

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**DOSIMETRIA BIOLÓGICA CITOGÊNÉTICA EM PROTEÇÃO RADIOLÓGICA:
ANÁLISE DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS RADIOINDUZIDAS
EM LINFÓCITOS HUMANOS**

ÍSIDA MARIA APARECIDA DE CAMPOS

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Tecnologia Nuclear.

Orientador: Dr. Orlando Rebelo dos Santos

*" Estamos sós e sem desculpas.
É o que traduzirei dizendo que o homem
está condenado a ser livre.
Condenado,
porque não criou a si próprio.
E no entanto livre,
porque uma vez lançado ao mundo,
é responsável por tudo o quanto fizer."*

Sartre

*Dedico este trabalho aos meus
pais Carlos e Maria e ao meu
irmão Maurício, que me deram
todo o incentivo para a reali-
zação do mesmo.*

Ao Dr.

Orlando Rebelo dos Santos

Orientador e amigo,

pelo auxílio e estímulo

constante

AGRADECIMENTOS

Aos colegas,

- do Departamento de Aplicações em Ciências Biológicas, em especial aos da Divisão de Radiobiologia.
- da Divisão de Oficinas, em especial, Valdemar, Reginaldo, Alberto Marcos, José Carlos, Denis e Tonisson.
- do Departamento de Proteção Radiológica, em especial, Marcos Xavier, Maria da Penha, Sandra Bentintani.
- Anésio (fotógrafo)
- Carlos Henrique, Sueli Aparecida, Margô Vania, e em especial Jayme Nunes,

pelo auxílio e amizade, extensivo também aos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

*Este trabalho foi realizado no
IPEN/CNEN-SP, no Departamento
de Aplicações em Ciências Bio-
lógicas, Divisão de Radiobio-
logia sob auxílio financeiro
do Conselho Nacional de Desen-
volvimento Científico e Tecno-
lógico - CNPq.*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Interação da radiação com a matéria	8
1.1.1. Dose.....	8
1.1.2. Taxa de dose	10
1.2. Linfócitos Humanos	10
1.2.1. Origem e tempo de vida	11
1.2.2. Características morfológicas	12
1.2.3. Concentração	12
1.2.4. Cinética	13
1.2.5. Radiossensibilidade	14
1.3. Estimulação Linfocitária	15
1.3.1. Fitohemaglutinina	16
1.3.2. Concanavalina-A	17
1.3.3. Pokeweed	17
1.3.4. Proliferação do linfócito	18
1.4. Efeito da Radiação no Cromossomo	18
1.4.1. Aberrações do tipo cromossomo	21
1.4.2. Aberrações do tipo cromatídico	23
1.5. Aplicação da dosimetria biológica em casos de exposição acidental à radiação	23

2. PARTE EXPERIMENTAL	30
2.1. Obtenção de amostras	30
2.2. Metodologia de cultivo	31
2.2.1. Fase estéril	31
2.2.2. Fase não estéril	32
3. RESULTADOS	34
4. DISCUSSÃO	63
5. CONCLUSÕES	71
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

DOSIMETRIA BIOLÓGICA CITOGÊNÉTICA EM PROTEÇÃO RADIOLÓGICA: ANÁLISE DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS RADIOINDUZIDAS EM LINFÓCITOS HUMANOS

Ísida Maria Aparecida de Campos

RESUMO

Os efeitos da radiação ionizante nos cromossomos têm sido estudados há várias décadas e as relações dose-efeito para diversas doses e taxas de dose, estão razoavelmente bem estabelecidas. A interpretação da frequência de aberrações cromossômicas associadas com a exposição de indivíduos à radiação, além do seu significado biológico, exerce um importante papel na avaliação de dose, particularmente nos casos em que haja suspeita de exposição e principalmente quando nenhum sistema físico de monitoração possa ser utilizado. O presente trabalho relata os princípios do método citogenético adotado e padronizado para estimativa de dose e apresenta sete casos de exposições acidentais à radiação. A frequência de aberrações cromossômicas foi ajustada à função linear quadrática $Y = \alpha D + \beta D^2$ semelhante às curvas da literatura. As estimativas de doses equivalentes a partir da frequência de aberrações cromossômicas foram comparadas com as curvas para ^{60}Co e ^{192}Ir publicadas na literatura, junto com informações referentes aos quadros hematológicos.

**CYTOGENETIC BIOLOGICAL DOSEMETRY IN RADIOLOGICAL PROTECTION :
CHROMOSOME ABERRATION ANALYSIS IN HUMAN LYMPHOCYTES**

Ísida Maria Aparecida de Campos

ABSTRACT

The effects of ionizing radiation on chromosomes have been known for several decades and dose effect relationships are also fairly well established for several doses and dose rates. Apart from its biological significance, the interpretation of chromosome aberration frequency associated with human exposure to radiation plays an important role in dose assessment, particularly in cases where exposure is thought to have occurred but no physical dose monitoring system was present. Based on the cytogenetic data obtained from seven cases of exposure to radiation the aberration frequency have been fitted to the quadratic function $Y = \alpha D + \beta D^2$ as the other dose response curves from literature. The dose equivalent estimate by frequency of chromosomal aberration found here was compared with ^{60}Co and ^{192}Ir already published curves obtained at almost similar dose rate together with some hematological data.

1. INTRODUÇÃO

Aplicações pacíficas utilizando fontes de radiação ionizante têm sido desenvolvidas na sociedade moderna. Entre estas aplicações estão a radiografia industrial, produção de energia, diagnóstico e tratamento médico com raios X e radio-nuclídeos, assim como traçadores radioativos que cada vez mais estão sendo utilizados em laboratórios de pesquisas biomédicas. Com a crescente utilização dessas fontes pela sociedade, a probabilidade de ocorrência de acidentes aumenta, fazendo com que indivíduos se exponham à radiação ou se contaminem com esses materiais radioativos²².

Acidentes por radiação têm sido fontes valiosas de observação dos efeitos da radiação no homem e caracterizam-se por campos de radiação elevada não intencional ou pela liberação não controlada de grandes quantidades de material radioativo de tal forma que sejam capazes de causar sérios danos, particularmente aos sistemas hematopoiético, gastrointestinal, cerebral e cardiovascular ou morte³⁰. Ao contrário dos estudos que utilizam pacientes portadores de patologias e submetidos à radioterapia, os acidentes envolvem pessoas em estado de saúde normal, contudo, a informação obtida apresenta uma desvantagem, pois a exposição não é na maioria dos casos uniforme na distribuição e penetração, e nestes casos, a dosimetria é fre

quentemente prejudicada' .

