



Universidade Federal do Pará
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós Graduação em Neurociências e Biologia Celular

LUIZ RAIMUNDO CAMPOS DA SILVA E CUNHA JR

ANÁLISE CITOGENÉTICA DE PROFISSIONAIS DE
SERVIÇOS DE RADIOLOGIA CLÍNICA EXPOSTOS À
RADIAÇÃO IONIZANTE NA CIDADE DE BELÉM, PARÁ,
BRASIL

Belém – Pará
2011

I

LUIZ RAIMUNDO CAMPOS DA SILVA E CUNHA JÚNIOR

ANÁLISE CITOGENÉTICA DE PROFISSIONAIS DE
SERVIÇOS DE RADIOLOGIA CLÍNICA EXPOSTOS À
RADIAÇÃO IONIZANTE NA CIDADE DE BELÉM, PARÁ,
BRASIL

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Neurociência e Biologia Celular, área de concentração em Biologia Celular da Universidade Federal do Pará.

Orientador: Professor Dr. Rommel Mario Rodriguez Burbano

BELÉM – 2011

II

LUIZ RAIMUNDO CAMPOS DA SILVA E CUNHA JÚNIOR

ANÁLISE CITOGENÉTICA DE PROFISSIONAIS DE
SERVIÇOS DE RADIOLOGIA CLÍNICA EXPOSTOS À
RADIAÇÃO IONIZANTE NA CIDADE DE BELÉM, PARÁ,
BRASIL

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Neurociência e Biologia Celular, área de concentração em Biologia Celular da Universidade Federal do Pará.

Orientador: Professor Dr. Rommel Mario Rodriguez Burbano

Aprovado em: __ / __ / __

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. André Salim Khayat – Instituto de ciências biológicas (ICB) / UFPA

Professor Dr. Marcelo de Oliveira Bahia – Instituto de ciências biológicas (ICB) / UFPA

Professor Dr. Carlos Alberto Machado da Rocha (suplente) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA)

" Os verdadeiros analfabetos
são os que aprenderam a ler e
não lêem"
(Mário Quintana)

IV

Agradecimentos

Ao laboratório de Citogenética Humana, em principal, na pessoa do Dr. Rommel Burbano. Um dia, espero ser igual a ele.

Aos meus pais, Luiz Raimundo Campos da Silva e Cunha e Dilma Lira de Souza e Cunha. Estes que tenho a honra de carregar o nome e ser chamado de filho. Por toda paciência que sei muito bem hoje, que tiveram que ter e ainda precisam recorrer a ela de vez em quando ainda hoje.

Ao meus amigos do Laboratório. Aos presentes, Tio Plínio, Adriana, André, Marcelo, Diego, Gal, Camila, Aline, Nay, Thaissa, Priscila, Fernando, Carlos Rocha, Amanda, Regiane, Bruno, Helen, Dani, Gabriga e Tati. Todos, colaboraram de uma forma ou de outra, mesmo que seja me ensinando a ter mais paciência e humildade. E aos ausentes, Ary, Joao Marcelo e Leomar.

Aos mestres, que em minha formação, deram grandes e pequenos exemplo de como ser um bom e um mau professor.

Aos amigos eternos do Yvon Costa. Cada um de nos seguiu m rumo diferente, mas em nenhum momento deixamos de nos chamar de amigos e agora, que nossos filhos (futuros no meu caso), continuem esse laço de amizade e respeito.

Aos meus colegas técnicos em radiologia, em especial aos amigos do Barros Barreto, que deram seu sangue (literalmente) por este trabalho. Valeu Sleiman!

A Deus, que sempre está presente em minha vida, mesmo que eu não saiba quando ou o quanto.

RESUMO

Agentes genotóxicos, químicos, físicos (p. ex. raios-x) ou biológicos podem induzir danos genéticos por exposição acidental, ocupacional ou ambiental. Estes agentes podem interferir no correto desenvolvimento celular conferindo grande risco ao desenvolvimento da carcinogênese. Apesar da atuação dos sistema de reparo, muitos danos causados por estes agentes podem levar à formação de aberrações cromossômicas (AC). As aberrações induzidas podem ser: [i] estáveis (referem-se a pequenos danos, translocações recíprocas e algumas aneuploidias, que não impedem a divisão e proliferação celular) e [ii] não-estáveis (referem-se a cromossomos dicêntricos e em anel, grandes deleções e fragmentos). Os últimos, normalmente, são letais à célula. Profissionais que trabalham manuseando aparelhos que produzem radiação X, como ampolas de raios-x, tomógrafos e cintilógrafos pertencem ao grupo de trabalhadores que se expõem à radiação ionizante diariamente. Colheu-se 10 ml de sangue periférico de cada indivíduo por punção venosa utilizando agulhas e seringas descartáveis previamente heparinizadas com Liquemine (Lab. Roche 5.000 UI/ml). Após a coleta, transferiu-se o sangue para tubos de ensaio estéreis, que foram mantidos em repouso por algumas horas à temperatura ambiente, para a sedimentação das hemácias e separação do plasma. Foi realizada a análise de linfócitos do sangue periférico, através de técnicas de cultura temporária de linfócito, segundo Moorhead et al. de 20 trabalhadores (4 mulheres e 16 homens) que lidam com radiação ionizante diariamente, com pelo menos 2 anos de experiência profissional, com intuito de investigar a presença de aberrações cromossômicas nestas células, fazendo uso desta ferramenta citogenética para avaliar e elucidar as consequências da convivência profissional com índices considerados baixos de radiação ionizante. A frequência de AC avaliada no grupo de trabalhadores foi maior que no grupo controle ($P = 0,008$ e $P=0,001$, respectivamente). Estes resultados sugerem uma avaliação mais profunda no impacto da saúde destes trabalhadores, utilizando de ferramentas moleculares mais específicas, bem como a conscientização dos mesmos para um cotidiano de proteção radiológica mais eficiente.

Palavras chave: Radiação Ionizante, Aberrações Cromossômicas, Mutagênese, Biomonitoramento.

VI

Índice

| | |
|---|----|
| 1. Introdução | 1 |
| 1.1 considerações gerais | 1 |
| 1.2 Radiação Ionizante | 2 |
| 1.3 Doses de Radiação | 7 |
| 1.4 Danos celulares Relacionados aos Raios -X | 9 |
| 1.5 Trabalhadores/Pacientes Expostos | 10 |
| 1.6 Monitoramento Biológico | 17 |
| 2. Objetivos | 22 |
| 2.1 objetivo Geral | 22 |
| 2.2 Objetivos Específicos | 22 |
| 3. Materiais e Métodos | 23 |
| 3.1 Indivíduos | 23 |
| 3.2 Amostras | 23 |
| 3.3 Obtenção do sangue | 24 |
| 3.4 Técnica de cultura temporaria de Linfócitos | 24 |
| 3.5 Análise Estatística | 26 |
| 4. Resultados | 27 |
| 5. Discussão | 29 |
| 6. Referências Bibliográficas | 32 |

VII

Índice de Figuras, Quadros e Tabelas

Figura 1: Wilhelm Conrad Roentgen e a primeira ampola de raios-x

Figura 2: Primeira imagem impressa de uma estrutura interna do corpo humano

Figura 3: Rifle de caça radiografado por Roentgen

Figura 4: Primeira radiografia odontológica

Figura 5: Dosímetro individual usado por técnicos em radiologia para monitoramento

Quadro 1: Limites de dose recomendada pela ICRP

Quadro 2: Classificação dos efeitos das radiações ionizantes e suas possíveis conseqüências.

Tabela 1: Indivíduos selecionados para pesquisa

Tabela 2: valores de frequência de células aberrantes em controle e indivíduos expostos

Tabela 3: comparação de indivíduos com período de trabalho igual ou superior a 10 anos.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

Profissionais que trabalham manipulando aparelhos que produzem radiação X, como ampolas de raios-x, tomógrafos e cintilógrafos, pertencem ao grupo de trabalhadores que se expõem à radiação ionizante diariamente (BERRINTON *et al.*, 2001).

As radiações ionizantes são conhecidas por induzir mutações e transformações celulares, causando predominantemente quebras em dupla fita e fita simples de DNA e, desse modo, podendo levar à instabilidade cromossômica e carcinogênese (MAFFEI F. *et al.*, 2004).

Estudos citogenéticos realizados em indivíduos profissionalmente expostos à radiação ionizante demonstram uma alta frequência de Aberrações Cromossômicas (AC), tais como cromossomos dicêntricos, anéis e acêntricos em linfócitos de sangue periférico de pessoas que manuseiam máquinas que utilizem de raios-x reportado por Jha e Sarma (1991) e Kasuba *et al.* (1998) (GADHIA, 2004).

Apesar da implementação de regras de otimização para proteção destes trabalhadores ser uma cultura importante em seu cotidiano (VERMEERSCH, 2005), nos últimos anos, pesquisas comprovam que pacientes submetidos a exames simples e, juntamente com trabalhadores da área da radiologia, demonstraram altos níveis de radiação absorvida, proveniente de exames comuns de raios-X (BRENNAN, 2004).

A utilização de biomarcadores na prevenção química e efeitos radio-induzidos, providenciam um indicador de risco associado à exposição de radiação ionizante (RODRIGUES *et al.*, 2005), com a vantagem desta técnica de monitoramento ter acesso

direto ao trabalhador, diferente da dose medida fisicamente por aparelhos de acompanhamento individual. (BALAM and ALBORES, 2010)

1.2 Radiação Ionizante

Qualquer discussão a respeito dos efeitos da radiação ionizante prescinde de uma clara compreensão sobre o que é a radiação ionizante e como esta é medida (dosimetria) (D'IPPOLITO *et al.*, 2005)

Um átomo encontra-se em equilíbrio quando os seus componentes (elétrons e seus núcleons) se encontram em orbitais estacionários. Se partículas ou ondas eletromagnéticas forem lançadas contra ele, sob certas condições físicas, elas poderão colidir com alguns de seus elétrons ou com o seu núcleo (TAUHATA, 2002).

