

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS  
ENERGÉTICAS E NUCLEARES (PROTEN)**

***APLICAÇÃO DA CITOGENÉTICA NA  
AVALIAÇÃO DA RADIOPROTEÇÃO DE  
TRAUMATOLOGISTAS DO RECIFE***

**LIDIANE RÉGIA PEREIRA BRAGA**

**RECIFE - PERNAMBUCO - BRASIL**

**JUNHO – 2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

***APLICAÇÃO DA CITOGENÉTICA NA  
AVALIAÇÃO DA RADIOPROTEÇÃO DE  
TRAUMATOLOGISTAS DO RECIFE***

**LIDIANE RÉGIA PEREIRA BRAGA**

***APLICAÇÃO DA CITOGENÉTICA NA  
AVALIAÇÃO DA RADIOPROTEÇÃO DE  
TRAUMATOLOGISTAS DO RECIFE***

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, do Departamento de Energia Nuclear, da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração: Dosimetria e Instrumentação Nuclear.

**ORIENTADOR: PROF. DR. ADEMIR DE JESUS AMARAL – DEN - UFPE**

RECIFE- PERNAMBUCO- BRASIL  
JUNHO – 2006

---

**B813a Braga, Lidiane Régia Pereira**

Aplicação da citogenética na avaliação da radioproteção de traumatologistas do Recife / Lidiane Régia Pereira Braga. – Recife: O Autor, 2006.

xiii, 67 f.; il. (algumas color.), gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. DEN. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares (PROTEN), 2006.

Inclui referências bibliográficas e anexos.

**1. Energia Nuclear. 2. Citogenética. 3. Dosimetria Biológica. 4. Radioproteção. I. Título.**

**612.01448 CDD (22.ed.) UFPE/BCTG/2007-002**

---

# APLICAÇÃO DA CITOGENÉTICA NA AVALIAÇÃO DA RADIOPROTEÇÃO DE TRAUMATOLOGISTAS DO RECIFE

Lidiane Régia Pereira Braga


APROVADA EM: 05.06.2006

ORIENTADOR : Prof. Dr. Ademir de Jesus Amaral

COMISSÃO EXAMINADORA:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Romilton dos Santos Amaral – DEN/UFPE

  
\_\_\_\_\_  
Profa Dra. Neide Santos – DG/UFPE

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Elba Lúcia Cavalcanti Amorim – DF/UFPE

Visto e permitida a impressão

  
\_\_\_\_\_  
Coordenador do PROTEN/DEN/UFPE

*Dedico a Minha Família*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo título obtido.

Aos meus pais, Luziana Maria e Luiz Braga, a minha segunda mãe Rita Maria pelo amor, carinho, educação e atenção aos meus objetivos de vida. Ao meu noivo Paulo Britto pelo apoio e compreensão nos momentos difíceis como também em toda etapa importante da minha vida. Aos meus irmãos Luiz Orlando, Lenio, Júnior e Leandro pelo empenho e ajuda durante todos os momentos da minha vida.

Ao Prof. Dr. Ademir Amaral, pela orientação, paciência, incentivo, amizade e dedicação em todas as etapas deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Energia Nuclear (DEN), membros da banca examinadora, Profª. Elba Lúcia Cavalcanti Amorim, Prof. Romilton Amaral, Prof. João Antônio Filho, Prof. Raul Antônio Morais Melo. Em especial a Profª. Neide Santos pela sua amizade, incentivo e carinho ao longo da minha vida acadêmica.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares (PROTEN), Prof. Carlos Brayner, pela amizade, auxílio e contribuição no meu aprendizado científico.

Aos amigos Giovanni Menezes e Humberto Alencar, pois as suas participações neste trabalho foram vitais para a conclusão.

Aos médicos traumatologistas por participarem de forma voluntária desta pesquisa com a doação das amostras de sangue para os experimentos do trabalho.

Aos amigos do Grupo de Estudos em Radioproteção e Radioecologia (GERAR), Thiago Salazar, Mariana Brayner, José Araújo, Laélia Campos, Cleomácio Miguel, Fabiana Aquino, Rebeca Cantinha, Neilyane Santos, Rodrigo Bezerra, Guilherme e Thiago pela amizade e bons momentos de convivência, bem como pelas sugestões e auxílio durante a realização deste trabalho.



Ao Laboratório de Citogenética da Unidade de Laboratórios Especializados (UNILABE) da Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), por disponibilizar o espaço físico e equipamentos necessários para o desenvolvimento da pesquisa. Em especial as amigas Júlia Netto, Márcia Costa, Graça Sotero, Ana Pedrosa e Bernadete Brito pelo carinho, atenção, amizade, compreensão e pela grande contribuição em todas as etapas deste trabalho, sem as quais, eu não poderia concluí-lo.

Aos profissionais do HEMOPE, Fátima Coeli, Cíntia Machado, Washington Batista, Amélia Batista, Rosane Araújo e Fábiana pelo convívio, aprendizagem e amizade.

A todos os colegas e amigos do DEN, em especial a Isvânia Serafim pela ajuda e amizade.

A todos os funcionários do DEN, pelos ótimos momentos de convivência.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	ix
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xi
<b>RESUMO</b> .....	xii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	4
2.1 Radiação: Aspectos gerais .....	4
2.2 Efeitos biológicos da radiação .....	5
2.3 Efeitos diretos e indiretos da radiação ionizante na célula .....	7
2.4 Ciclo celular .....	12
2.5 Linfócitos como bioindicadores de exposição à radiação ionizante .....	15
2.6 Análise citogenética na avaliação dos danos genéticos.....	16
2.6.1 Aberração cromossômica.....	17
2.6.2 Micronúcleos.....	21
2.7 A Fluoroscopia como Ferramenta de Radiodiagnóstico .....	24
2.7.1 O tubo de Raios-X.....	24
2.7.2 Intensificador de imagem e monitor de TV .....	26
2.8 A Proteção Radiológica em Trabalhadores .....	28
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	35
3.1 Indivíduos estudados .....	35
3.1.1 Critérios de exclusão dos indivíduos .....	36
3.1.2 Critérios de inclusão e seleção dos indivíduos.....	36
3.2 Metodologias para análise celular .....	36

3.2.1 Coleta e processamento das amostras.....	38
3.2.2 Obtenção de aberrações cromossômicas instáveis (ABI).....	38
3.2.2.1 Etapas metodológicas de Cultivo, Retirada e Análise Celular.....	39
3.2.3 Obtenção de micronúcleo (MN).....	40
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
4.1 Dados do questionário dos indivíduos estudados .....	43
4.2 Leucograma dos indivíduos estudados.....	44
4.3 Análise de Micronúcleo.....	45
4.4 Análise de Aberrações Cromossômicas Instáveis.....	47
4.4.1 Obtenção da estimativa de dose a partir de curva dose-efeito biológico.....	51
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>53</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXO I – GRANDEZAS EM DOSIMETRIA (ICRP 60, 1990).....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXO II - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO III - QUESTIONÁRIO PARA OS INDIVÍDUOS.....</b>	<b>66</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação dos efeitos direto e indireto na molécula de DNA .	8
<b>Figura 2.</b> Representação da relação entre o RBE e a LET.	9
<b>Figura 3.</b> Relação entre RBE, LET e o DNA.	10
<b>Figura 4.</b> Curva de dose-efeito correlacionada com a LET	11
<b>Figura 5.</b> Diagrama ilustrando as fases do ciclo celular: fase G <sub>1</sub> , S, G <sub>2</sub> e M	12
<b>Figura 6.</b> Representação da célula no estágio da mitose	13
<b>Figura 7.</b> Cariótipo normal de indivíduo do sexo masculino, através do bandeamento G. .....	18
<b>Figura 8.</b> Cariótipo com translocações envolvendo os cromossomos 7, 11, 13, 14 e 18 (destacados nas setas) em indivíduo do sexo feminino, através da técnica multicolor FISH. ....	19
<b>Figura 9.</b> Exemplo de formação de aberrações cromossômicas através dos efeitos biológicos.....	20
<b>Figura 10.</b> Metáfase mitótica mostrando dois cromossomos dicêntricos - setas azuis, e um cromossomo em anel, pela seta vermelha - aumento: 100x. ....	20
<b>Figura 11.</b> Diagrama ilustrando a obtenção de micronúcleo a partir de um agente químico mutagênico ou clastogênico. ....	22
<b>Figura 12.</b> Célula binucleada com presença de seis micronúcleos - aumento: 100x.....	23
<b>Figura 13.</b> Esquema de um equipamento de fluoroscopia apresentando seus principais componentes físicos. ....	24
<b>Figura 14.</b> Representação dos componentes internos do tubo de raios-X	25
<b>Figura 15.</b> Representação da estrutura interna do intensificador de imagem.....	26
<b>Figura 16.</b> Representação da estrutura do fotocátodo do intensificador de imagem. ....	27

<b>Figura 17.</b> Distribuição dos níveis para taxas de doses próximas a um equipamento de fluoroscopia durante um procedimento cirúrgico. ....	33
<b>Figura 18.</b> Foto de um médico traumatologista utilizando a fluoroscopia durante uma intervenção cirúrgica. ....	34
<b>Figura 19.</b> Fluxograma com as etapas da coleta sanguínea, cultivo de linfócitos, preparo das lâminas e análise microscópica. ....	37
<b>Figura 20.</b> Fotomicrografia de uma célula binucleada com presença de micronúcleo, indicado pela seta, obtida da amostra dos 11 médicos traumatologistas estudados - aumento: 100x. ....	45
<b>Figura 21.</b> Fotomicrografias das principais alterações cromossômicas de metáfases mitóticas obtidas da amostra dos 11 médicos traumatologistas estudados: (a) cromossomo dicêntrico na seta azul e fragmento na seta verde; (b) cromossomo em anel. Aumento de 100X. ....	48

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais grandezas da dosimetria utilizada na radioproteção .....	29
<b>Tabela 2.</b> Limites primários anuais de dose equivalente.....	30
<b>Tabela 3.</b> Parágrafos da norma NR-32 que tratam da obrigatoriedade do emprego da dosimetria citogenética.....	32
<b>Tabela 4.</b> Modificações das etapas metodológicas da Técnica de Análise Citogenética para obtenção de micronúcleo (MN).....	41
<b>Tabela 5.</b> Dados obtidos pelo questionário do modo de vida e trabalho do grupo de médicos estudados.....	43
<b>Tabela 6.</b> Frequência de micronúcleos em 1000 células linfocitárias binucleadas de médicos traumatologistas da cidade do Recife, expostos à radiação ionizante.....	46
<b>Tabela 7.</b> Frequência de aberrações cromossômicas em 1000 metáfases mitóticas de médicos traumatologistas da cidade do Recife, expostos à radiação ionizante.....	49
<b>Tabela 8.</b> Estimativa da dose para os médicos traumatologistas ocupacionalmente expostos à radiação ionizante. ....	52
<b>Tabela 9.</b> Fatores de ponderação das Radiações Ionizantes ( $W_R$ ).....	63
<b>Tabela 10.</b> Fatores de ponderação para órgãos ou tecidos ( $W_T$ ) <sup>1</sup> .....	64

# **APLICAÇÃO DA CITOGENÉTICA NA AVALIAÇÃO DA RADIOPROTEÇÃO DE TRAUMATOLOGISTAS DO RECIFE**

**Autora: Lidiane Régia Pereira Braga**

**Orientador: Prof. Dr. Ademir de Jesus Amaral**

## **RESUMO**

Entre as atividades que envolvem a aplicação de radiação ionizante na medicina existem os procedimentos de fluoroscopia que corresponde a maior fonte de exposição dos médicos. A fluoroscopia consiste em um equipamento de raios-X acoplado a um intensificador de imagem. Esta metodologia permite a visualização em tempo real do interior do corpo do paciente durante uma cirurgia. Um recente estudo realizado com médicos traumatologistas do Recife (Brasil) revelou que muitos destes profissionais possuem dúvidas sobre as normas de radioproteção como também da importância de utilização de dosímetros fotográficos e avental de material equivalente ao chumbo durante a sua rotina de trabalho. Por outro lado, a quantificação de aberrações cromossômicas instáveis (dicêntricos, anéis e fragmentos) e micronúcleos são métodos comumente utilizados na biodosimetria através da análise citogenética, especialmente recomendada quando os dosímetros físicos não são empregados. A presente pesquisa foi projetada seguindo a aplicação das análises citogenética em linfócitos periférico destes profissionais para a avaliação dos níveis de exposição aos quais estes traumatologistas foram expostos, devido à falta da observância das normas de radioproteção. Os resultados obtidos nesta pesquisa mostraram que a frequência de aberrações cromossômicas instáveis dos indivíduos estudados eram maiores que a dos indivíduos não expostos. Contudo, os resultados sobre a análise das frequências de micronúcleos estavam de acordo com os valores internacionais estabelecidos para os indivíduos não expostos. Assim, este estudo enfatiza a importância do biomonitoramento individual para uma melhor percepção das condições de radioproteção. Além disso, os resultados desta pesquisa indicam que os níveis de exposição desses profissionais estão acima dos limites normatizados pela Comissão Nacional de Energia Nuclear-CNEN para trabalhadores ocupacionalmente expostos às radiações ionizantes.

# **APPLICATION OF CYTOGENETICS FOR EVALUATING RADIOPROTECTION CONDITIONS OF TRAUMATOLOGISTS IN RECIFE**

**Author: Lidiane Régia Pereira Braga**

**Adviser: Prof. Dr. Ademir de Jesus Amaral**

## **ABSTRACT**

Among the activities involving the application of ionizing radiation in medicine, fluoroscopic procedures correspond to the major source of irradiation to doctors. Fluoroscopy consists of X-ray equipment coupled with an image intensifier. This methodology permits a real time visualization of interior of the patient's body during a surgery. A recent study performed with traumatologists working in Recife (Brazil) revealed that many of them have many doubts about radiation protection rules, such as the importance of using of the film dosimeter as well as lead equivalent apron during their routine work. On the other hand, the quantification of unstable chromosome aberrations (dicentric, rings and fragments) and micronuclei are methods commonly used in biodosimetry by cytogenetic analyses, specially recommended when the physical dosimetry cannot be performed. In the present research, was design in order to apply such analyses from lymphocytes of peripheral blood samples of those professionals for evaluating the exposure levels which those traumatologists, due to the lack of observance of radioprotection rules. The results obtained in this research have shown that frequencies of unstable chromosome aberrations of investigated subjects were much higher than for non-exposed individuals. However, the results about analyses of the frequency of micronuclei were in agreement with the values internationally used as for non-exposed subjects. Thus, this study emphasized the importance of individual biomonitoring for better perception of the radioprotection conditions. Moreover, this study indicates that the dose exposure levels of investigated traumatologists are much higher than the limits established by the Brazilian radioprotection agency CNEN.



# 1 INTRODUÇÃO

A fluoroscopia representa a radiografia em tempo real, cujo sistema é composto de um equipamento de raios-X acoplado a um intensificador de imagem e sistema de vídeo. Esta técnica permite visualizar o interior do corpo do paciente durante uma intervenção médica. No entanto, as exposições ocupacionais de médicos e demais profissionais de saúde, envolvidos rotineiramente em procedimentos com auxílio da fluoroscopia, podem resultar em doses absorvidas elevadas, quando comparadas com outras atividades que utilizam também as radiações ionizantes (RIs) (PIERRE, 1967; SCHUELER, 2000; VETTER & STRECKER, 2001; HENDEE & RITENOUR, 2002; BUSHBERG et al., 2002).

As normas de radioproteção estabelecem que trabalhadores ocupacionalmente expostos à radiação ionizante devem utilizar dosímetros físicos e equipamento de proteção individual (avental de chumbo, protetor de tireóide, luvas e óculos plumbíferos) quando da realização de suas tarefas (MINISTÉRIO DA SAÚDE MS/SVS nº453/98). A não interação das RIs com nossos sentidos é um dos-fatores preponderante que influenciam na negligência ao uso de equipamento de proteção individual (EPI) e que podem aumentar os riscos de exposições acidentais aos trabalhadores (ICRP 75, 1997).

Recente, estudo desenvolvido por Menezes (2004) realizado com médicos traumatologistas do Recife-PE descreveu o perfil desses profissionais com relação aos conhecimentos de normas de radioproteção empregadas em suas atividades de rotina e relacionadas com a técnica de fluoroscopia. Neste estudo, constatou-se que a maioria absoluta dos profissionais investigados nunca recebeu instrução sobre o uso correto do equipamento emissor de raios-X, freqüentemente usado em suas atividades, bem como

não utilizavam regularmente os equipamentos de proteção individual. Em relação aos dosímetros físicos, foi verificado que a uso correto dos mesmos não constitui prática comum entre esses profissionais. Este fato acarreta a subestimação das doses efetivamente absorvidas por esses profissionais de saúde, resultando em falhas nos procedimentos de gestão de radioproteção (MENEZES, 2004).

Por outro lado, ainda no âmbito da radioproteção, a avaliação de parâmetros biológicos indicadores sensíveis de exposição às RIs tem contribuído para estimar os níveis de exposição de indivíduos ocupacionalmente expostos. Esse tipo de avaliação tem sido comumente denominada de dosimetria biológica, tendo permitido inferir, em muitas situações, a dose absorvida de forma confiável. Devido a sua importância, a aplicação da dosimetria biológica em radioproteção vem sendo considerada como ferramenta complementar à dosimetria física (AMARAL, 2002; VOISIN et al., 2004).

Dentre os métodos conhecidos de biodosimetria, a dosimetria citogenética analisa os danos genéticos causados resultantes da interação da radiação com o núcleo celular. Os indicadores biológicos de exposição à radiação ionizante mais utilizados são as aberrações cromossômicas instáveis e micronúcleo em linfócitos do sangue periférico (IAEA, 2001).

As aberrações cromossômicas instáveis (cromossomos dicêntricos, em anel e fragmentos acêntricos) caracterizam-se por alterações na estrutura dos cromossomos. Estas aberrações cromossômicas são ditas instáveis por terem 50% de chance de se perderem ao longo dos processos de divisão celular. Por essa razão, a sua análise é recomendada em casos de exposições recentes à radiação ionizante. Por outro lado, os micronúcleos são subprodutos das aberrações cromossômicas instáveis ou de perdas de cromossomos inteiros. Estes consistem numa pequena massa nuclear revestida por membrana e separada do núcleo principal da célula linfocitária. A análise de micronúcleos pode ser empregada numa pré-avaliação do dano causado pela radiação nas células do indivíduo exposto, uma vez que é mais rápida que a de aberrações cromossômicas instáveis (IAEA, 2001; NORPPA & FALCK, 2003).

**Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar as condições de radioproteção em um grupo de médicos traumatologistas na cidade do Recife, ocupacionalmente expostos à radiação ionizante, empregando como parâmetro de avaliação a quantificação da frequência de aberrações cromossômicas instáveis (dicêntricos, anéis e fragmentos) e de micronúcleos.**

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Radiação: Aspectos gerais

Sabe-se que a radiação ionizante não interage com nossos sentidos, sendo esse um dos fatores que contribuem para aumentar os riscos de exposições desnecessárias ou acidentais. A interação da radiação ionizante com a matéria viva se traduz pela transferência de energia da radiação para o meio irradiado. A dose absorvida, definida como a quantidade de energia depositada pela radiação por unidade de massa do volume irradiado, é a grandeza física fundamental na avaliação dos efeitos biológicos que podem resultar de uma exposição. A unidade padrão de dose absorvida é o gray, sendo:  $1 \text{ Gy} = 1 \text{ joule /quilograma}$  (ICRP 60, 1990).

Quando se leva em consideração o tipo de radiação (por exemplo: raios-X ou gama, elétrons, prótons, nêutrons e partículas alfa), a grandeza dose absorvida passa a ser denominada de dose equivalente, atribuindo-se a mesma uma nova unidade: o sievert (Sv). Se, além disso, for considerada a radiosensibilidade do tecido ou órgão atingido, a dose equivalente recebe a denominação de dose efetiva, caracterizando a partir de então uma grandeza de radioproteção propriamente dita (ICRP 60, 1990).

Assim, pode-se definir a radioproteção como o conjunto de medidas que devem ser seguidas para a manutenção dos níveis de radiação ionizante dentro dos limites estabelecidos pelos institutos oficiais, visando a proteção do homem e do meio ambiente contra os efeitos indesejáveis causados pela exposição à radiação ionizante. No Brasil, a Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) são complementares na regulamentação das práticas relacionadas

ao manuseio de radiação ionizante. Essas regras são, em sua maioria, baseadas nas recomendações de órgãos internacionais, tais como a Comissão Internacional de Proteção Radiológica (*International Commission on Radiological Protection-ICRP*) e a Agência Internacional de Energia Atômica (*International Atomic Energy Agency - IAEA*) (ICRP 75, 1997; MINISTÉRIO DA SAÚDE MS/SVS Nº 453, 1998; IAEA, 2001; CNEN-NN-3.01, 2005).

A gestão da radioproteção tem significativa importância no processo de controle de qualidade das atividades que envolvem as aplicações da radiação ionizante. Essa gestão passa necessariamente pela monitoração, tanto da área de trabalho quanto individual (ICRP 75, 1997; MINISTÉRIO DA SAÚDE MS/SVS Nº 453, 1998; CNEN-NN-3.01, 2005).

No que tange a monitoração individual, o uso de dosímetros compatíveis com as condições de exposição (dosímetros fotográficos e termoluminescentes) faz parte das normas de radioproteção. Neste contexto, o emprego de tecnologias modernas para a dosimetria operacional e individual permite uma melhor estimativa da dose absorvida para cada procedimento (ICRP 75, 1997).

Por outro lado, a não observância das normas de radioproteção pode resultar em exposições desnecessárias, podendo resultar em consequências graves à saúde do indivíduo, seja o profissional de saúde ocupacionalmente exposto, ou indivíduo do público. Com isso, o conhecimento dos efeitos biológicos resultantes de exposição às radiações ionizantes é fundamental para uma melhor percepção dos riscos associados, bem como no entendimento de análises quanto ao uso de determinados indicadores biológicos no controle de qualidade das atividades envolvendo aplicações desse tipo de radiação (DOWN & TILSON, 1999).

## **2.2 Efeitos biológicos da radiação**

O efeito biológico de uma exposição às radiações ionizantes é normalmente resultado de um dano que ultrapassa os limites de eficiência dos mecanismos adaptativos do organismo. A severidade do dano varia segundo a idade, sexo, estilo de

vida, tipo de tecido irradiado, dentre outros fatores. A principal característica do efeito biológico causado pela radiação é a modificação morfológica e/ou fisiológica da estrutura celular (AMUNDSON et al., 2001).

Os efeitos radioinduzidos podem receber denominações em função do valor da taxa de dose absorvida dependendo do tempo de manifestação e do órgão ou tecido atingido. Por exemplo, em função da dose e da probabilidade de aparecimento, os efeitos biológicos podem ser classificados em estocásticos e determinísticos (HALL, 1994).

Nos efeitos estocásticos a probabilidade de ocorrência do dano biológico é proporcional à dose, não existindo um limiar de dose para que ele venha a acontecer. Isto é, as doses abaixo dos limites estabelecidos por normas e recomendações de radioproteção podem induzir a sua ocorrência, a exemplo de câncer: tumores sólidos e leucemias. Por outro lado, os efeitos determinísticos ocorrem a partir de um valor limiar de dose, sendo que a gravidade desses efeitos aumenta com a dose absorvida. São exemplos dos efeitos determinísticos a radiodermite, catarata, infertilidade e a síndrome de radiação aguda (JAYARAMAN & LAWRENCE, 1996).

A principal manifestação de exposição crônica da radiação ionizante sobre a pele é a radiodermite. A sua classificação é geralmente em função dos aspectos morfológicos desenvolvidos na pele após a irradiação, tais como: eritema transitório na pele (dose de aproximadamente 3 Gy), radiodermite crônica (dose da ordem de 6 Gy) e radiodermite aguda (dose de 15-20 Gy), neste último há formação de necrose dermatológica e ulcerações secundárias (DOWN & TILSON, 1999; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; KOENIG et al., 2001; NORRIS, 2002).

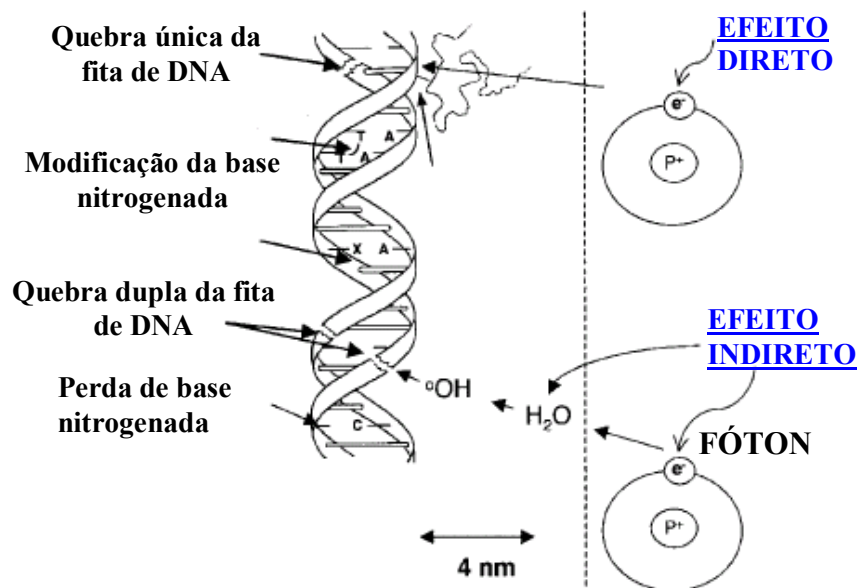
Para melhor compreender a relação entre o dano biológico e a dose absorvida é necessário uma breve revisão sobre efeitos diretos e indiretos da radiação em biomoléculas vitais para célula como o ácido desoxirribonucléico (DNA), que contém o código genético e é responsável pela transmissão das características hereditárias de todos os seres vivos (ALBERTS et al., 1997).

### 2.3 Efeitos diretos e indiretos da radiação ionizante na célula

A absorção da energia proveniente da radiação em um tecido vivo pode ocorrer por ionização ou excitação. A diferença entre ambos está na quantidade de energia capaz de ejetar os elétrons de seus orbitais. A excitação ocorre quando cada um ou mais elétrons de um átomo se deslocam de seu orbital para outro de maior energia. A ionização ocorre quando a energia é capaz de ejetar os elétrons para fora do átomo, produzindo fótons ou partículas que irão interagir com a matéria viva. Quando isto ocorre, esta radiação é chamada de radiação ionizante (HALL, 1994; BUSHONG, 1997; HENDEE & RITENOUR, 2002).

Após a exposição de um indivíduo à radiação ionizante, fenômenos físicos e químicos podem ocorrer no organismo. Os raios-X e gama ( $\gamma$ ) promovem a transferência de energia cinética para as ligações químicas em moléculas presentes nas células do organismo vivo, como o DNA, podendo acarretar quebra de ligações moleculares e, conseqüentemente, a produção de elétrons e íons livres (HALL, 1994; BUSHONG, 1997; HENDEE & RITENOUR, 2002).

Os efeitos da radiação ionizante sobre a molécula de DNA podem ser classificados em: efeitos diretos e indiretos (Figura 1). O efeito direto ocorre quando a radiação atinge diretamente esta biomolécula, causando quebra única da fita de DNA. O efeito indireto ocorre quando a radiação atinge as moléculas de água provocando um processo chamado de radiólise da água. Este fenômeno irá promover a formação de radicais livres ( $H^+$  e  $OH^-$ ), que, por sua vez, induzem quebras de ligações químicas do DNA, podendo alterar a conformação química da molécula. Na irradiação, o efeito que irá ocorrer com maior frequência será o efeito indireto, devido ao fato de que a molécula de água é a mais abundante em um organismo biológico, com cerca de  $2 \times 10^{25}$  moléculas de água por quilograma de tecido (HALL, 1994; BUSHONG, 1997; POUGET & MATHER, 2001).



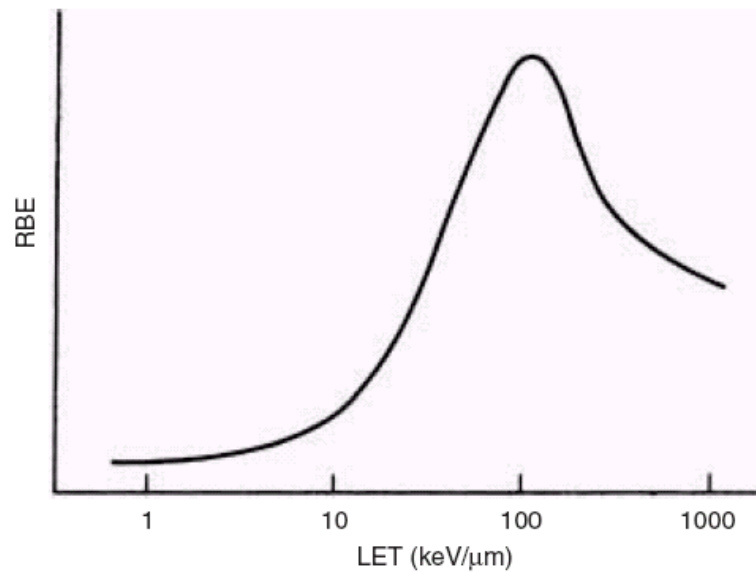
**Figura 1.** Representação dos efeitos direto e indireto na molécula de DNA (POUGET & MATTER, 2001).

Após os fenômenos radioquímicos e moleculares, a célula pode promover mecanismos de reparo como resposta aos danos biológicos. Para tanto, essa resposta celular do organismo irradiado vai depender de dois parâmetros físicos: da Transferência Linear de Energia (LET)<sup>1</sup> e da Eficiência Biológica Relativa (RBE)<sup>2</sup> (Figura 2). 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/ $\mu\text{m}$ , há mais ionizações do que o necessário para produzir um determinado efeito biológico, portanto, há desperdício de energia e conseqüentemente uma diminuição da RBE. (ICRP 60, 1990; HALL, 1994; IAEA, 2001).

<sup>1</sup> Transferência Linear de Energia (LET) é definida como sendo a energia depositada dE na matéria por unidade de comprimento dl. A unidade usual para a LET é keV. $\mu\text{m}^{-1}$ .

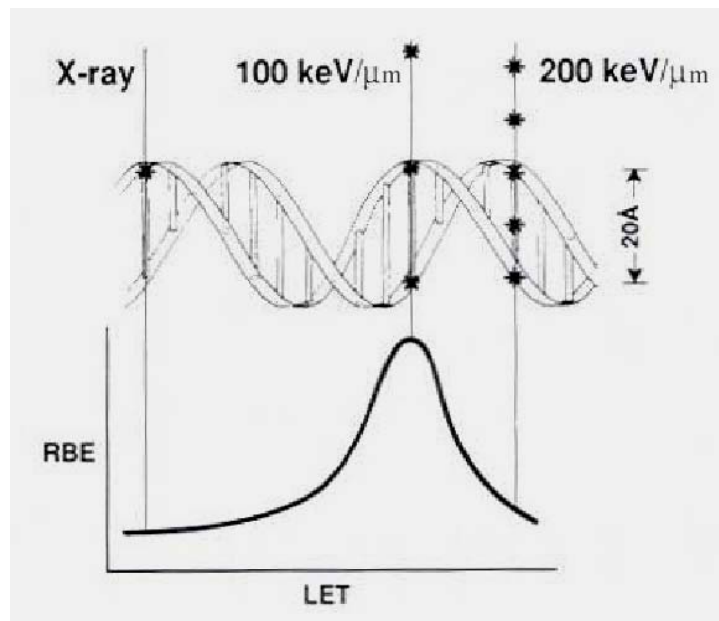
<sup>2</sup> Eficiência Biológica Relativa (RBE) é definida como sendo a razão da dose absorvida acumulada para uma radiação referência (geralmente 250kVp de raios-X) em relação à dose acumulada de uma radiação teste para produzir um efeito biológico específico (ICRU, 1993).





**Figura 2.** Representação da relação entre o RBE e a LET (IAEA, 2001).

A radiação ionizante ao interagir com a célula pode produzir vários tipos de lesões, sendo as mais importantes àquelas que estão relacionadas com a molécula de DNA, tendo em vista sua importância no armazenamento e na transmissão das informações genéticas. Sendo assim, quando a LET atinge na célula um valor máximo de 100 keV/μm podem ocorrer dois eventos de ionização que coincidem com o diâmetro da distância entre cada hélice que forma a molécula de DNA (cerca de 2 nm). As radiações que possuem uma LET acima deste valor máximo irão depositar mais energia no DNA que o necessário para produzir um dano na molécula, e nestas circunstâncias, a RBE decai com o aumento da LET a partir deste valor (Figura 3). Os efeitos biológicos resultantes dessas ionizações no DNA são: quebra simples ou dupla da fita e alterações nas bases nitrogenadas. Estes efeitos causam alterações na conformação química da molécula de DNA que irão resultar na formação de aberrações cromossômicas, mutações e morte celular programada (apoptose). (HALL, 1994; IAEA, 2001).



**Figura 3.** Relação entre RBE, LET e o DNA (HALL, 1994).

Para melhor interpretar os efeitos biológicos, pode-se construir a curva de dose-efeito através dos resultados da análise de aberrações cromossômicas em amostras sangüíneas, com a finalidade de estimar a dose absorvida. Dentre os parâmetros físicos considerados para a construção desta curva há a LET e o tipo de radiação ao qual a amostra foi irradiada. As partículas alfa e nêutrons constituem exemplos de radiação de alto LET e os raios-X e gama de radiações de baixo LET. A equação desta curva é descrita geralmente por uma equação polinomial do segundo grau, também conhecida por “linear-quadrática”, descrita na Equação 1 (IAEA, 2001):

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

Onde:

Y é a frequência de aberrações radioinduzidas;

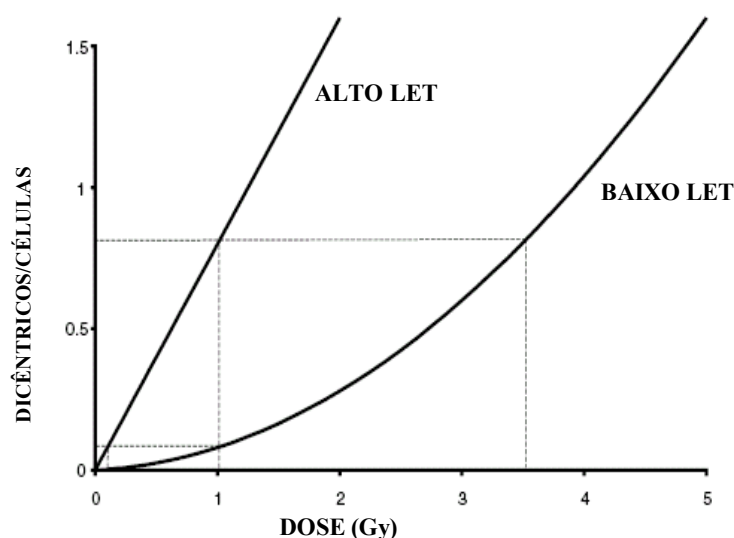
A é a frequência de aberrações resultantes da radiação natural (“background”);

$\alpha$  é o coeficiente linear;

D é a dose;

$\beta$  o coeficiente quadrático da dose.

A curva apresentada na Figura 4 é uma aplicação da equação 1 obtida por cultura de linfócitos do sangue periférico irradiados *in vitro* com doses conhecidas (0,1 - 5 Gy). Verifica-se que quanto maior for a LET da radiação, as aberrações cromossômicas se aproximam de uma resposta linear à dose, isto porque as ionizações ocorrem muito próximas ao longo do percurso da partícula. (IAEA, 2001).

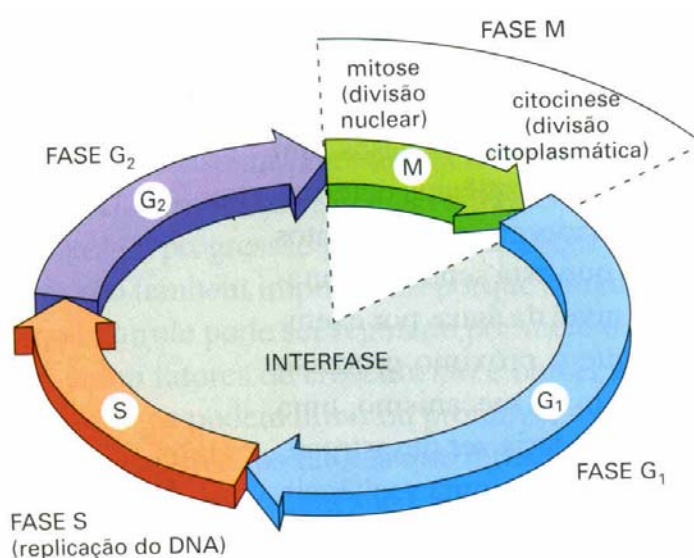


**Figura 4.** Curva de dose-efeito correlacionada com a LET (IAEA, 2001).

Quando as radiações de altos e baixos LET formam ionizações no núcleo celular, há formação de dois tipos de danos nos cromossomos: as aberrações cromossômicas instáveis e estáveis (DOWN & TILSON, 1999; AMUNDSON et al., 2001). A radiação ionizante é mais eficiente na produção de aberrações cromossômicas com uma indução de quebras no DNA (SAVAGE, 1976). Aberrações cromossômicas instáveis (dicêntricos, fragmentos e anéis) e estáveis (translocação, inserção e deleção) são induzidas por irradiação em células que normalmente estão nos estágios  $G_0$  ou  $G_1$  do ciclo celular (HANDE et al., 2005).