Apoiando-se nessas ocorrências acidentais surgiu a necessidade de estabelecer-se um método que permitisse a avaliação da dose de radiação que um indivíduo eventualmente viesse a receber. É essencial que exista um sistema que forneça uma avaliação quantitativa de dose e que essa informação possa ser obtida diretamente pela medida do dano da radiação no indivíduo exposto. A dosimetria satisfaz tal necessidade desde que a avaliação de dose seja dada pela proporção do efeito biológico. Muitas tentativas têm sido feitas usando alterações biológicas radioinduzidas como indicadores de dose, por exemplo, contagem de leucócitos, níveis sérios de glicoproteínas e amilase, excreção urinária de deoxicitidina, creatina e ácido β -aminobutílico⁵¹; entretanto nenhum desses parâmetros têm fornecidos resultados satisfatórios⁴⁷ .

O impacto da exposição à radiação ionizante no cromossomo humano é de considerável interesse. Há muito tempo é reconhecido que aberrações cromossômicas podem ser induzidas pela radiação causando alterações na estrutura do cromossomo das células em qualquer fase do seu ciclo mitótico. Estas alterações podem ser vistas microscopicamente quando as células se encontram em metáfase, fase no qual os cromossomos são curtos, compactos e facilmente visíveis⁴⁴ .

Por volta de 1938, KARL SAX⁴⁹ fez a primeira a

valiação crítica da relação entre a produção de aberração e dose, ao estudar a resposta dos cromossomos aos raios X em células de poleo de Tradescantia. Posteriormente, Sax e outros pesquisadores utilizando células de Tradescantia e de outras plantas mostraram que a produção de aberrações cromossômicas era modificada por vários parâmetros, por exemplo, dose, taxa de dose, LET, temperatura e concentração de oxigênio. Estes trabalhos foram revisados por Giles em 1954. Lea (1946) propôs uma teoria para explicar as quebras cromossômicas, sugerindo que elas fossem produzidas por várias ionizações causadas por uma partícula única que passa através do cromossomo ou cromátide. MOORHEAD e col. (1960) ⁴⁰ descreveram um método para estimular a divisão de linfócitos sanguíneos humanos em cultura ³³.

Baseados nessas observações, BENDER E GOOCH ⁸ (1962) sugeriram que a produção das aberrações cromossômicas em linfócitos sanguíneos periféricos humanos podia ser utilizada como uma medida quantitativa de dose em indivíduos expostos à radiação e que poderia ser considerada como a base de um dosímetro biológico (dosimetria citogenética).

Estudos efetuados posteriormente à afirmação de BENDER e GOOCH têm mostrado que os linfócitos são indicadores extremamente sensíveis e que apresentam danos estruturais tanto "in vitro" quanto "in vivo" ¹⁹ Estas aberrações induzidas pela radiação permitem a contagem das alterações morfológicas dos danos sendo portanto uma medida direta destes no material genético.

A aberração cromossômica, na verdade, é uma mutação que fornece uma medida do dano. A indução de aberrações cromossômicas é uma resposta biológica de dose muito sensível às alterações na quantidade e qualidade da radiação ⁴⁷. Aberrações cromossômicas em linfócitos sanguíneos periféricos têm sido muito utilizadas como uma medida de dose de radiação no homem por muitos anos. Evidências indicam que se as condições de radiação e as amostras sanguíneas apresentarem-se dentro de certos critérios, por exemplo, manutenção do sangue desde a colheita até o fim da incubação a 37°C, adição da fitohemaglutinina na cultura após a irradiação do sangue, doador saudável etc, as aberrações fornecerão uma estimativa útil de dose absorvida ^{46.15}.

As aberrações utilizadas para a dosimetria biológica citogenética são as dos tipos dicêntrico e anel cêntrico, por causa de suas altas freqüências em relação aos outros tipos de aberrações radioinduzidas e suas baixas incidências naturais nos controles não irradiados. As aberrações do tipo dicêntrico têm uma morfologia característica e é acompanhada por uma deleção acêntrica que fornece uma informação adicional que permite a sua identificação. Uma desvantagem, entretanto, é que ela é formada por um mecanismo de quebra dupla sendo sua freqüência influenciada pela taxa de dose e raramente induzida por baixas doses agudas de radiação de baixo LET ⁴⁸.

Atualmente, a dosimetria biológica citogenética

em proteção radiológica é a técnica m utilizada, por não e xistir até o momento outra alternativa prática para estimativa biológica de dose. Este método fornece uma dose estimada e é muito útil para casos acidentais em que os indivíduos não por tam sistemas dosimétricos ou quando a dosimetria física é mui to difícil ou demorada para ser empregada.

A estimativa de dose é de grande valia para ori entar o clínico sobre o nível de tratamento a ser aplicado ao radioacidentado, bem como, confirmar os casos em que existam dúvidas se houve ou não a exposição à radiação.

A dosimetria biológica é substanciada pela veri ficação em casos de irradiação uniforme de corpo inteiro nos quais a freqüência das aberrações é essencialmente a mesma que a induzida pela irradiação "in vitro"⁹. Entretanto, a aplica ção direta da relação dose-resposta de aberrações cromossômi cas obtidas em experimentos "in vitro" para avaliação de do se em pessoas expostas à radiação, geralmente apresenta difi culdades relacionadas com a não homogeneidade da dose e com a dose acumulada ao longo do tempo⁴⁷.

De acordo com DuFRAIN e col.¹⁸ a estimativa de dose é feita comparando-se a freqüência de aberrações citogené ticas específicas, neste caso dicêntricos e anéis cêntricos de linfócitos de indivíduos envolvidos em acidentes por radiação, com a freqüência observada em linfócitos humanos irradiados "in vitro".

Em radioproteção é fundamental estabelecer quando da monitoração de indivíduos expostos, se a estimativa de dose absorvida pode ser baseada em curvas dose-efeito produzidas em experimentos "in vitro". Estudos de diferentes laboratórios têm mostrado que a produção de aberrações cromossômicas em linfócitos sangüíneos periféricos humanos pode ser útil como um indicador biológico da exposição à radiação, para tanto, são necessárias:

- a. Avaliação das condições de cultura e das curvas de calibração que deverão ser produzidas sob condições padronizadas e reprodutíveis;
- b. A irradiação de linfócitos "in vitro" e " in vivo " deverá resultar, essencialmente, na mesma relação dose-resposta.

Em decorrência da adoção de diferentes metologias de cultivo e de interpretação das aberrações quando da leitura das lâminas por diferentes analisadores, a literatura relata discrepâncias interlaboratoriais na elaboração de curvas dose-resposta, resultando em diferentes estimativas de dose para uma mesma exposição "in vitro" e recomenda que procedimentos padronizados sejam estabelecidos e que cada laboratório deva gerar curvas dentro de suas próprias condições laboratoriais '7 .

A dosimetria citogenética utiliza o linfócito , especialmente o T, por ser a célula mais radiosensível dentre as células sanguíneas, representar uma população celular que se encontra predominantemente na fase de pré-síntese de DNA do ciclo celular (G₀) no qual as atividades bioquímicas e fisiológicas são mínimas e por encontrar-se raramente em mitose. No sangue periférico de adultos, aproximadamente 70% dos linfócitos são do tipo T, enquanto 30% são do tipo B²⁵.