Devido à disposição geométrica, ao número, à carga e ao movimento, a probabilidade de colisão com os elétrons é muitas vezes superior à probabilidade de colisão com o núcleo. No choque, a radiação transfere parcial ou totalmente a sua energia que, se for superior à energia de ligação, provocará uma ionização, ou seja, a quebra das ligações que atribuem ao átomo sua estabilidade (TAUHATA, 2002).

A radiação ionizante é definida como ondas eletromagnéticas 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, como a radiólise da água, intracelulares (D'IPOLITO, *et al.*2005).

Dentre as radiações ionizantes, o raio-x é destacado por sua aplicação médica generalizada na população humana, com intuito de diagnóstico e terapia. (MARTINOUE al., 2011).

Hoje, a aplicação dos raios-X vai muito além do mencionado diagnóstico médico e odontológico, passando pela esterilização de instrumentos médicos,

sanitização de esgotos, estudos arqueológicos, em obras de arte, aplicações agronômicas, recursos hídricos, produção de energia elétrica, indústria, portos, aeroportos e fronteiras, e na conservação de alimentos (CICT/FIOCRUZ, 2006).

Na atualidade, cerca de 30% das radiações ionizantes conhecidas são produzidas artificialmente e, desta porcentagem, 86% é utilizado como radiodiagnóstico (CICT/FIOCRUZ, 2006).

Os raios-x foram descobertos em Novembro de 1895, pelo pesquisador alemão Wilhelm Conrad Roentgen que desenvolveu a primeira máquina produtora raios-x (figura 1.) através de uma adaptação da ampola de Crookes. Esta descoberta foi o marco inicial para a radiologia (IPEN, 2002).

Quando descobertos, os raios-X foram rapidamente seguidos pelo uso entusiasmado de radiação ionizante, especialmente para propostas médicas. Um ano depois, outro marco na história das aplicações das radiações ionizantes na vida humana apareceu quando o físico Henri Becquerel descobriu os “raios urânicos” (AMARAL, 2005).

Figura 1: Wilhelm Conrad Roentgen e a primeira ampola de raios-x (IPEN, 2002)



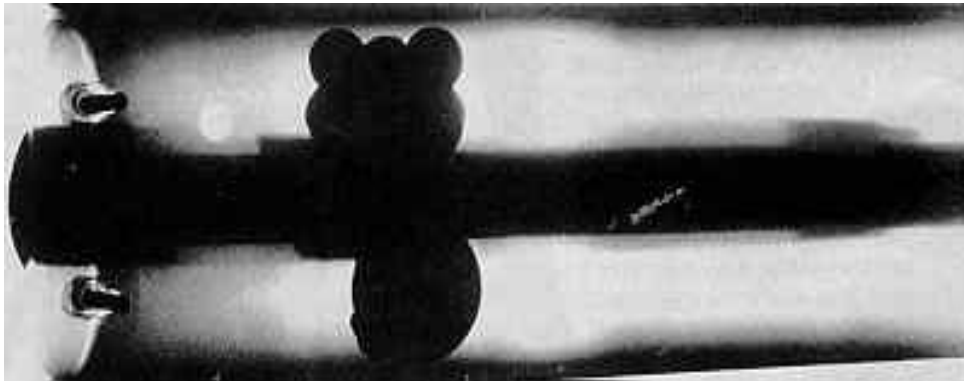
A primeira estrutura radiografada por Roentgen foi da mão de sua esposa, com um tempo de exposição de aproximadamente 15 minutos. Ele observou após o processamento fotográfico a imagem da mão, revelando a sombra dos ossos e do anel que ela usava (Figura 2) (MARTINS, 2005).

Figura 2: Primeira imagem impressa de uma estrutura interna do corpo humano, (MARTINS, 2005).



Além da estrutura humana, Roentgen teve a curiosidade de radiografar objetos pessoais, como sua arma de caça (Figura 3.), demonstrando uma pequena fissura no cano da mesma, dando início também à radiologia industrial (MARTINS, 2005).

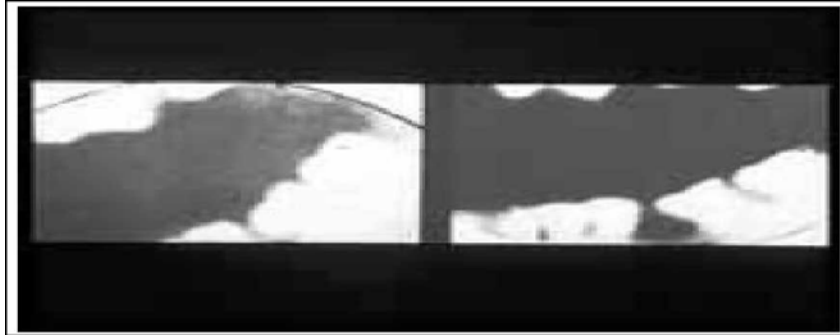
Figura 3: Rifle de caça radiografado por Roentgen (MARTINS, 2005).



Alguns anos após terem sido inventados, os aparelhos de raios-x já eram utilizados em hospitais e junto aos campos de batalha para auxiliar na retirada de fragmentos de metal em ferimentos causados por balas e granadas (TAUHATA, L; IRD/CNEN, 2002).

A primeira radiografia dentária da História foi obtida pelo Dr, Otto Walkoff, um dentista de Braunschweig, Alemanha. Usando um filme fotográfico com 25 minutos de exposição aos desconhecidos raios para obter imagens dos molares do próprio Walkoff (figura 4). A imagem obtida marcou o nascimento da Imaginologia Odontológica (MARTINS, W. D.; 2005).

Figura 4: Primeira radiografia odontológica (MARTINS D. W., 2005)



O desconhecimento prematuro a respeito da radiação X e suas conseqüências resultaram em inesperados e numerosos danos a trabalhadores, pacientes e cientistas e, como resultado, o primeiro caso de câncer associado à radiação utilizada pelos raios-x foi publicado em 1902, juntamente com a apresentação da primeira dose limite considerada segura para utilização desta fonte de radiação ionizante (WILLIAM, 1995).

É válido salientar que pessoas registradas na sociedade radiológica inglesa antes de 1921, quando ainda havia apenas ensaios sobre recomendações de proteção radiológica publicados, tiveram um risco significativamente aumentado de morrer de câncer (BERRINGTON, *et al.*, 2001).

Apesar de todos os apontamentos, um comitê para a normatização de uma dose considerada segura para a utilização dos raios-x só veio a ocorrer em na década de 30 do século passado (mais precisamente em 1932), com a criação do Comitê Americano Aconselhador de Proteção em Raios-x e Rádio (U.S. Advisory Committee on X-ray and Radium Protection) (WILLIAM, 1995).

1.3 Doses de Radiação-X

Com o objetivo de se medir a energia depositada por um feixe de fótons de alta energia (raios X ou raios gama) em um tecido biológico e os seus efeitos sobre este

tecido, foi criada a grandeza “dose absorvida”. A dose absorvida de radiação é a energia depositada por quilograma de tecido e é expressa em “rad” (“radiation absorbed dose”, ou dose de radiação absorvida). Pelo sistema internacional de medidas utiliza-se a unidade “gray” (Gy), que equivale a 100 rad (D’IPPOLITO *et al.*, 2005).

Ao se mencionar uma determinada quantidade de rad em um feixe de raios-X, por exemplo, isto não significa que toda essa energia atingirá o corpo alvo; trata-se apenas da energia transportada pela radiação.

Os efeitos biológicos não dependem apenas da dose de radiação absorvida (Gy), mas também das características da radiação ionizante e da sua capacidade de produzir íons e dissipar energia em sua trajetória no meio ou tecido (SARTORI *et al.*, 2008).

Estimativas de excessos de risco associadas com exposição à Radiação Ionizante são geralmente apresentadas em termos de risco relativo excessivo e risco absoluto excessivo por Gy (SADETZKI and MANDELZWEIG, 2009).

Por esta razão foi proposta, para o uso clínico de exames radiológicos, a grandeza “dose equivalente”, usando-se a unidade “rem” (“roentgen equivalent man”, ou equivalente em roentgen no homem), que leva em consideração a qualidade da radiação e como a energia se transfere ao tecido. Para as radiações eletromagnéticas X ou gama, 1 rem equivale a 1 rad (D’IPPOLITO *et al.*, 2005).

No sistema internacional de medidas, a unidade de dose equivalente foi denominada “sievert” (Sv) e 1 Sv equivale a 100 rem, assim como 1 Gy equivale a 100 rad, conseqüentemente a dose absorvida de 1 Gy proporcionará uma dose equivalente de 1 Sv (D’IPPOLITO *et al.*, 2005).

Na dosimetria das radiações utilizam-se freqüentemente os submúltiplos mili (m) e micro (μ) para indicar valores que correspondem a 0,001 Gy (1 mGy) e 0,000001 Gy (1 μ Gy) (NCRP, 2001).

Doses maiores do que 100 mSv por ano estão relacionadas com a presença de anéis dicêntricos e anéis cromossômicos (PAZ-Y-MIÑO, 1995). No entanto, a relação da cinética das aberrações cromossômicas e suas implicações não estão bem estabelecidas com as doses de exposição (BALAKRISHNAN, *et al.* 1999).

Existem algumas evidências de aumento de risco de câncer associado a exposições na ordem de 10 mGy, assim como o risco de mortalidade e morbidade de todos os cânceres sólidos combinados em uma dose proporcional de radiação de 100 mGy (ICRP, 2004).

