidos para dicêntricos e dicêntricos somados aos anéis seguem o modelo esperado (distribuição de Poisson) para exposição à radiação de baixa LET, pois as ionizações são distribuídas de forma aleatória no alvo (IAEA, 2011).

Os fragmentos isolados apresentaram sobredispersão significativa em 4 das 9 doses absorvidas, semelhantemente ao que ocorreu em Lloyd *et al.*, (1986), no qual ele utiliza raios x de 250 kVp, porém com taxa de dose absorvida mais elevada ($1 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$).

Para radiações de baixa LET como os raios X, a curva dose-resposta para dicêntricos é melhor ajustada ao modelo linear-quadrático, por ser uma combinação de eventos causados por interações únicas e duplas, sendo o primeiro mais frequente em doses baixas e o último mais frequente em doses mais altas (IAEA, 2011).

Levando-se em consideração os coeficientes (α e β) das curvas de calibração para dicêntrico e dicêntricos + anéis, observa-se que houve uma diminuição do valor do coeficiente α e um aumento do β quando são somados os cromossomos em anel. Este resultado é explicado pelo fato dos anéis serem mais frequentes nas doses mais elevadas, não contribuindo para o parâmetro linear, apenas para o parâmetro quadrático da curva (ANTUNES, 2012).

A curva de dicêntricos apresentou um bom ajuste ($p > 0,05$) que pode ser verificado a partir do teste de homogeneidade de X^2 , pois os dados obtidos tiveram valor aproximado do que era esperado para 6 graus de liberdade a um nível de significância de 5%. O mesmo ocorreu com a curva de dicêntricos + anéis. Já os fragmentos isolados, apresentaram valores muito acima dos esperados tanto na curva linear quanto na quadrática, demonstrando que não obteve um bom ajuste.

Lloyd (1986), Prasanna (2002) e Pajic *et al.* (2014) em estudo semelhante, apresentaram um valor mais elevado na frequência de dicêntricos, o que confirmam o fato de que em radiações ionizantes de baixa LET, como é o caso dos raios X, a taxa de dose é um dos principais fatores que determina as consequências biológicas de uma dose absorvida, pois, todos os trabalhos comparados foram realizados com taxas de dose de $1 \text{ Gy}/\text{min}$, enquanto na presente pesquisa as amostras foram irradiadas à uma taxa de $0,275 \text{ Gy}/\text{min}$.

Quando a taxa de dose é baixa e o tempo de exposição é prolongado, o efeito biológico de uma dada dose pode ser reduzido, pois permite que ocorra o reparo do dano subletal durante a irradiação e que haja proliferação de células não danificadas. Se as duas lesões necessárias para induzir um dicêntrico são produzidas por trajetórias separadas e se a taxa de dose for baixa, existe a probabilidade que a lesão produzida pela 1ª trajetória seja reparada antes que o alvo seja atravessado pela 2ª trajetória (LEA, D.E. & CATCHSEDE, D.G.,

1942; BAUCHINGER, M., 1995). Portanto, nas radiações de baixa LET quando a taxa de dose diminui, a frequência de dicêntricos também diminui por unidade de dose.

As diferenças entre laboratórios existem e podem ser atribuídas a diversos fatores como a taxa de dose, o número de células analisadas, os critérios de leitura e a experiência dos operadores (BARQUINERO *et al.*, 1995; BEINKE *et al.*, 2010). Apesar dessas diferenças, a técnica de dosimetria citogenética para dicêntricos consegue mostrar precisão ao estimar a dose absorvida pelo organismo de um humano exposto.

Conclusão

A frequência de dicêntricos para o sangue controle (não irradiado) se apresentou dentro do intervalo esperado.

As alterações cromossômicas instáveis (dicêntricos, anéis e fragmentos) utilizadas neste trabalho apresentaram um aumento proporcional de suas frequências em detrimento do aumento da dose absorvida. Porém os cromossomos dicêntricos e os dicêntricos+anéis demonstraram a melhor relação dose- resposta.

As distribuições intercelulares tanto dos dicêntricos quanto dos dicêntricos + anéis se comportaram de acordo com o modelo de distribuição de Poisson, enquanto a distribuição dos fragmentos acêntricos apresentaram tendência a uma sobredispersão significativa.

As curvas de calibração de dicêntricos e de dicêntricos + anéis poderão ser utilizadas na avaliação de dose absorvida nos casos de exposição à radiação.

Referências

AINSBURY, E. A.; LLOYD, D. C. Dose estimation software for radiation biodosimetry. **Health Physics** 98(2):290-295, 2010.

AGRAWALA, P.K.; ADHIKARI, J.S; CHAUDHURY, N. K.Lymphocyte chromosomal aberration assay in radiation biodosimetry. **Journal of Pharmacy and Bioallied Science** 2(3):197-201, 2010.

ANTUNES, A. C. M. D. 2012. 50 f. **Avaliação da lesão genética induzida por exposição a radiação ionizante na população Portuguesa**. Dissertação (Mestrado) - Curso de Genética Molecular e Biomedicina, Faculdade de Ciências e Tecnologia de Lisboa, Lisboa, 2012.

BARQUINERO, J.F.; BARRIOS ,L.; CABALLÍN, M. R.; MIRÓ, R.; RIBAS, M.; SUBIAS, A.; EGOZCUE, J. Establishment and validation of a dose-effect curve for y-rays by cytogenetic analysis. *Mutat Res.*, v. 326, p.65-69, 1995.

BARQUINERO, J. F. et al. Comparison of X-ray dose–response curves obtained by chromosome painting using conventional and PAINT nomenclatures. **International Journal Of Radiation Biology**, Barcelona, v. 75, n. 12, p.1557-1566, 1999.

BAUCHRNGER, M. Quantification of low-level radiation exposiu-e by convenfional chromosome aberrafion analysis. **Mutat Res.**, v.339, p.177-189,1995.

BEINKE, C.; BRASELMANN, H; MEINEKE, V. Establishment of an x-ray standard calibration curve by conventional dicentric analysis as prerequisite for accurate radiation dose assessment. **Health Physics**.98(2):261-268, 2010.1]

BENDER, N. M; GOOCH, P.C. Types and rates of X-ray induced chromosome aberrations in human blood irradiated *in vitro*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 48:522-32, 1962.

BIRAL, A. R. **Radiações ionizantes para médicos, físicos e leigos**. Florianópolis: Insular; 2002.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, IAEA. **Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment**. Technical Report Series n° 405, Vienna, Austria. 2001.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies **Technical Report Series**, Vienna, 2011.

LEA, D.E.; CATCHESIDE, D.G. The mechanism of the induction by radiation of chromosome aberrations in *Tradescantia*. **J. Genet**, v.44, p.216-245, 1942.

LLOYD, D.; EDWARDS, A. A.; PROSSER, J. S. Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by in vitro acute X and gamma radiation. **Radiation Protection Dosimetry**, v. 15, n. 2, p. 83-88, 1986.

PAJIC, J. et al. Construction of dose response calibration curves for dicentrics andmicronuclei for X radiation in a Serbian populationJ. **Mutation Research**, Belgrade, n. 773, p.23-28, ago. 2014.

PRASANNA, P. G. S.; LOATS, H.; GERSTENBERG, H. M.; TORRES, B. N.; SHEHATA, C. W.; DUFFY, K. L.; FLOURA, R. S.; KHUSEN, A. W.; JACKSON, W. E.; BLAKELY, W. F. AFRRRI's gamma-ray, X-ray, and Fission-neutron calibration curves for the lymphocyte dicentric assay: Application of a metaphase finder system. **Armed Forces Radiobiology Research Institute**, pp. 17, 2002.

ROMM, H., OESTREICHER, U. E KULKA, U. Cytogenetic damage analysed by the dicentric assay. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità** . 45(3):251-259, 2009.

SCHRÖDER, H; HEIMERS, A. Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by in vitro and in vivo X-rays. **Mutation Research**, Bremen, n. 517, p.167-172, 2002.

SHEVCHENKO V, SNIGIRYOVA G & RUBANOVICH A. Estimation of absorbed doses on the basis of cytogenetic methods. **Report of an International Collaborative Work under the Research Grant of the Toyota Foundation**. Kyoto University 216–222, 1998.