Existem algumas exigências mínimas para o uso de um sistema como indicador biológico :

- a. Facilidade para obtenção da amostra;
- b. Reprodutibilidade;
- c. Relação dose-efeito;
- d. Persistência do efeito;
- e. Sensibilidade;
- f. Especificidade;
- g. Avaliação relativamente rápida dos resultados;
- h. Ser o menos invasivo e traumático possível.

SCOTT⁵⁰ demonstrou que os linfócitos na sua primeira mitose após a exposição à radiação "in vitro" têm uma mesma frequência, independentemente do tempo de colheita. Entretanto para tais análises é necessário adicionar às culturas 5-Bromodeoxiuridina (BrdU) que é uma substância análoga à timidina e que ao ser incorporada ao DNA permite distinguir dentro do ciclo ce

lular as mitoses em sua primeira e subseqüentes divisões " vi
tro ".

1.1. Interação da radiação com a matéria

Diferentes tipos de radiação quando passam através da matéria, podem provocar diferentes interações primárias ao nível atômico, e o resultado final poderá ser a produção de ionizações dentro da matéria. A deposição da energia quando a radiação passa através da matéria é denominada transferência linear de energia, e varia diretamente com a massa e carga, e inversamente com a energia da radiação. Assim, radiação com grande massa ou carga e baixa energia produz número maior de ionizações ao longo de sua trajetória do que radiação com massa ou carga pequena mas com alta energia. Os efeitos da radiação sobre a matéria viva são o resultado das ionizações que ocorrem dentro do sistema e são determinados, de certa forma, pela afinidade envolvida na transferência linear de energia³⁹.

A quantidade e a qualidade dos danos biológicos dependem da dose de radiação, da taxa de dose e da distribuição da dose nos tecidos.

1.1.1. Dose

Há duas unidades de dose de uso comum em radiobiologia, o roentgen (R) e o rad. O roentgen (R) é a unidade

de exposição e é relacionada com a habilidade dos raios X ionizarem o ar, isto é, a quantidade de energia de radiação dirigida a um material. O rad é a unidade de dose absorvida pelos tecidos. A dose de exposição (R) e a dose absorvida (rad) quando a radiação é X ou gama, absorvidas na água ou em tecidos moles, poderão ser tratadas para propósitos de trabalho em geral, como sendo equivalentes. O rad é aplicável a todos os tipos de radiação enquanto que o roetgen é somente aplicado para raio X e gama.

Após 1985, o rad foi substituído por uma unidade denominada Gray (Gy), onde 1 Gy é igual a 100 rad. Com a utilização dos submúltiplos do Gray, a centésima parte (cGy) é igual a 1 rad.

O rem (roentgen equivalent man) é uma unidade equivalente de dose utilizada para expressar os efeitos de dose absorvida de certos tipos de radiação no homem, por que a dose em rad de diferentes tipos de radiação não necessariamente produz o mesmo grau de efeito biológico. É determinado pela multiplicação da dose em R ou rad por um fator de qualidade (QF) que varia de 1 para raios X, gama e para a maior parte dos raios beta ; 10 para nêutrons rápidos e prótons até 10 MeV e 20 para partículas alfa. Em radiobiologia o fator de qualidade (QF) utilizado em proteção radiológica é conhecido como RBE (eficiência biológica relativa) que é um fator que expressa a eficiência das radiações com diferentes valores de trans

ferência linear de energia (LET) em produzir um dado efeito biológico.

A partir de 1985, o rem foi substituído por uma unidade denominada Sievert (Sv), onde 1 Sv é igual a 100 rem.

1.1.2. Taxa de Dose

Além do conhecimento da dose absoluta recebida pelo material é freqüentemente necessário o conhecimento da taxa de dose em que a radiação foi liberada, portanto, a taxa de dose é a quantidade de radiação liberada em um intervalo de tempo.

Para radiações ionizantes como raios X ou gama, a taxa de dose é um dos principais fatores que determina as conseqüências biológicas de uma dose absorvida. Em geral, como as taxas de dose são baixas, e o tempo de exposição é longo, os efeitos biológicos de uma dada dose mostram-se reduzidos. Estes efeitos são explicados por dois processos que ocorrem separadamente: a) reparo do dano subletal produzido pela radiação durante a exposição; b) renovação das células que ocorre como resultado da divisão celular durante as exposições prolongadas.³⁰

1.2. Linfócitos Humanos

1.2.1. Origem e Tempo de Vida

De acordo com CRADOCK¹³ (1971) os precursores dos linfócitos originam-se na medula óssea durante a vida fetal e são influenciados ou programados para desempenhar uma certa função por um dos órgãos linfóides primários, seja o timo para os linfócitos T ou o "equivalente bursico" para os linfócitos B. Os linfócitos influenciados pelo timo (linfócitos timo-dependentes) e sua progênie atuam na imunidade mediada por células que inclui a hipersensibilidade retardada, rejeição de enxerto etc. Os linfócitos influenciados pelo equivalente bursico (linfócitos bursa-dependentes) e sua progênie atuam na imunidade humoral ou na produção de anticorpos, seja sob a forma de linfócitos ou seja após sua transformação em plasmócitos. A maior parte dos linfócitos circulantes são linfócitos T e tem um tempo de vida que varia de meses a anos. Os linfócitos B constituem a fração menor da população linfocítica (10 a 20%) e têm provavelmente menor tempo de vida que pode ser medido em dias e se distinguem pela existência de uma quantidade considerável de imunoglobulinas na superfície da membrana¹³.

Os tempos de vida dos linfócitos não são fixos. A maioria (90%) são de longa vida, com uma vida média de 3 a anos incluindo alguns que se estendem por várias décadas e o restante (10%) que tem uma vida média de 1 a 10 dias. A taxa média de renovação dos linfócitos no corpo pode ser estimada em cerca de 2 a 5% ao dia.

1.2.2. Características Morfológicas

Os pequenos linfócitos possuem um núcleo denso com citoplasma escasso que indica baixo nível de síntese de RNA. Estudos efetuados ao nível da microscopia eletrônica mostram núcleo com regiões altamente condensadas, poucas mitocôndrias e pequena região de Golgi; ribossomos localizados na membrana nuclear mas que também podem ser observados livres no citoplasma; retículo endoplasmático rudimentar e um par de centríolos situado numa pequena região do núcleo. Os linfócitos sanguíneos periféricos possuem um diâmetro de 6 μm e volume estimado em 170 μm^3 .

1.2.3. Concentração

A concentração de linfócitos no sangue periférico é variável. No adulto com idade por volta de 21 anos, a contagem média é estimada em 2580 cél./ mm^3 (num intervalo de 1000-4800 cél./ mm^3); em recém nascido cerca de 5500 cél./ mm^3 (num intervalo de 2000-11000 cél./ mm^3); em crianças com 6 meses de idade é muito maior, 7300 cél./ mm^3 (num intervalo de 4000 a 13500 cél./ mm^3).