Hoje em dia existe um consenso, apoiado pela Comissão Internacional de Proteção Radiológica (International Comition of Radiologic Protecction, ICRP) a respeito dos limites de dose recomendados a trabalhadores expostos profissionalmente à radiação e ao público em geral, mostrado no quadro 1:

| | Para Trabalhador | Para Público |
|--------------------------------|--|---------------|
| Dose Equivalente | 100 mSv em 5 anos Máximo 50 mSv por ano | 1 mSv por ano |
| DOSE EQUIVALENTE ANUAL | | |
| Cristalino dos Olhos | 50 mSv | 15 mSv |
| Pele – 100 cm ² | 500 mSv | 50 mSv |
| Mãos | 500 mSv | 50 mSv |
| Dose equivalente média no feto | 5 mSv após o diagnóstico | |

Quadro 1: Limites de dose recomendada pela ICRP (VENNART, J. 1990)

Os níveis de exposição à radiação ionizante em hospitais diminuí nas recentes décadas e agora se encontram abaixo do nível de 20 mSv por ano. Contudo, o uso das radiações em alguns setores como Medicina Nuclear, e procedimentos intervencionistas, podem expor pessoas a altas doses (ZAKERI e TOMOHISA, 2008)

1.4. Danos Celulares Relacionadas aos Raios-x

Em 1927, Hermann J. Muller demonstrou pela primeira vez que os raios-x podem induzir mutações como fator externo. Muller demonstrou que o tratamento com raios-x aumentou acentuadamente a frequência de mutações ligadas ao cromossomo X em *D. melanogaster*. (SNUSTAD & SIMONS, 2001).

Chama-se mutação a mudança no material genético, bem como os mecanismos pelo qual esta mudança ocorre. A mutação pode ocorrer em qualquer estágio do desenvolvimento e em qualquer célula (ALBERTS, 2004).

Os efeitos imediatos, quando existentes, das mutações e suas habilidades em produzir uma mudança fenotípica são determinados pelo tipo de célula em que ela ocorre e pela época em que ocorre durante o ciclo de vida do organismo atingido (YATAGAI, 2002).

As mutações espontâneas são as que ocorrem sem uma causa conhecida. Elas podem ser verdadeiramente espontâneas, resultantes de erros metabólicos inerentes ao organismo ou induzidas, sendo estas causadas por agente ambientais (SNUSTAD & SIMONS, 2001).

As mutações induzidas são resultantes da exposição de organismos a agentes físicos e/ou químicos que causam mudanças na estrutura da célula ou até mesmo do DNA. Tais agentes são chamados mutágenos, e incluem as radiações ionizantes, a luz ultra-violeta e uma ampla variedade de substâncias químicas (ALBERT, 2004).

Radiações ionizantes podem produzir quebras e rearranjos cromossômicos (HANDE *et al.*, 2005), que podem ser classificados quanto a sua estrutura (deleções, duplicações, em anel ou inversões) de acordo com a dose ou período em que a célula for irradiada (MONTORO, 2005).

As mutações induzidas por radiação ionizante podem ser classificadas de acordo com o tempo de manifestação (efeito agudo ou tardio), o tipo de célula mutada (efeito

hereditário ou somático) e a quantidade de energia depositada (efeito estocástico e determinístico) (REISSLAND, 1981).

Cada uma das mutações citadas acima pode induzir a diferentes conseqüências, citadas no **quadro 2**.

| EFEITO | POSSÍVEL CONSEQUÊNCIA |
|----------------|----------------------------------|
| Agudo | Eritema, síndrome aguda |
| Tardio | Câncer |
| Hereditário | Mutações hereditárias |
| Somático | Câncer, catarata |
| Estocástico | Câncer |
| Determinístico | Eritema, catarata |

Quadro 2: Classificação dos efeitos das radiações ionizantes e suas possíveis conseqüências (FREIRE-MAIA, 1972).

Os tipos de mutações dependem também do estágio em que o ciclo celular se encontra. Irradiações em G0 e G1 produzirão trocas de ambas cromátides de um cromossomo (NATARAJAN e KESAVAN, 2005).

Há células mais sensíveis às radiações do que outras. Os espermatozóides quando irradiados com a mesma dose fornecida a espermatogônias e oócitos apresentam maior capacidade de reparação do material genético danificado (WACHSMANN F., 1987).

No caso de lesão no núcleo da célula, a radiação ionizante pode induzir a uma variedade de lesões no DNA, incluindo danos entre bases, DNA-DNA, proteínas-DNA, bem como ligações fita simples e dupla (RODRIGUES *et al.*, 2005), que, conseqüentemente, produzirão aberrações cromossômicas por conseqüência do mal reparo da quebra de dupla fita do DNA (HANDE *et al.*, 2005).

Dentre as lesões citadas, a quebra de dupla fita é considerada crítica entre as lesões deletérias causadas por efeitos das radiações podendo levar à carcinogênese.

Dados dos sobreviventes de Hiroshima e Nagasaki e outras populações expostas mostram um longo período de latência, na faixa de 5 anos para leucemia e até 40 anos para alguns tumores. O risco depende da idade, sendo maior para crianças com menos de 10 anos e idosos. (THOMPSON & THOMPSON, 2002)

Estudos que avaliaram trabalhadores profissionalmente expostos à radiação ionizante no seu cotidiano relacionam também mutações mitocondriais (CRAIG, 2006), relações destes profissionais com melanomas (CHRISTOPHER e BATES, 2005), aumento dos níveis de células T (CHIH-MING LIN, 2004), além de cenescência prematura (TYLDESLEY *et al.*, 2000).

Áreas com alto índice de radiação ambiental também têm sido alvo de estudos, mostrando o impacto da convivência de populações humanas em ambientes irradiados naturalmente como o solo (J. POHL-RÜLING, P. *et al.*, 1983, S. WANG-WUU *et al.*, 2003). Constatou-se também que células hematopoiéticas expostas à radiação resultam em mielossupressão (SHULTE, 2006), assim como um aumento na produção de espécies de oxigênio reativo em uma variedade de células (SUN *et al.*, 1998).

Linhagens de células de tumores sólidos lesionadas por radiação ionizante estabilizaram temporariamente a proteína TP53, causando um acúmulo no núcleo celular e ativando o fator de transcrição (MIRZAYANS *et al.*, 2005).

Evidentemente, o sistema de reparo celular deve ser atuante em tais eventos. Das milhares de alterações aleatórias geradas a cada dia no DNA de uma célula humana pelo calor, acidentes metabólicos, radiações e vários tipos de exposições a substâncias ambientais, apenas alguma se acumulam como mutações na seqüência de DNA (ALBERTS, *et al.* 2004). Numerosos estudos demonstram a indução de resistência celular à exposição a baixas doses de radiação ionizante (GADHIA, 1998).

A maior parte do conhecimento na indução da cinética de reparo de quebra de dupla fita provém de estudos *in vivo* de sistemas de cultura de célula. Contudo, os danos, a sinalização e resposta de reparo a quebra de dupla fita em micro ambiente de tecidos são amplamente desconhecidos (YANRONG SU *et al.*, 2006).

Apesar da resposta celular do sistema de reparo ser altamente precisa, ela tem limites, havendo a necessidade de um monitoramento para danos celulares em indivíduos expostos à radiação em seu cotidiano de trabalho (BRANDT, *et al.*, 2003).

Fazendo um exame em uma pequena parte deste campo, o desenvolvimento de técnicas de quantificação de danos e reparo ao DNA, indicam contribuições importantes feitas por radiobiologistas (OLIVE, 2007).

Aberrações instáveis (dicêntricas, acêntricas e anéis) e estáveis (translocações) são as duas maiores classes de aberrações cromossômicas induzidas pela irradiação de células em G0 e G1 (HANDE *et al.*, 2005).

Existem muitos exemplos de aberrações cromossômicas detectadas em pacientes sob tratamento que utilizem radiação ionizante havendo evidências que associam os profissionais que convivem com este tipo de radiação diariamente a alterações citogenéticas e aumento da taxa de câncer (RODRIGUES *et al.*, 2005, MONTORO, 2005).

Evidências mais conclusivas da associação de aberrações cromossômicas e câncer provêm de estudos de populações. Um aumento no risco de incidência de câncer foi observado em indivíduos classificados como tendo uma alta frequência de aberrações cromossômicas em populações Nórdicas (HAGMAR *et al.*, 1998), em populações na Itália (BONASSIE *et al.*, 1995) e Taiwan (LIOU *et al.*, 1995).

1.5. Trabalhadores/Pacientes expostos

Os efeitos das radiações ionizantes, incluindo os Raios-x, em humanos, é conhecido há tempos. Mudanças hematológicas (leucopenia, linfocitopenia) têm sido documentadas em estudos em animais. A radiosensibilidade de vários subgrupos de linfócitos também tem sido mostrada em humanos (CHIH-MING LI, 2004).

No entanto, tais efeitos, geralmente, estão relacionados a exposições agudas em prazo curto de tempo, muitas das vezes provocados por acidentes em instalações que utilizam este tipo de energia, ou até mesmo exposições urbanas descontroladas (GARAJ-VRHOVAC *et al.*, 2003). Existe atualmente um alto grau de interesse nos efeitos danosos provocados por radiações quanto nos dias de hoje (GILIES, 1987).

Uma das maiores razões para este interesse provém dos acidentes ocorridos em instituições que utilizam de radiação ionizante de forma cotidiana.