SZLUINSKA, M.; EDWARDS, A. LLOYD, D. Presenting Statistical Uncertainty on Cytogenetic Dose Estimates. **Radiation Protection Dosimetry**. v. 123, p. 443-449, 2007.

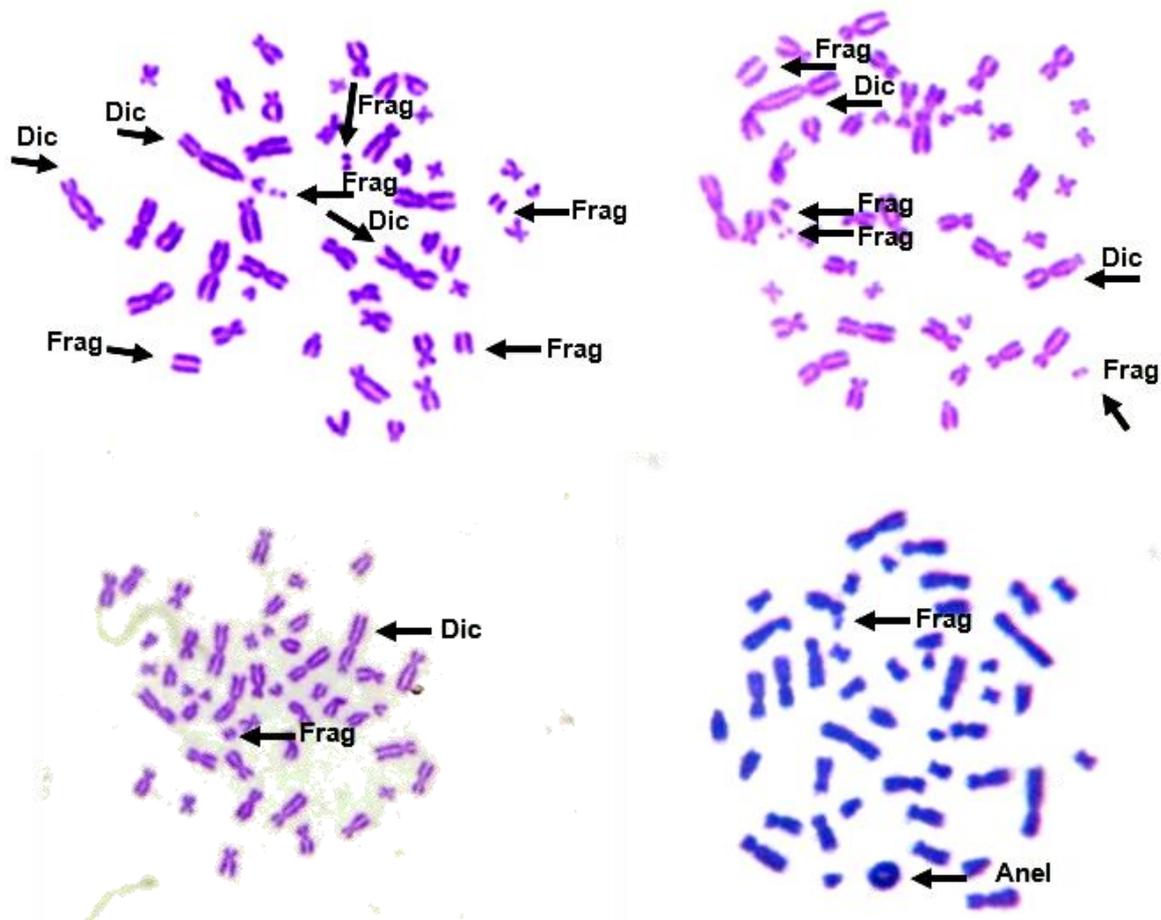
UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON THE EFFECTS OF ATOMIC RADIATION. **Sources, effects and risks of ionizing radiation**. New York, 2008.

4 RESULTADOS

4.1 Análise das alterações cromossômicas

Após a irradiação e cultivo das células sanguíneas irradiadas e não irradiadas, foram verificadas as frequências das alterações cromossômicas assim como suas distribuições intercelulares. O número total de metáfases analisadas neste trabalho foi de 9708, sendo 5004 para o grupo controle e 4704 para o grupo irradiado. Na figura 10 podem ser observadas algumas metáfases obtidas e as alterações cromossômicas contabilizadas.

Figura 12 - Imagens de metáfases obtidas e contabilizadas no decorrer deste trabalho



Anel – anel cromossômico; Dic – dicêntrico; Frag – fragmento acêntrico.
Fonte: A autora.

Os números totais de células e de alterações cromossômicas analisados nas amostras controles foram somados para determinar o *background*, com isso, o somatório passou a

representar a dose zero Gy. O número de alterações e as respectivas frequências estão dispostas na Tabela 2.

Tabela 2 - Frequências obtidas das diferentes alterações cromossômicas em relação à dose absorvida.

Dose(Gy)	Nº de células	Nº de Alterações			Frequências			
		Dic.	Frag	Anéis	Dic.	Frag.	Anéis	Dic +Anéis
0	5004	7	120	0	0,001	0,024	0,000	0,001
0,15	1030	4	30	0	0,004	0,029	0,000	0,004
0,25	1000	9	29	0	0,009	0,029	0,000	0,009
0,5	1000	36	151	0	0,036	0,151	0,000	0,036
1	1003	78	69	6	0,078	0,069	0,006	0,084
2	316	100	129	10	0,316	0,408	0,032	0,348
3	158	100	78	7	0,633	0,494	0,044	0,677
4	121	100	89	24	0,826	0,736	0,198	1,025
5	65	100	54	9	1,538	0,831	0,138	1,677

Fonte: A autora.

As frequências de dicêntricos e de fragmentos isolados da dose zero Gy apresentaram-se menores do que as respectivas frequências da menor dose absorvida analisada (0,15 Gy), enquanto que os anéis cromossômicos não foram encontrados.

As amostras irradiadas apresentaram, de maneira geral, frequências de dicêntricos que se elevaram com o aumento do valor da dose absorvida, já os fragmentos tiveram praticamente o mesmo comportamento, porém houve uma queda na frequência desse tipo de alteração na dose de 1 Gy, que se apresentou aproximadamente 2 vezes menor do que a frequência da dose de 0,5 Gy. Nas doses seguintes, contanto, voltou a se comportar proporcionalmente ao aumento da dose.

Os cromossomos em anel só foram observados a partir da dose absorvida de 1 Gy e também foi observado o aumento das frequências de anéis em relação à dose absorvida, exceto na dose 5,0 Gy. Contudo, ao somar o número de dicêntricos + anéis, a frequência desta dose 5,0 Gy seguiu a normalidade esperada: maior dose absorvida – maior frequência de alterações cromossômicas.

Na tabela 3 são observadas as distribuições intercelulares de dicêntricos; dicêntricos + anéis e de fragmentos isolados para cada valor de dose absorvida.

Tabela 3 - Distribuições intercelulares de dicêntricos, dicêntricos + anéis e de fragmentos isolados com suas respectivas frequências (médias), índices de dispersão e valores de u .