## 2.4 Ciclo celular

Os efeitos físicos e químicos das radiações podem atingir a célula durante o processo de divisão celular. Existem quatro fases do ciclo celular: ( $G_1$ , S,  $G_2$  e M) (Figura 5), além da fase de quiescência, denominada de  $G_0$ . A maioria das células depende de estímulos externos (mitógenos extracelulares ou fatores de crescimento) para passar da fase  $G_0$  e entrar na fase  $G_1$ , e continuar avançando nessa fase (ALBERTS et al., 1999).

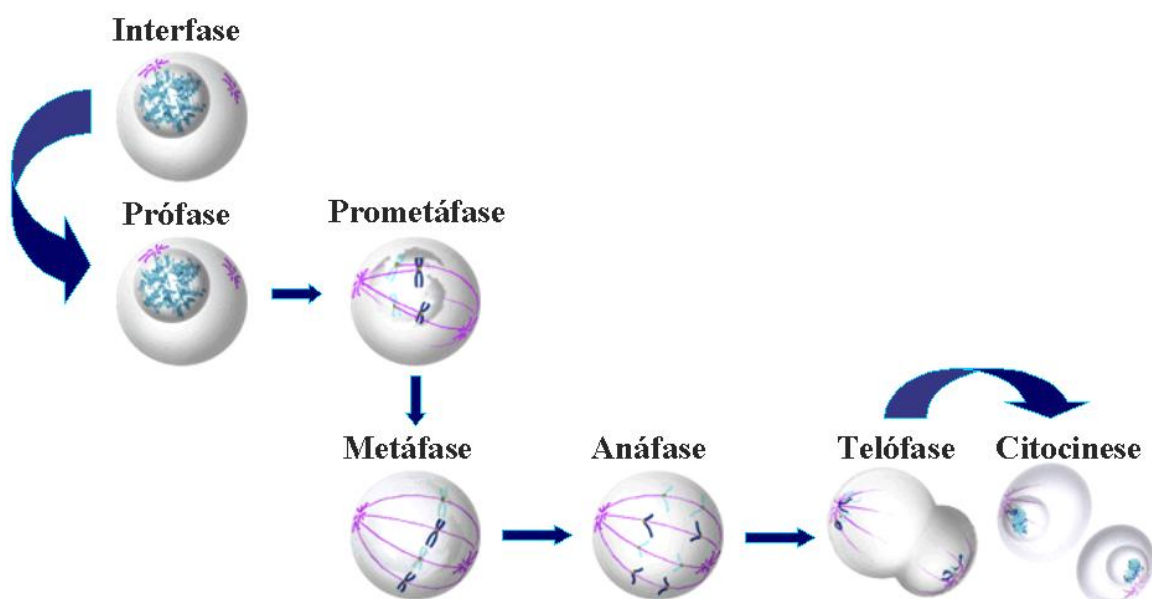


**Figura 5.** Diagrama ilustrando as fases do ciclo celular: fase  $G_1$ , S,  $G_2$  e M (ALBERTS et al., 1999).

A fase  $G_1$  caracteriza-se pela etapa em que há atividades metabólicas associadas ao crescimento celular e preparação do DNA para replicação. Após esta fase, vem à etapa na qual a célula efetivamente sintetiza seu DNA, denominada de fase S. Durante a fase S o material genético de cada cromossomo é replicado. Após o término da replicação do DNA, ocorre a fase  $G_2$  onde a célula cresce e se prepara para a mitose que ocorre de fato na fase M (ALBERTS et al., 1999; SNUSTAD & SIMMONS, 2001).

Os primeiros sinais visíveis de que uma célula está entrando na fase M é a progressiva condensação de seus cromossomos, previamente replicados durante a fase S (entretanto, as duas cópias de cada cromossomo permanecem firmemente ligadas). A condensação dos cromossomos marca o final da fase G<sub>2</sub>, nesta etapa do ciclo celular, Esta condensação impossibilita o emaranhamento dos cromossomos, facilitando, portanto, sua separação durante a mitose (ALBERTS et al., 1999; RIBEIRO et al., 2003).

A mitose ou multiplicação celular mitótica consiste em dois processos inter-relacionados: mitose (multiplicação do núcleo) e citocinese (mudanças no citoplasma que incluem a duplicação da célula). A mitose é um processo contínuo, dividida em quatro fases seqüenciais: interfase (G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>), prófase, metáfase, anáfase e telófase (Figura 6). Cada fase é definida pela estrutura e comportamento dos cromossomos (SNUSTAD & SIMMONS, 2001).



**Figura 6.** Representação da célula no estágio da mitose (ALBERTS et al., 1997, com modificações).

Na intérfase, a célula aumenta de tamanho, o DNA dos cromossomos é replicado e ocorrem as fases  $G_1$ , S e  $G_2$ . Na prófase os cromossomos replicados se condensam e ligam-se nos fusos mitóticos. Na metáfase, os cromossomos estão alinhados no equador do fuso e os cromossomos encontram-se no seu estado máximo de condensação. Na anáfase, ocorre a separação sincrônica dos cromossomos em direção ao fuso polar que está na extremidade da célula. Durante a telófase, os cromossomos chegam aos pólos do fuso, um novo envelope nuclear é reconstituído ao redor de cada grupo de cromossomo completando a formação de dois núcleos e marcando o término da mitose. A divisão do citoplasma começa com a formação do anel contrátil. Durante a citocinese o citoplasma é dividido em dois por um anel contrátil que obriga a célula a formar duas filhas, cada uma com um núcleo. A mitose garante que cada célula filha tenha a mesma informação genética que a célula parental (ALBERTS et al., 1999; IAEA, 2001; RIBEIRO et al., 2003).

De vital importância neste processo estão os dois pontos de checagem, a fim de que a célula mantenha a integridade do material genético que está sendo duplicado. Estes dois pontos ocorrem no final da fase  $G_1$  (ponto de controle  $G_1/S$ ) e no final de  $G_2$  (ponto de controle  $G_2/M$ ). Este processo é continuamente regulado por diversas vias, como as ciclinas e suas quinases associadas (CDKs) que tem um papel fundamental na regulação (RIBEIRO et al., 2003).

Existem células somáticas que não produzem essas proteínas e conseqüentemente ficam em repouso. Este repouso é conhecido como fase  $G_0$ . As células linfocitárias do sangue periférico são células diferenciadas, que praticamente não se dividem, e são encontradas na fase  $G_0$  (ALBERTS et al., 1999).

## 2.5 Linfócitos como bioindicadores de exposição à radiação ionizante

Os linfócitos do sangue periférico são células com um diâmetro que varia de 10 a 16  $\mu\text{m}$ , tem citoplasma escasso e núcleo redondo com cromatina condensada. Os linfócitos consistem primariamente em duas classes funcionais de células: os linfócitos T e linfócitos B (RAPAPORT, 1990; ZAGO et al., 2001; BAIN, 2004).

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).

Além destes, encontram-se também os chamados linfócitos NK (“*natural killer*”) que são a minoria das células linfóides em circulação no sangue periférico. Como os demais, estes se originam de um precursor linfóide na medula óssea e diverge funcionalmente da célula T porque ataca células-alvo sem sensibilização anterior por um antígeno. Em relação aos linfócitos T e B, os NK possuem morfologia diferenciada por serem linfócitos maiores e granulares (RAPAPORT, 1990; ZAGO et al., 2001).

A concentração de linfócitos no sangue periférico pode variar de acordo com a idade do indivíduo. Em geral, para um adulto saudável, o limite normal é de 1300-4800/ $\text{mm}^3$ . Em caso de irradiação do corpo inteiro, para doses de 2 a 10 Gy, observa-se a diminuição do número de linfócitos presentes na circulação sanguínea. Isto ocorre, porque estas células são sensíveis à radiação ionizante (IAEA, 2001).

Além de serem radiosensíveis, os linfócitos são células diferenciadas encontradas no sangue periférico na fase  $G_0$  do ciclo celular (fase de quiescência) e são

capazes de armazenar os danos biológicos causados pela radiação ionizante por um período de meia-vida de 3 anos (IAEA, 2001).

Diante destas características, os linfócitos são considerados exceção à “Lei de Bergonié e Tribondeau” a qual afirma que (BUSHONG, 1997):

- 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.

Os linfócitos humanos têm sido analisados em estudos de biomonitoramento citogenético, que consistem em avaliar os efeitos genotóxicos e riscos biológicos de uma exposição individual a agentes químicos (substâncias mutagênicas) e físicos (radiação ionizante) (AU et al., 2001; MAFFEI et al., 2004).

## **2.6 Análise citogenética na avaliação dos danos genéticos**

A análise citogenética é realizada para estimar os danos biológicos das células dos indivíduos expostos à radiação ionizante, como também para estimar a dose absorvida pelo indivíduo, chamada de dosimetria citogenética. O método de referência para estimar a dose absorvida pelo indivíduo é através da quantificação de aberrações cromossômicas encontradas em linfócitos do sangue periférico (VOISIN et al., 2001; IAEA, 2001; AMARAL, 2002).

Além disso, estudos comprovam que a quantificação de aberrações cromossômicas pode ser utilizada na percepção do risco à saúde, como um importante biomarcador para a predisposição ao câncer. Uma vez que o aumento da frequência de



aberrações cromossômicas nos linfócitos do sangue periférico está associado com o aumento de risco ao câncer (AU et al., 2001; MAFFEI et al., 2004).

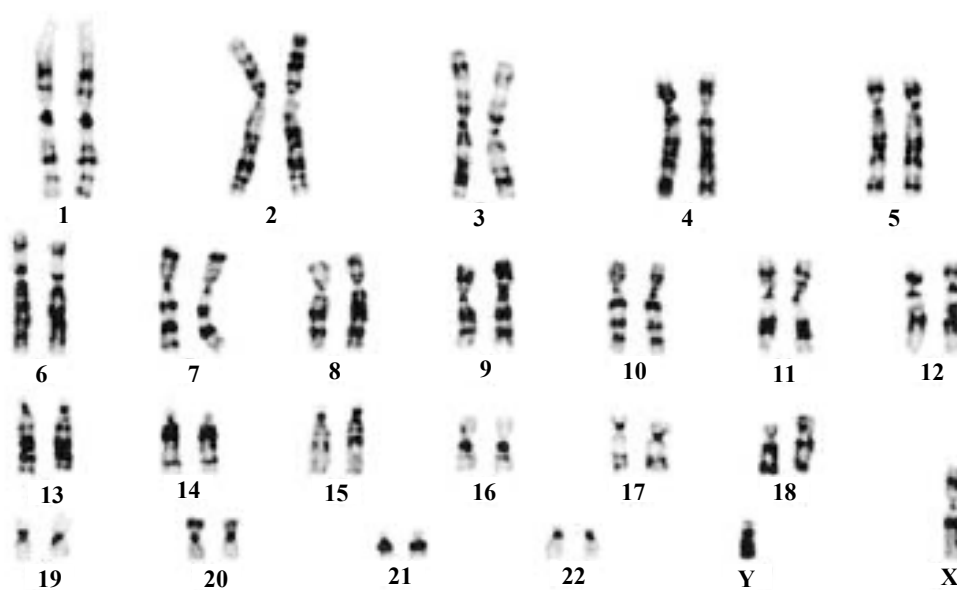
### **2.6.1 Aberração cromossômica**

As aberrações cromossômicas representam a parte visível de um grande espectro de alterações no DNA, resultantes de atuação de diferentes mecanismos de reparação das quebras nas cadeias do DNA (OBE et al., 2002). As quebras nas cadeias duplas do DNA são as lesões primárias fundamentais para a formação de aberrações cromossômicas, estas podem ser induzidas levando a reunião não homóloga do DNA lesado, originando as aberrações cromossômicas instáveis e estáveis (PFEIFFER et al., 2000; NATARAJAN, 2002; OBE et al., 2002).

As aberrações estáveis podem ser classificadas em: translocação, inserção e deleção. As translocações ocorrem quando um segmento de um cromossomo é destacado e religado em um cromossomo diferente (que não é seu homólogo). Quando trechos de dois cromossomos não-homólogos são intercambiados sem nenhuma perda de material genético, o evento é chamado de translocação recíproca. As inserções ocorrem quando um segmento acêntrico de um cromossomo é inserido na conformação de outro cromossomo, formando uma unidade genética única. Quando um segmento cromossômico torna-se ausente em uma célula é chamado de deleção cromossômica (IAEA, 2001; SNUSTAD & SIMMONS, 2001).

Estas aberrações cromossômicas podem ser detectadas citologicamente com a utilização de técnicas de análise citogenética. Essa análise parte do princípio de que células humanas diplóides contêm 46 cromossomos, 44 autossomos e dois cromossomos sexuais, que são XX nas mulheres e XY nos homens. Na metáfase mitótica, cada um dos cromossomos pode ser reconhecido por seu tamanho, forma e padrão de bandeamento. Para análise citológica, as metáfases bem coradas são fotografadas e cada um dos cromossomos da foto é recortado, pareado com seu homólogo e ordenado do maior para o menor. Esta disposição dos cromossomos é chamada de cariótipo cuja função é identificar anomalias numéricas e estruturais de cromossomos (SNUSTAD & SIMMONS, 2001).

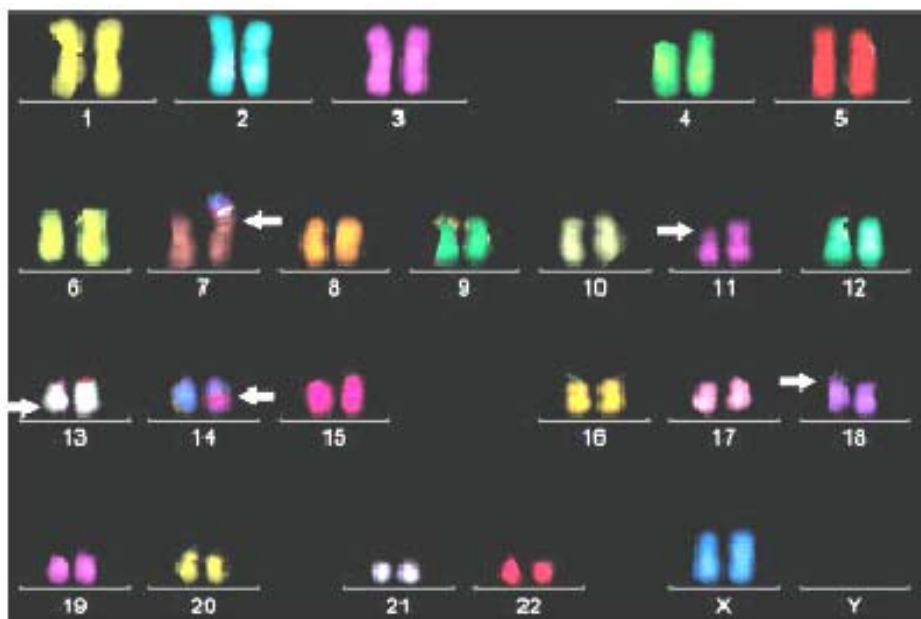
Entre as técnicas de análise citogenética, a mais comumente utilizada é a de bandeamento G, onde é possível identificar e numerar cada cromossomo pela formação de um padrão de bandas claras e escuras diferenciado. A Figura 7 evidencia os padrões de banda formados por essa técnica nos cromossomos humanos que estão ausentes de alterações citogenéticas (cariótipo normal), obtido do linfócito humano de um indivíduo do sexo masculino (IAEA, 2001).



**Figura 7.** Cariótipo normal de indivíduo do sexo masculino, através do bandeamento G (IAEA, 2001).

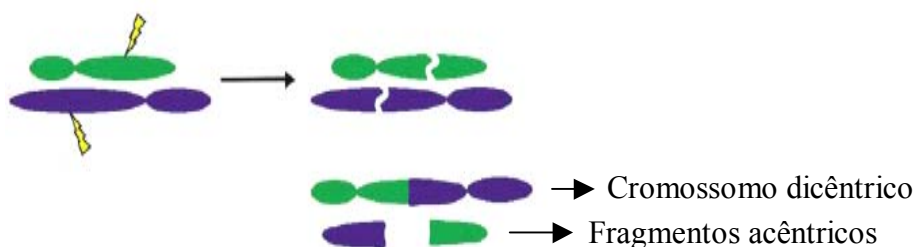
Uma outra técnica que pode ser utilizada em acompanhamento da primeira é a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) na qual é possível identificar as translocações com o uso de sondas específicas de DNA para cada cromossomo ou região cromossômica de interesse (IAEA, 2001). Na técnica multicolor FISH cada cromossomo é identificado por uma cor e as alterações são visualizadas pela junção de duas cores, a Figura 8 apresenta um cariótipo com translocação complexa que envolve os cromossomos 7, 11, 13, 14 e 18 de um indivíduo do sexo feminino que foi exposto à radiação ionizante. Neste cariótipo (Figura 8) pode-se observar que o cromossomo 7 perdeu material genético para o cromossomo 18 e também recebeu material dos cromossomos 11, 13 e 14; o cromossomo 14 além de perder material para o

cromossomo 7 também recebeu uma parte do segmento do cromossomo 11 (HANDE et al., 2005).

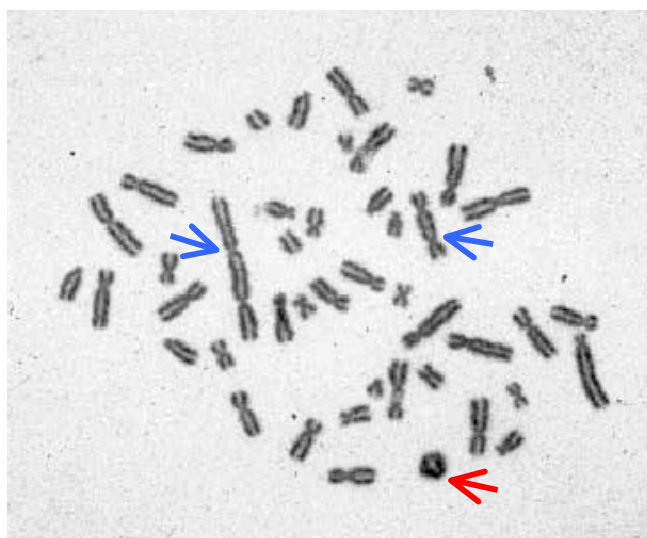


**Figura 8.** Cariótipo com translocações envolvendo os cromossomos 7, 11, 13, 14 e 18 (destacados nas setas) em indivíduo do sexo feminino, através da técnica multicolor FISH (HANDE et al., 2005).