Um acidente radioativo é uma exposição não intencional à radiação ionizante ou contaminante radioativo. Um acidente radioativo pode ocorrer em qualquer lugar e resultar no envolvimento de doses individuais. Existem modelos atualmente que discutem o registro prévio de pessoas envolvidas com radiação tanto para o público em geral de lugares expostos a radiação (como usinas nucleares) bem como os técnicos responsáveis por este setor específico (CHEN J. *et al*, 2010).

Desde 1961, até 1996, foram registrados 24 acidentes radioativos envolvendo indústrias, clínicas e hospitais que utilizem radiação ionizante (IPEN, 2001), com destaque ao acidente ocorrido em Goiânia no Brasil em 1987 e Chernobyl na Ucrânia, em 1986 e recentemente em Fukushima no Japão.

Acidentes podem irradiar o corpo inteiro, parcialmente ou de forma localizada no caso de exposição radioativa. A contaminação, pode ocorrer de forma externa (superfície) ou interna (inalação, ingestão, absorção da pele ou ferimentos) (IPEN,2001). No caso de radiação externa, a severidade dos danos depende da dose absorvida, da taxa de dose e do tipo de radiação (IPEN, 2001).

Estudos citogenéticos *in vivo* foram realizados em pessoas expostas acidentalmente à radiação em Chernobyl (SCHEVCHEKNO, 1996), Goiânia – Brasil (NATARAJAN *et al.*, 1991) e Zagreb na Croácia, (MILKOVIC *et al.*, 1992). Todos demonstraram níveis elevados de aberrações cromossômicas.

Em Goiânia, no Brasil, estudos realizados sobre os efeitos das radiações ionizantes em indivíduos expostos a Césio-137, em 1987, dez anos após o acidente, utilizando métodos de Hibridização Fluorescente *in situ* (FISH) revelaram translocações recíprocas e não recíprocas, não demonstradas com marcadores simples como Giemsa (CAMPAROTO *et al.*, 2003).

A taxa de idade foi estudada em 306 trabalhadores da usina atômica de Chernobyl depois do acidente acontecido em 1986. Uma acelerada taxa de idade foi encontrada em 81% dos homens e em 77% das mulheres se comparados com controles (POLYKHOV, A. M. *et al.*, 2000).

Investigações realizadas pelo Centro de Pesquisa e Medicina para Radiação da Ucrânia em indivíduos que trabalharam na usina depois do acidente demonstraram que metade da população estudada sofria de mais de uma doença, e que 92% delas demonstraram um aumento de doenças somáticas pré-existentes ou em um subgrupo de novas doenças ocorridas (NIAGU e LOGANOVSKII, 1997).

O desenvolvimento de técnicas citogenéticas, em resposta à convivência à radiação ionizante em cromossomos humanos, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, precisa ser estudado de forma mais precisa (GADHIA, 2004), uma vez que os efeitos relacionados a doses pequenas não pode ser visto imediatamente (PAZ-Y-MIÑO C., 1995).

Estudos *in vitro* em linfócitos humanos expostos a diferentes tipos de radiação mostraram que a frequência de aberrações induzidas é a mesma que as expostas *in vitro* e *in vivo* (EVANS, 1983). Hande e Natarajan também demonstraram, através de modelos de ratos e linfócitos humanos, *in vivo* e *in vitro*, a persistência de aberrações

cromossômicas, como translocações, produzidas pela exposição à radiação, depois de um longo período de exposição (HANDE *et al.*, 1996; HANDE e NATARAJAN, 1998).

Atualmente, vários métodos são utilizados na detecção de efeitos biológicos prematuros causados por agentes ambientais em grupos ocupacionais. Aberrações cromossômicas instáveis em linfócitos de sangue periférico são os indicadores biológicos mais usados na exposição à radiação ambiental (IEA, 1986; CARRANO e NATARAJAN, 1988). E exposições ao Césio Radioativo (CAMPARO *et al.*, 2005).

A estimativa de dose absorvida no acidente ocorrido em Goiânia, Brasil, 1987, foi feita utilizando dosimetria biológica (NATARAJAN *et al.*, 1998). Existem muitos métodos de dosimetria capazes de medir quebras em duplas fitas e fita única no DNA com uma boa sensibilidade (OLIVE, 2007).

Estas metodologias normalmente complementam dados obtidos por dosimetria física. Como regra geral, a dosimetria física mostra uma exposição em que a radiação não penetre acima dos limites considerados seguros. Uma das vantagens da dosimetria citogenética é de que dosímetros biológicos podem ser acessados a qualquer momento, enquanto que o dosímetro físico não está presente sempre aos indivíduos (RAMALHO *et al.*, 1998).

Por essa razão, é apropriado, para estudos de populações que tenham recebido tais exposições, avaliarem os riscos potenciais produzidos diretamente através de um monitoramento mais sensível e preciso (BERRINGTON, 2001).

Aberrações cromossômicas são freqüentes em populações expostas a baixos níveis de radiação ionizante durante um período prolongado, como trabalhadores de hospitais que manuseiam tal energia (GARAJ-VRHOVAC *et al.*, 2003), dentre as quais a troca de cromátides irmãs, deleções cromossômicas e trocas discêntricas, podem ser observadas através da cultura *in vitro* de linfócitos periféricos, técnica facilmente

adaptável a laboratórios bem equipados. (GADHIA *et al.*, 2004). A frequência de translocações tem atraído grande atenção neste campo (NATARAJAN *et al.*, 1998).

No entanto, aberrações dicêntricas são eliminadas dos linfócitos de sangue periférico, existindo uma tendência de diminuição destas aberrações nos eventos pós irradiação (MONTORO *et al.*, 2005).

1.6 Monitoramento Biológico

A otimização da proteção para trabalhadores expostos à radiação é um importante passo para uma cultura de segurança (VERMEERSCH, 2005).

O primeiro método empregado para correlacionar os parâmetros biológicos humanos com doses absorvidas foi baseado na informação de intensidade, frequência e duração de alguns sintomas observados após a super exposição à radiação (IAEA e WHO, 2000).

É do conhecimento de todos os trabalhadores que manuseiam radiação ionizante diariamente a necessidade de portar um dosímetro (figura 4), (aparelho medidor de radiação absorvida individualmente). Em geral, a dose absorvida pode ser diretamente determinada por dosímetros físicos, ou indiretamente por modelos numéricos (AMARAL *et al.*, 2008)

Os níveis de detecção para os filmes utilizados por estes aparelhos individuais de dosimetria variam de acordo com as práticas dosimétricas e propriedade da radiação detectada, variando de 0,1 a 0,4 mSv (DANIELS, *et al.*, 2006).

Vale ressaltar que os trabalhadores que fizeram parte dessa pesquisa encontram-se na faixa considerada segura de 0,4 mSv, de acordo com a dosimetria fornecida pelos próprios.



Figura 5: Dosímetro individual usado por técnicos em radiologia para monitoramento. (arquivo pessoal).

No Brasil, a Portaria 453 de Junho de 1998, estabelece a obrigação de uso deste material de forma precisa e individual.

O biomonitoramento citogenético para trabalhadores da área da radiologia médica, usando células somáticas, tem sido proposto como ferramenta útil na demonstração de possíveis efeitos genotóxicos a exposições consideradas perigosas (MAFFEI, 2004).

A análise de aberrações cromossômicas em linfócitos periféricos usando marcador Giemsa convencional tem-se mostrado como um ensaio satisfatório na detecção de efeitos genéticos de exposição à radiação ionizante (MAFFEI F. *et al.*, 2004).

A frequência de aberrações cromossômicas em linfócitos de sangue periférico humano, medida com técnicas convencionais de citogenética em células metafásicas, tem sido usada há décadas como ferramenta para monitoramento de agentes carcinogênicos ocupacionais e ambientais (ROSSNER *et al.*, 2005).

Quase todos os estudos realizados em trabalhadores profissionalmente expostos à radiação ionizante têm demonstrado uma frequência alta de aberrações cromossômicas (CARDOSO *et al.*, 2001). No entanto, por muitos anos, as trocas cromossômicas, incluindo translocações, considerava-se o envolvimento de exatamente dois cromossomos. Recentemente, evidências indicam aberrações complexas, envolvendo duas ou mais quebras em três ou mais cromossomos (TCUKER, 2008).

A análise de dicêntricos é considerada como um importante componente de investigação para radiologistas expostos (MONTORO *et al.*, 2005). Células com grande número de dicêntricos e fragmentos subseqüentes são descritos em achados de estudos de aberrações cromossômicas em indivíduos profissionalmente expostos a radiação ionizante (ROZGAJ *et al.*, 2002).

Contudo, análise dicêntrica pode não ser um parâmetro adequado no caso de exposições crônicas, pelo fato destas aberrações serem instáveis com o tempo e terem um uso limitado para exposições a doses passadas (CAMPAROTO *et al.*, 2003).

Estudos de ensaio de cometa permitem a avaliação de danos ao DNA induzidos por radiação, sendo sensível, rápido e seguro, sendo satisfatório para células provenientes de vários tecidos, mesmo não proliferativas, sendo um bom indicador para monitoramento de células expostas à radiação ionizante (AMENDOLA *et al.*, 2006).

O DNA mitocondrial também pode servir como um biomarcador útil pela tendência da célula em acumular mutações mitocondriais, sendo este DNA susceptível a danos genotóxicos produzidos por radiações ionizantes (CRAIG *et al.*, 2006).

Os estudos de micronúcleos têm apresentado contradições em relação ao biomonitoramento de profissionais expostos à radiação. (VRAL *et al.*, 2011)

Segundo Amaral e colaboradores em 2008, o escore de micronúcleo pode ser mais sensível e rápido do que o estudo para aberrações cromossômicas. No entanto, Amendola e colaboradores, 2006, o considera como um ensaio altamente variado e

dependente de fatores confusos como gênero, idade, dieta e exposição a componentes tóxicos. Foram realizados estudos para validação de análise de translocações por hibridização de fluorescência *in situ* (FISH), como um método para estimativa de doses observadas (CAMPARTO *et al.*, 2003).