Dose (Gy)	Total de metáfases	Dic	Distribuição intercelular Dic									
			Y	0	1	2	3	4	5	σ^2/y	U	
0	5004	7	0,0014	4997	7						0,999	-0,065
0,15	1030	4	0,0039	1026	4						0,997	-0,076
0,25	1000	9	0,0090	991	9						0,992	-0,190
0,5	1000	36	0,0360	964	36						0,965	-0,794
1	1003	78	0,0778	926	76	1					0,949	-1,150
2	316	100	0,3160	224	85	6	1				0,866	-1,690
3	158	100	0,6329	91	45	14	6	1	1		1,340	2,990
4	121	100	0,8264	54	40	21	6				0,962	-0,300
5	65	100	1,5385	15	21	13	12	3	1		1,020	0,098

Dose (Gy)	Total de metáfases	Dic + anel	Distribuição intercelular Dic + Anel									
			Y	0	1	2	3	4	5	σ^2/y	U	
0	5004	7	0,0014	4997	7						0,999	-0,065
0,15	1030	4	0,0039	1026	4						0,997	-0,076
0,25	1000	9	0,0090	991	9						0,992	-0,190
0,5	1000	36	0,0360	964	36						0,965	-0,794
1	1003	84	0,0837	920	82	1					0,941	-1,330
2	316	110	0,0000	214	95	6	1				0,818	-2,229
3	158	107	0,6772	84	52	14	6	1	1		1,230	2,030
4	121	124	1,0248	33	59	22	7				0,674	-2,530
5	65	109	1,6769	6	30	13	12	3	1		0,747	-1,440

Dose (Gy)	Total de metáfases	Frag	Distribuição intercelular de Frag									
			Y	0	1	2	3	4	5	6	σ^2/y	u
0	5004	120	0,0240	4884	120						0,976	-1,190
0,15	1030	30	0,0291	1000	30						0,972	-0,650
0,25	1000	29	0,0290	971	29						0,972	-0,638
0,5	1000	151	0,1510	873	106	18	3				1,210	4,660
1	1003	69	0,0688	935	67	1					0,961	-0,876
2	316	129	0,4082	214	78	21	3				1,060	0,759
3	158	78	0,4937	105	35	12	5	1			1,360	3,220
4	121	89	0,7355	70	26	14	9	2			1,470	3,640
5	65	54	0,8308	38	13	7	4	1	1	1	2,050	6,010

(σ^2 - variância; y - média; σ^2/y - índice de dispersão).

Fonte: A autora.

Com o aumento das doses absorvidas foi observado a presença de células com mais de uma alteração cromossômica. Ao determinar o número dessas células, tornou possível o

cálculo do índice de dispersão (σ^2/y) e do valor de u de cada amostra. 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% (IAEA, 2011).

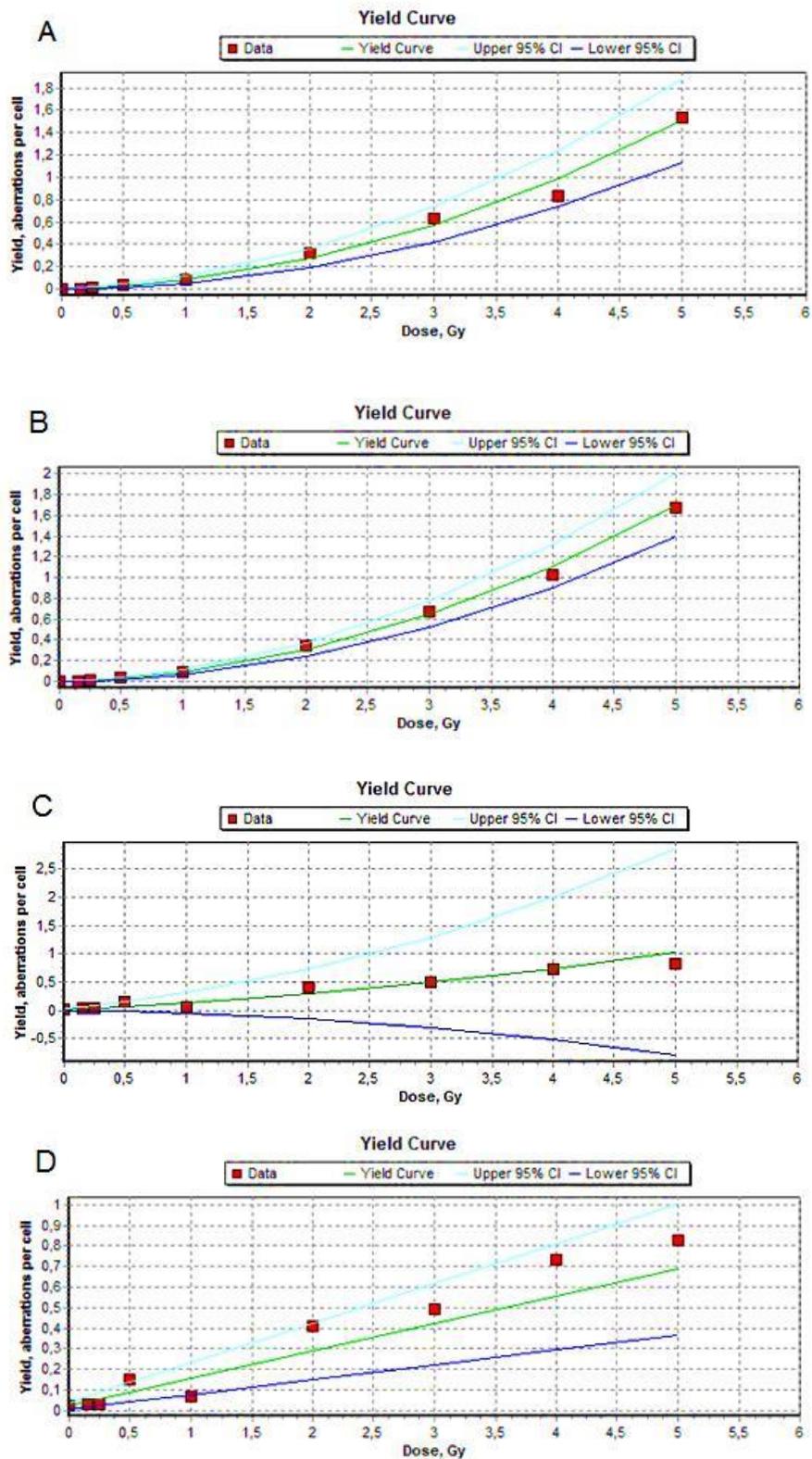
No estudo da distribuição intercelular de dicêntricos foi observada uma tendência a subdispersão desse tipo de alteração cromossômica, as variâncias não excederam as respectivas médias, a exceção ficou por conta das doses 3 Gy e 5 Gy que apresentaram o valor do índice de dispersão maior que um (valor da variância maior que a média), então, nessa amostra, os dicêntricos tiveram um comportamento de sobredispersão. Entretanto, para todas as doses absorvidas, os valores de u estavam dentro do intervalo esperado de $\pm 1,96$ no nível de confiança de 95%, logo, os valores obtidos de u não foram significativos, pois esses valores tenderam a valores próximos de zero. Entretanto, a dose 3 Gy apresentou sobredispersão significativa ($u > 1,96$).

Na distribuição de dicêntricos + anéis também foi observado o comportamento de subdispersão dessas alterações cromossômicas (Tabela 3), no entanto, a dose de 3 Gy continuou apresentando sobredispersão. Novamente, os valores de u apresentaram-se, em sua maioria, dentro do intervalo de $\pm 1,96$, porém as doses de 2 Gy e 4 Gy apresentaram uma subdispersão significativa, com valores de $u < -1,96$, e a amostra de 3 Gy apresentou sobredispersão significativa.

Analisando a distribuição dos fragmentos isolados, observa-se que não houve um comportamento com uma tendência específica. Pode-se perceber que apresentaram doses absorvidas com subdispersão (doses 0; 0,15; 0,25 e 1 Gy) e com sobredispersão (doses 0,5; 2; 3; 4 e 5 Gy). Os valores de u obtidos em cada dose absorvida apresentaram-se distantes de zero. As distribuições desse tipo de alteração cromossômica apresentaram o comportamento de sobredispersão significativo ($u > 1,96$) nas doses 0,5, 3, 4 e 5 Gy.

Com os valores de frequência e a distribuição das alterações nas células, foram construídas curvas de calibração dose-resposta para dicêntricos, dicêntricos somados a anéis e fragmentos isolados com o programa Dose Estimate (Figura 13) e cujos coeficientes encontram-se dispostos na Tabela 4.

Figura 13 - Curvas de calibração obtidas pelo programa Dose Estimate.



A) para dicêntricos, B) para dicêntricos + anéis por célula, C) para fragmentos isolados e D) curva linear para fragmentos isolados.

As curvas de calibração de dicêntricos e de dicêntricos + anéis tiveram bons ajustes , podendo ser visualizado pelas curvas médias que passam por quase todos os pontos observados (Figura 13). Na de calibração para fragmentos isolados todos os pontos passam pela curva média, com exceção do último, porém essa saída não apresenta significância.