Normalmente, os pequenos linfócitos, estão numa proporção de até 90% dos linfócitos periféricos; 5% são do tamanho médio e até 15% são células linfóides grandes²⁷.

Para a interpretação das aberrações cromossômicas e mutações no homem é de grande importância que os linfócitos periféricos (pelo menos 80%) pertençam ao " redistributivo pool ". Isto significa que os linfócitos com mutações ou aberrações cromossômicas induzidas nas várias partes do corpo estarão presentes no sangue periférico, desse modo, as aberrações presentes nos linfócitos indicam que elas foram induzidas não somente no sangue periférico mas também em linfócitos distribuídos em diferentes órgãos do corpo.²⁷

1.2.4. Cinética

É pouco conhecida a circulação dessas células no organismo. Sabe-se atualmente, que linfócitos marcados, de ductos torácicos, migram para o baço (55%), medula óssea (15%), nódulos linfáticos (20%) e tecidos não linfóides (10%). A proporção de entrada das células T e B dentro destes órgãos é semelhante, mas os tempos de trânsito através deles variam consideravelmente. As células T levam um tempo médio de trânsito através do baço de 4 a 6 h, enquanto que os linfócitos B cerca de 8 vezes mais. O tempo médio de trânsito pelos linfonodos aos linfáticos eferentes é menor para células T (18 h) do que para as células B (36-48 h). O tempo através da medula óssea para linfócitos do ducto torácico (80 a 90% das células T) é de aproximadamente 2 a 3 h, mas o tempo de recirculação das células B por este compartimento não é conhecido.³⁴

1.2.5. Radiossensibilidade

A existência de subpopulações de linfócitos com diferentes propriedades e funções tem sido bem estabelecidas . É evidente, entretanto, que existam diferenças na sua sensibilidade à radiação. A compreensão dos efeitos da radiação ionizante em linfócitos T e B é importante quando se avalia pessoas expostas terapeuticamente ou acidentalmente em altas doses de radiação. Um dano severo ao mecanismo de imunidade humoral implica na perda da função de uma grande proporção de células B⁴³.

Exposições agudas à radiação podem causar um declínio prolongado do número de linfócitos circulantes em decorrência da morte interfásica e do seqüestro de muitos linfócitos do "pool" extravascular logo após a irradiação. Por esta razão a sensibilidade dos linfócitos T e B ao dano radioinduzido não pode ser determinado com precisão por meio de exame quantitativo destes tipos no sangue periférico⁴³.

Existem grandes controvérsias no que diz respeito à radiossensibilidade dos linfócitos T e B e suas subpopulações. Muitos pesquisadores têm procurado avaliar o comportamento desses linfócitos após a irradiação. WASSERMAN, J. e cols , PITOUT, M.J. e cols. e BLOMGREN, H. e cols. acreditam que os linfócitos B sejam mais radiossensíveis do que os T, mas para RABEN, M. e cols. e SZCZYLIK e col. os linfócitos T são os mais

radiossensíveis⁴¹. Embora alguns trabalhos tentem demonstrar que os linfócitos B sejam os mais radiossensíveis, estudos no campo de anticorpos monoclonais afirmam que essas células não são capazes de sobreviver em culturas de 48 h¹².

1.3. Estimulação Linfocitária

A maior parte dos linfócitos sanguíneos periféricos está numa fase de repouso do ciclo celular (G₀) e possui um conteúdo de DNA diplóide de aproximadamente 5,6 pg. Estas células podem ser induzidas a entrar em divisões mitóticas "in vitro" por meio de substância mitogênicas²⁷.

Substâncias mitogênicas são lectinas vegetais que estimulam a proliferação de linfócitos em cultura e em certos casos promovem a geração inespecífica de células citotóxicas²³.

A estimulação mitogênica dos linfócitos não é, verdadeiramente, um fenômeno imunológico. As lectinas mitogênicas estimulam a síntese de DNA e a divisão celular pela ligação que fazem aos receptores de glicoproteínas da superfície dos linfócitos¹⁴ e não necessitam de nenhuma sensibilização prévia²². Esta propriedade é utilizada para estimular o linfócito em cultura para análise cromossômica. Elas diferem quanto a origem e célula a ser estimulada. Estudos têm mostrado que existem duas populações de linfócitos no timo que são sensíveis às

substâncias mitogênicas, uma é relativamente sensível e tem sido encontrada anatomicamente na região cortical enquanto que a mais resistente situa-se na medula do órgão⁵³.

A sensibilidade da célula está intimamente ligada à exposição ao mitogênico que faz com que os linfócitos sintetizem enzimas envolvidas no sistema de reparo do dano.

É evidente que as lectinas induzem as células T humanas à transformação blástica, entretanto, alguns autores relatam que as células B também são transformadas. Suspeita-se que as células B sejam insensíveis aos fitomitogênicos, mas que possivelmente sejam transformadas por mediadores solúveis liberados pelas células T quando ativadas pelos fitomitogênicos³.

1.3.1. Fitohemaglutinina (PHA)

É uma proteína derivada do feijão preto, *Phaseolus vulgaris*, reage com N-acetil-D-galactosamina¹⁴, tem uma capacidade de estimular um amplo espectro de células T e sob sua influência são transformadas em células "blásticas" cuja principal característica morfológica é o aumento do volume nuclear, citoplasmático e celular. Num período de 48 h após a adição da PHA a célula sofre uma transformação conforme o quadro seguinte:

	<u>Célula sem PHA</u>	<u>Célula com PHA</u>
Volume Celular	100 μm^3	500 μm^3
Volume Citoplasmático	56 μm^3	348 μm^3
Volume Nuclear	48 μm^3	170 μm^3
Quantidade de heterocromatina	70 %	13 %

O volume do retículo endoplasmático rugoso aumenta cerca de 4 vezes mais do que o liso, o do lisossomo cerca de 10 vezes, enquanto que o do aparelho de Golgi atinge cerca de 20 vezes mais.

1.3.2. Concanavalina-A (Con-A)

É uma proteína extraída da *Canavalia ensiformis* liga-se aos resíduos α -D-manosil e α -D-glicosil da superfície celular¹⁴ e tem a capacidade de estimular tanto os linfócitos T quanto os B, porém com maior eficiência os T .

1.3.3. Pokeweed (PWM)

É uma proteína extraída da *Phytolacca americana*, estimula tanto os linfócitos T quanto os B, contudo é mais eficaz em linfócitos do tipo B. Estes produzem imunoglobulinas em resposta ao PWM e na presença de células T esta propriedade tem sido utilizada para avaliar as funções auxiliaadoras ou supressoras das células B ou das células T .