As aberrações cromossômicas instáveis se apresentam estruturalmente da seguinte forma: cromossomos dicêntricos, cromossomo em anel e fragmento (Figura 9 e 10). O cromossomo dicêntrico é a aberração cromossômica mais amplamente usada na dosimetria biológica, tornando-se o principal bioindicador em casos de exposição recente à radiação ionizante. Este tipo de aberração é resultante da junção de dois cromossomos que se fundiram ponta a ponta para formar uma estrutura com dois centrômeros, geralmente, durante a formação de um cromossomo dicêntrico que pode ocorrer também à produção de fragmentos acêntricos, isto é, fragmentos sem centrômeros (IAEA, 2001).



**Figura 9.** Exemplo de formação de aberrações cromossômicas através dos efeitos biológicos (OBE et al., 2002).



**Figura 10.** Metáfase mitótica mostrando dois cromossomos dicêntricos - setas azuis, e um cromossomo em anel, pela seta vermelha - aumento: 100x (IAEA, 2001).

O cromossomo em anel é o resultado da junção das extremidades dos braços cromossômicos de um cromossomo após ser atingido pela radiação, dando a morfologia de um anel (IAEA, 2001).

Os fragmentos acêntricos podem ser formados independentemente das quebras que resultam em cromossomos dicêntricos e cromossomo em anel. Pois podem ser

provenientes de deleções terminais ou intersticial com variações de tamanho e de origem ainda questionada. O uso de sondas teloméricas de DNA através da citogenética molecular pela técnica de FISH pode tornar possível à descrição precisa do ponto de quebra que resultou em seu aparecimento na célula (IAEA, 2001).

Em geral, há fatores geográficos e modo de vida do indivíduo que interferem na frequência de aberrações cromossômicas no sangue periférico dos indivíduos, tais como: idade, fumo, exposição à radiação natural (“background”) e uso de agentes químicos e genotóxicos (pentaclorofenol, formaldeído ou pesticidas) (VOISIN et al., 2004; MAFFEI et al., 2004; ZAKERI & ASSAEI, 2004).

O procedimento comum da técnica citogenética para análise dos biomarcadores é estimular os linfócitos, a partir de amostras de sangue periférico, com uma substância química (fitohemaglutinina) para que as células encontradas na fase  $G_0$  (fase de quiescência) do ciclo celular iniciem o processo de mitose e se multipliquem. A partir disso, trata-se as células em multiplicação com uma substância química (colchicina) que irá destruir o fuso mitótico e parar os cromossomos em metáfase mitótica o que permite uma melhor visualização das aberrações cromossômicas instáveis (IAEA, 2001).

Além da análise de aberrações cromossômicas, a análise de micronúcleos é uma outra técnica citológica que pode ser utilizada de uma maneira adicional na análise do dano genético encontrado nos linfócitos do sangue periférico (IAEA, 2001).

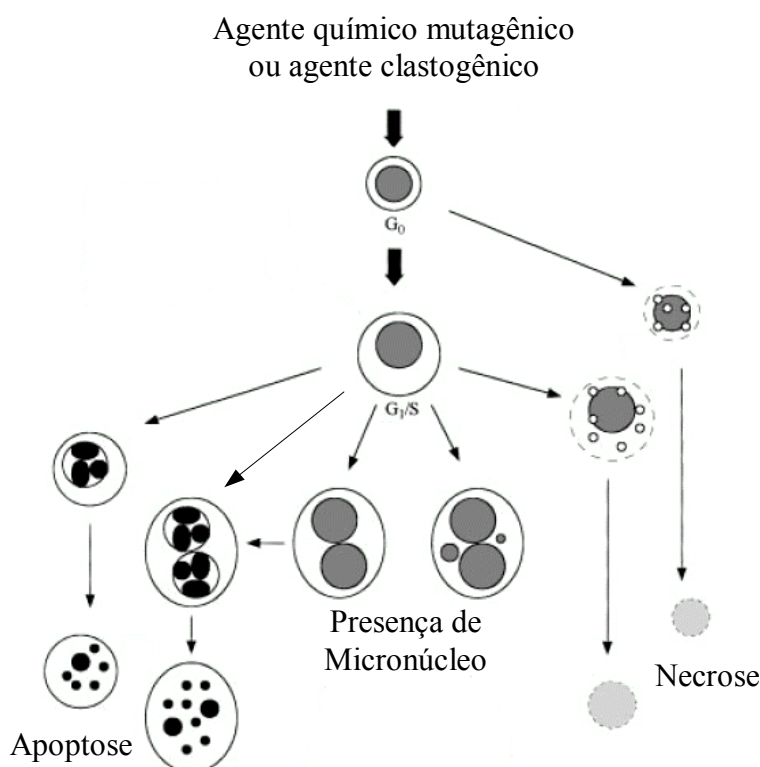
### **2.6.2 Micronúcleos**

A análise de micronúcleos tem relevância como biomarcador de exposição à radiação ionizante por ser de fácil contagem e requerer pouco tempo de treinamento para a realização das análises (NATARAJAN, 2002; FERNANDES, 2005).

Esta técnica pode ser utilizada não apenas em linfócitos, mas também em células epiteliais esfoliadas das mucosas bucais, nasais e uroepitelial que em sua grande maioria são para estudos genotóxicos (MOORE et al., 1993; SURRALLÉS & NATARAJAN, 1997; ALBERTINI et al., 2000; KIRSCH-VOLDERS & FENECH, 2001).

A formação de micronúcleos indica uma perda cromossômica do núcleo. Os micronúcleos podem ser formados a partir de fragmentos acêntricos que foram perdidos durante a fase de telófase da divisão celular, ou ainda, de perdas de cromossomos inteiros que por defeito dos fusos mitóticos, durante a mitose, podem ter resultado de uma não aderência desses cromossomos ao fuso (CATALÁN et al., 2000; FENECH, 2000; FALCK et al., 2002).

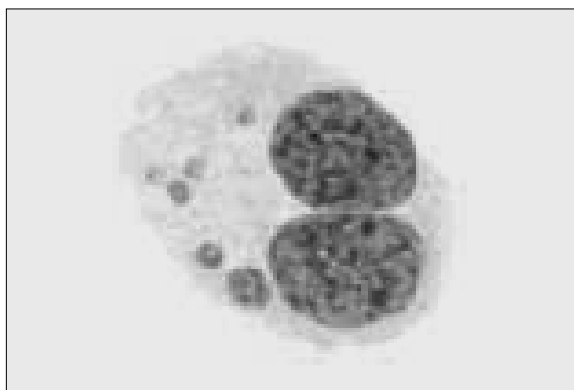
Segundo Cornforth & Goodwin (1991) a formação de micronúcleos pode ser induzida pela exposição a substâncias mutagênicas encontradas em algumas drogas (Figura 11), assim como está relacionado a hábitos alimentares e ao fumo.



**Figura 11.** Diagrama ilustrando a obtenção de micronúcleo a partir de um agente químico mutagênico ou clastogênico (FENECH, 2000).

Para se obter micronúcleos, utiliza-se a citocalasina B, uma substância química que promove a cariocinese (divisão do núcleo) e realiza o bloqueio da citocinese

(divisão do citoplasma) sendo visualizado as células binucleadas (Figura 12) (IAEA, 2001; RIBEIRO et al., 2003).



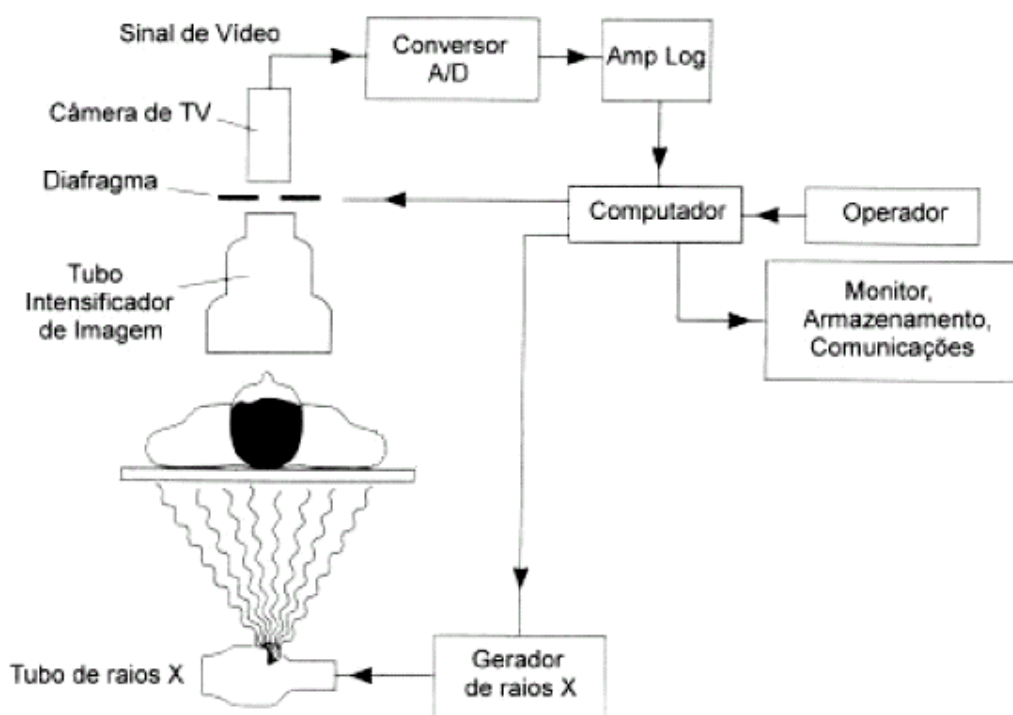
**Figura 12.** Célula binucleada com presença de seis micronúcleos - aumento: 100x (IAEA, 2001).

O emprego da técnica de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), que utiliza sondas cromossômicas específicas, vem sendo aplicado para descobrir o tipo de dano que resultou na formação do micronúcleo, se foi por um agente químico mutagênico ou um agente clastogênico (quebra dos cromossomos), a exemplo da radiação ionizante. Caso o micronúcleo seja marcado com uma sonda cromossômica pancentromérica, nos cromossomos 2 e 7 por terem uma maior frequência de serem visualizados as alterações genéticas induzidas pela radiação ionizante, significa que o mesmo foi originado da perda de cromossomos inteiros, ação característica de agentes químicos mutagênicos. Se o micronúcleo não for marcado por esta sonda significa que o mesmo se origina de perdas de fragmentos acêntricos, característicos da ação da radiação (EASTMOND & TUCKER, 1989; MIGLIORE et al., 1993; NORPPA & FALCK, 2003).

Em profissionais da área de saúde que usam a radiação ionizante em sua rotina de trabalho, como os médicos traumatologistas que utilizam a fluoroscopia, a análise de micronúcleo e de aberrações cromossômicas tornam-se ferramentas empregadas no controle da exposição ocupacional à radiação ionizante (NR 32 MTE, 2005).

## 2.7 A Fluoroscopia como Ferramenta de Radiodiagnóstico

Em procedimentos invasivos, a técnica mais utilizada é a fluoroscopia devido a sua capacidade de fornecer imagens das características estruturais do paciente em tempo real. A técnica de fluoroscopia é resultado da integração de três equipamentos: um tubo de raios-X, um intensificador de imagem e monitor de TV (Figura 13). Essa técnica é aplicada para o diagnóstico em radiologia clínica durante procedimentos cirúrgicos ósseos e de órgãos (angiocardiografia, cateterismo cardíaco, urografias e neurografias) (GELEIJNS et al., 1998; ZAKERI & ASSAEI, 2004).



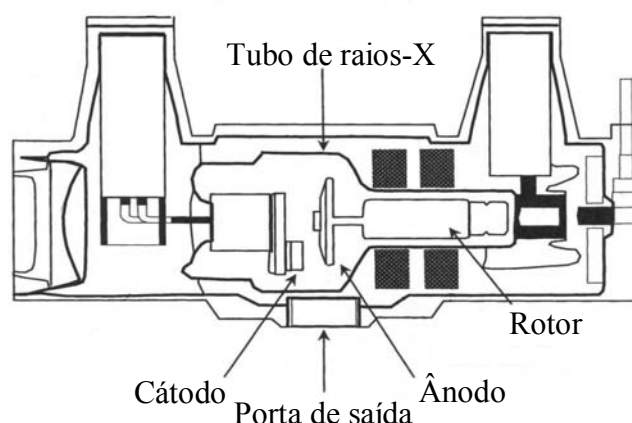
**Figura 13.** Esquema de um equipamento de fluoroscopia apresentando seus principais componentes físicos (WOLBARST, 1993).

### 2.7.1 O tubo de Raios-X



A produção de raios-X através do tubo ocorre quando um feixe de elétrons em alta velocidade choca-se contra um anteparo metálico (ânodo). Num tubo de raios-X há um filamento helicoidal de tungstênio que tem alto ponto de fusão (acima de 3300 °C) que atua como fonte de elétrons. Ao se aplicar uma diferença de potencial elétrico (cerca de 20-200 kV) com polaridade correta entre o ânodo e o cátodo do tubo de raios-X, o feixe de elétrons é acelerado e cria um fluxo de elétrons no sentido do cátodo para o ânodo. Estes elétrons acelerados ao colidirem com o ânodo têm parte de sua energia convertida em raios-X (Figura 14). Quanto maior a diferença de potencial elétrico aplicado mais os elétrons serão acelerados e mais penetrantes será a radiação emitida pelo tubo de raios-X (SCAFF, 1997; DOWN & TILSON, 1999; HENDEE & RITENOUR, 2002).

Este processo produz energia cinética que será emitida de duas formas: como calor (99%) e raios-X (1%). Estes raios-X são emitidos em todas as direções, devido a isto, uma carapaça metálica envolve o tubo, blindando esta radiação e deixando passar apenas uma parte que será utilizada. A radiação que será utilizada é obtida por meio de uma abertura em uma placa metálica por onde passa a radiação, denominada de colimador primário do feixe. Para uma dada distância e uma dada abertura do diafragma (colimador primário), teremos um campo de dimensões máximas que será variado de acordo com as necessidades clínicas (SCAFF, 1997; SCHUELER, 2000; DOWN & TILSON, 1999; HENDEE & RITENOUR, 2002).

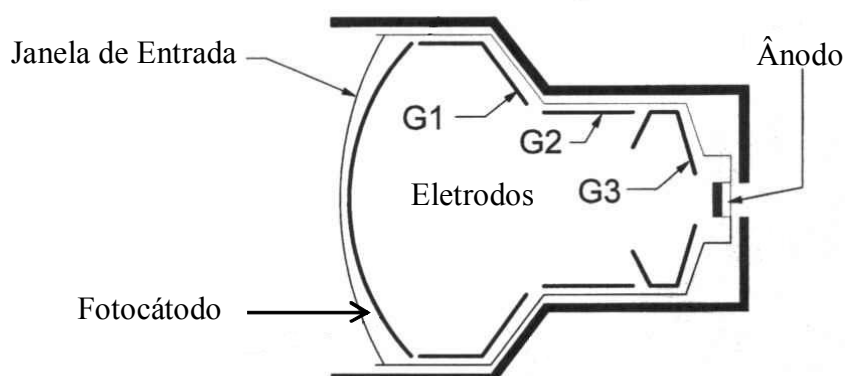


**Figura 14.** Representação dos componentes internos do tubo de raios-X (BUSHBERG et al., 2002).

### 2.7.2 Intensificador de imagem e monitor de TV

O tubo de raios-X produz a radiação utilizada para realizar o exame, esta por sua vez passa para o intensificador de imagem que transmitirá para um monitor de TV. O tubo de raios-X e o intensificador de imagem são segurados por um braço em forma de arco, onde fica o ligamento do tubo com o filtro, com a finalidade de reduzir a exposição do paciente à radiação (SCHUELER, 2000).

A estrutura interna do intensificador responsável pelo sistema elétron-óptico para a obtenção da imagem é composta por: fotocátodo, três eletrodos (G1, G2 e G3) e o ânodo (Figura 15) (BUSHBERG et al., 2002).

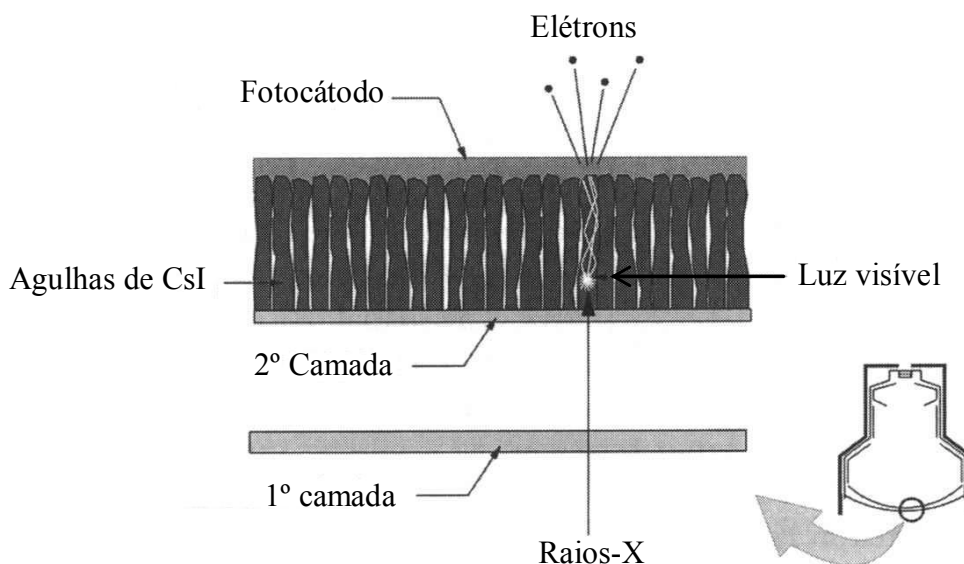


**Figura 15.** Representação da estrutura interna do intensificador de imagem (BUSHBERG et al., 2002).

O fotocátodo (Figura 16) consiste em quatro diferentes camadas (BUSHBERG et al., 2002):

- A primeira camada é formada de alumínio (espessura de aproximadamente 1mm) e irá suportar a pressão externa do ar e manter o vácuo dentro do tubo do intensificador;
- A segunda camada também é composta de alumínio (espessura de aproximadamente 0,5 mm) e é uma camada de suporte;

- A terceira camada é composta de iodeto de cézio (CsI) em forma de agulhas cristalizadas ao longo da camada com a função de capturar os raios-X e converter a sua energia em luz visível;
- A quarta camada é composta de antimônio e metais alcalinos que irão emitir elétrons atraídos pela luz visível para fora da camada.



**Figura 16.** Representação da estrutura do fotocátodo do intensificador de imagem (BUSHBERG et al., 2002).

Os eletrodos G1, G2 e G3 ficam dimensionados estrategicamente no interior no intensificador de imagem para que seja formado um campo elétrico no interior do tubo a vácuo. A finalidade deste campo é acelerar os elétrons fazendo com que a energia de cada um seja substancialmente aumentada (BUSHBERG et al., 2002).