Tabela 4 - Coeficientes das curvas de calibração com seus respectivos valores de desvio padrão, de X^2 e de valor de p obtidos pelo programa Dose Estimate.

Curvas de Calibração	C \pm DP	α (Gy^{-1}) \pm DP	β (Gy^{-2}) \pm DP	X^2	G L	Valor do p
Dicêntricos	0,0013 \pm 0,0007	0,0279 \pm 0,0096	0,0545 \pm 0,0057	10,36	6	0,7035
Dicêntricos + Anéis	0,0013 \pm 0,0006	0,0251 \pm 0,0081	0,0630 \pm 0,0045	7,43	6	0,7607
Fragmentos	0,0233 \pm 0,0093	0,0892 \pm 0,0558	0,0224 \pm 0,0256	125,6	6	0,0000
Fragmentos *	0,0214 \pm 0,0086	0,1331 \pm 0,0308	-	127,2	7	0,0000

*Curva ajustada para o modelo linear.

GL: grau de liberdade

Fonte: A autora.

Os coeficientes obtidos das curvas de dicêntricos + anéis diferem dos mesmos coeficientes das curvas de dicêntricos e foi observado a diminuição de aproximadamente 10% do valor do coeficiente α e o aumento de 16% do coeficiente β . Já o coeficiente C permaneceu com o mesmo valor ao contabilizar a presença de anéis nas células analisadas. Foram observados que nas curvas quadráticas de fragmentos isolados os valores dos coeficientes C e α diferem também dos coeficientes das curvas lineares.

O comportamento quadrático nas curvas de dicêntricos e dicêntricos+anéis que se visualiza através da figura 12 é confirmado por meio dos valores de X^2 calculados foram próximo aos valores de X^2 tabelados para o referido grau de liberdade ($p > 0,05$), onde para o GL= 6 fica em torno de 12,6. As curvas dose-resposta dos fragmentos isolados não foram bem ajustadas, pois os valores de X^2 foram muito elevados para os dois tipos de função. Os valores de p (Tabela 5) para todos os coeficientes α foram significativos ($p < 0,05$), com exceção da curva linear quadrática para fragmentos isolados que apresentou o $p=0,1613$ ($p > 0,05$).

Tabela 5 - Valores de p determinados pelo Dose Estimate para cada coeficiente C, α e β nas curvas de calibração das diferentes alterações cromossômicas.

Valor de P	C	A	B
Dicêntricos	p= 0,0987	p= 0,0269	p= 0,0001
Dicêntricos + Anéis	p= 0,0605	p= 0,0209	p= 0,0000
Fragmentos	p= 0,0458	p= 0,1613	p= 0,4143
Fragmentos*	p= 0,0422	p= 0,0035	

*Curva ajustada para o modelo linear.
Fonte: A autora.

Também foram estudadas as razões entre os coeficientes α/β que representa a dose absorvida na qual os componentes linear e quadrático contribuem igualmente (ou de forma igual) na formação dos dicêntricos, ou seja, mostra o grau de contribuição das interações únicas e/ou duplas na formação da alteração (COSKUN *et al.*, 2000; IAEA, 2011). As razões α/β para as curvas de dicêntricos e de dicêntricos + anéis tiveram os valores acima de 0,5 e as razões α/β da curva de fragmentos isolados ficou em um valor acima de 3 (Tabela 6).

Tabela 6 - Coeficientes obtidos pelo Dose Estimate e as razões α/β para cada alteração cromossômica analisada.

Curvas de calibração	α	β	Razão α/β
Dicêntricos	0,0279	0,0545	0,5119
Dicêntricos + Anéis	0,0251	0,0630	0,3984
Fragmentos	0,0892	0,0224	3,9821

Fonte: A autora.

5 DISCUSSÃO

A dosimetria biológica vem sendo utilizada desde 1962, onde desde então considera-se o dicêntrico como padrão ouro da técnica, passando a ser extensivamente utilizado para estimativa de dose absorvida em proteção radiológica (BENDER E GOOCH, 1962; ROMM *et al.* 2009; AGRAWALA *et al.*, 2010). Seguindo as recomendações da IAEA (2001), que

sugerem que cada laboratório tenha sua curva dose-resposta, procedeu-se à implementação de curvas para diferentes alterações cromossômicas instáveis.

Ainda levando em conta as determinações da IAEA, o valor das amostras controle, ou seja, aquelas que não passaram pelo processo de irradiação e que é considerado como o *background*, pode variar de 0,5-1 dicêntrico por 1000 células, entretanto é importante ressaltar que tais valores variam dentre as diversas macrorregiões do mundo a depender do *background* radioativo e genotóxico da região (IAEA, 2001). A frequência de cromossomos dicêntricos verificadas nas amostras controle deste trabalho (0,0014) são compatíveis com os valores encontrados por Barquinero et al. (1999), Schröder e Heimers (2002) e Pajic et al. (2014) (Tabela 7).

Tabela 7 - Frequência de dicêntricos do sangue controle (background) de diferentes autores.

Autores	Frequência de Dicêntricos (Background)
Este trabalho	0,0014
Pajic et al. (2014)	0,0008
Schröder e Heimers (2002)	0,0016
Barquinero et al. (1999),	0,00090

Fonte: A autora.

Segundo os dados da tabela 4, as frequências de dicêntricos observadas apresentaram, nas doses inferiores a 1 Gy, valores menores que a frequência dos fragmentos acêntricos e isso ocorre porque as doses absorvidas ainda são baixas para produzir uma quantidade de dicêntricos considerável. Quanto aos fragmentos, a variação em sua frequência se dá devido a não serem alterações específicas para radiação ionizante e, muitas vezes, tem sua origem indeterminada, aparecendo de forma independente da presença de dicêntricos e anéis, por ação de outros agentes que também tem a capacidade de induzir sua formação. Por conta disso, os fragmentos são mais utilizados associados a estas outras alterações cromossômicas (IAEA, 2011). De forma geral, os fragmentos foram aumentando com o aumento da dose absorvida, com exceção das doses de 0,25Gy e 1Gy.

Quanto aos anéis, apareceram em menor frequência que todas as outras alterações, porém seguiram aumentando com o aumento da dose, comportamento que pôde ser visualizado também com os dicêntricos. A questão da baixa frequência de cromossomos em anel se explica por serem bem mais raros do que os dicêntricos em linfócito humanos irradiados, correspondendo a aproximadamente 5-10% do valor destes (SHEVCHENKO *et*

al., 1998), e por este motivo alguns pesquisadores optam por utiliza-los somados aos dicêntricos, enquanto que outros optam por ignorá-los na estimativa de dose absorvida (IAEA, 2001; IAEA, 2011).

Em curvas de calibração produzidas *in vitro* utilizando raios X é comum observar que uma ou mais doses absorvidas apresentem o valor de u maior ou menor que o intervalo de $\pm 1,96$ (LLOYD *et al.*, 1986; BARQUINERO *et al.*, 1999; SCHRÖDER; HEIMERS, 2002). Porém, neste caso, se a curva apresentar uma boa faixa de doses absorvidas, o erro com essas dispersões significativas acaba sendo minimizado (LEE, 2011). Sendo assim, os resultados obtidos para dicêntricos e dicêntricos somados aos anéis seguem o modelo (distribuição de Poisson) esperado para exposição à radiação de baixa LET, pois as ionizações são distribuídas de forma aleatória no alvo (IAEA, 2011).

Os fragmentos isolados apresentaram sobredispersão significativa em 4 das 9 doses absorvidas, semelhantemente ao que ocorreu em Lloyd *et al.*, (1986), no qual ele utiliza raios x de 250 kVp, porém com taxa de dose absorvida mais elevada ($1 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$).

Para radiações de baixa LET como os raios X, a curva dose-resposta para dicêntricos é melhor ajustada ao o modelo linear-quadrático, por ser uma combinação de eventos causados por interações únicas e duplas, sendo o primeiro mais frequente em doses baixas e o último mais frequente em doses mais altas (IAEA, 2011).

Quando se analisam os valores da razão α/β determinados para as curvas de dicêntricos e dicêntricos + anéis (Tabela 5), todas as razões tiveram os valores abaixo de 0,51. Isso significa que com valores de doses absorvidas inferiores 0,51 Gy, as alterações cromossômicas seriam predominantemente formadas por interações únicas (induzindo duas quebras cromossômicas) e nas doses absorvida superiores a 0,5 Gy, as alterações foram produzidas predominantemente por duas interações independentes.