Considerando o importante aspecto de que esta técnica é capaz de mostrar o envolvimento de cromossomos específicos a serem analisados, uma vez que a literatura descrita venha a evidenciar que certos cromossomos estão mais envolvidos em trocas cromossômicas que outros (SCARPATO *et al.*, 2000).

O biomonitoramento através de estudo citogenéticos e moleculares pode servir de referência ao conhecimento do impacto desta energia na vida e no bem estar de trabalhadores profissionalmente expostos a baixas doses de radiação ionizante em seu dia a dia. Tendo como referência controles de pessoas de mesma idade, a estimativa da frequência destas aberrações traria à luz formas de melhoras no condicionamento profissional e na proteção necessária a este grupo de trabalhadores (RIBEIRO *et al.*, 2008)

A legislação Brasileira vigente estabelece uma quantidade de 24 horas semanais de trabalho para técnicos em Radiologia, com um período de aposentadoria de 25 anos. As férias destes profissionais não têm ainda uma correspondência específica nesta Legislação.

Trabalhadores da indústria nuclear e da área da saúde que utilizam material radioativo, além de pessoas expostas acidentalmente à radiação têm a necessidade de biomonitoramento para medir seu nível de exposição. A análise de aberrações cromossômicas é a média convencional para avaliar a exposição à radiação (ALBORES, 2010). Um estudo sugere que a o ensaio de reação em cadeia de polimerase (PCR) pode ser usado usado para identificar biomarcadores sensíveis a radiação, incluindo a expressão de genes alvo a mutações de DNA (BLAKELY, *et al.*, 2001)

Estudos mais precisos sobre a resposta humana a agentes genotóxicos requerem métodos sensíveis capazes de avaliar a dose-resposta da exposição em ambientes ocupacionais (ALBORES, 2010)

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Utilizar de estudos citogenéticos como uma ferramenta de monitoramento a indivíduos expostos profissionalmente a baixos níveis radiação ionizante como uma indicativa de saúde e bem estar conscientizando estes trabalhadores da necessidade de segurança no seu cotidiano.

2.2 Objetivo Específico

Investigar a provável frequência de aberrações cromossômicas em linfócitos de sangue periférico em indivíduos expostos à radiação ionizante em clínicas e hospitais de Belém, Pará, Brasil.

Utilizar os dados gerados nestas análises como possíveis biomarcadores de risco de saúde, assim como a construção de um possível banco de dados para comparações futuras para o caso de exposições agudas acidentais.

3 Materiais e Métodos

3.1 Indivíduos

Este estudo selecionou 20 indivíduos expostos profissionalmente à radiação ionizante em clínicas e hospitais da cidade de Belém, Pará Brasil, com uma idade mínima de 18 anos e um tempo de exposição mínimo de dois anos, não tabagistas, não etilistas, sem histórico de doenças genéticas na família, com uma carga horária semanal de 24 horas de trabalho para cada um.

O grupo controle constou de indivíduos saudáveis, com idades semelhantes aos indivíduos estudados, não tabagistas e não etilistas, sem histórico de doenças genéticas na família, que não foram expostos a qualquer tipo de radiação ionizante em pelo menos um ano até a coleta de material (sangue periférico) para análise.

3.2 Amostras

As amostras de sangue periférico foram colhidas através de venopunção em diferentes clínicas e hospitais onde os próprios técnicos exercem seu ofício.

Foram coletadas 20 amostras de trabalhadores técnicos em radiologia, registrados na 14^a região no estado do Pará, Brasil, sendo 4 mulheres e 16 homens com um período de trabalho de 8 a 10 horas diárias, e um período de profissão de 2 a 20 anos.

Todos os técnicos selecionados foram avaliados através de entrevista para conhecimento se tabagistas, etilistas, se tinham conhecimento de alguma síndrome presente na família, se alguma vez já sentiram qualquer problema de saúde que tenham relacionado à convivência com a radiação.

No estado do Pará, estima-se que esta categoria de trabalhadores tenha uma população de aproximadamente 500 indivíduos e, até o presente momento, não existe na

literatura nenhuma descrição de estudo das conseqüências biológicas da exposição destes profissionais as radiações com a qual trabalham.

Para a concordância pessoal dos participantes, segue anexo o modelo de consentimento de cada profissional para a participação desta pesquisa, assim como o questionário para avaliação pessoal dos mesmos.

3.3 Obtenção do Sangue

Foram coletados 10 ml de sangue periférico de cada indivíduo por punção venosa utilizando agulhas e seringas descartáveis previamente heparinizadas com Liquemine (Lab. Roche 5.000 UI/ml). Após a coleta, o sangue foi transferido para tubos de ensaio estéreis, mantidos em repouso por uma hora à temperatura ambiente, para a sedimentação das hemácias e separação do plasma.

Linfócitos de sangue periféricos humanos estão predominantemente dentro fase de G₀ (pré síntese de DNA). A maioria dos linfócitos circulantes são celas de T (derivadas do timo), que pode ser estimulado para se desenvolver in vitro por um agente mitogênico como fitohemaglutinina (PHA). Isto faz dos linfócitos células ideais para procurar aberrações induzidas.

3.4 Técnicas de Cultura Temporária de Linfócito

Foi adicionada 0,5 ml de plasma com linfócitos ressuspensos, em frascos de cultura contendo um volume de 4,5 ml de meio de cultura completo. Os frascos foram mantidos na estufa à 37⁰C até o fim do tempo de cultivo, neste caso, 72 horas.

A cada frasco de cultura foram adicionados 200 µl do antimitogênico colchicina (0,0016% Sigma), 120 minutos antes da fixação.

Após o tempo de cultivo os frascos serão agitados para homogeneização. O material foi transferido para tubos de centrífuga e centrifugado por 8 minutos a 1000 rotações por minuto (rpm).

O sobrenadante foi desprezado e as células ressuspendidas em 5 ml de solução hipotônica (KCl 0,075M) à 37⁰C por 20 minutos. O material foi centrifugado por 8 minutos a 1000 rpm.

O sobrenadante foi desprezado e 5 ml de fixador Carnoy recém preparado (metanol e ácido acético na proporção de 3:1) foi adicionado. Trocas do fixador serão feitos mais duas vezes (lavagem do material para retirar os restos celulares), centrifugando e deixando apenas o material suficiente para a confecção das lâminas.

Usando lâminas bem limpas e mantidas em etanol 70% gelado, o material fixado foi gotejado, inclinando as lâminas para espalhar melhor o material, passando-as em seguida na chama, com o cuidado de não aquecer demais.

A coloração foi processada com o corante Giemsa diluído em uma solução tampão (Na₂HPO₄ 0,06 M e KH₂PO₄ 0,06 M - pH 6.8), na proporção de 1 ml do corante para 30 ml do tampão, por um período de 8 minutos.

As lâminas foram analisadas usando magnificação de 100x usando microscópio óptico e foram contadas 200 células metafásicas por indivíduo.

3.5 Análise Estatística

O teste de qui-quadrado foi usado para comparar a frequência de Aberrações Cromossômicas em indivíduos expostos e os controles. O teste ANOVA foi utilizado para avaliar a influência do período de exposição nos indivíduos estudados.

Todos os testes estatísticos foram realizados utilizando Biostat 5.0.

4. RESULTADOS

A disposição de indivíduos com respeito a idade, gênero e tempo de serviço é apresentada na tabela X

A tabela 1 mostra os indivíduos selecionados para pesquisa

| Idade | Gênero | Tempo de profissão |
|--------------|---------------|---------------------------|
| 27 anos | Feminino | 6 anos |
| 42 anos | Feminino | 20 anos |
| 32 anos | Masculino | 16 anos |
| 27 anos | Masculino | 5 anos |
| 36 anos | Masculino | 8 anos |
| 38 anos | Masculino | 18 anos |
| 30 anos | Masculino | 8 anos |
| 30 anos | Masculino | 10 anos |
| 33 anos | Masculino | 10 anos |
| 38 anos | Masculino | 15 anos |
| 37 anos | Feminino | 10 anos |
| 32 anos | Feminino | 7 anos |
| 32 anos | Masculino | 16 anos |
| 27 anos | Masculino | 5 anos |
| 36 anos | Masculino | 8 anos |
| 38 anos | Masculino | 18 anos |
| 30 anos | Masculino | 7 anos |
| 30 anos | Masculino | 7 anos |
| 24 anos | Masculino | 4 anos |
| 28 anos | Masculino | 5 anos |

A tabela 2 mostra os valores de frequência de células aberrantes em linfócitos de sangue periférico de indivíduos expostos e controles.

| Grupo | Tamanho da amostra | Número de células contadas | Células Aberrantes (%) |
|---------------------|--------------------|----------------------------|------------------------|
| Indivíduos expostos | 20 | 200 | 8.64 ± 2.45 |
| Controles | 20 | 200 | 3.54 ± 1.36 |
| Total | 40 | 400 | |

Tabela 2: valores de frequência de células aberrantes em grupo controle e de estudo.

Foram comparados também doze indivíduos dentro do grupo analisado, com o critério de tempo de exposição para verificar se havia diferenças significativas entre o tempo de serviço exposto de 10 anos ou mais e indivíduos com menos de 10 anos de exposição.