1.3.4. Proliferação do Linfócito

As respostas dos linfócitos às lectinas solúveis de plantas, particularmente a PHA e a Con-A têm sido utilizadas com muita freqüência. Elas são consideradas como uma medida do potencial funcional das células T humanas, visto que as células T que respondem aos antígenos podem representar menos do que 1% das células cultivadas "in vitro", enquanto que 50 a 60% das células T respondem à PHA e à Con-A, contudo supõem-se que algumas células B, além das subpopulações de T, respondem à PHA e à Con-A. É necessário relatar que os linfócitos que respondem à PHA são quase que exclusivamente células T e a proliferação significativa da célula B parece ocorrer mais tarde em algum momento entre 5 e 7 dias. A Con-A provavelmente estimula uma subpopulação diferente de linfócitos T, ao contrário do que faz a PHA, enquanto que o mitogênico pokeweed primariamente considerado um mitogênico de célula B, ativa ambas, T e B²³.

1.4. Efeito da Radiação no Cromossomo

O cromossomo é uma estrutura complexa que além do ácido desoxirribonucléico (DNA) contém vários tipos diferentes de proteínas. Os cromossomos de organismos superiores são estudados mais freqüentemente em metáfase e esta é a fase que se aproximam da sua maior condensação e esta condição natural é aumentada por um tratamento de prefixação com várias

drogas, por exemplo, a colchicina. Durante a metáfase mitótica os cromossomos condensados apresentam-se sob formas características próprias do cariótipo da espécie a ser estudada.

Um cromossomo típico consiste em dois braços separados por uma constrição primária que se torna mais visível pelo tratamento com colchicina. Esta constrição marca a localização do centrômero ou início do fuso (cinetocoro) que é essencial para os movimentos dos cromossomos em relação ao fuso. Durante a anáfase, um cromossomo que não possua centrômero torna-se um fragmento e é perdido ou desloca-se passivamente quando as outras cromátides se movem para os polos opostos pela ação do fuso. Um cromossomo metafásico consiste em duas cromátides irmãs que se separam na anáfase mitótica e o constituinte genético de uma cromátide é uma dupla hélice de DNA. É identificado morfológicamente pelo comprimento e pela posição do centrômero que determina o comprimento relativo de seus braços. Quando o centrômero se localiza próximo do meio do cromossomos, este é denominado metacêntrico; o cromossomo acrocêntrico possui os braços marcadamente desiguais e o intermediário entre o metacêntrico e o acrocêntrico é chamado de submetacêntrico. Atualmente, os cromossomos são identificados com mais precisão pelas técnicas de bandeamento¹¹.

A primeira evidência de que os raios-X pudessem induzir aberrações cromossômicas partiram de estudos com *Drosophila*. Em 1940, SWANSON mostrou que a radiação ultravioleta in

duzia aberrações em micrósporos de *Tradescantia* e posteriormente foi mostrado por alguns pesquisadores que determinados agentes químicos também induzem aberrações cromossômicas.

Atualmente, existem evidências de que o DNA seja o primeiro alvo para a produção de aberrações cromossômicas.

Diferentes lesões primárias são induzidas no DNA celular por mutagênicos químicos e físicos, por exemplo quebra de fita única, quebra de fita dupla e dano na base de diferentes tipos, por exemplo DNA-DNA, DNA-proteína, formação de radicais etc.

Uma aberração não é o resultado da ação direta entre o mutagênico e o DNA celular, sua produção envolve um processo de reparo. As lesões primárias induzidas pelos mutagênicos são transformadas em lesões secundárias e a aberração é o resultado de erros efetuados pelo mecanismo de reparo celular²⁷.

Por muitos anos têm-se reconhecido que aberrações estruturais em cromossomos podem ser induzidas pela radiação, estas alterações têm sido descritas e classificadas em minúcia e podem ser produzidas pela irradiação de células em qualquer estágio do ciclo mitótico. São mais facilmente visualizadas por meio de microscopia óptica quando as células são observadas nas fases de metáfase ou anáfase nos

quais os cromossomos se apresentam curtos e compactos. Estas podem ser vistas como resultado de quebras em cromossomos e cromátides embora tenha sido sugerido que estas quebras possam não ser decorrente de processos primários¹¹.

Como o linfócito sanguíneo periférico está normalmente na fase G₀ (ou G₁ não cíclico) do ciclo celular, as aberrações induzidas pela radiação conseqüentemente serão do tipo cromossômico. Se aberrações do tipo cromatídico forem observadas, pode ser assumido que estas não tenham sido induzidas pela radiação mas produzidas "in vitro" durante a primeira fase de síntese do DNA como um resultado de erros de replicação ou de um erro do DNA danificado por eventos não radioativos. A freqüência das aberrações do tipo cromatídico pode então ser considerada como contribuinte da freqüência das aberrações cromossômicas espontâneas²⁷.

1.4.1. Aberrações do tipo-cromossômico

- **Deleção terminal** - São fragmentos de cromátides pareados resultantes de uma quebra simples e não possuem centrômeros.
- **Minutes** - São pares de fragmentos acêntricos com tamanho menor do que as deleções terminais e semelhantes a esferas de cromatina.

- . **Anéis acêntricos** - São fragmentos de cromátides pareados, sem centrômero, e ao unirem-se formam um anel.
- . **Anéis cêntricos** - São estruturas em forma de anéis contendo um centrômero. O anel cêntrico é facilmente distinguido do anel acêntrico e é geralmente acompanhado por um fragmento a cêntrico.
- . **Inversões :**
 - Paracêntricas** - Ocorre quando os pontos de quebra e de ligação situam-se no mesmo braço do cromossomo.
 - Pericêntricas** - ocorre quando os pontos de quebra e inversão se situam no lado oposto do centrômero.
- . **Translocações recíprocas** - (intertrocas simétricas) - Envolvem quebras de dois cromossomos e trocar recíprocas dos segmentos quebrados entre os cromossomos.
- . **Aberrações dicêntricas ou policêntricas** - (intertrocas assimétricas) - São aberrações causadas por quebras das cromátides de ou um mais

cromossomos próximos de tal modo que estas regiões quebradas dos cromossomos se tornam unidas, formando uma estrutura dicêntrica ou policêntrica com fragmentos acêntricos associados.

1.4.2. Aberrações do tipo-cromatídico

São induzidas por radiação ionizante quando as células são expostas nos estádios S ou G2 da intérfase e o cromossomo venha a ter duas cromátides fracionadas. Em contraste com as aberrações do tipo cromossômico, as aberrações do tipo-cromatídico, particularmente, são falsos indicadores do dano ao material genético¹⁸.

Embora uma variedade de lesões seja induzida por radiação, a intertroca assimétrica (dicêntrico) é considerada atualmente como padrão para a estimativa biológica de dose²⁴. Estudos têm mostrado que a exposição à radiação pode ser interpretada em termos de dicêntricos. Este parece ser o parâmetro mais real do dano da radiação e representa cerca de 60% de todas as aberrações observadas em casos de irradiação aguda. Entretanto, uma pequena precisão estatística é perdida quando não utilizamos as outras aberrações para a interpretação da estimativa de dose.¹⁸

1.5. Aplicação da Dosimetria Biológica Citogenética em Casos de Exposição Acidental à Radiação

Caso nº 1 :

No dia 30 de junho de 1987, às 12h 40min, no laboratório de Produção de fontes do IPEN-CNEN/SP, o trabalhador C.M.C., 22 anos, efetuava ensaio de estanqueidade (ensaio de esfregação) em fontes de ^{192}Ir já soldadas. A operação é executada por meio de uma telemanipuladora que no momento apresentou uma irregularidade no funcionamento. Com a finalidade de solucionar o problema, o técnico removeu as fontes com as quais estava trabalhando e abriu a célula blindada. Após ter conseguido solucionar o problema, fechou a célula e percebeu que existiam duas outras fontes além das que ele havia blindado. O trabalhador comunicou o fato à Proteção Radiológica que tomou as devidas providências.