Levando-se em consideração os coeficientes (α e β) das curvas de calibração para dicêntrico e dicêntricos + anéis, observa-se que houve uma diminuição do valor do coeficiente α e um aumento do β quando são somados os cromossomos em anel. Este resultado é explicado pelo fato dos anéis serem mais frequentes nas doses mais elevadas, não contribuindo para o parâmetro linear, apenas para o parâmetro quadrático da curva (ANTUNES, 2012). Diferentemente do que ocorreu com Pajic (2014), onde houve um aumento dos dois coeficientes ao somar os anéis, entretanto, as diferenças entre os valores dos

coeficientes das duas curvas não foram significativas ($p>0,05$) tanto em Pajic (2014) como neste trabalho.

A curva de dicêntricos apresentou um bom ajuste ($p>0,05$) que pode ser verificado a partir do teste de homogeneidade de X^2 , pois os dados obtidos tiveram valor aproximado do que era esperado para 6 graus de liberdade a um nível de significância de 5%. O mesmo ocorreu com a curva de dicêntricos + anéis. Já os fragmentos isolados, apresentaram valores muito acima dos esperados tanto na curva linear quanto na quadrática, demonstrando que não obteve um bom ajuste.

Lloyd (1986), Prasanna (2002) e Pajic (2014) em estudo semelhante, obtiveram frequências de alterações cromossômicas instáveis em amostras de sangue periférico irradiadas também por Raios X de 250 kVp e obtiveram as frequências encontradas na Tabela 8.

Tabela 8 - Frequência de dicêntricos em diferentes trabalhos.

Frequência de Dicêntricos				
<i>Dose (Gy)</i>	<i>Lloyd (1986)</i>	<i>Prasanna (2002)</i>	<i>Pajic (2014)</i>	<i>Mendonça (2016)</i>
0,25 Gy	0,012 *	0,0383	0,0121*	0,0090
0,5 Gy	0,0315	0,0595	-	0,0360
1 Gy	0,0986	0,1342	0,1035	0,0777
2 Gy	0,364	0,3040	0,3017	0,3160
3 Gy	0,64**	0,4852	-	0,6329
4 Gy	1,2533	-	1,0857	0,8264
5 Gy	1,7443	-	-	1,5385

*dose corresponde a 0,2 Gy **dose corresponde a 2,9 Gy

OBS: As lacunas não preenchidas referem-se as doses não encontradas nos trabalhos dos autores.

Fonte: A autora.

Comparando as frequências, percebe-se uma predominância de valores menores entre o atual trabalho e os dos outros autores, ou seja, uma quantidade menor de dicêntricos encontrados. Esses resultados confirmam o fato de que em radiações ionizantes de baixa LET, como é o caso dos raios X, a taxa de dose é um dos principais fatores que determina as consequências biológicas de uma dose absorvida, pois, todos os trabalhos comparados foram realizados com taxas de dose de 1Gy/min, enquanto na presente pesquisa as amostras foram irradiadas à uma taxa de 0,275 Gy/min.

Quando a taxa de dose é baixa e o tempo de exposição é prolongado, o efeito biológico de uma dada dose pode ser reduzido, pois permite que ocorra o reparo do dano subletal durante a irradiação e que haja proliferação de células não danificadas. Se as duas lesões necessárias para induzir um dicêntrico são produzidas por trajetórias separadas e se a taxa de dose for baixa, existe a probabilidade que a lesão produzida pela 1ª trajetória seja reparada antes que o alvo seja atravessado pela 2ª trajetória (LEA, D.E. & CATCHESEDE, D.G., 1942; BAUCHINGER, M., 1995). Portanto, nas radiações de baixa LET quando a taxa de dose diminui, a frequência de dicêntricos também diminui por unidade de dose.

Em 1971, Brewen e Luippold realizaram um experimento, utilizando os raios X, que verificava a relação entre tempo e intensidade da radiação, submetendo amostras a uma mesma dose absorvida, porém utilizando tempos de exposição diferentes. Através desses testes foi visto que houve uma diminuição da frequência de alterações cromossômicas com a redução da taxa de dose absorvida. Esse e outros experimentos da literatura encontram-se detalhados na Tabela 9, onde se observam curvas de calibração dose-resposta construídas utilizando-se tanto a mesma energia de 250kVp quanto energias inferiores e superiores a isso.

Tabela 9 - Coeficientes das curvas de calibração dose-resposta para dicêntricos e dicêntricos+anéis relatadas na literatura para Raios X (Dic=dicêntrico, DP=desvio padrão)

Trabalhos	Fon- te	Faixa de Dose (Gy)	Taxa de Dose (Gy/m in)	Dic + Anel	C±DP	α (Gy ⁻¹)±DP	β (Gy ⁻²)±DP	α/β
Brewen & Luippold (1971)	250 kVp	0 – 4	Agudo (90min)	sim	0	0,0091±0,002	0,000006±0,0000007	0,50
Schmid (1984)	220 kVp	0,05 – 4	0,16	-	0,00037±0,0010	0,022±0,004	0,0436±0,0024	6,69
Lloyd et al. (1986)	250 kVp	0,05 – 5,05	1	não		0,0364±0,0053	0,0667±0,0022	0,60
Barquero 1997	180 kVp	0 – 5	0,2695	não	0,00095±0,0044	0,0343±0,0068	0,057±0,0042	0,51
Schorode	100 kV	0 – 2		sim	0,0005±0,0001	0,0355±0,0066	0,0701±0,00072	20,34

(2002)									
Prasanna (2002)	250 kVp	0 - 3,5	1			0,059±0,0136	0,0029±0,0046	1,18	
Crespo (2011)	300 kVp	0 - 4	0,964			0,0006717	0,000568	0,70	
Pajic et al. (2014)	250 kVp	0 - 4	1	sim		0,0421±0,0042	0,0602±0,0022	0,65	
Pajic et al. (2014)	250 kVp	0 - 4	1	não		0,0378±0,0043	0,0585±0,0017	0,51	
Mendonça et al. (2016)	250 kVp	0-5	0,275	Sim	0,0013±0,0006	0,0251±0,0081	0,0630±0,0045	0,3984	
Mendonça et al. (2016)	250 kVp	0-5	0,275	Não	0,0013±0,0007	0,0279±0,0096	0,0545±0,0057	0,5119	

Fonte: A autora.

Verifica-se, portanto, que os coeficientes das curvas destes trabalhos, em sua maioria, se assemelham ao presente estudo, com exceção da curva obtida por Crespo (2011), que usou uma energia mais elevada do que a usual, no valor de 300 kVp. Percebe-se ainda que nem todos utilizaram a análise dos anéis, justamente pelo fato já dito anteriormente: são alterações raras em linfócitos humanos e é de escolha de cada laboratório excluí-los ou somá-los aos dicêntricos.

As diferenças entre laboratórios existem e podem ser atribuídas a diversos fatores como a taxa de dose, o número de células analisadas, os critérios de leitura e a experiência dos operadores (BARQUINERO *et al.*, 1995; BEINKE *et al.*, 2010). Apesar dessas diferenças, a técnica de dosimetria citogenética para dicêntricos consegue mostrar precisão ao estimar a dose absorvida pelo organismo de um humano exposto.