Tabela 3: indivíduos comparando o período de trabalho entre mais de 10 anos com controles com menos de 10 anos.

| Tempo de exposição | N | Aberrações cromossômicas (%) |
|--------------------|---|------------------------------|
| < 10 anos | 6 | 8.27 + 2.14 |
| ≥ 10 anos | 6 | 8.69 + 2.54 |

Também foi realizada uma comparação quanto a frequência de cromossomos discêntricos presentes nos indivíduos estudados. Das células aberrantes, cerca de 80% demonstraram este tipo de aberração, concordando com (autor), mostrando cerca de 3 vezes mais deste tipo de aberração que os controles.

No que se refere a idade, não fomos capazes de estabelecer uma correlação com qualquer um dos parâmetros citogenéticos investigados, sendo consistente com outros estudos que não acharam associação entre idade e aberrações cromossômicas em

trabalhaodres expostos à radiação ionizante em Hospitais (BIGATTI *et al.*, 1988).

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, nós investigamos as frequências de vários tipos de aberrações cromossômicas em linfócitos de sangue periférico de trabalhadores expostos à baixas doses de radiação ionizante em hospitais e clínicas de Belém do Pará, Brasil.

Como esperado, nossos resultados indicaram um aumento na frequência de células aberrantes, sendo significativamente maior nos indivíduos expostos se comparados aos controles ($P= 0,007$; $P= 0,001$), concordando com varios trabalhos publicados.

Todos os indivíduos estudados, segundo reportado pelos próprios, utilizam normalmente materiais de proteção individual e todos os locais onde foi feita a coleta apresentam um ambiente considerado seguro, segundo os parâmetros de proteção radiológica empregados no Brasil.

A dosimetria física destes indivíduos é realizada a cada trinta (30) dias e em nenhum caso superou o considerado seguro pela Comissão Nacional de Energia Nuclear no Brasil, (0,4 mSv por mês).

Considerando o período de exposição destes trabalhadores (mínimo de 2 anos), a frequência de aberrações cromossômicas foi semelhante a de trabalhadores com mais de 10 anos de trabalho e trabalhadores com apenas dois anos de exposição.

Vale ponderar aqui que antes de serem efetivados, todos os trabalhadores passaram por um período de treinamento de pelo menos 4 meses nas clínicas e hospitais em que trabalham.

Linfócitos de sangue periférico são extremamente sensíveis à radiação ionizante. Bender e colaboradores e Lloyd e colaboradores demonstraram que aberrações cromossômicas em linfócitos de sangue periférico são o sistema mais comumente estudado (BENDER *et al.*, 1988, Lloyd *et al.*, 2000).

Dossou e colaboradores (DOSSOU *et al.*, 2000) demonstraram que não existem diferenças significativas entre aberrações cromossômicas produzidas por radiação ionizante *in vivo* e *in vitro* em linfocitos de sangue periférico.

Cromossomos em anéis, cromossomos discêntricos e fragmentos cromossômicos são consideras aberrações cromossômicas instáveis por que sua persistência no corpo

diminui de acordo com o ciclo celular. Linfócitos que apresentem lesões cromossômicas instáveis têm uma probabilidade de sobrevivência a cada mitose de cerca de 50%. Por outro lado, translocações são preservadas por longos períodos de divisão celular. Dessa forma, translocações são biomarcadores melhores para uma avaliação retrospectiva quando existir um longo período de atraso entre o período de exposição e a retirada de amostra sanguínea.

O mecanismo de produção de quebra de cromátides por radiação ionizante observados em humanos continua a ser incompletamente entendido.

Entretanto, Bryant e colaboradores (BRYANT *et al.*, 1998) propuseram que a quebra de dupla fita de DNA por radiação ionizante poderia gerar um “sinal” (possivelmente gerado por moléculas como proteínas Kinase e proteínas ATM) que geraria uma reação na célula e a incitaria a realizar trocas recombinantes. Contudo, aberrações cromossômicas em humanos podem aumentar por conta de uma série de agentes genotóxicos.

A dosimetria citogenética é uma ferramenta poderosa para avaliação individual dos riscos relacionados à convivência da radiação ionizante, sendo complementar à dosimetria física.

Os achados deste trabalho concordam com muitos outros descritos na literatura, mostrando a necessidade de complementaridade de dosimetria física, auxiliando na melhora de condições de trabalho e bem estar para trabalhadores não só da área médica, mas em todos os setores que utilizem desta importante energia que faz parte do cotidiano de toda população.

Os recentes acontecidos em Fukushima no Japão ilustram também a necessidade da implementação de um banco de dados para possíveis avaliações de danos biológicos não só para seres humanos mas para todo um ecossistema possivelmente contaminado em áreas que tenham risco de contaminação aguda constante, como as próximas a usinas nucleares.

O emprego de biodosimetria pode representar mais do que uma metodologia complementar à dosimetria física no monitoramento individual. A resposta em casos de exposição aguda deve ser rápida e confiável, sendo a dose física estimada crucial para estudo dos riscos aos indivíduos expostos.

Ensaio como micronúcleo, cometa, PCR-multiplex e citometria de fluxo motivam a investigação para novos biomarcadores que nos dêem acesso rápido à dosimetria biológica.

Recentemente, o advento de técnicas fluorescentes, abriram novas possibilidades na detecção de bioindicadores intracelulares. A radiação ionizante pode causar diferentes danos ao DNA e estes danos induzem a expressão de muitas proteínas para reparo dos mesmos. A proteína p53 tem um papel importante neste processo. O estudo da expressão desta proteína especificamente pode trazer a luz um entendimento melhor dos danos causados pela radiação ionizante e os mecanismos de reparo utilizados pela célula.

O projeto Micronúcleo sugere uma correlação entre a genotoxicidade de alguns agentes, particularmente radiação ionizante, e o aumento de frequência de micronúcleos. No entanto este ensaio ainda é considerado controverso para muitos especialistas e necessita de maiores estudos para ser padronizado e utilizado como biomarcador específico para células irradiadas.

Atualmente, um grupo de trabalho reunindo vários cientistas de 12 países estuda um método de padronização para estabelecer o uso de ferramentas citogenéticas no biomonitoramento de indivíduos expostos à radiação ionizante.

Outro grupo associado ao Instituto Nacional de Alergias e Doenças Infecciosas (National Institutes for Allergies and Infectious Diseases, NIAID) juntamente com o Instituto de Pesquisas Radiobiológicas dos EUA tenta estabelecer os ensaios de cromossomos discêntricos como ferramenta de dosimetria biológica.

Estas ferramentas moleculares atuais permitem a especialistas uma avaliação mais precisa dos danos biológicos causados por exposições tanto agudas como crônicas, melhorado o entendimento das conseqüências para a exposição à saúde individual ou populacional em diferentes gerações, como exemplos citados em Chernobyl e Hiroshima.

Alem do mais, como estes indicadores biológicos pertencem a um ramo novo do campo da biodosimetria, é essencial investigar suas utilidades relacionando a taxa de dose recebida, as condições da área irradiada (se corpo inteiro ou parcialmente) e os parâmetros do ambiente, assim como o estilo de vida do individuo.

Todos os argumentos e técnicas apresentados neste trabalho devem levar aos profissionais e ao público em geral uma melhor atenção as práticas de radioproteção.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIROCHAS, Associação Brasileira de Indústria e Rochas, **Radioatividade e suas Unidades de Medidas: conceitos básicos**, 2008, fonte: http://www.ivolution.com.br/news/upload_pdf/6170/Radioatividade2.pdf

ALBERTS, B. **Biologia Molecular da Célula**. Editora Artmed, 2004

AMARAL A. Physical and Biological Dosimetry for Risk Perception in Radioprotection, **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Vol.48, Special : pp. 229-234, October 2005.

AMARAL A., FERNANDES T. S., CAVALCANTI B. M. Biodosimetry for dose assessment of partial-body exposure: a methodological improvement. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, vol. 4, 2008.

BALAM M AND ALBORES A. The Role of Molecular Biology in the Biomonitoring of Human Exposure to Chemicals, **International Journal of Molecular Sciences**, (2010), *11*, 4511-4525.

BALAKRISHNAN S., RAO B. S., Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes of occupational workers exposed to low levels of ionising radiation. **Mutation Research**, vol. 442, 1999.

BENDER, M. A.; AWA, A. A.; BROOKS, A. L.; EVANS, H. J.; GROER, P. G.; LITTLEFIELD, L. G.; PEREIRA, C.; PRESTON, R. J. AND WASCHHOLZ, B. W. Current status of cytogenetic procedures to detect and quantify previous exposures to radiation. **Mutation Research**, (1998), 196, 103-159.

BERRINGTON A., DARBY S. C., WEISS H. A., DOLL R. 100 Years of Observation on British Radiologists: mortality from cancer and other causes 1897 – 1997; **The British Journal of Radiology**, 74 (2001), 507 – 519.

BIGATTI P., LAMBERTI L., ARDITO G., ARMELLINO F. Cytogenetic monitoring of hospital workers exposed to low level ionizing radiation, **Mutation Research**, 204 (1988) 343 – 347.

BLAKELY, W.F.; PRASANNA, P.G.; GRACE, M.B.; MILLER, A.C. Radiation exposure assessment using cytological and molecular biomarkers. **Radiat. Prot. Dosim.** (2001), 97, 17–23.

BONASSI S, ABBONDANDOLO A, CAMURRI L, DAL PRA L, DE FERRARI M, DEGRASSI F. Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans? Preliminary results of an Italian cohort study. **Cancer Genetics and Cytogenet** 79:133–135, 1995.

BRANDT, H.C.; WATSON, W.P. Monitoring human occupational and environmental exposures to polycyclic aromatic compounds. **Ann. Occup. Hyg.**(2003), 47, 349–378.

BRENNAN P. C., MCDONNELL S. AND O'LEARY D. Increasing Film-Focus Distance (FFD) Reduces Radiation Dose for X-Ray Examinations. **Radiation Protection Dosimetry**, Vol. 108 (2004).