.Reconstituição do Acidente

No dia 1º de julho de 1987, a equipe de Proteção Radiológica do IPEN-CNEN/SP, fez a reconstituição do acidente:

- a. Reconstituição do acidente com o auxílio do trabalhador, sem a presença das fontes na célula. Nesta reconstituição foram feitas as cronometragens dos tempos de cada operação e as medidas das distâncias entre o operador e as fontes. Tabela I (relatório da Proteção Radiológica).

b. reconstituição do acidente, sem a presença do trabalhador e com as fontes dentro da célula, que mostra as taxas de exposição medidas e as calculadas nos pontos de interesse. Tabela II (Relatório da Proteção Radiológica).

.Estimativa das Doses Recebidas pelo Trabalhador no Acidente

A estimativa da Proteção Radiológica das doses recebidas pelo trabalhador, encontram-se nas Tabelas I e II.

TABELA I : Doses recebidas pelo trabalhador, utilizando a taxa de exposição calculada.

Pontos	Tempo	Taxa de Ex posição (R/min)	Dose Equiva lente (cSv)
Mão direita a 10 cm	3 min	120	360
Mão direita a 53 cm	2 min 40 seg	4,3	11,2
Cristalino dos olhos	5 min 40 seg	4,3	24,0
Cintura	5 min 40 seg	1,9	10,6
Tronco (altura do dosímetro)	5 min 40 seg	4,3	24,0

TABELA II : Doses recebidas pelo trabalhador, utilizando a taxa de exposição medida.

Pontos	Tempo	Taxa de exposição (R/min)	Dose Equivalente (cSv)
Mão direita a 10 cm	3 min	70,5	211,5
Mão direita a 53 cm da fonte	2 min 40 seg	4,6	12,0
Cristalino dos olhos	5 min 40 seg	4,1	23,0
Cintura	5 min 40 seg	1,5	8,4
Tronco (altura do dosímetro)	5 min 40 seg	4,6	26,0

Medida do dosímetro individual

Filme Fotográfico : 23 cSv

Estudo citogenético

No dia 1º de julho de 1987, o trabalhador C.M. C., foi encaminhado ao Serviço Médico pela Proteção Radiológica que solicitou à Divisão de Radiobiologia a colheita de sangue para análise de aberrações cromossômicas. Às 12h40min ., ou

seja, 24 h após o acidente, colheu-se a amostra de sangue.

Acompanhamento

Efetuuou-se o acompanhamento do trabalhador a cidentado durante 2 meses. O acompanhamento teve por finalidade observar o comportamento referente à permanência de aberra ções cromossômicas ao longo do tempo e as variações no quadro leucocitário. As amostras de sangue foram colhidas nos dias 19, 06, 21, 30 e 60 dias após o acidente.

Caso nº 2

Reune um grupo de 11 indivíduos que foram envol₁ vidos em acidente com fonte de ^{137}Cs do Instituto Goiano de Ra₁ dioterapia e que foram internados na Unidade da FEBEM (Go). As amostras foram colhidas no dia 30 de outubro de 1987, acondi₁ cionadas em caixas de isopor e mantidas resfriadas por meio de sacos plásticos contendo gelo. O material foi cultivado no mes₁ mo dia depois de mantido à temperatura ambiente por 2 h.

Caso nº 3

Reune um grupo de 14 indivíduos que foram envol₁ vidos em acidente com fonte de ^{137}Cs do Instituto Goiãno de radioterapia e que foram internados na Unidade da FEBEM (Go) .

As amostras foram colhidas em 30 de novembro de 1987, acondicionadas em caixas de isopor e mantidas resfriadas por meio de sacos plásticos contendo gelo. O material cultivado no mesmo dia depois de mantido à temperatura ambiente por 2 h.

Caso nº 4

W.M.F., físico, 34 anos, participou dos trabalhos de identificação das áreas contaminadas, da remoção e triagem de pessoas envolvidas no acidente com fonte de ^{137}Cs , em Goiânia. Foi encaminhado à Divisão de Radiobiologia para a valiação de dose por meio do método de dosimetria biológica citogenética, no dia 11.12.1987.

Caso nº 5

N.B., 34 anos, funcionário do Instituto de Radiologia Médica e Planigrafia, São José dos Campos, SP, setor de raios X foi encaminhado ao IPEN-CNEN/SP, Divisão de Radiobiologia, em 19.01.1988.

Caso nº 6

E.P.S., 30 anos, funcionário da empresa Metaltec, foi encaminhado no dia 16.05.1988 ao IPEN-CNEN-SP, Divisão de Radiobiologia, com suspeita de exposição a uma fonte de ^{192}Ir estimativa biológica de dose, pelo fato de seu dosímetro pessoal ter acusado uma dose de 53 cSv.

Caso nº 7

No dia 02 de julho de 1988, em um sítio de propriedade da empresa Mathias-Engenharia e Construções, localizada em Itapevi-SP, uma equipe de gamagrafia composta pelos funcionários : C.J.R., P.P.R. e L.T.S., realizava uma operação de rotina quando ocorreu o rompimento do cabo flexível do portafonte que não foi observado no momento pela equipe, o que permitiu que a fonte ficasse exteriorizada, tendo ocasionado a exposição acidental dos trabalhadores. Eles portavam dosímetro que acusaram as doses seguintes:

P.P.C. : 30,4 cSv

C.J.R. : 26,4 cSv

L.T.S. : 30,4 cSv

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Obtenção das Amostras

Em todos os casos relatados as amostras sangüíneas foram colhidas do seguinte modo :

As amostras foram obtidas por punção venosa, com siringa plástica descartável, estéril sem anticoagulante. O volume total colhido variou entre 5 e 10 ml, de acordo com a quantidade de frascos a serem cultivados. Após a punção, parte do sangue foi transferido assepticamente para outra siringa estéril, previamente heparinizada com Liquemine (5000 UI - Roche); os 2 ml restantes foram transferidos para um frasco com EDTA (sal dissódico ou dipotássico do ácido etilenodiaminotetracético) para confecção do leucograma.

. Leucograma

O sangue total com EDTA foi diluído em pipeta de THOMA para glóbulos brancos com o líquido diluidor TÜRK e a diluição obtida na pipeta foi de 1:20. Para contagem do número total de leucócitos por mm^3 foi utilizada câmara de Neubauer²³.