Cada elétron causa a emissão de aproximadamente 1000 fótons de luz que serão captados na superfície de saída do tubo a vácuo do intensificador de imagem. A superfície desta saída é curvada no seu interior e plana no exterior, isto faz com que a imagem seja intensificada (BUSHBERG et al., 2002).

A distribuição óptica é iniciada por um espelho que irá direcionar fótons de luz captados da saída do tubo a vácuo do intensificador de imagem para as lentes. Nestas, os fótons são focados e posteriormente captados por um vídeo câmera onde uma imagem eletrônica será produzida e visualizada no monitor de TV (BUSHBERG et al., 2002).

A imagem é visualizada no monitor devido à diferença de densidade dos tecidos (fator de absorção) que faz com que o filtro do intensificador de imagem seja sensibilizado de forma diferente. A partir disto os detalhes da imagem formada é vista por diferentes tons de cinza. Pois, a função do intensificador de imagem é promover uma qualidade de imagem e reduzir a dose de radiação para o paciente submetido ao exame, para que isto ocorra existe o “*timer* de comando” em alguns modelos de equipamentos que irá cessar a emissão dos raios-X após a formação da imagem, proporcionando ao médico traumatologista a redução da exposição aos raios-X durante as intervenções cirúrgicas. Contudo, a imagem obtida com doses elevadas de radiação, pode acarretar em danos biológicos tanto para o profissional de saúde quanto para o paciente (SCHUELER, 2000; VETTER, 2004; HIRSHFELD et al., 2004).

A definição da imagem final depende de um conjunto completo de fatores que vão desde o funcionamento correto do equipamento até o posicionamento do paciente de forma adequada ao exame em questão (SCHUELER, 2000).

## **2.8 A Proteção Radiológica em Trabalhadores**

Em 1928, quase 30 anos após as descobertas dos raios-X (por Roentgen) e da radioatividade natural (por Becquerel) várias recomendações sobre o uso seguro da radiação foram propostas. Desde então, a importância de programas de proteção radiológica tem crescido tanto na aplicação da radiação ionizante como no interesse pelos riscos potenciais associados às irradiações (TUBIANA et al., 1996; UNSCEAR, 2000). Estudos sobre os primeiros radiologistas evidenciavam que eles apresentaram leucemia e câncer de pele resultados das exposições ocupacionais de muitos anos de trabalho. Em 1902, sete anos após a descoberta dos raios-X foram evidenciados casos sobre ocorrências de câncer de pele nas mãos dos radiologistas (CORBETT & HART,

1996; BOICE & LUBIN, 1997; ICRP 75, 1997; VETTER & STRECKER, 2001; VOISIN et al., 2004).

As primeiras recomendações para a radioproteção foram discutidas no Segundo Encontro do Congresso Internacional de Radiologia, junto com a Fundação do Comitê Internacional de Raios-X e Radioproteção, em 1928. Durante este encontro, surgiu à formação da Comissão Internacional de Proteção Radiológica – ICRP (*International Commission on Radiological Protection*). Objetivando quantificar essa exposição, a ICRP (1960) sugeriu a utilização de duas grandezas, que se relacionavam à dose física: a dose equivalente e a dose efetiva (Tabela 1) (ANEXO I).

**Tabela 1.** Principais grandezas da dosimetria utilizada na radioproteção (HIRSHFELD et al., 2004).

<b>Grandeza em dosimetria</b>	<b>Unidade</b>	<b>Definição da expressão</b>	<b>Aplicação</b>
<b>Dose absorvida</b>	gray (Gy)	Mede a quantidade de energia absorvida no tecido do indivíduo.	Avalia o potencial do risco biológico em um tecido específico.
<b>Dose equivalente</b>	sievert (Sv)	É a dose média absorvida no tecido relacionado com os fatores de ponderação para os diferentes tipos de radiação.	É a unidade mais utilizada para medir o risco de determinada radiação em um tecido específico na proteção individual.
<b>Dose efetiva</b>	sievert (Sv)	Converte qualquer absorção local ou dose equivalente para o fator de risco do corpo inteiro.	Permite comparar o risco entre várias exposições individuais e a distribuição da dose em diferentes órgãos.

O conhecimento dos níveis de doses em radioproteção é um passo importante para a avaliação dos riscos associados às exposições individuais ou coletivas. Com isso, instituições internacionais recomendam limites de doses para trabalhadores e membros do público, objetivando restringir esses riscos (ICRP 75, 1997; VOISIN et al., 2004).

Atualmente, a Comissão Internacional de Proteção Radiológica (*International Commission on Radiological Protection - ICRP*) recomenda o limite de dose em exposição ocupacional, de 20 mSv por ano, num período de 5 anos, com a restrição de que a dose absorvida não pode exceder os 50 mSv em um único ano. Para que este limite não seja ultrapassado, há três princípios gerais da ICRP a serem seguidos: justificção, otimização (ALARA) e limite de dose. O princípio da justificção determina que nenhuma prática que envolva exposição à radiação deve ser adotada, com exceção de que a exposição beneficie o indivíduo ou à sociedade. ALARA significa “*As Low As Reasonably Achievable*”, ou seja, a exposição à radiação deve se tornar o mais baixo possível, dentro do limite estabelecido. Estes três princípios foram propostos para que fosse possível estabelecer um controle do risco nas exposições individuais a partir de um limite da dose (ICRP 60, 1990; ICRP 75, 1997; VOISIN et al., 2004).

A Tabela 2 apresenta alguns dos limites primários anuais de dose equivalente para o trabalhador e indivíduos do público adotados como referência no Brasil. Numa análise rápida desta tabela, pode-se inferir, por exemplo, que as extremidades (mãos, antebraços, pés e tornozelos) são mais resistentes que o cristalino aos efeitos indesejáveis de uma irradiação localizada. (CNEN-NN-3.01, 2005).

**Tabela 2.** Limites primários anuais de dose equivalente.

<b>Dose Equivalente</b>	<b>Trabalhador</b>	<b>Indivíduo do Público</b>
<b>Efetiva (corpo inteiro)</b>	20 mSv(*)	1 mSv
<b>Cristalino</b>	150 mSv	50 mSv
<b>Pele</b>	500 mSv	50 mSv
<b>Extremidades (**)</b>	500 mSv	50 mSv

(\*) mSv = milisievert = 0,001 Sv.

(\*\*) mãos, antebraços, pés e tornozelos.

No Brasil, a monitoração de profissionais ocupacionalmente expostos aos raios-X é normatizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (MINISTÉRIO DA SAÚDE MS/SVS Nº 453, 1998). A ANVISA utiliza como

referência os mesmos limites de dose preconizados pela Comissão Nacional de Energia Nuclear – CNEN (CNEN-NN-3.01, 2005), que por sua vez está de acordo com as recomendações da Comissão Internacional de Proteção Radiológica (ICRP), para a qual a dose efetiva anual não deve exceder 20 mSv numa média ponderada em 5 anos consecutivos desde que não exceda 50 mSv em qualquer ano.

Com relação aos conceitos básicos de radioproteção que podem ser aplicados na monitoração individual e controle de saúde do trabalhador, há a recomendação do uso de dosímetros individuais e equipamentos de proteção individual (avental, luvas, protetor de tireóide e óculos) de material equivalente ao chumbo. Além do uso dos equipamentos protetores, devem-se realizar investigação da dose efetiva mensal superiores a 1,5 mSv em indivíduos que trabalham em mais de um serviço. Além disso, as medidas devem ser tomadas de modo a garantir que a soma das exposições ocupacionais não ultrapassem os limites de doses estabelecidos. Em particular, controles periódicos de saúde não substituem o programa de monitoração individual (ICRP 75, 1997; MINISTÉRIO DA SAÚDE MS/SVS Nº 453, 1998; CNEN-NN-3.01, 2005).

Para a quantificação da dose absorvida faz-se necessário supervisionar as condições de exposição à radiação por meio da dosimetria física. Existem diversos tipos de dosímetros sensíveis à radiação como os dosímetros fotográficos, detectores gasosos, dosímetros semicondutores, termoluminescentes e químicos (KNOLL, 1989; GERMAIN, 1995). A ICRP 75 (1997) recomenda o uso de diversos dosímetros localizados em diferentes pontos do corpo, inclusive nos dedos, para os indivíduos que, em sua rotina de trabalho, são expostos à radiação ionizante. Do ponto de vista das normas trabalhistas, os dosímetros fotográficos são os mais utilizados para a monitoração de corpo inteiro, enquanto os dosímetros termoluminescentes são empregados para avaliação das doses em diferentes partes do corpo do indivíduo ocupacionalmente exposto (CNEN-NN-3.01, 2005).

Em 2005, o Ministério do Trabalho e Emprego aprovou a Norma Regulamentadora 32 (NR 32) - SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO EM SERVIÇOS DE SAÚDE (MTE, 2005), que estabelece procedimentos a serem seguidos no sentido de garantir a integridade física e mental do trabalhador da área de saúde.

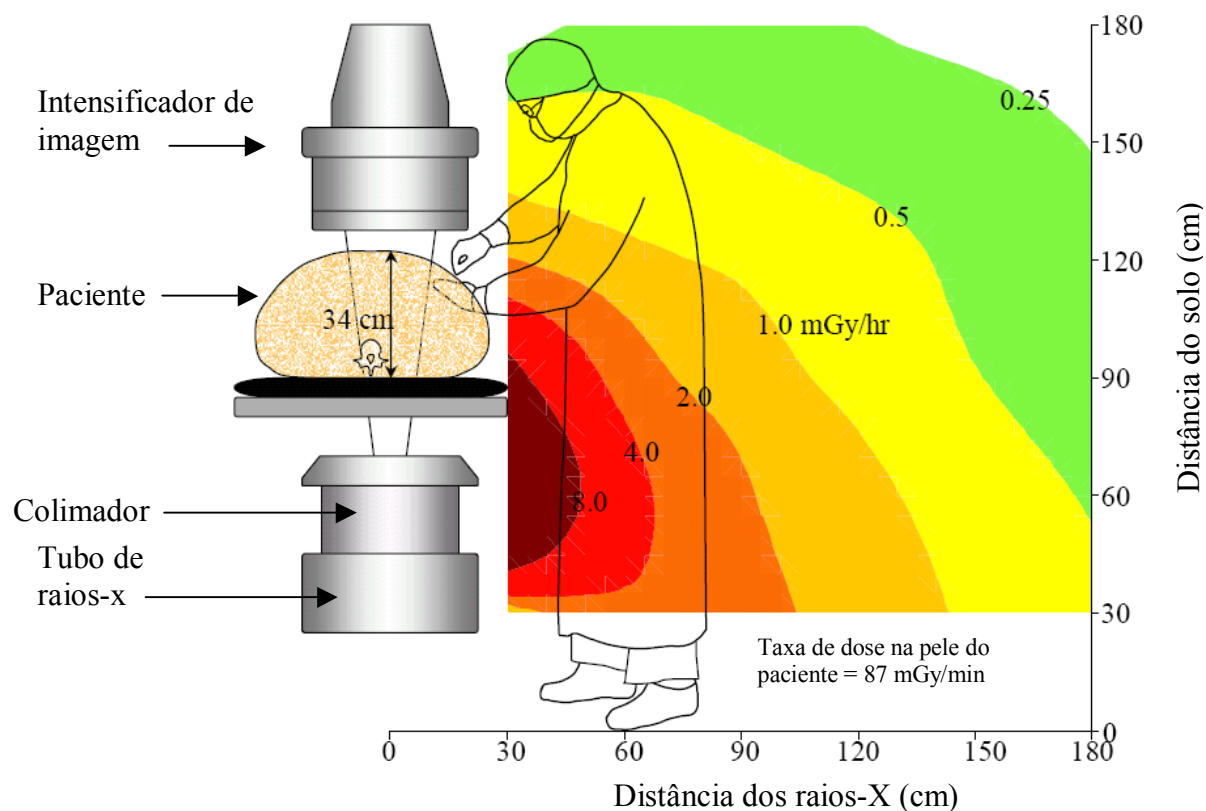
A Tabela 3 destaca os parágrafos da NR-32 que tratam da obrigatoriedade do emprego da dosimetria citogenética em casos de suspeita de exposição acidental às radiações ionizantes. É importante notar que a NR-32 não recomenda o uso da dosimetria citogenética em casos de monitoração individual.

**Tabela 3.** Parágrafos da norma NR-32 que tratam da obrigatoriedade do emprego da dosimetria citogenética (NR-32 MTE).

Parágrafo	NR-32 Segurança e Saúde no Trabalho em Serviços de Saúde
32.4.5.3	Na ocorrência ou suspeita de exposição acidental, os dosímetros devem ser encaminhados para leitura no prazo máximo de 24 horas.
32.4.5.4	Após ocorrência ou suspeita de exposição acidental a fontes seladas, devem ser adotados procedimentos adicionais de monitoração individual, avaliação clínica e a realização de exames complementares, incluindo a <b>dosimetria citogenética</b> , a critério médico.
32.4.5.5	Após ocorrência ou suspeita de acidentes com fontes não seladas, sujeitas a exposição externa ou com contaminação interna, devem ser adotados procedimentos adicionais de monitoração individual, avaliação clínica e a realização de exames complementares, incluindo a <b>dosimetria citogenética</b> , a análise <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> , a critério médico.

A Figura 17 apresenta uma estimativa dos níveis de taxa de dose, em função da distância, os quais um médico traumatologista está exposto quando está realizando as intervenções cirúrgicas (SCHUELER, 2000).

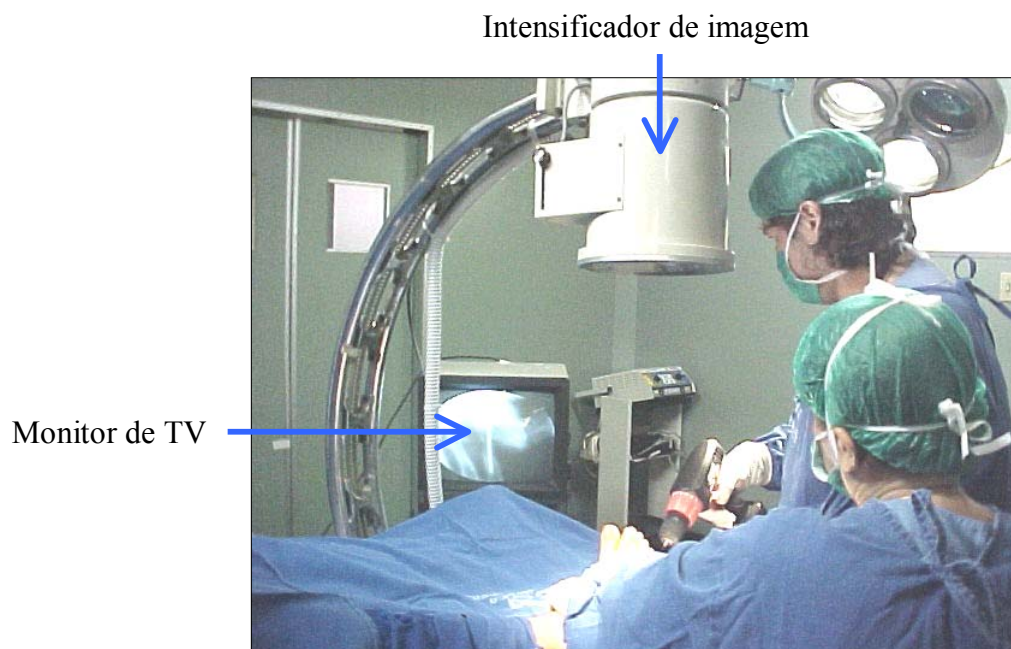




**Figura 17.** Distribuição dos níveis para taxas de doses próximas a um equipamento de fluoroscopia durante um procedimento cirúrgico (SCHUELER, 2000).

Um recente estudo realizado com 40 médicos traumatologistas da cidade do Recife-PE apresentou dados relevantes sobre o cotidiano de trabalho destes profissionais. Os resultados constataram que o controle da dose recebida por estes profissionais não é realizado adequadamente, uma vez que os profissionais investigados não utilizam rotineiramente os dosímetros individuais durante os procedimentos cirúrgicos com a fluoroscopia (Figura 18). Além disso, com relação ao uso de equipamentos de proteção individual, 26% não utilizavam o avental de material equivalente ao chumbo (0,05 mm de espessura) e 58% não utilizavam protetor de tireóide. Um fato relevante é que estes não receberam treinamento ou instruções para operar o equipamento emissor de radiação ionizante, apesar de existir uma Portaria na Legislação Brasileira (MINISTÉRIO DA SAÚDE MS/SVS Nº 453/98) que determina uma orientação sobre o manejo do aparelho na prática profissional (MENEZES, 2004).

Esses dados ressaltaram a necessidade de realizar maiores estudos sobre os efeitos biológicos da radiação nos médicos traumatologistas e avaliar os possíveis danos a saúde dos mesmos devido a estas exposições a radiação ionizante (MENEZES, 2004).



**Figura 18.** Foto de um médico traumatologista utilizando a fluoroscopia durante uma intervenção cirúrgica (GERAR).

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

Para este trabalho, foram utilizadas amostras de sangue de médicos traumatologistas da cidade do Recife, ocupacionalmente expostos à radiação ionizante. Esses profissionais concordaram gentilmente em fornecer amostras sanguíneas para a realização das análises de micronúcleos e aberrações cromossômicas instáveis. Os médicos traumatologistas foram selecionados levando-se em consideração os critérios de inclusão e exclusão, citados a seguir, com o objetivo de diminuir ao máximo possíveis variações.

#### **3.1 Indivíduos estudados**

Foram coletadas amostras de sangue de 11 médicos traumatologistas da cidade do Recife para serem submetidas à análise de micronúcleos e aberrações cromossômicas instáveis. O grupo estudado foi selecionado de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Esses profissionais estiveram cientes e interessados em participar desta pesquisa, tendo todos assinados o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO II) e preenchido o questionário relacionado ao modo de vida e rotina de trabalho (ANEXO III) antes da realização da coleta de amostras sanguíneas.

### **3.1.1 Critérios de exclusão dos indivíduos**

- Recusa do indivíduo quanto à participação nesta pesquisa;
- Circunstâncias materiais que tornem impossível o desenvolvimento normal da pesquisa.
- Indivíduos que apresentem algum tipo de patologia (infecções causadas por microorganismos e presença de doenças hematológicas) que altere os resultados da análise citogenética.