BRYANT P. E., Mechanisms of radiation-induced chromatid breaks, **Mutation Research**, 404 (1998), 107 – 111.

CAMPAROTO ML, TAKAHASHI-HYODO SA, DAUWERSE JG, NATARAJAN AT, SAKAMOTO-HOJO ET, High susceptibility of chromosome 16 to radiation-induced chromosome rearrangements in human lymphocytes under in vivo and in vitro exposure. Cytogenet Genome Res. 2005;108(4):287-92.

CAMPAROTO M. L., RAMALHO A. T., NATARAJAN A. T., CURADO M. P., SAKAMOTO-HOJO E. T. Translocation analysis by the FISH-painting method for retrospective dose reconstruction in individuals exposed to ionizing radiation 10 years after exposure. **Mutation research**, vol. 530, 2003.

CARDOSO R. S., TAKAHASHI S., NETO P. T., HOJO E. T., PEITIL P., Evaluation of Chromosomal Aberrations, Micronucleo and Sister-Chromatid Exchanges in Hospital Workers Chronically Exposed to Ionizing Radiation; **Teratogenesis Carcinogenesis Mutagenesis**. 21 (2001).

CHEN J, SEELY B, BERGMAN L AND MOIR D, The design of radiation accident registry. **Radiation Protection Dosimetry** (2011), Vol. 144, No. 1–4, pp. 551–554 Advance Access publication 25 November 2010.

CHIH -MING LIN; Potential Adverse Health Effects of Low-Level Ionizing Radiation Exposure in a Hospital Setting. **Annual Review of Public Health** Vol. 13: 173-196

CHIH-MING LIN. Potential Adverse Health Effects of Low-Level Ionizing Radiation Exposure in a Hospital Setting, **Archives of Environmental Health**, vol. 59, 2004

CHRISTOPHER A. FINK AND MICHAEL N. BATES; Melanoma and Ionizing Radiation: Is There a Causal Relationship? **Radiation Research** 164, 701–710 (2005).

CIGARRA S. N, J. F. BARQUINERO, L. BARRIOS, M. RIBAS, J. EGOZCUE AND M. R. CABALLI'N; Cytogenetic Analyses by Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) in Hospital Workers Occupationally Exposed to Low Levels of Ionizing Radiation, **Radiation Research** 155, 417–423 (2001).

CRAIG S. W., KEVIN CADWELL, E. JANET TAWN, CAROLINE L. RELTON, GEOFFREY A. TAYLOR, PATRICK F. CHINNERY, DOUGLASS M. TURNBULL. Mitochondrial DNA Mutations in Individuals Occupationally Exposed to Ionizing Radiation. **Radiation Research** 165, 202–207 (2006).

CRAIG S. WILDING,, KEVIN CADWELL, E. JANET TAWNA CAROLINE L. RELTON, GEOFFREY A. TAYLOR, PATRICK F. CHINNERY AND DOUGLASS

M. TURNBULL; Mitochondrial DNA Mutations in Individuals Occupationally Exposed to Ionizing Radiation. **Radiation Research** 165, 202–207 (2006)

D'IPPOLITO G., MEDEIROS B. R., Exames Radiológicos na Gestaç o. **Jornal Brasileiro de Radiologia** vol. 38, 2005.

DANIELS D. R. and YIIN H. J., A comparison of Statistical Methods for Estimation of Less Detectable Ionising Radiation Exposures. **Radiation Protection Dosimetry**, 2006.

DOSSOU, J.; LARTIGAU, E.; M'KACHER, R.; L GAL, J. D.; BRIDIER, A.; GUICHARD, M.; ESCHWEGE, F. AND PARMENTIER, C., Biological dosimetry after total body irradiation (TBI) for hematologic malignancy patients. **Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.**, (2000) **46** : (1), 123-129.

ECONOMIDES, S., TRITAKIS P., PAPADOMARKAKI E., CARINOU E. HOURDAKIS C., KAMENOUPOULOU V., DMITRIOU O., Occupational Exposure in Greek Industrial Radiography Laboratories (1996 – 2003). **Radiation Protection Dosimetry**, 2005.

FEINENDEGEN L., HAHNFELDT P., SCHADT E. E., STUMPF M., VOIT E. O. Systems biology and its potential role in radiobiology. **Radiation Environmental Biophysics**, vol. 47, 2008.

FERNAND VERMEERSCH, Alara Pre-Job Studies Using The Visiplan 3D ALARA Planning Tool. **Radiation Protection Dosimetry** (2005) Vol. 115,

FERNAND VERMEERSCH; ALARA Pre-Job Studies Using The Visiplan 3D ALARA Planning Tool. **Radiation Protection Dosimetry** (2005) Vol. 115, No. 1–4, pp. 294–297.

FINK C. A., BATES M. N. Melanoma and Ionizing Radiation: Is There a Causal Relationship? **Radiation Research** 164, 701–710 (2005).

FREIRE-MAIA, N., Radiogen tica Humana, Ed. Edgar Blucher Ltda & Ed USP, 1972.

GADHIA P. K. Possible age-dependent adaptive response to a low dose of X-rays in human lymphocytes. **Mutagenesis**, vol. 13, 1998

GADHIA P. K., SHAH N., NAHATA S., PATEL S., PATEL K., PITHAWALA M., TAMAKUWALA D., Cytogenetic Analysis of Radiotherapeutic and Diagnostic Workers Occupationally Exposed to Radioations; **International Journal of Human Genetics**, 4(1): 65-69 (2004).

GILLIES N. E., Basic Molecular and Cell Biology, Effects of Radiations on Cell. **British Medical Journal** vol. 295, 1987.

HAGMAR L, BONASSI S, STROMBERG U, BROGGER A, KNUDSEN LE, NORPPA H., Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). **Cancer Research** 58:4117–4121, 1998.

HALL E. J., LIEBERMAN B. H., FRIEDMAN M. Y., JINSHUANG L., **Center of Radiological Research, Annual Report 2006**, Columbia University.

HANDE P. M., AZIZOVA T. V., BURAK L. E., VALENTIN F. K., GEARD C. R., and BRENNER D. J. Complex Chromosome Aberrations Persist in Individuals Many Years After Occupational Exposure to Densely Ionizing Radiation: An mFISH Study. **Genes, Chromosomes and Cancer** (2005).

International Atomic Energy Agency (IAEA) and World Health Organization (WHO), How to recognize and initially respond to an accidental radiation injury. Vienna: **IAEA**, 2000

International Commission on Radiological Protection (ICRP) Committee: Task Group members C.E. Land, P.A. Jeggo, A.M. Kellerer, J.B. Little, D.A. Pierce, and R.L. Ullrich. Corresponding members were V. Beral, E.S. Gilbert, K. Mabuchi, W.K. Sinclair, and Z. Tao. ICRP Releases Draft Low-Dose Report The International Commission on Radiological Protection (ICRP), Low-Dose Extrapolation of Radiation-Related Cancer Risk. 2004.

KENNETH B. B. and BRUCE N. A. The Free Radical Theory of Aging Matures. **Physiological Reviews**, vol. 78, 1998.

LLOYD, D. C.; EDWARDS, A. A.; MOQUET, J. E. AND GUERERO-CARBAJAL, Y. C., The role of cytogenetics in early triage of radiation causalities. **Appl. Rad. Isot.**, (2000) **52**, 1107-1112.

LIU SH, LUNG JC, CHEN YH, YANG T, HSIEH LL, CHEN CJ. Increased chromosome-type chromosome aberration frequencies as biomarkers of cancer risk in a blackfoot endemic area. **Cancer Research** 59:1481-1484. 1999.

MAFFEI F., ANGELINI S., FORTI C. G., VIOLANTE S. F., LODI V., MATTIOLI S., HRELIA P. Spectrum Chromosomal Aberration in Peripheral Lymphocytes of Hospital Workers Occupationally Exposed to Low Doses of Ionizing Radiation; **Mutation Research** (2004), 547.

MARTINO M, GIANNOPOULOU E, MALATARA G, ARGYRIOU AA, KALOFONOS HP, KARDAMAKIS D, Ionizing radiation affects epidermal growth factor receptor signalling and metalloproteinase secretion in glioma cells. **Cancer Genomics Proteomics** 2011 Jan-Feb;8(1):33-8.

MAZZILLI B. P., ROMERO FILHO C. R. KODAMA Y., SUZUKI F. F., J. C. DELLAMANO MARUMO J. T., M. P. SANCHES R. VICENTE S. A. BELLINTANI. Noções Básicas de Proteção Radiológica. **Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)**, 2002.

MIRZAYANS R., SCOTT A., CAMERON M. AND MURRAY D. Induction of Accelerated Senescence by g Radiation in Human Solid Tumor-Derived Cell Lines Expressing Wild-Type TP53; **Radiation Research** 163, (2005).

MONTORO A., P. RODRÍGUEZ, M. ALMONACID J. I. VILLAESCUSA, G. VERDU, M. R. CABALLÍN, L. BARRIOS AND J. F. BARQUINERO; Biological

Dosimetry in a Group of Radiologists by the Analysis of Dicentrics and Translocations. **Radiation Research** 164, 612–617 (2005).

MONTORO A., RODRÍGUEZ P., ALMONACID M., VILLAESCUSA J. I., VERDUGO G., CABALLÍN M. R., BARRIOS L. AND BARQUINERO J. F. Biological Dosimetry in a Group of Radiologists by the Analysis of Dicentrics and Translocations; **Radiation Research**, 164 (2005).

NATARAJAN A. T., KESAVAN P. C. Cytogenetics for dosimetry in cases of radiation accidents and assessing the safety of irradiated food material; **Current Science**, vol. 89, No. 2 (2005).