2.2. Metodologia de Cultivo

2.2.1. Fase Estéril

Após a colheita o sangue foi mantido em estufa a 37°C até o momento da cultura. Nos casos em que o transporte se fez necessário as amostras foram mantidas a 4 °C e deixadas por 2 h na temperatura ambiente antes da efetuação da cultura.

. Semeadura

As culturas foram feitas em frascos tipo penicilina (capacidade de 20 a 25 ml) ou em tubos de cultura estéreis, num compartimento de acrílico em condições assépticas . Foram adicionados aos frascos ou tubos, 5 ml de meio RPMI (cultilab) enriquecidos com soro fetal bovino a 20% (cultilab), 0,3 ml de fitohemaglutinina (Sigma) numa concentração de 5 µg/ml de meio. O pH foi ajustado para 7,0 ± 0,1 utilizando-se HCl 1 N ou NaOH 0,1 estéreis. Foram adicionadas cerca de 20 gotas de sangue total heparinizado e homogeneizado. Em seguida as culturas foram mantidas em estufa a 37°C durante 47 h.

. Colchicinização

Após 47 h de incubação os frascos foram retirados da

estufa em câmara asséptica e adicionado 0,1 ml de colchicina (Sigma) a cada frasco com uma concentração final de 0,8 μ g/ml de meio. As culturas foram mantidas por mais uma hora em estufa a 37°C e após esse período iniciou-se a preparação citológica.

2.2.2. Fase Não Estéril

. Preparação Citológica

O material de cada frasco de cultura foi transferido para tubos cônicos de centrifuga e em seguida submetido à centrifugação por 5 min. a 1.000 rpm. O sobrenadante foi retirado com o auxílio de uma trompa de vácuo e adicionado ao precipitado 1 ml de solução hipotônica (KCl 0,075M) à 37°C. O material foi levemente ressuspendido com pipeta Pasteur, adicionado 3 ml de solução hipotônica e o material foi ressuspendido novamente e levado à estufa a 37°C durante 10 min. Em seguida foi adicionado 0,5 ml de solução fixadora (metanol e ácido acético na proporção de 3:1) recém preparada. O material foi centrifugado por 5min a 1000 rpm e o sobrenadante foi retirado.

. Fixação

Procedeu-se a fixação do material adicionando-se 1 ml de solução fixadora e ressuspensão do material. Adicio

naram-se 3 ml de solução fixadora e ressuspendeu-se novamente, em seguida centrifugou-se a 1000 rpm por 5 min. . Desprezou-se o sobrenadante e adicionou-se ao precipitado 4 ml de fixador. Procedeu-se a troca dele por mais duas vezes deixando no final um volume de aproximadamente 0,5 ml de fixador.

. Preparo das lâminas

O material precipitado foi gotejado em lâminas histológicas limpas e geladas.

. Coloração

As lâminas foram coradas com Giemsa a 0,75% (1,5 g de corante, 100 ml de glicerina; 100 ml de metanol) diluído a 5% em tampão Sørensen 0,1 M, pH 6,8 no momento do uso, e lavadas com água destilada após 10 minutos .

3. RESULTADOS

As fontes de radiação que podem com maior probabilidade provocar acidentes são as de raios γ , raios X e ocasionalmente neutrons. Normalmente são observadas diferenças entre as curvas de raios X e raios γ relatadas pela literatura, em baixas doses (< 50 cGy)²⁷.

Por não possuímos curvas dose-resposta obtidas sob condições " in vitro " para avaliação de dose em caso de exposição acidental, foram relacionados alguns coeficientes que determinam curvas dose-resposta obtidas e divulgadas pela literatura, tabela III, e que foram adotadas para a análise dos dados por nós obtidos. A freqüência de aberrações induzidas por radiação foi ajustada pela análise dos mínimos quadrados à função linear quadrática $Y = \alpha D + \beta D^2$, onde α e β são os coeficientes que determinam a forma e inclinação da curva, Y é a freqüência de aberrações e D corresponde à dose de radiação.

TABELA III : COEFICIENTES RELATADOS PELA LITERATURA PARA RELAÇÃO DOSE-RESPOSTA DE LINFÓCITOS IRRADIADOS " IN VITRO ".

AUTOR/ANO			TAXA DE DOSE	TIPO DE RADIAÇÃO
Bauchinger e col. 1983 ⁷	0,234 x 10 ⁻³ 0,048 x 10 ⁻³	3,08 x 10 ⁻⁶ 5,55 x 10 ⁻⁶	1,7 cGy/min 50 cGy/min	γ ⁶⁰ Co
Lloyd e col. 1981 ³⁵	----- 1,64 x 10 ⁻⁴	----- 4,92 x 10 ⁻⁶	----- 50 cGy/min	γ ⁶⁰ Co
Takahashi 1979 ⁵²	4,78 x 10 ⁻⁴ 4,40 x 10 ⁻⁴	0,99 x 10 ⁻⁶ 4,29 x 10 ⁻⁶	1,7 cGy/min 50 cGy/min	γ ⁶⁰ Co
Bauchinger e col. 1979 ⁵	0,27 x 10 ⁻³ 0,27 x 10 ⁻³	3,04 x 10 ⁻⁶ 4,75 x 10 ⁻⁶	1,7 cGy/min 50 cGy/min	γ ⁶⁰ Co
Lloyd e col. 1975 ³⁶	----- 1,57 x 10 ⁻⁴	----- 5,0 x 10 ⁻⁶	----- 50 cGy/min	γ ⁶⁰ Co
DuFrain e col. 1980 ¹⁶	3,18 x 10 ⁻⁴	6,09 x 10 ⁻⁶	12,3R/min	γ ¹⁹² Ir
Lloyd e col. 1975 ³⁶	4,76 x 10 ⁻⁴	6,19 x 10 ⁻⁶	100 cGy/min	R-X 250KVp