### **3.1.2 Critérios de inclusão e seleção dos indivíduos**

- Ser médico traumatologista da cidade do Recife, com mais de 10 anos de profissão com a utilização do equipamento de fluoroscopia na sua rotina de trabalho;
- Assinar o termo de consentimento livre e esclarecido e responder o questionário para doação do sangue a ser analisado por citogenética;
- Com base nas informações prestadas pelo próprio voluntário, ser um indivíduo saudável, sem patologia que possa alterar o resultado da análise (infecções causadas por microorganismos, presença de doenças hematológicas);

## **3.2 Metodologias para análise celular**

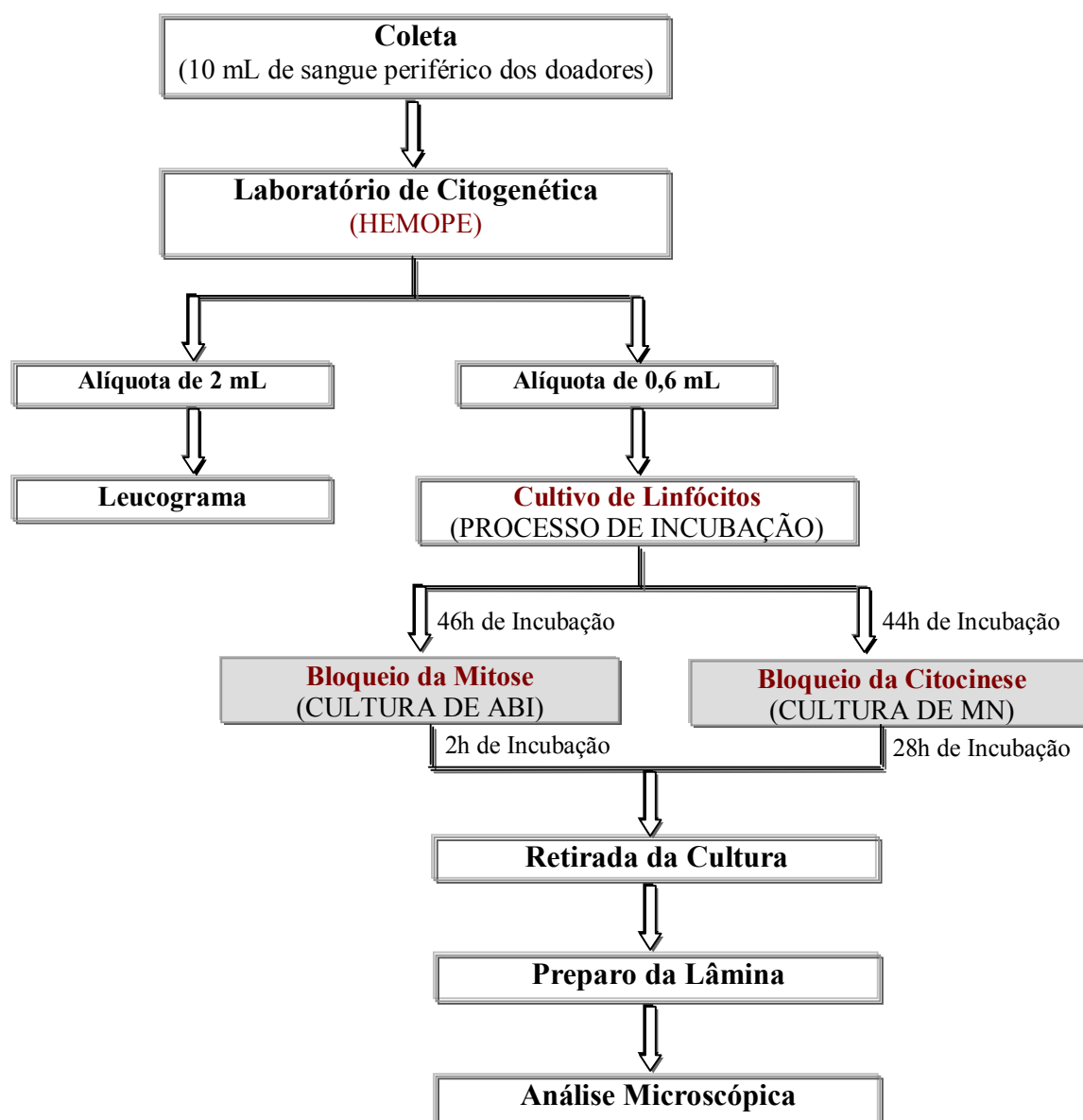
Foram utilizadas duas metodologias para a análise celular a partir do cultivo de linfócitos do sangue periférico dos doadores:

- Obtenção de aberrações cromossômicas instáveis (ABI);

- Obtenção de micronúcleo (MN).

Para cada metodologia, foi utilizada a quantificação de 1000 células, o que significa que para cada indivíduo foram contadas 2000 células. No grupo estudado, de 11 médicos traumatologistas, foram analisadas 22000 células, sendo 11000 células binucleadas da contagem do teste de micronúcleo e 11000 células em metáfase mitótica.

Toda metodologia será descrita de acordo com o fluxograma mostrado na Figura 19.



**Figura 19.** Fluxograma com as etapas da coleta sanguínea, cultivo de linfócitos, preparo das lâminas e análise microscópica.

### **3.2.1 Coleta e processamento das amostras**

Foram coletados 10 mL de sangue periférico dos médicos traumatologistas por meio de punção venosa, utilizando-se seringa estéril previamente heparinizada (5000 U/mL). As coletas foram realizadas no local de trabalho de cada indivíduo e posteriormente transportadas para a Unidade de Laboratórios Especializados (UNILABE) da Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE). Durante o transporte, as amostras foram acondicionadas para evitar o calor, a agitação e prevenir a hemólise sanguínea.

Na UNILABE, uma alíquota de 2 mL de sangue periférico foi encaminhada para o Laboratório de Citologia (UNILABE - HEMOPE) para a realização do leucograma. As amostras foram lidas através do equipamento de hematologia (COULTER) cerca de 30 minutos antes de iniciar o procedimento de cultivo celular.

Uma outra alíquota de 0,6 mL de sangue periférico foi levada para o Laboratório de Citogenética (UNILABE - HEMOPE) para a realização do procedimento de obtenção de aberrações cromossômicas instáveis e micronúcleos, em que para cada teste foram utilizados 0,3 mL da amostra.

### **3.2.2 Obtenção de aberrações cromossômicas instáveis (ABI)**

As etapas para a obtenção de aberrações cromossômicas instáveis foram seguidas de acordo com os trabalhos de Magnata (2002) e Fernandes (2005).

### 3.2.2.1 Etapas metodológicas de Cultivo, Retirada e Análise Celular

Após 30 minutos da coleta das amostras de sangue periférico foi iniciado o processo de incubação (cultivo de linfócitos). Neste procedimento, todo o manuseio foi realizado dentro da cabine de fluxo laminar (tipo II) para evitar a contaminação das amostras, onde a cultura de células *in vitro* necessita de condições absolutamente estéreis na sua manipulação. Para a incubação, foram utilizados frascos de vidro âmbar estéril, uma vez que os reagentes são fotossensíveis. Os frascos foram devidamente rotulados de acordo com a identificação de cada indivíduo estudado e técnica utilizada. Nesses frascos foram adicionados 4 mL de meio de cultura RPMI 1640 (CULTILAB), 1 mL de soro fetal bovino (CULTILAB), 0,1 mL de fitohemaglutinina (CULTILAB) e 0,3 mL do sangue coletado. Após a adição dos reagentes e do sangue, os frascos foram levados para a incubadora de CO<sub>2</sub>, que possui temperatura 37 °C e concentração 5% de CO<sub>2</sub> controlado.

Após completar 46 horas de incubação, foi adicionado aos frascos de cultura 0,1 mL de colchicina (SIGMA), com concentração final de 0,1 g/mL, e os frascos retornaram para a estufa incubadora de CO<sub>2</sub> por mais 2 horas.

Após as 2 horas em que foi adicionado a colchicina à cultura, foi iniciado o procedimento de retirada da cultura. A cultura foi transferida dos frascos para tubos plásticos de fundo cônico, com capacidade de 15 mL, e colocadas na centrífuga numa aceleração de 400 x g durante 6 minutos. Após isso, foi eliminado o sobrenadante sem agitar o sedimento celular. Este por sua vez foi ressuscitado com o auxílio de uma Pipeta Pasteur. No tubo de fundo cônico foi colocado 7 mL de solução hipotônica de KCl (0,56%) e logo depois foi adicionado o sedimento que estava na Pipeta Pasteur. A solução foi homogeneizada e o tubo levado para a estufa a 37°C por 15 minutos. Após esse tempo, foi adicionado ao tubo 1 mL de fixador (metanol/ácido acético, na proporção de 3:1), homogeneizou e o levou novamente para a centrífuga numa aceleração de 400 x g por 6 minutos. Após isso, eliminou-se o sobrenadante, foi colocado 7 mL de fixador e homogeneizou o material, deixando o tubo em temperatura ambiente por 30 minutos. Após esse repouso, o tubo foi centrifugado numa aceleração de 400 x g por 6 minutos, o sobrenadante foi desprezado e foi adicionado no material

7 mL de fixador. Este último procedimento foi repetido por mais duas vezes até a obtenção de um sedimento celular límpido.

O sedimento foi ressuspendido em 1,0 mL de fixador fresco e pingado com duas gotas da suspensão celular sobre a lâmina inclinada, a uma distância de aproximadamente 30 cm. Para a obtenção de uma lâmina com melhor qualidade, estas foram lavadas para que fosse eliminado os resíduos de gordura e imersas em água destilada a 4 °C. O contato da água com a solução fixadora, presente na suspensão, faz com que o material biológico se espalhe sobre a lâmina com facilidade, evitando a sobreposição entre os cromossomos. Em seguida, as lâminas com o material para análise foram mantidas em temperatura ambiente para a secagem e coradas com uma solução de Giemsa (4%) por 4 minutos.

Após a preparação das lâminas, a análise foi procedida no microscópio óptico (OLYMPUS BX 60). As fotomicrografias das células em metáfase foram obtidas através da captura de imagens com câmera digital (PIPER GMBH FK-7512-IQ) com o auxílio de um software (LEICA CW 4000 KARYO VERSION 1.0).

### **3.2.3 Obtenção de micronúcleo (MN)**

O princípio e metodologia para a coleta, cultivo de linfócitos, retirada e preparo das lâminas é o mesmo que para a obtenção de aberrações cromossômicas instáveis, ressaltando algumas modificações descritas na Tabela 4.



**Tabela 4.** Modificações das etapas metodológicas da Técnica de Análise Citogenética para obtenção de micronúcleo (MN).

<b>Etapas Metodológicas Modificadas</b>	<b>Micronúcleo</b>
Cultivo de Linfócitos	<p>-Adiciona 1,5 mL de soro fetal bovino ao invés de 1,0 mL;</p> <p>-Tempo de incubação é de 72 h;</p> <p>-Após 44h de incubação, adicionar 0,1 mL de citocalasina B (SIGMA) e conservar na incubadora de CO<sub>2</sub> por mais 28 horas.</p> <p>Obs: Para esta técnica não se coloca a colchicina.</p>
Retirada da Cultura	<p>-É iniciada após 72 horas de cultivo celular;</p> <p>-Adicionar 5 mL de NaCl a 0,9% (ao invés de KCl 0,56%), para que não ocorra rompimento da membrana celular.</p> <p>-Acrescentar no primeiro fixador 3 gotas de formaldeído. Repetir por mais duas vezes a centrifugação e a adição de fixador sem o formaldeído até que o sedimento torne-se límpido.</p>

As etapas para a obtenção de micronúcleo foram realizadas de acordo com os trabalhos de Barbosa (2003) e Fernandes (2005), contudo houve uma adaptação no procedimento de retirada, em que foi adicionado 3 gotas de formaldeído (RIBEIRO et al., 2003) para que ocorresse uma melhor preservação do citoplasma e conseqüentemente uma melhor visualização dos micronúcleos.

As lâminas coradas foram analisadas no microscópio óptico (LEITZ WETZLAR) e a realização da fotomicrografia dos micronúcleos foi através da câmera digital KODO KC-512-NT e do software LEICA QWIN LITE VERSION 2.6 para captura da imagem da célula binucleada na lâmina.

As células binucleadas que foram quantificadas durante a análise de micronúcleos possuíam as seguintes características de acordo com o descrito por Ribeiro e colaboradores (2003):

- a) Visualização intacta das membranas citoplasmáticas e núcleos, apresentando tamanhos e colorações aproximadamente iguais dentro do limite citoplasmático;
- b) Micronúcleos com morfologia idêntica à dos núcleos principais, possuindo um diâmetro entre  $1/16$  até, no máximo,  $1/3$  dos núcleos principais.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Dados do questionário dos indivíduos estudados

Os critérios de exclusão pré-estabelecidos não se aplicaram neste trabalho uma vez que todos os indivíduos consultados aceitaram participar da pesquisa e não apresentavam patologias que pudessem alterar os resultados da análise citogenética. A Tabela 5 apresenta as informações obtidas pelo questionário relacionado ao modo de vida e de rotina de trabalho (ANEXO III) dos 11 médicos traumatologistas estudados no presente trabalho.

**Tabela 5.** Dados obtidos pelo questionário do modo de vida e trabalho do grupo de médicos estudados.

<b>Trabalhador (idade/sexo)</b>	<b>Local de Trabalho (Clínica)</b>	<b>Tempo de Serviço (anos)</b>	<b>Fumante</b>
<b>A:</b> 48/M	I	22	Não
<b>B:</b> 40/M	I	15	Não
<b>C:</b> 37/M	I	12	Não
<b>D:</b> 50/M	I	25	Não
<b>E:</b> 47/M	I	20	Não
<b>F:</b> 37/M	II e IV	14	Não
<b>G:</b> 41/M	II e IV	18	Não
<b>H:</b> 52/M	II	30	Não
<b>I:</b> 58/M	II	33	Sim
<b>J:</b> 49/M	II e V	24	Não
<b>L:</b> 55/M	III	28	Sim

Com relação às informações obtidas no questionário, todos os indivíduos analisados são do sexo masculino com idades que variam de 37 a 58 anos. Esses profissionais receberam os códigos de A a L e os locais de trabalho foram denominados em Clínica I, II, III, IV e V com a finalidade de facilitar a identificação das amostras e preservar o anonimato. Os médicos relataram no questionário (ANEXO III) que nos últimos 6 meses não manipularam agentes químicos mutagênicos. Quanto ao fumo, a maioria destes relataram não serem fumantes, com exceção dos indivíduos I e L.

Os indivíduos relataram no questionário que possuem uma média de tempo de trabalho de 22 anos com carga horária de 40 horas semanais. Em sua rotina de trabalho eles relataram que realizam uma média de 4 cirurgias por mês com a utilização da fluoroscopia, e o tempo de exposição aos raios-X nas intervenções cirúrgicas variou de 10 a 30 minutos.

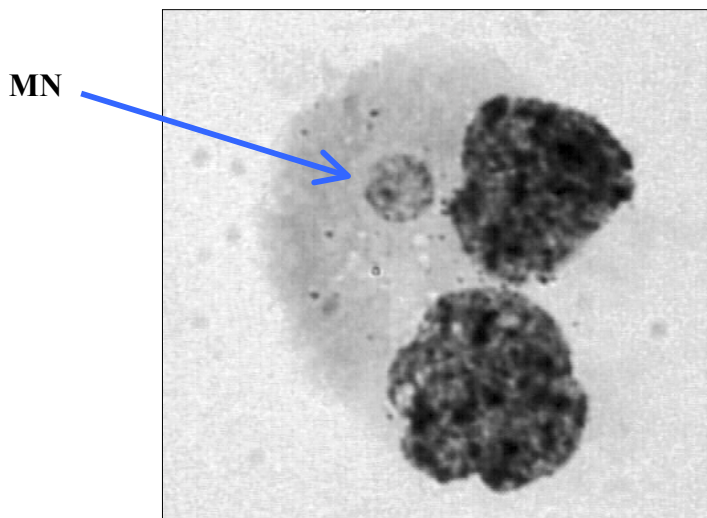
No questionário foram realizadas perguntas sobre as normas de radioproteção em vigor (CNEN-NN-3.01/05; MINISTÉRIO DA SAÚDE MS/SVS Nº 453/98) onde todos os indivíduos relataram que não utilizavam dosímetros físicos durante a atividade com o equipamento de raios-X. Quanto ao uso dos equipamentos de proteção individual (protetor de tireóide, avental, luvas plumbíferas e óculos com lentes de material equivalente ao chumbo) foi constatado que os entrevistados utilizavam eventualmente esses EPIs durante as intervenções cirúrgicas em sua rotina de trabalho.

## **4.2 Leucograma dos indivíduos estudados**

Com relação ao leucograma realizado nas amostras de sangue periférico do grupo estudado, foi observado que a maioria destes apresentou uma concentração de leucócitos dentro da faixa considerada normal, de 4000-11000 leucócitos totais/mm<sup>3</sup> (FAILACE, 1995). Em particular, o indivíduo C apresentou o número de leucócitos um pouco abaixo do normal (3600 leucócitos/mm<sup>3</sup>), mas este fato não está relacionado com a exposição à radiação ionizante, pois este indivíduo afirmou no questionário que possuía uma leucopenia há muitos anos.

### 4.3 Análise de Micronúcleo

A análise de micronúcleo foi realizada em 1000 células linfocitárias de todos os indivíduos. A figura 20 apresenta um exemplo típico de uma célula binucleada com um micronúcleo (MN).



**Figura 20.** Fotomicrografia de uma célula binucleada com presença de micronúcleo, indicado pela seta, obtida da amostra dos 11 médicos traumatologistas estudados - aumento: 100x.

A Tabela 6 apresenta as frequências de micronúcleo em linfócitos do sangue periférico dos 11 médicos traumatologistas ocupacionalmente expostos à radiação ionizante.

**Tabela 6.** Frequência de micronúcleos em 1000 células linfocitárias binucleadas de médicos traumatologistas da cidade do Recife, expostos à radiação ionizante.

<b>INDIVÍDUO / IDADE</b>	<b>MN/1000</b>
<b>A: 48</b>	22
<b>B: 40</b>	14
<b>C: 37</b>	26
<b>D: 50</b>	32
<b>E: 47</b>	35
<b>F: 37</b>	30
<b>G: 41</b>	22
<b>H: 52</b>	13
<b>I: 58</b>	8
<b>J: 49</b>	9
<b>L: 55</b>	30

*MN – Micronúcleos.*

De acordo com as frequências apresentadas na Tabela 6 é possível verificar que o menor valor foi encontrado no indivíduo I, em contrapartida, o maior valor foi do indivíduo E.

O relatório da IAEA (2001) descreve uma frequência de micronúcleo no intervalo entre 2 a 36 em 1000 células binucleadas analisadas de indivíduos (população mundial) não expostos à radiação ionizante. O indivíduo E obteve uma frequência de 35 micronúcleos em 1000 células binucleadas analisadas, valor este que mais se aproxima do valor máximo estabelecido pela IAEA (2001), isto pode ter ocorrido devido ao fato de que o indivíduo E realize a fluoroscopia através do equipamento (Arco cirúrgico modelo Unimax – Siemens) em que o “*timer* de comando” não funciona e não há colimação do feixe de raios-X para que o campo seja reduzido apenas para a área de interesse do paciente. A principal função do “*timer* de comando” e colimação do feixe é reduzir a taxa de exposição no médico traumatologista. Vale salientar que todos os indivíduos analisados utilizam eventualmente os EPIs e que no indivíduo E foi observado o desenvolvimento de radiodermite crônica nas mãos.