6 CONCLUSÃO

- I. A frequência de dicêntricos para o sangue controle (não irradiado) se apresentou dentro do intervalo esperado.
- II. As alterações cromossômicas instáveis (dicêntricos, anéis e fragmentos) utilizadas neste trabalho apresentaram um aumento proporcional de suas frequências em detrimento do aumento da dose absorvida. Porém os cromossomos dicêntricos e os dicêntricos+anéis demonstraram a melhor relação dose- resposta.
- III. As distribuições intercelulares tanto dos dicêntricos quanto dos dicêntricos + anéis se comportaram de acordo com o modelo de distribuição de Poisson, enquanto a distribuição dos fragmentos acêntricos apresentaram tendência a uma sobredispersão significativa.
- IV. As curvas de calibração de dicêntricos e de dicêntricos + anéis poderão ser utilizadas na avaliação de dose absorvida nos casos de exposição à radiação.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K; LICHTMAN, A. H; PILLAIL, S. **Imunologia celular e molecular**. 6 ed. Massachusetts: Elsevier, 2008.
- ACHARYA, S. et al. The effect of electron and gamma irradiation on the induction of micronuclei in cytokinesis-blocked human blood lymphocytes. **Radiation Environmental Biophys**, Mangalore, v.48, p.197-203, 2009.
- ADREUCCI, R. **Proteção radiológica: aspectos industriais**. São Paulo: Abendi, 2013.
- ANVISA. Portaria 453/98, de 1 de junho de 1998. **Diretrizes básicas de proteção radiológica em radiodiagnóstico médico e odontológico**. [Brasília]: ANVISA, 1998. Disponível em: <http://www.conter.gov.br/uploads/legislativo/portaria_453.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2017.
- AGRAWALA, P.K.; ADHIKARI, J.S; CHAUDHURY, N. K. Lymphocyte chromosomal aberration assay in radiation biodosimetry. **Journal of Pharmacy and Bioallied Science**, Delhi, v. 2, n. 3, p. 197-201, 2010.
- AINSBURY, E. A.; LLOYD, D. C. Dose estimation software for radiation biodosimetry. **Health Physics**, England, v. 98, n. 2, p. 290-295, 2010.
- ALBERTS, B. In: **Biologia molecular da célula**. Tradução Ana Letícia Vanz, et al. 5ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1396 p.
- AMARAL, A. Trends in biological dosimetry: an overview. **Braslian Archives of Biology and Technology**, Recife, v. 45, p. 119-124, 2002.
- AMERICAN COLLEGE OF RADIOLOGY. **Standards for performance of adult chest radiography**. Reston (VA): ACR, 1993.
- AMORIM, L.C.A. Biomarkers for evaluating exposure to chemical agents presents in the environment. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 6, n. 2, 2003.
- ANTUNES, A. C. M. D. **Avaliação da lesão genética induzida por exposição a -radiação ionizante na população Portuguesa**. 2012. 50 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Genética Molecular e Biomedicina, Faculdade de Ciências e Tecnologia de Lisboa, Lisboa, 2012.
- ARENA, V. Ionizing radiation and life. **United States of America**. Saint Louis, 1971.
- AU, W.;BADARY, O. A.; HEO, M. Y. Cytogenetic assays for monitoring populations exposed to environmental mutagens. **Occup. Med**, Berlin-, v.16, n. 2 p. 345-357, 2001.
- BAGSHAW M Cosmic radiation in commercial aviation. **Travel Med Infect Dis**, London, v. 6, n.3, 2007.
- BARBOZA, C. B. Planejamento do Tratamento por Radioterapia Através de Métodos de Pontos Interiores. **Pesquisa Operacional**, São Paulo, v.26, n.1, p.1- 24, 2006.

BARNETT, G. C. et al. Normal tissue reactions to radiotherapy: towards tailoring treatment dose by genotype. **Nature**, Cambridge, v.9, p.134-142, 2009.

BARQUINERO, J.F. et al. Establishment and validation of a dose-effect curve for y-rays by cytogenetic analysis. **Mutat Res.**, Barcelona, v. 326, p.65-69, 1995.

BARQUINERO, J. F. *et al.* Comparison of X-ray dose-response curves obtained by chromosome painting using conventional and PAINT nomenclatures. **International Journal of Radiation Biology**, Barcelona, v. 75, n. 12, p.1557-1566, 1999.

BAUCHINGER, M. Quantification of low-level radiation exposure by conventional chromosome aberration analysis. **Mutat Res.**, Deutsch, v. 339, p. 177-189, 1995.

BAUTE, J.; DEPICKER, A. Base excision repair and its role in maintaining genome stability. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, Ghent, v. 43 n. 4, p. 239-276, 2008.

BEINKE, C.; BRASELMANN, H; MEINEKE, V. Establishment of an x-ray standard calibration curve by conventional dicentric analysis as prerequisite for accurate radiation dose assessment. **Health Physics**, Munich, v. 98, n. 2, p. 261-268, 2010.

BENDER, N. M; GOOCH, P.C. Types and rates of X-ray induced chromosome aberrations in human blood irradiated *in vitro*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Tennessee, v.48, n. 4, p. 522-32, 1962.

BENDINI, A.; TOSCHI, T. G.; LERCKER, G. Influence of irradiation and microwaves on the linear unsaturated hydrocarbon fraction in spices. **European food research and technology**, Bologna, v. 207, n. 3, p. 214-218, 1998.

BIRAL, A. R. **Radiações ionizantes para médicos, físicos e leigos**. Florianópolis: Insular, 2002.

BLAKELY, W.F; SALTER, C.A; PRASANNA, P.G. Early-Response Biological Dosimetry Recommended Countermeasure Enhancements for Mass-Casualty Radiological Incidents and Terrorism. **Health Physics**, New Orleans, v. 9, n. 5, p. 494-504, 2005.

BONIFÁCIO, Daniel Alexandre Baptista. **Validação do Geant4 para produção e detecção de Raios X na faixa de energia de radiodiagnóstico**. 2007. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

BUSHBERG, J. T, et al. **The essential physics of medical imaging**. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002.

BUSHONG, S. C. **Radiologic science for technologists: physics, biology and protection**. 6. ed. St. Louis: Mosby-Year Book, 1997.

BUSHONG, S. C. **Radiologic Science for Technologists: Physics, Biology, and Protection**. USA : Elsevier Mosby, 2004.

BURGENER, F. A, KORMANO M. **Differential Diagnosis in Conventional Radiology**. New York.2 ed. Thieme; 1991.

CASTRO, M. A. A. Evaluation of the use of x-ray equipment in dental offices in Belo Horizonte, Brazil. **Arq Odontol**, Belo Horizonte, v. 49, n. 4, p.191-197, dez. 2013.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR (CNEN). Norma CNEN NN 3.01 – **Diretrizes Básicas de Proteção Radiológica. Diário Oficial da União**. Brasília, DF: CNEN, 2014.

COSKUN, M. T. A; ORTA T. Biological dosimetry following X-ray irradiation. **Turk J Med Sci**, Istanbul, v. 30, p. 563-569, 2000.

COSTA, P. R. **Laboratório de Física Moderna**. Interação da Radiação γ com a Matéria, DFN, São Paulo, 2011.

COX, M, M.; DOUDNA, J. A.; O'DONNELL, M. **Biologia molecular: princípios e técnicas**. Porto Alegre: Artmed, 2012.

CRAVIOTTO, R. M. et al. Description of pure seed fraction of oat through usual evaluations and radiographic images. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Santa Fé, v. 37, n. 08, p. 1183-1188, 2002.

DI GIORGIO, M. et al. Biological dosimetry intercomparison exercise: an evaluation of triage and routine mode results by robust methods. **Radiation Research**, Buenos Aires, v. 175, p. 638-649, 2011

D'IPPOLITO, G.; MEDEIROS, R. B. Exames radiológicos na gestação. **Radio Bras**, São Paulo, v. 38, n. 6, p.447-450 2005.

ESTEVES, M. P. G. C. S. **Irradiação de Especiarias: Métodos de Detecção do Tratamento e Estudo das Alterações em que se Baseiam**. 1997.67 f. Tese (Doutorado) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 1997.

FERNANDES, T. S. **Emprego das aberrações cromossômicas instáveis e micronúcleo no biomonitoramento individual: estudo comparativo**. 2005. 69 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Energética e Nuclear) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

FERREIRA, Elaine Barros. **Intervenções tópicas para prevenção da radiodermatite aguda em pacientes com câncer de cabeça e pescoço: revisão sistemática e metanálise**. 2015. 158 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem)- Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

FILOMENO, L. T. B. **Sobre a ocorrência de câncer em radiologia**. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), 2009.

FRANKEL, R. I. Centennial of Röntgen's Discovery of X-rays. **West J Med**, Honolulu v. 164, p. 497-501, 1996.

GIL, F. R. N. **Influência de polimorfismos em genes de reparação do DNA na frequência de anomalias cromossômicas radioinduzidas**. 2008. 36 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular e Genética) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2008.