NATARAJAN A. T., SANTOS S. J., DARROUDI F., HADJIDIKOVA V., VERMEULEN S., CHATTERJEE S., M.V/D BERG, GRIGOROVA M., SAKAMOTO-HOJO E.T., GRANATH F., RAMALHO A.T., CURADO M. P. ¹³⁷Cesium-induced chromosome aberrations analyzed by fluorescence in situ hybridization: eight years follow up of the Goiania radiation accident victims. **Mutation Research**, vol. 400, 1998.

NCRP Report No. 138, Oct. 24, 2001, Management of Terrorist Events Involving Radioactive Material, Recommendations of the National Council on Radiation Protection and Measurements, Bethesda, MD.

OLIVE P. L. Impact of Comet Assay in Radiobiology. **Mutation Research**, 2007.

PAZ-Y-MIÑO C., LEONE P. E., CHAVEZ M., BUSTAMANTE G., CÓRDOVA A., GUTIÉRREZ S., PEÑAHERRERA S. M., SÁNCHEZS. M. Follow up study of chromosome aberrations in lymphocytes in hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. **Mutation Research**, vol. 335, 1995.

POLYUKHOV A.M., KOB SAR I.V., GREBELNIK V.I., VOITENKO V.P.. The accelerated occurrence of age-related changes of organism in Chernobyl workers: A radiation-induced progeroid syndrome? **Experimental Gerontology** 35, 2000.

RABELLO-GAY, M. N.; RODRIGUES, M. A. LA R.; NETO, R. M.; (Ed.) – **Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese: Métodos e Critérios de Avaliação**. SBG, 1991.

ROBERTO A., EMILIANO B., PIER G.P., ELENA P., GIOVANETTI A., VOLPATO C., ROMEO G.; Abl1 (cAbl) and Trp53 Gene Fragmentations in Comet-FISH Assay Act as In Vivo Biomarkers of Radiation Exposure in C57BL/6 and CBA/J Mice. **Radiation Research** 165, 553–561 (2006).

RODRIGUES A. S., OLIVEIRA N. G., MONTEIRO G. O., LÉONARD A., RUEFF J. Use of Cytogenetic Indicators in Radiobiology. **Radiation Protection Dosimetry**, vol. 115, 2005.

RAMSEY M.J., MOORE II D.H., BRINER J.F., LEE D.A., OLSEN L.A., SENFT J.R., TUCKER J.D. The effects of age and lifestyle factors on the accumulation of

cytogenetic damage as measured by chromosome painting, **Mutation Research** vol. 338, 1995.

RIBEIRO DA, DE OLIVEIRA G, DE CASTRO G, ANGELIERI F, Cytogenetic biomonitoring in patients exposed to dental X-rays: comparison between adults and children. Dentomaxillofac Radiol. 2008 Oct;37(7):404-7.

ROSSNER P.; BOFFETTA P.; CEPPI M.; BONASSI S.; SMERHOVSKY Z.; LANDA K.; JUZOVA D.; ŠRÁM R. J. Chromosomal Aberrations in Lymphocytes of Healthy Subjects and Risk of Cancer. **Environmental Health Perspectives**, volume 113, number 5, (2005).

ROMM H, WILKINS RC, COLEMAN CN, LILLIS-HEARNE PK, PELLMAR TC, LIVINGSTON GK, AWA AA, JENKINS MS, YOSHIDA MA, OESTREICHER U, PRASANNA PG. Biological dosimetry by the triage dicentric chromosome assay: potential implications for treatment of acute radiation syndrome in radiological mass casualties. **Radiation Research**. 2011 Mar;175(3):397-404. Epub 2011 Jan 4.

ROZGAJ, R., KASUBA V., SIMIC D. The Frequency of Dicentric and Acentric and the Incidence of Rogue Cells in Radiation Workers. **Mutagenesis**, vol. 17, 2002.

SADETZKI S., MANDELZWEIG L., Childhood exposure to external ionising radiation and solid cancer risk, **British Journal of Cancer** (2009) 100, 1021 – 1025.

SARTORI, P.H.S. ; LORETO, E. L. S., SEPEL, L. M. N. *Radiações, Moléculas e Genes*. Ribeirão Preto, SP : Sociedade Brasileira de Genética - SBG, 2008.

SNUSTAD & SIMONS, **Fundamentos de Genética**, 2001. Ed. Guanabara.

STRAUSZ, M. C. ; BAPTISTA, J. M. ; COELHO, H. ; COSTA, F. G. ; CARDOSO, T. A. O. ; ROMAO, C. M. C. A. ; CARVALHO, P. R. ; SANTOS, R. ; LINO, M. H. M. ; VIEIRA, V. M. ; SOUZA, P. R. R. ; SCHATZMAYR, H. G. ; PRESOT, I. M. ; LEMOS, E. R. S. ; LINO, M. H. M. . **O papel da ética na Biossegurança em Saúde. In: Eduardo Vieira Martins; Adriana Sotero Martins; Francelina H.A e Lima; Marcia C Mendes Lopes; Maria Lúcia Vieira Moreno; Pedro C Teixeira da Silva. (Org.). Biossegurança, Informações e Conceitos, Textos básicos. Rio de Janeiro: CICT/FIOCRUZ, 2006, v. , p. 9-288.**

SUN J., CHEN Y., LI M., GE Z., Role of Antioxidant Enzymes on Ionizing Radiation Resistance; **Free Radical Biology & Medicine**, Vol. 24 (1998).

SCARPATO R., LORI A., TOMEI A., CIPOLLINI M., BARALE R., High prevalence of chromosome 10 rearrangements in human lymphocytes after in vitro X-ray irradiation. **International Journal of Radiation and Biology**, vol.76, 2000.

TAUHATA L., SALATI P. A. I., DI PRINZIO R., DI PRINZIO A., Radioproteção e Dosimetria, Fundamentos. Instituto de Radioproteção e Dosimetria – CNEN, 2002.

TAUHATA, L.; SALATI, I.P.A.; PRINZIO, R.; PRINZIO, A.R.. **Radioproteção e Dosimetria: Fundamentos. 4ª Revisão. Rio de Janeiro: Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD/CNEN), 2002.**

THOMPSON & THOMPSON, **Genética Médica**, Ed. Guanabara, 2001.

TUCKER D. J. Low-dose ionizing radiation and chromosome translocations: A review of the major considerations for human biological dosimetry. **Mutation Research**, vol. 659 (2008).

VENNART, J. Limits for Intakes of Radionuclides by Workers: ICRP Publication 30. Health Physics. 40, 1981.

VRAL A, FENECH M, THIERENS H. The micronucleus assay as a biological dosimeter of in vivo ionising radiation exposure. Mutagenesis. 2011 Jan;26(1):11-7.

VRIJHEID M., CARDIS E., ASHMORE P., AUVINEN A., GILBERT E., HABIB R.R., MALKER H., MUIRHEAD C. R., RICHARDSON D.B., SCHUBAUER-BERIGAN A.R., TELLE-LAMBERTON M. Ionizing Radiation and Risk of Chronic Lymphocytic Leukemia in the 15-Country Study of Nuclear Industry Workers. **Radiation Research**, vol. 170, 2008.

WACHSMANN F., Are small doses really so dangerous? **Eletromedicin** vol. 55, 1987. WANG Z.-Q., X.-P. LIU, J. LI, Q. WANG, W.-S. TANG, Y.-M. SUN, X.-L. WANG, T. AOYAMA AND T. SUGAHARA. Retrospective Dose Reconstruction for Medical Diagnostic x ray Worker in China Using Stables Chromosome Aberrations. **Radiation Protection Dosimetry**, Vol. 77, 1998.

YATAGAI F, MORIMOTO S, GOTO S, KATO T, HONMA M, HANAOKA F., Mutation induction in human cells after low dose X ray exposure. Radiat Prot Dosimetry. 2002;99(1-4):241-3.

ZAKERI F., HIROBE T., A cytogenetic approach to the effects of low levels of ionizing radiations on occupationally exposed individuals. **European Journal of Radiology**, 2008.

ANEXO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COMISSÃO DE BIOÉTICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) senhor (a),

A Universidade Federal do Pará está realizando um estudo intitulado “**Análise Citogenética de Trabalhadores Profissionalmente Expostos à Radiação Ionizante na Cidade de Belém, Pará, Brasil.**” com o objetivo de avaliar o impacto em nível celular da convivência com energia ionizante, com base na literatura escrita sobre o tema. Para isso, será realizado o preenchimento de um questionário simples. O procedimento de coleta de sangue através venopunção será realizado no próprio local de trabalho dos técnicos. As atividades realizadas não trarão qualquer prejuízo para a saúde dos participantes. A participação do técnico é voluntária e nenhum tipo de penalidade na instituição onde o técnico trabalha ocorrerá caso este não concorde em participar da pesquisa. Qualquer dúvida ou informação poderá ser fornecida pelo pesquisador responsável, biólogo, técnico em radiologia, Luiz Raimundo Campos da Silva e Cunha Jr, através do telefone (91) 32468781 / 81356598.

Os dados coletados serão mantidos em sigilo sendo manipulados apenas pelos pesquisadores durante a realização da pesquisa e mantidos sob guarda do pesquisador responsável. O resultado da pesquisa será apresentado posteriormente em evento científico e, caso seja de interesse do participante, os resultados lhes serão enviados tão logo a pesquisa seja concluída.

Ciente dos objetivos e metodologia da pesquisa, através das informações transmitidas, eu, _____ concordo em participar do presente estudo.

Belém, _____ de _____ de 20__.

Assinatura do Técnico

RG

Luiz Raimundo Campos da Silva e Cunha Jr.
Biólogo, mestrando do curso de pós-graduação em Biologia Celular.
Pesquisador responsável.