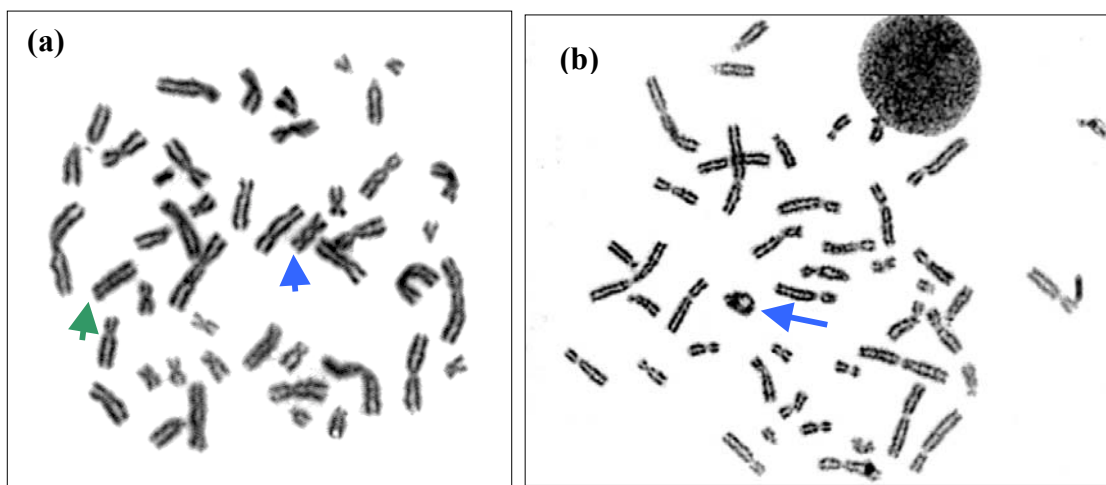
Comparando os valores apresentados na Tabela 6 com os valores encontrados para a frequência de micronúcleo em trabalhos com indivíduos de Pernambuco não expostos à radiação ionizante ( $0,0011 \pm 0,0003$ ) (BARBOSA, 2003; FERNANDES, 2005) podemos observar que os valores descritos na Tabela 6 são maiores ( $p < 0,01$ ).

Estudos com profissionais de saúde expostos à radiação ionizante relatam uma frequência de micronúcleo que varia de 36 a 75 em 1000 células binucleadas analisadas (VOISIN et al., 2001; ZAKERI & ASSAEI, 2004; THIERENS et al., 2005). Comparando com os valores encontrados na Tabela 6 estes se apresentam menores.

Estudos relatam que as frequências de micronúcleos podem sofrer interferências por exposição a agentes químicos mutagênicos e o fumo (CORNFORTH & GOODWIN, 1991; THIERENS et al., 2000; RIBEIRO et al., 2003; NORPPA & FALCK, 2003), no entanto, os resultados apresentados na Tabela 6 encontram-se dentro do esperado, uma vez que os indivíduos fumantes I e L obtiveram frequências dentro da faixa de normalidade proposta pela IAEA (2001).

#### **4.4 Análise de Aberrações Cromossômicas Instáveis**

A frequência de aberrações cromossômicas instáveis (ABI) foi determinada nas amostras de sangue periférico dos 11 médicos traumatologistas estudados (Tabela 7). A figura 21 evidencia as seguintes ABI: cromossomo dicêntrico, fragmento cromossômico e cromossomo em anel.



**Figura 21.** Fotomicrografias das principais alterações cromossômicas de metáfases mitóticas obtidas da amostra dos 11 médicos traumatologistas estudados: (a) cromossomo dicêntrico na seta azul e fragmento na seta verde; (b) cromossomo em anel. Aumento de 100X.

A partir da quantificação de ABI foram obtidas as frequências de aberrações cromossômicas instáveis dos 11 médicos traumatologistas estudados, que estão apresentadas na Tabela 7.



**Tabela 7.** Frequência de aberrações cromossômicas em 1000 metáfases mitóticas de médicos traumatologistas da cidade do Recife, expostos à radiação ionizante.

INDIVÍDUO (idade)	Frequência de aberrações cromossômicas instáveis (ABI/1000)			
	An	Fg	Dc	Total de ABI
A: 48	0	4	3	7
B: 40	0	6	2	8
C: 37	0	4	2	6
D: 50	1	6	2	9
E: 47	0	2	1	3
F: 37	0	2	2	4
G: 41	0	2	1	3
H: 52	0	8	4	12
I: 58	0	6	1	7
J: 49	0	7	2	9
L: 55	1	2	2	5

*An – cromossomo em anel; Fg – fragmento; Dc – cromossomo dicêntrico.*

Na Tabela 7, é observado que os valores totais de aberrações cromossômicas instáveis acima de 5 foram dos indivíduos A, B, C, D, H, I, J e L. O que estes indivíduos tem em comum é que eles possuem um tempo de trabalho elevado. Estando esses dados em concordância com o estudo de Wang e colaboradores (1998) que relatam que quanto maior o tempo de serviço mais alto é o risco de câncer, ocasionado pelos danos genéticos, em profissionais de saúde que trabalham com os raios-X. Existe uma correlação em estudos epidemiológicos entre indivíduos com frequências elevadas de aberrações cromossômicas no sangue periférico e o risco elevado no desenvolvimento de câncer (BONASSI et al., 1995; HAGMAR et al., 1998; OBE et al., 2002).

O relatório da IAEA (2001) descreve uma frequência de 1 cromossomo dicêntrico em 1000 células analisadas de indivíduos não expostos à radiação ionizante,

numa população mundial. O trabalho de Sevan'kaev e colaboradores (1974), encontraram aproximadamente 1 cromossomo dicêntrico em 1000 células analisadas de indivíduos não expostos à radiação ionizante da União Soviética.

Fatores regionais podem interferir no valor encontrado de aberrações cromossômicas instáveis, como por exemplo: Ganguly (1993) que relatou um valor de aproximadamente 3 aberrações cromossômicas instáveis em 1000 células analisadas de indivíduos não expostos à radiação ionizante da Índia. Estudos realizados com indivíduos de Pernambuco (MAGNATA, 2002; FERNANDES, 2005) encontraram o valor de 1 cromossomo dicêntrico em 1000 metáfases mitóticas analisadas para indivíduos não expostos à radiação ionizante.

A avaliação estatística (teste *T-Student*) das aberrações cromossômicas instáveis quantificadas para o grupo de traumatologistas estudados, mostrou que o número de aberrações cromossômicas instáveis obtidas são significativamente superiores aos valores normalmente encontrados nos indivíduos do público ( $p < 0,01$ ).

Nos resultados apresentados na Tabela 7 os maiores valores para os cromossomos dicêntricos foram dos indivíduos A ( $Dc = 3$ ) e H ( $Dc = 4$ ), enfatizando que o cromossomo dicêntrico é o bioindicador específico para exposição à radiação ionizante. Este valor é considerado menor quando o correlacionamos com os encontrados ( $Dc = 5 - 9$ ) em trabalhos com profissionais ocupacionalmente expostos a raios-X (ZAKERI & ASSAEI, 2004; MONTORO et al., 2005).

Com relação ao número de fragmentos apresentados pela Tabela 6 é observado um valor elevado ( $Fg = 2 - 8$ ), este valor também foi encontrado nos trabalhos de Balakrishnan e Rao (1999) e em Paz-y-Miño e colaboradores (1995), onde eles estudaram trabalhadores de hospital ocupacionalmente expostos à radiação gama e a raios-X. Este fato foi também constatado pelo estudo de Maffei e colaboradores (2004) que relataram um aumento de fragmentos na contagem de aberrações cromossômicas instáveis em trabalhadores expostos a baixas doses de radiação ionizante.

Para tanto, estudos explicam que há fatores que podem interferir no aumento de fragmentos nas contagens de aberrações cromossômicas, entre eles estão: efeitos

cumulativos da radiação, mecanismos de reparo, resposta adaptativa a exposições crônicas, diferenças interindividual na sensibilidade da radiação, eliminação de danos nas células e exposição aguda precoce (LLOYD & PURROT, 1981; SASAKI, 1999; JHA & SHARMA, 1991; BARQUINERO et al, 1993).

Com relação à idade dos indivíduos, não foi possível realizar uma correlação direta entre a idade e a frequência de aberrações cromossômicas instáveis, correspondendo ao trabalho de Bigatti e colaboradores (1988) que analisou trabalhadores expostos a níveis baixos de radiação ionizante, como também, com o estudo de Chung e colaboradores (1996) que analisou trabalhadores de usinas nucleares.

#### 4.4.1 Obtenção da estimativa de dose a partir de curva dose-efeito biológico

Bothwell e colaboradores (2000) irradiaram amostras de sangue periférico com radiação ionizante, emitido por um equipamento de raios-X com 300 keV e 10 mA. Após a irradiação, foi realizada a quantificação de dicêntricos e a construção da equação 2 de dose-efeito:

$$Y = 3,21 \times 10^{-2}D + 9,15 \times 10^{-2}D^2 \quad (2)$$

Nesta equação, Y representa a quantidade de dicêntricos após irradiação com dose D em grays. Esta equação é utilizada para estimar a dose absorvida de corpo inteiro em indivíduos expostos uniformemente à radiação. De acordo com a IAEA (2001) os efeitos biológicos de linfócitos irradiados *in vitro* e *in vivo* são semelhantes.

Supondo uma exposição homogênea e substituindo-se os valores de Y com as frequências de cromossomos dicêntricos (Dc) de cada indivíduo podemos encontrar uma estimativa dos valores de dose absorvida (em grays), transformando esse valor em dose efetiva (em mSv). Com exceção dos indivíduos E, G e I, pois as frequências de Dc são iguais a 1, valor de normalidade proposta pela IAEA (2001), ter-se-á na Tabela 8:

**Tabela 8.** Estimativa da dose para os médicos traumatologistas ocupacionalmente expostos à radiação ionizante.

<b>INDIVÍDUO (idade)</b>	<b>Dose efetiva (mSv)</b>
<b>A: 48</b>	53
<b>B: 40</b>	28
<b>C: 37</b>	28
<b>D: 50</b>	28
<b>F: 37</b>	28
<b>H: 52</b>	76
<b>J: 49</b>	28
<b>L: 55</b>	28

Comparando os valores de dose descritos na Tabela 8 com a dose efetiva anual descrita pelas normas de radioproteção em vigor (CNEN-NN-3.01/05; MINISTÉRIO DA SAÚDE MS/SVS Nº 453/98) podemos observar que os indivíduos A, B, C, D, F, H, J, L estão com os valores acima do estabelecido na norma que é de 20 mSv. Em particular, o indivíduo H obteve um valor acima de 50 mSv. Tendo em vista este valor, Voisin e colaboradores (2001) sugerem que em casos de exposição aguda à radiação ionizante a dosimetria citogenética é empregada para informar os possíveis riscos à saúde a curto e longo prazo.

Em contrapartida, é preciso lembrar que os médicos traumatologistas recebem uma exposição não uniforme, onde é possível inferir que a frequência de aberrações cromossômicas instáveis no volume irradiado será inversamente proporcional quando comparado ao volume total do corpo. Assim, pode-se afirmar que a dose absorvida no volume irradiado é superior ao encontrado, uma vez que as doses anteriormente calculadas pressupunham uma dose absorvida homogênea. Ao contrário, aberrações cromossômicas originadas em regiões de dose absorvidas elevadas, diluem-se no sangue periférico, dificultando a avaliação dos diferentes níveis de dose por volume irradiado.

## 5. CONCLUSÕES

- As freqüências de aberrações cromossômicas instáveis e de micronúcleos nas amostras analisadas de sangue periférico de traumatologistas da região metropolitana de Recife foram muito superiores às de indivíduos não expostos às radiações ionizantes (indivíduos do público) da mesma região. Entretanto, apenas as freqüências de aberrações cromossômicas instáveis estiveram acima dos valores apresentados pela Agência Internacional de Energia Atômica para indivíduos não expostos.
- Com base na metodologia empregada para as análises citogenéticas realizadas e supondo uma irradiação homogênea de corpo inteiro, as avaliações das doses absorvidas indicaram que a maioria dos traumatologistas que participaram desta pesquisa receberam doses anuais acima de 20 mSv, ou seja, valor superior ao limite de dose anual preconizado pela CNEN para trabalhadores ocupacionalmente expostos às radiações ionizantes.
- Os resultados obtidos nesta pesquisa sugerem a aplicação das análises citogenéticas em avaliações periódicas das condições de radioproteção de traumatologistas não apenas em casos de suspeita de acidentes, mas como parte integrante do programa de gerenciamento da saúde ocupacional em atividades envolvendo exposição às radiações ionizantes.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K., WATSON, J.D. *Biologia molecular da célula*. 3. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1997. 1294 p.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Fundamentos da Biologia Celular – Uma introdução à biologia molecular da célula*. Porto Alegre: Artmed, 1999. 757 p.

ALBERTINI, R. J.; ANDERSON, D.; DOUGLAS, G. R.; HAGMAR, L.; HEMMINKI, K.; MERLO, F.; NATARAJAN, A. T.; NORPPA, H.; SHUKER, D. E. G.; TICE, R.; WATERS, M. D.; AITIO, A. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans, *Mutat. Res.*, v. 463, p. 111-172, 2000.

AMARAL, A. Trends in Biological Dosimetry: an Overview. *Brazilian Archives of Biology and Technology, Brasil*, v. 45, p. 119-124, 2002.

AMUNDSON A. S.; BITTNER, M.; MELTZER, P; TRENT, J; FORNACE, A. J. J. Biological indicator for the identification of ionizing radiation exposure in humans. *Expert Revista Molecular Diagnostic, Bethesda - USA*, v.1, p. 89-97, 2001.

AU, W.;BADARY, O. A.; HEO, M. Y. Cytogenetic assays for monitoring populations exposed to environmental mutagens. *Occup. Med.*, v.16, p. 345-357, 2001.

BAIN, B. *Células sanguíneas: um guia prático*. 3 ed. pp.437. Porto Alegre: Artmed, 2004.

BALAKRISHNAN, S; RAO, S. B. Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes of occupational workers exposed to low levels of ionizing radiation. *Mutat. Res.* v.442, p. 37-42, 1999.

BARBOSA, Isvânia Maria Serafim. *Quantificação de micronúcleos em linfócitos como dosímetro biológico em pacientes expostas à radiação gama*. Recife, PE, 2003. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 2003.

BARQUINERO, J. F.; BARRIOS, L.; CABALLIN, M. R.; MIRO, R.; RIBAS, M. SUBIAS, A. EGOZCUE, J. Cytogenetic analysis of lymphocytes from hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Mutat. Res.* v. 286, p. 275-279, 1993.

BIGATTI, P; LAMBERTI, L; ARDITO, G.; ARMELLINO, F. Cytogenetic monitoring of hospital workers exposed to low levels ionizing radiation. *Mutat. Res.* v. 204, p. 343-347, 1988.

BOICE, J. D.; LUBIN, J. H. Occupational and environmental radiation and cancer. v. 8, p 309-322, 1997.

BONASSI, S.; ABBONDANDOLO, A.; CAMURRI, L.; PRA, L. D.; FERRARI, M.; DEGRASSI, F.; FORNI, A.; LAMBERTI, L.; LANDO, C.; PADOVANI, P.; SBRANA, I.; VECCHIO, D.; PUNTONI, R. Are Chromosome Aberrations in Circulating Lymphocytes Predictive of Future Cancer Onset in Humans? Preliminary Results of an Italian Cohort Study. *Cancer Genet and Cytogenetic.* V. 79, p. 133-135, 1995.

BOTHWELL, A. M.; WHITEHOUSE, C. A.; TAWN, E. J. The application of fish for chromosome aberration analysis in relation to radiation exposure. *Radiation Protection Dosimetry.* v. 88, n. 1, p. 7-14, 2000.

BUSHBERG, J. T.; SEIBERT, J. A.; LEIDHOLDT, E. M.; BOONER, J. M. The essential physics of medical imaging. 2 ed. Philadelphia. Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2002. 933p.

BUSHONG, S. C. Radiologic science for technologists: physics, biology and protection. 6 ed. St. Louis: Ed. Mosby-Year Book, Inc, 1997. 586 p.

CATALÁN, J.; FALCK, G. C. M.; NORPPA, H. The X chromosome frequently lags behind in female lymphocyte anaphase. *Am. J. Hum. Genet.*, v. 66, p. 687-691, 2000.

CHUNG, H. W.; RYU, E. K.; KIM, Y. J.; HA, S. W. Chromosome aberrations in workers of nuclear-power plants. *Mutation Research*, v. 350, p. 307-314, 1996.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR. Norma 3.01/05. Diretrizes Básicas de Proteção Radiológica. Diário Oficial da União. Brasília: 06 de janeiro de 2005.

CORBETT, R. H.; HART, G. A burning question. *Br. J. Radiol.*; v. 69, n. 821, p 482, 1996.

CORNFORTH, M.N.; GOODWIN, E. H. Transmission of radiation-induced acentric chromosomal fragments to micronuclei in normal human fibroblasts. *Radiat. Res.*, v. 126, p. 210-217, 1991.

- DOWN, S. B.; TILSON, E. R. Practical radiation protection and applied radiobiology. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999. 352 p.
- EASTMOND, D. A.; TUCKER, J. D. Identification of aneuploidy – inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochores antibody. *Environ. Mol. Mutagen.*, v. 13, p. 34-43, 1989.
- FAILACE, R. Hemograma: manual de interpretação. 3. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1995. 198p.
- FALCK, G. C.; CATALÁN, J.; NORPPA, H. Nature of anaphase laggards and micronuclei in female cytokinesis-blocked lymphocytes. *Mutagenesis*. v. 17, p. 111-117, 2002.
- FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research*. n. 455, 81–95, 2000.
- FERNANDES, Thiago de Salazar. Emprego das aberrações cromossômicas instáveis e micronúcleos no biomonitoramento individual: estudo comparativo. Recife, PE, 2005. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 2005.
- GANGULY, B. B. Cell division, chromosomal damage and micronucleus formation in peripheral lymphocytes of healthy donors: related to donor's age. *Mutat. Res.* v. 295, p. 135–148, 1993.
- GELEIJNS, J.; BROERSE, J. J.; HUMMEL, W. A.; SCHALIJ, M. J.; SHULTZE, L. J.; TEEUWISSE, W.; ZOETELIEF, J. Reference dose rates for fluoroscopy guided interventions. *Radiation Protection Dosimetry*, v. 80, n. 1-3, p. 135-138, 1998.
- GERMAIN, J. St. Radiation Monitoring with reference to the medical environment. *Health Physics*, v. 69, p. 728-749, 1995.
- HAGMAR, L.; BONASSI, S.; STROMBERG, U.; BROGGER, A.; KNUDSEN, L. E.; NORPPA, H.; REUTERWALL, C. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and health. *Cancer Res.* v. 58, p. 4117-4121, 1998.
- HALL, E. J. Radiobiology for the radiologist. Philadelphia, JB. Lippincott, 1994. cap. 2. p. 15-27.
- HANDE, M. P.; AZIZOVA, T. V.; BURAK, L. E.; KHOKHRYAKOV, V. F.; GEARD, C. R.; BRENNER, D. J. Complex chromosome aberrations persist in individuals many years after occupational exposure to densely ionizing radiation: an M-Fish study. *Genes, Chromosomes & Cancer*. v. 44, p. 1-9, 2005.