GIOVANETTI, A; SGURA; AVERSA, G. **How to measure the absorbed dose in different scenarios**. Italian: Italian National Agency for New Technologies, 2012.

GOSSELIN, T.K. *et al.* Cancer Nursing: Principles and Practice. In: DEELEY, Thomas. **Principles of Radiation Therapy**. 7. ed. Massachusetts: Jones & Bartlett, p. 249-266, 2011.

HADJIDEKOVA, V. *et al.* The use of the dicentric assay for biological dosimetry for radiation accidents in Bulgaria. **Health Physics**, Virginia, v. 98, n. 2, p. 252-257, 2010.

HALL EJ, GIACCIA AJ. **Radiobiology for the radiologist**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

HEGI, M. E, et al. gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. **New England Journal of Medicine**, Lausanne, v. 352, p. 997–1003, 2005.

HENRIQUES, L. M. S. **Caracterização de objeto simulador antropomórfico de tórax para medidas de dose em feixes de radiologia**. 2012. 71 f. Dissertação (Mestrado do Curso de Física) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, 2012. Disponível em: <<http://200.17.141.35/npgfi/documentos/dissertacoes/LaisM.pdf>>. Acesso em: 16 dez. 2016.

HOEIJMAKERS, J. H. J. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. **Nature**, Rotterdam, v. 411, p. 366–374, 2001.

HOOFFBRAND, A.V.; MOSS, P.A.H. e PETTIT, J.E. **Fundamentos em Hematologia**. 5. ed. São Paulo: Artmed, 2008.

INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL PROTECTION PUBLICATION. **Remmendations of International Commission on Radiological Protection**: of the ICRP 21. Oxford: ICRPP, 1991.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, **Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment**: Technical Report Series. Vienna: IAEA, 2001.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Cytogenetic dosimetry**: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna: IAEA, 2011.

INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 24, 336 p, 1996.

IWASAKI, T. *et al.* The Dose Response of Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes Induced In Vitro by Very Low-Dose x-Rays. **Radiation Research**. Tokyo, v. 175, n. 2, p. 208-213, 2011.

JAGIRDAR, K. *et al.* The NR4A2 Nuclear Receptor Is Recruited to Novel Nuclear Foci in Response to UV Irradiation and Participates in Nucleotide Excision Repair. **Plos One**, Brisbane, v. 8,n. 11, p. 1-14, 2013.

JOHNS, H. E; CUNNINGHAM, J. R. **The Physics of Radiology**. 4 Ed. Springfield: Health physic, 1983.

KASSABIAN, M. **Röntgen rays and electro -therapeutics, with chapters on radium and phototherapy**. Philadelphia; London: J.B. Lippincott, 1907

KATZ, D. S; MATH, K. R; STUART, A. **Segredos em radiologia**: respostas necessárias ao dia-a-dia em rounds, na clínica, em exames orais e escritos. Porto Alegre: Artmed, 2000.

KHANNA, K. K.; JACKSON, S. P. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. **Nature Genetics**, Queensland, v. 27, p. 247–254, 2001.

KIM, H. Estimation of absorbed organ doses and effective dose based on body mass index in digital radiography. **Radiation Protection Dosimetry**, Seoul, v. 153, n. 1, p. 92, 2013.

KIMURA, A. Radiation associated leukemia and myelodysplastic syndrome. **Japanese journal of clinical medicine**. Nihon Rinsho, v. 70, n. 3, p. 431 – 435, 2012.

KNOLL, G. F. **Radiation Detection and Measurement**. 2. ed. New York: Ed. John Wiley & Sons, 1989.

LEA, D. E.; CATCHESIDE, D.G. The mechanism of the induction by radiation of chromosome aberrations in *Tradescantia*. **J. Genet**, Cambridge, v.44, n. 2, p.216-245, 1942.

LEE, J. K; et al .Persistence of micronuclei in lymphocytes of cancer patients after radiotherapy. **Radiation Research**, Greenville, v. 157, n. 6, p. 678-684, 2002.

LÉONARD, A, et al. Usefulness and limits of biological dosimetry based on cytogenetic methods. **Radiation Protection Dosimetry**, Brussels, v. 115, n. 1–4, p. 448–454, 2005.

LLOYD, D.; EDWARDS, A. A.; PROSSER, J. S. Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by in vitro acute X and gamma radiation. **Radiation Protection Dosimetry**, Didcot, v. 15, n. 2, p. 83-88, 1986.

MAFFEI, F. et al. Spectrum of chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of hospital workers occupationally exposed to low doses of ionizing radiation. **Mutation Research**, Bologna, v. 547, p. 91-99, 2004.

MATSUBARA, M.G.S.; DENARDI, U.A. Cuidados com radiodermite. **Enfermagem em radioterapia**: Atlas e Texto. São Paulo: Lemar, 2008.

MARTINS, V., ANTUNES, A.C E MONTEIRO GIL, O. Implementation of a dose-response curve for radiation in the Portuguese population using the chromosomal aberration assay. **Mutation Research**, Bobadela, v. 750, p. 50-54, 2013.

MOREIRA, J. V. de A. **Radiobiologia**: efeito das radiações ionizantes na célula – e formas de protecção das radiações ionizantes. 2011. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2011.

NATARAJAN, A.T, et al. The type and yield of ionizing radiation induced chromosomal aberrations depend on the efficiency of different DSB repair pathways in mammalian cells. **Mutation Research**, Viterbo, v. 642, n. 1-2, p. 80-85, 2008.

NOVAILHETAS, Y. **Apostila educativa**: radiações ionizantes e a vida. Botafogo:CNEN, 2013.

OH, K. N. et al. Screening of gamma irradiated spices in Korea by using a microbiological method (DEFT/APC). **Food Control**, Lausanne, v.14, p. 489–494, 2003.

OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Utilização do teste de raios-x na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert). **Revista Brasileira de Sementes**, Curitiba, v. 25, n. 01, p. 116-120, 2003.

OKUNO, E.; YOSHIMURA, E. M. **Física das radiações**. São Paulo: Oficina de Textos, 2010.

OKUNO, E. Efeitos biológicos das radiações ionizantes: acidente radiológico de Goiânia. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 27, n. 77, p. 185 - 199, 2013.

OMAYE, S. T. **Food and Nutritional Toxicology**. New York: CRC Press LLC, 2004.

PEREIRA, P. S. **Cálculos do espectro de raios x e do equivalente de dose ambiente no interior de uma sala de um acelerador linear de elétrons de uso industrial**. 2013. 88 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

PEREIRA, Alexandre Marcelo. **A física das radiações em sala de aula: do projeto à prática**. 2014. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ensino de Física, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

PINTO, M. M. P. L.; SANTOS, N. F. G.; AMARAL, A. Current status of biodosimetry based on standard cytogenetic methods. **Radiation Environmental Biophysics**, Recife, v. 49, n. 4, p. 567-581, 2010.

PISCO, J. M. **Imagiologia Básica: Texto e Atlas**. Lisboa: Ed. Lidel, 2003.

PODGORSAK; E.B. **A Handbook for Teachers and Students**. Viena: IAEA, 2003.

PODGORSAK, E.B. *et al.* **Radiation oncology physics: a handbook for teachers and students**. Vienna: IAEA, 2005.

POPANDA, O. et al. Genetic variation in normal tissue toxicity induced by ionizing radiation. **Mutat. Res.**, Heidelberg, v.667, p.58-69, 2008.

PRASANNA, P. G. S. et al. AFRRI's gamma-ray, X-ray, and Fission-neutron calibration curves for the lymphocyte dicentric assay: Application of a metaphase finder system. **Armed Forces Radiobiology Research Institute**, Bethesda, special publication, p. 1-30, 2002.

PRESTON, D. L. et al. Studies of mortality of atomic bomb survivors. Report 13: Solid cancer and noncancer disease mortality: 1950–1997. **Radiat Res**, Hiroshima, v. 160, p. 381–407, 2003.

QIAN, B. et al. Association of genetic polymorphisms in DNA repair pathway genes with non-small cell lung cancer risk. **Lung Cancer**, Tianjin, v. 73, p. 138 – 146, 2011.