HENDEE, W. R.; RITENOUR, E. R. *Medical Imaging Physics* – New York: Wiley-Liss, 2002.

HIRSHFELD, J. W.; FACC, J. M. D.; FAHA, F. S. C. A. I. ACCF/AHA/HRS/SCAI Clinical Competence Statement on Physician Knowledge to Optimize Patient Safety and Image quality in fluoroscopically guided Invasive Cardiovascular Procedures. *Journal of the American College of Cardiology*. v. 44, n. 11, 2004.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA), Technical report series, *Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment – a manual*. Vienna: IAEA, 2001. n. 405.

INTERNACIONAL COMISSON ON RADIOLOGICAL PROTECTION (ICRP). *General principles for the Radiation Protection of Workers*. ICRP. Report 75, Elmsford, NY. Pergamon Press, ICRP Publication, 1997.

INTERNACIONAL COMISSON ON RADIOLOGICAL PROTECTION (ICRP). *Recommendation of the International Commission on Radiological Protection*. ICRP. Report 60, Elmsford, NY: Pergamon Press, ICRP Publication, 1990.

JAYARAMAN, S.; LAWRENCE, H. *Clinical Radiotherapy Physics: Clinical Planning and Radiation Safety*, v. 2. New York: Ed. CRC Press, 1996. 235p.

JHA, A. N.; SHARMA, T. Enhanced frequency of chromosome aberrations in workers occupationally exposed to diagnostic X-rays. *Mutat. Res.* v 260, p. 343-348, 1991.

KOENIG, T. R.; WOLFF, D.; METTLER, F. A.; WAGNER, L. K. Skin injuries from fluoroscopically guided procedures: part 1, characteristics of radiation injury. *Arj Am J Roentgenol.*, v. 177, n. 1, p. 1, 2001.

KIRSCH-VOLDERS, M.; FENECH, M. Inclusion of micronuclei in non-divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purpose. *Mutagenesis*, v.16, p 51-58, 2001.

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

LLOYD, D.C.; PURROT, R. J. Chromosome analysis in radiological protection dosimetry. *Radiat. Prot. Dosim.*, v.1, p.19-28, 1981.

MAFFEI, F.; ANGELINI, S.; FORTI, G. C.; VIOLANTE, F. S.; LODI, V.; MATTIOLI, S.; HRELIA, P. Spectrum of chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of hospital workers occupationally exposed to low doses of ionizing radiation. *Mutation Research*. v 547, p 91–99, 2004.

MAGNATA, Simey de Souza Leão Pereira. Aberrações cromossômicas instáveis em linfócitos de pacientes com câncer de colo de útero. Recife, PE, 2002. Originalmente apresentada como dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 2002.

MENEZES, Giovanni Mota. Radiodermite crônica ocupacional entre ortopedistas da Região Metropolitana do Recife: acidente do desconhecimento. Recife, PE, 2004. Originalmente apresentada como monografia para pós-graduação lato sensu em Medicina do Trabalho, Faculdade de Medicina de Itajubá, 2004.

MIGLIORE, L.; BOCCIARDI, R.; MACRI, C.; LO JACONO, F. Cytogenetic damage induced in human lymphocytes by four vanadium compounds and micronucleus analysis by fluorescence in situ hybridization with a centromeric probe. *Mutat. Res.* v. 319, p. 205-213, 1993.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doenças relacionadas ao trabalho: manual de procedimentos para os serviços de saúde. Brasília, 2001. p 407-409.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) MS/SVS-453. Diretrizes de Proteção Radiológica em Radiodiagnóstico Médico e Odontológico. Diário Oficial da União. Brasília: 02 de junho de 1998.

MONTORO, A.; RODRÍGUEZ, P.; ALMONACID, M.; VILLAESCUSA, J. I.; VERDÚ, G.; CABALLÍN, M. R.; BARRIOS, L.; BARQUINERO, J. F. Biological Dosimetry in a Group of Radiologists by the Analysis of Dicentrics and Translocations. *Radiation Research*, v. 164, p. 612-617, 2005.

MOORE, L. E.; TITENKO-HOLLAND, N.; QUINTANA, P. J.; SMITH, M. T. Novel biomarkers of genetic damage in humans: use of fluorescence in situ hybridization to detect aneuploidy and micronuclei in exfoliated cells. *J. Toxicol. Environ. Health*, v. 40, p. 349-357, 1993.

NATARAJAN, A. T. Chromosome aberrations: past, present and future. *Mutat. Res.*, v. 504, p. 3-16, 2002.

NORRIS, T. G. Radiation safety in fluoroscopy. *Radiol Technol.* v. 73, n. 6, p. 511-533, 2002.

NORPPA, H.; FALCK, G. C. M. What do human micronuclei contain? *Mutagenesis*. v. 18, n 3, p. 221-233, 2003.

NR 32 - SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO EM SERVIÇOS DE SAÚDE. Portaria MTE n.º 485, de 11 de Novembro de 2005 (DOU de 16/11/05 – Seção 1).

OBE, G.; PFEIFFER, P.; SAVAGE, J. R.; JOAHNNES, C.; GOEDECKE, W.; JEPPESEN, P.; NATARAJAN, A. T.; MARTINEZ-LOPES, W.; FOLLE, G. A.; DRETS, M. E. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. *Mutat. Res.*, v.504, p 17-36, 2002.

PAZ-Y-MIÑO, C; LEONE, P. E.; CHAVEZ, M.; BUSTAMANTE, G.; CÓRDOVA, A.; GUTIÉRREZ, S.; PEÑAHERRERA, M. S.; SÁNCHEZ, M. E. Follow up study of chromosome aberrations in lymphocytes in hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Mutat. Res.* v 335, p. 245-251, 1995.

PIERRE, M. Treatment of ocupacional radiodermatitis of the hands in physicians. *Bull Soc. Fr. Dermatol. Spyligr.*, v. 74, n. 1, p. 101, 1967.

PFEIFFER, P.; GOEDECKE, W.; OBE, G. Mechanisms of DNA double-strand break repair and their potential to induce chromosomal aberrations. *Mutagenesis.* v.5, p289-302, 2000.

POUGET, J. P.; MATHER, S. J. General aspects of the cellular response to low and high LET radiation. *Eur. J Nucl Med.* v. 28, p 541-561, 2001.

RIBEIRO, L. R; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. Mutagênese ambiental. capt 8 - teste do micronúcleo em células humanas in vitro. Canoas: Ed. Ulbra, 2003. 356p.

RAPAPORT, S. I. Introdução à Hematologia. 2 ed. São Paulo: Roca, 1990.

SASAKI, M. S. F-value as a chromosomal fingerprint of the quality of radiation. *J Radiat. Res.* V. 40, p 165-167, 1999.

SAVAGE, J.R. Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J. Med. Genet.*, v. 13, p103-122, 1976.

SCAFF, L.A.M. Física da radioterapia. São Paulo: Sarvier. 351p. 1997

SCHUELER, B. A. The AAPM/RSNA Physics Tutorial for Residents – General Overview of Fluoroscopic Imaging. *Imaging & Therapeutic Tecnology.* v. 20, p.1115-1126, 2000.

SEVAN'KAEV, A. V.; KOZLOV, V. M.; GUSEEV, G. G.; IZMAILOVA, N. N. Frequency of spontaneous chromosome aberrations in the culture of human lymphocytes. *Genetics.* v.10, p. 114-120, 1974.

SNUSTAD, P. D.; SIMMONS, M. J. Fundamentos da Genética. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2 ed. 756 p. 2001

SURRALLÉS, J.; NATARAJAN, A. T. Human lymphocytes micronucleus assay in Europe: an international survey. *Mutat.Res.* v.392, p.165-174, 1997.

TUBIANA, M.; GALLE, P.; SCHLUMBERGER, M.; COSSET, J.M.; BACHER, P. Tchernobyl : le vrai, le faux et l'incertain. SFEN, Paris, 1996.

THIERENS, H.; VRAL, A.; MORTIER, R; AOUSALAH, B.; DE RIDDER, L. Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus centromere assay. *Mutagenesis.* v. 15, n. 3, p. 245-249, 2000.

THIERENS, H.; DE RUYCK, K.; VRAL, A.; DE GELDER, V.; WHITEHOUSE, C. A.; TAWN, E. J.; BOESMAN, I. Cytogenetic biodosimetry of an accidental exposure of a radiological worker using multiple assays *Radiation Protection Dosimetry.* v. 113, n. 4, p. 408-414, 2005.

UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON THE EFFECTS OF ATOMIC RADIATION – UNSCEAR, Sources, effects and risks of ionizing radiation, New York, 2000.

VETTER, R. J. Medical Health Physics : a Review. *Health Physics Society.* v. 86, n. 5, p 445-456, 2004.

VETTER, S.; STRECKER, E. P. Clinical aspects of quality criteria in digital radiography. *Radiation Protection Dosimetry.* v. 94, p. 33-36, 2001.

VOISIN, P.; BEDERITTER, M.; CLARAZ, M.; CHAMBRETTE, V.; SOROKINE-DURM, I.; DELBOS, M.; DURAND, V.; LEROY, A.; PAILLOLE, N. The cytogenetic dosimetry of recent accidental overexposure. *Cell. Mol. Biol.*, v. 47, p. 557-564, 2001.

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

ZAKERI, F.; ASSAEI, R. G. Cytogenetic monitoring of personnel working in angiocardiology laboratories in Iran hospitals. *Mutation Research.* v. 562, p. 1-9, 2004.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. Hematologia: fundamentos e prática. São Paulo: Atheneu, 2001.1043p.

WANG, Z.Q.; LIU, X.P.; LI, J.; WANG, Q.; TANG, W.S.; SUN, Y.M.; WANG, X.L.; AOYAMA, T.; SUGAHARA, T. Retrospective dose reconstruction for medical diagnostic x ray workers in china using stable chromosome aberrations. *Radiation Protection Dosimetry*. v. 77, n. 1, p. 87–89, 1998.

WOLBARST, A. B. *Physics of Radiology*, Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut, 1993.

## ANEXO I – GRANDEZAS EM DOSIMETRIA (ICRP 60, 1990)

### 1. DOSE ABSORVIDA

A dose absorvida é definida como sendo a quantidade de energia absorvida “dE”, liberada pela radiação ionizante, por unidade de massa desse volume “dm”, resultante da interação da radiação, a equação da dose absorvida é:

$$D = \frac{\overline{dE}}{dm} \quad (3)$$

Onde:

$\overline{dE}$  - é a energia média depositada pela radiação;

$dm$  - volume elementar de matéria de massa.

A unidade da dose absorvida no Sistema Internacional é o joule (J) por quilograma (kg) que recebe a denominação especial de gray (Gy).

### 2. DOSE EQUIVALENTE (HT)

A dose equivalente é expressa:

$$H_T = \sum_R W_R \cdot D_{T,R} \quad (4)$$

Onde:

$D_{T,R}$  - é a dose absorvida média no tecido no órgão T, devido á radiação ionizante R;

$W_R$  – fator de ponderação da radiação.

A unidade da dose equivalente no Sistema Internacional é o joule (J) por quilograma (kg) com a denominação especial de sievert (Sv).

### 3. DOSE EFETIVA (E)

A dose efetiva (E) é a grandeza expressa por:

$$E = \sum_T W_T \cdot H_T \quad (5)$$

Onde:

$H_T$  – é a dose equivalente média no tecido ou órgão T (unidade é o sievert (Sv));

$W_T$  – é o fator de ponderação para o tecido ou órgão T.

**Tabela 9.** Fatores de ponderação das Radiações Ionizantes ( $W_R$ ).

<b>Tipo de Radiação</b>	<b>Faixa de Energia</b>	<b><math>W_R^*</math></b>
	Todas as energias	1
Fótons	Todas as energias	1
Neutrons	< 10 keV	5
Neutrons	10 keV a 100 keV	10
Nêutrons	> 100 keV a 2 MeV	20
Nêutrons	> 2 MeV a 20 MeV	10
Nêutrons	> 20 MeV	5
Prótons, com exceção de prótons de recuo	> 2 MeV	5
Partícula alfa, fragmentos de fissão e íons pesados	Qualquer faixa de energia	20

\* - ICRP 60

**Tabela 10.** Fatores de ponderação para órgãos ou tecidos ( $W_T$ )<sup>1</sup>.

<b>Tecido ou Órgão</b>	<b><math>W_T</math>*</b>
Gônadas	0,20
Medula óssea vermelha	0,12
Cólon	0,12
Pulmão	0,12
Estomago	0,12
Bexiga	0,05
Mama	0,05
Fígado	0,05
Esôfago	0,05
Tireóide	0,05
Pele	0,01
Superfície óssea	0,01
Restante <sup>2</sup>	0,05
TOTAL	1,00

1 – Os valores acima foram determinados a partir de uma população referência com igual número de homens e mulheres e com larga faixa etária,

2 – Para fins de cálculo, “restante” refere-se a qualquer dos órgãos listados a seguir, os quais podem ser irradiados seletivamente: adrenais, cérebro, intestino grosso superior, intestino delgado, rins, músculo, pâncreas, vesícula, timo e útero.

\* - ICRP 60 (1990)



## **ANEXO II - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título da pesquisa: “Aplicação da citogenética na avaliação da radioproteção de traumatologistas do Recife”.

Eu, \_\_\_\_\_, abaixo-assinado, dou meu consentimento livre e esclarecido para participar como voluntário do projeto de mestrado de Lidiane Régia Pereira Braga cujo título está supracitado. A pesquisa está sob a orientação do pesquisador Prof. Dr. Ademir Amaral, membro do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco.

Assinando este Termo de Consentimento, estou ciente que:

1. O objetivo da pesquisa é avaliar as condições de radioproteção em médicos traumatologistas da cidade do Recife – PE, empregando como ferramenta a quantificação da frequência de aberrações cromossômicas instáveis (cromossomos dicêntricos, anéis e fragmentos) e de micronúcleos dos linfócitos do sangue periférico;
2. Obtive todas as informações necessárias para poder decidir conscientemente sobre a minha participação na referida pesquisa. Se assim desejar e, por qualquer motivo, estou ciente de que tal fato não irá alterar a qualidade nem os meus direitos quanto ao meu atendimento;
3. Todas as medidas serão tomadas para assegurar a confidencialidade;
4. Estou livre para interromper a qualquer momento a minha participação e privacidade de meus dados pessoais. Os resultados gerais obtidos através da pesquisa serão utilizados apenas para alcançar os objetivos do trabalho, expostos acima, incluída sua publicação na literatura científica especializada e apresentação em eventos científicos.

Recife,        /        /        .

---

Voluntário (Nome e RG)

---

Pesquisador

## ANEXO III - QUESTIONÁRIO PARA OS INDIVÍDUOS

Projeto: “Aplicação da citogenética na avaliação da radioproteção de traumatologistas do Recife”.

Equipe: Lidiane Régia, Giovanni Menezes, Ademir Amaral.

### Identificação dos voluntários

Nome: \_\_\_\_\_ .Código: \_\_\_\_\_ .

Data de coleta: \_\_\_\_\_ . Data de Nascimento: \_\_\_\_\_ .

Sexo: Feminino  Masculino

Raça: Branco  Negro  Mulato  Outros

Local de Trabalho: \_\_\_\_\_ .

Cargo: \_\_\_\_\_ .

Tempo que exerce o cargo: \_\_\_\_\_ .

Jornada de trabalho semanal (horas/semana): \_\_\_\_\_ .

### Questionário:

1. Utiliza o equipamento emissor de radiação ionizante (raios-x) em sua rotina de trabalho? Sim  Não

1.1 Se sim, o utiliza mais de uma vez por mês? \_\_\_\_\_ .

1.2 Durante o uso do equipamento, sabe quanto tempo (minutos ou horas) você passa com o equipamento ligado? \_\_\_\_\_ .

1.3 Durante sua atividade, há a utilização de equipamento de proteção individual – EPI (avental de chumbo, protetor de tireóide, luvas plumbíferas)? Sim  Não

1.4 Utiliza todos os EPI? \_\_\_\_\_ .

2. Caso não esteja utilizando, atualmente, o equipamento emissor de radiação ionizante (raios-x) em sua rotina de trabalho:

2.1 Realizou em sua rotina de trabalho? Sim  Não

2.2 O utilizava mais de uma vez por mês? \_\_\_\_\_ .

2.3 Lembra-se quanto tempo (minutos ou horas) você passava com o equipamento ligado? \_\_\_\_\_ .

2.4 Durante sua atividade, havia a utilização de equipamento de proteção individual – EPI (avental de chumbo, protetor de tireóide, luvas plumbíferas)? Sim  Não

2.5 Utilizava todos os EPI? \_\_\_\_\_.

3. Já realizou algum outro trabalho que envolva a radiação ionizante (raios-x) sem a utilização da técnica de fluoroscopia? \_\_\_\_\_.

4. É fumante? Sim  Não

4.1 Quantos cigarros são consumidos diariamente? \_\_\_\_\_.

4.2 Foi ex-fumante? Sim  Não

4.3 Há quanto tempo parou de fumar? \_\_\_\_\_.

4.4 Você consome bebidas alcoólicas com que frequência na semana? \_\_\_\_\_.

4.5 Fez raios-x do dente ou radiografia panorâmica nos últimos 6 meses? Sim  Não

4.6 Em que mês foi realizado o exame? \_\_\_\_\_.

4.7 Nos últimos 6 meses consumiu medicamentos para alguma infecção? Sim  Não

4.8 Qual era o medicamento? \_\_\_\_\_.

4.9 Quanto tempo você passou utilizando? \_\_\_\_\_.

4.10 Consome algum outro medicamento? Sim  Não

4.11 Qual é o medicamento? \_\_\_\_\_.

4.12 Nos últimos 6 meses manipulou veneno ou agrotóxicos? Sim  Não

4.13 Em que mês? \_\_\_\_\_.

Responsável pelo questionário: \_\_\_\_\_.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)