- QIU, Z.K. et al. Enhanced MGMT expression contributes to temozolomide resistance in glioma stem-like cells. **Chinese Journal of Cancer**, Guangdang, v. 33, n. 2, p. 115-122, 2013.
- RAMIRES, A. M. **Análise dos acidentes radiológicos no contexto organizacional das empresas de radiografia industrial**. 2000. 144 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.
- RAPAPORT, S. I. **Introdução à Hematologia**. 2 ed. São Paulo: Roca, 1990.
- RODRIGUES, A.S. et al. Use of cytogenetic indicators in radiobiology. **Radiation Protection Dosimetry**, Lisbon, v. 115, n.1-4, p. 455-460, 2005.
- RODRIGUES, G. O. **Avaliação das doses de radiação em radiografias do tórax**. 2011. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Medicina, Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
- ROY, L. et al. International intercomparison for criticality Dosimetry: the case of biological dosimetry. **Radiation Protection Dosimetry**, Laurence, v. 110, n. 1-4, p. 471-476, 2004.
- SANKARANARAYANAN, K. Estimation of the genetic risks of exposure to ionizing Radiation in humans: current status and emerging perspectives. **Journal Radiation Research**. Tokyo, v.47, Supl. B, p. B57-66, 2006.
- SANTOS, A. F. et al. Determinação da dose de radiação gama para reduzir a população de salmonella spp em carne de frango. **Ciencia Tecnol Alime**, Campinas, v.23, p. 200-205, 2003.
- SCHABERLE, F. A.; DA SILVA, N. C. **Introdução à Física da Radioterapia**. 2. ed. Santa Catarina: FSC, 2016.
- SHEVCHENKO, V.; SNIGIRYOVA, G.; RUBANOVICH, A. Estimation of absorbed doses on the basis of cytogenetic methods. In: **REPORT of an International Collaborative Work under the Research Grant of the Toyota Foundation**. Kyoto: Kyoto University, 1998. p. 216-222.
- SCHRÖDER, H; HEIMERS, A. Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by in vitro and in vivo X-rays. **Mutation Research**, Bremen, n. 517, p.167-172, 2002.
- SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, Uppsala, v. 39, p. 458- 468, 1953.
- SOARES, F. A. P. **Produção de raios x em ampola radiográficas: estudo do tomógrafo computadorizado do hospital regional de São José/SC**. 2006. 102 f. Tese (Doutorado) - Curso de Física, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
- SOUZA, L. A. de *et al.* Use the X-ray in the evaluation of the quality seeds of *Platypodium elegans* Vog. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 39, n. 2, p.343-347, jun. 2008.
- STEWART, B. W.; KLEIHUES, P. Radiotherapy. In: (Eds.). **World Cancer Report**. Lyon: IARC; WHO, 2003. p. 277-280.

STONE, H. B. et al. Effects of radiation on normal tissue: consequences and mechanisms. **The Lancet: Oncology**, Bethesda, v. 4, p.529-536, set. 2003.

SZLUINSKA, M.; EDWARDS, A; LLOYD, D. Presenting Statistical Uncertainty on Cytogenetic Dose Estimates. **Radiation Protection Dosimetry**, Didcot v. 123, p. 443-449, 2007.

TAUHATA, L. *et al.* **Radioproteção e Dosimetria: Fundamentos**. Rio de Janeiro: Instituto de Radioproteção e Dosimetria, 1999.

THOMPSON, M. *et al.* **Genética Médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

TURNER, J. E. **Atoms, Radiation and Radiation Protection**. 2. ed. Weinhein: Wiley, 2007.

TWARDELLA, D.; CHANG-CLAUDE, J. Studies on Radiosensitivity from an epidemiological point of view –overview of Methods and Results. **Radiotherapy and Oncology**, Heidelberg, v.62, p.249-260, 2002.

UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON THE EFFECTS OF ATOMIC RADIATION. **Sources, effects and risks of ionizing radiation**. New York: UNSCEAR, 2008.

VAN GENT, D. C.; HOEIJMAKERS, J. H. J.; KANAAR, R. Chromosomal stability and the DNA doublestranded break connection. **Nature Reviews Genetics**, Rotterdam, v. 2, p. 196–206, 2001.

VELUDO, Patrícia Carvalho. **Efeitos da radiação X e níveis de exposição em exames imagiológicos**: inquéritos a clínicos gerais. 2011. 65 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Curso de Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2011.

JACKSON, S. R. Sensing and repairing DNA double-strand breaks. **Carcinogenesis**, Cambridge, v. 23, n. 5, p. 687-96, 2002.

VIGNA FILHO, E. D; FALCÃO, R. C. **Blindagem em Radioterapia: Técnicas e Normas**. Rio de Janeiro: INCA, 2000.

VOISIN, P.; ROY, L.; BENDERITTER, M. Why can't we find a better biological indicator of dose? **Radiation Protection Dosimetry**, Laurence, v. 112, n. 4, p. 465-469, 2004.

VON, S. C. DNA lesions induced by ionizing radiation. In: OBE, G. **Chromosomal Alterations: Methods, Results and Importance in Human Health**. Berlin: Springer-Verlag, 2007. p. 21-38.

WALLER, E. et al. Overview of hazard assessment and emergency planning software of use to RN first responders. **Health Phys**, Oshawa, v. 97, n. 2, p. 145-156, 2009.

WONG, K. F. et al. Cytogenetic biodosimetry: what it is and how we do it. **Hong Kong Medical Journal**, Jordan, v. 19, p. 168-173, 2013.

WOOD, R.D. et al. Human DNA repair genes. **Science**, South Mimms, v. 291, p. 1284–1289, 2001.

XAVIER, A. M. et al. Marcos da história da radioatividade e tendências atuais. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 1, n. 30, p.83-91, 2007.

XAVIER, A. M. et al. **Princípios Básicos de Segurança e Proteção Radiológica**. 3. ed. [Porto Alegre]: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Comissão Nacional de Energia Nuclear, 2010.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001.

ZHOU, B. B.; ELLEDGE, S. J. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. **Nature**, Pennsylvania, v. 408, p. 433–439, 2000.

ZHOU, Y.; PAULL, T. T. DNA-dependent Protein Kinase regulates DNA end resection in concert with Mre11-Rad50-Nbs1 (MRN) and Ataxia-Telangiectasia-Mutated (ATM). **The Journal of Biological Chemistry**, Texas, v. 288, n. 52, p. 112-125, 2013.

ANEXO A - AUTORIZAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Implementação do Serviço de Dosimetria Biológica no Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste - CRCN-NE/CNEN

Pesquisador: Fabiana Farias de Lima Guimarães

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 00186813.7.0000.5208

Instituição Proponente: COMISSAO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR

Patrocinador Principal: COMISSAO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 280.483

Data da Relatoria: 08/05/2013

Apresentação do Projeto:

O documento intitulado "Implementação do Serviço de Dosimetria Biológica no Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste - CRCN-NE/CNEN" trata-se de projeto de pesquisa da Dra. Fabiana Farias de Lima Guimarães - CRCN-NE/CNEN

O uso das radiações ionizantes vem crescendo no país, haja vista a implantação de centros de produção de radiofármaco, serviços de radioterapia em pleno funcionamento, uso de fontes de radiação ionizante em irradiador de grande porte, serviços de prospecção de petróleo, serviços de radiografia industrial, entre outras atividades. Com isso, o número de indivíduos ocupacionalmente expostos às radiações na Região Nordeste irá aumentar e, como vários acidentes têm sido reportados pela Agência Internacional de Energia Atômica AIEA - nas diversas áreas de aplicação das radiações ionizantes, uma avaliação rápida e precisa da estimativa de dose recebida pelo indivíduo exposto excessivamente, é de grande importância para a equipe médica. Contribuindo, desta forma, na escolha de qual estratégia mais eficiente no tratamento. Esse projeto possibilitará que haja o primeiro laboratório de pesquisa do Nordeste, bem como o primeiro serviço de dosimetria biológica para gama e nêutrons do Brasil, evitando, em caso de necessidade, que o indivíduo supostamente exposto precise recorrer ao serviço existente na Região Sudeste, e tenha gastos relacionados a esse deslocamento. Da mesma forma, o projeto

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br