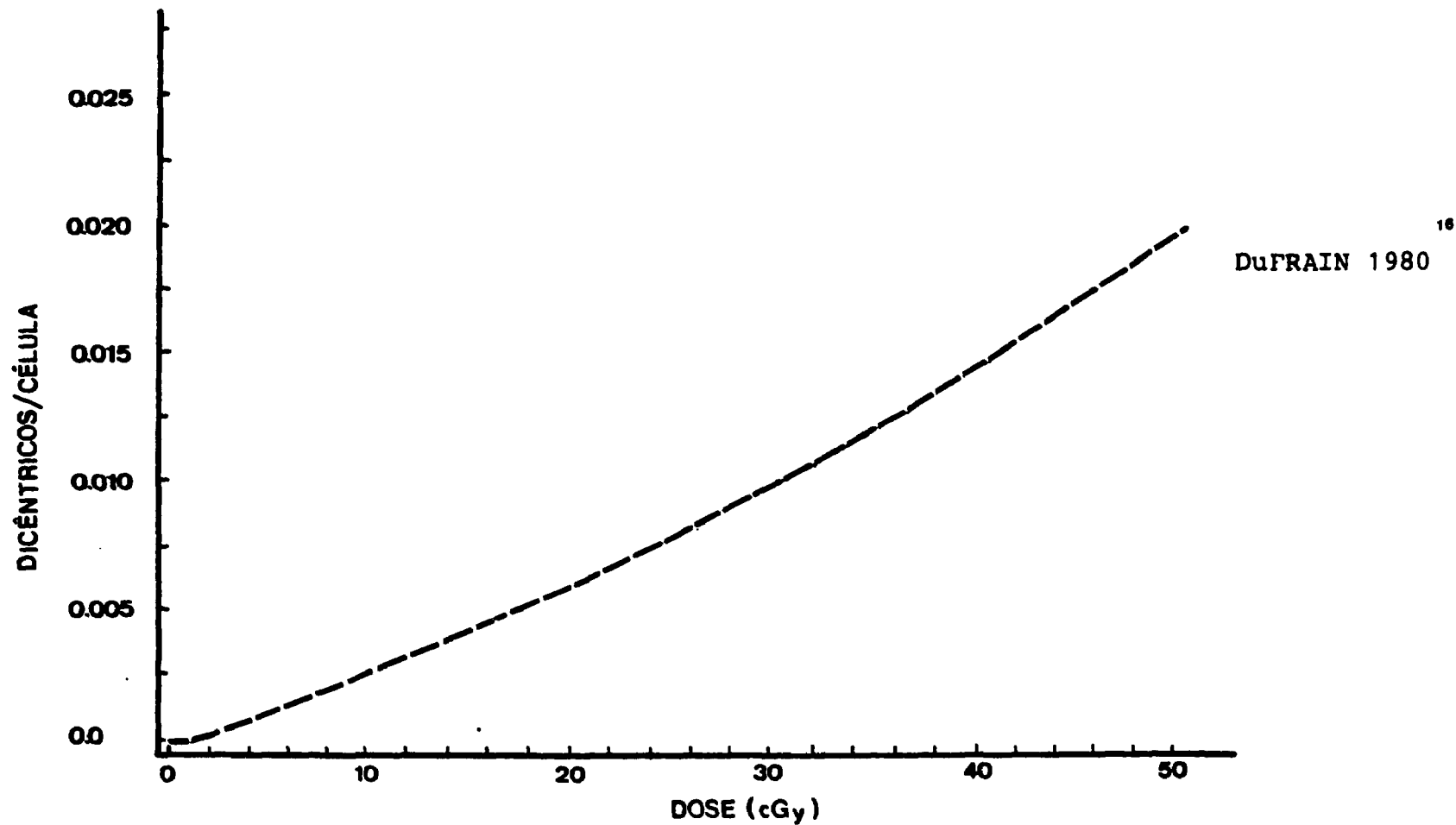


FIGURA 1 : CURVA DOSE-RESPOSTA PARA ¹⁹²Ir COM TAXA DE DOSE 12,3 R/min OBTIDA DA LITERATURA.

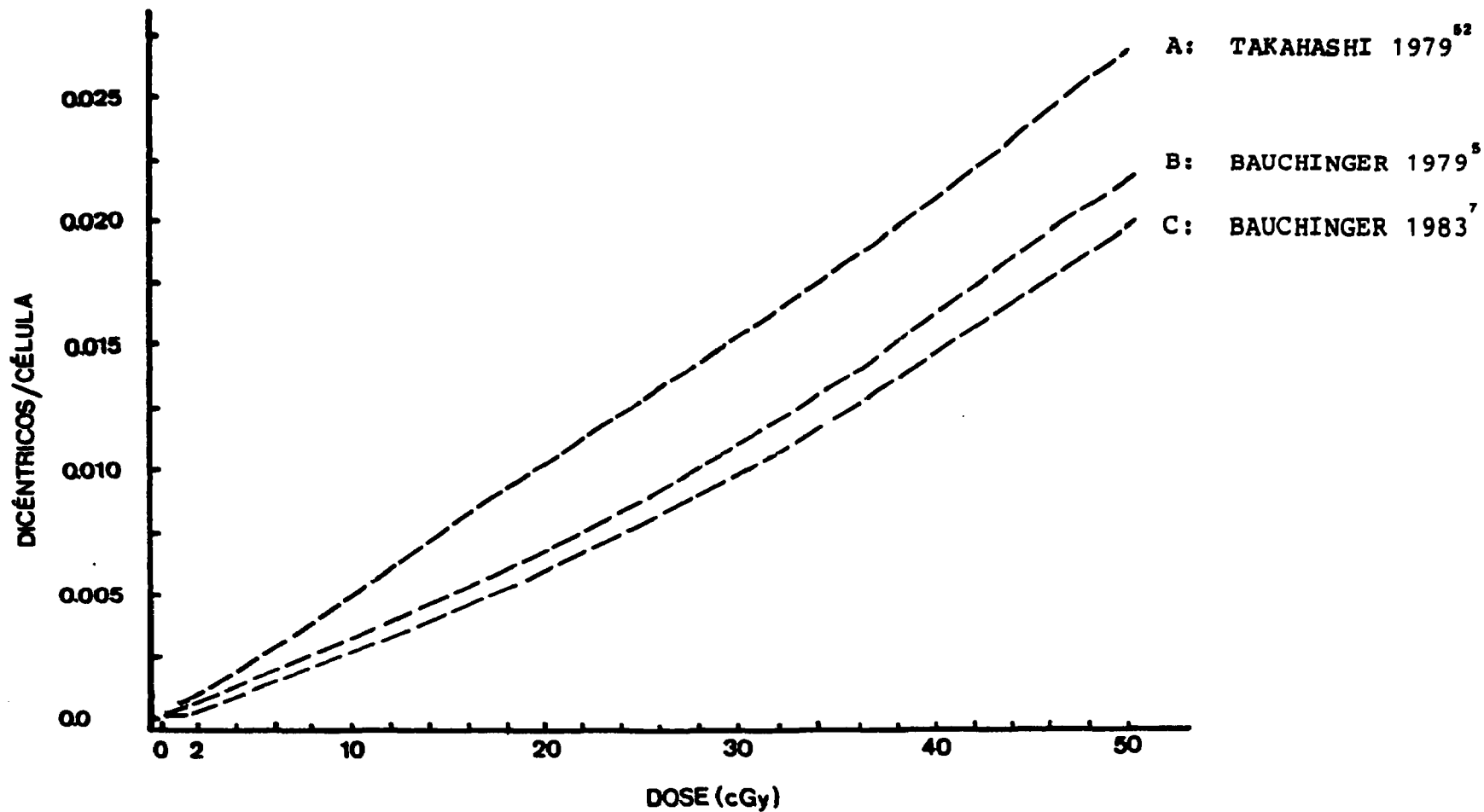


FIGURA 2 : CURVAS DOSE-RESPOSTA PARA ^{60}Co COM TAXA DE DOSE DE 1,7 cGy/min OBTIDAS DA LITERATURA.

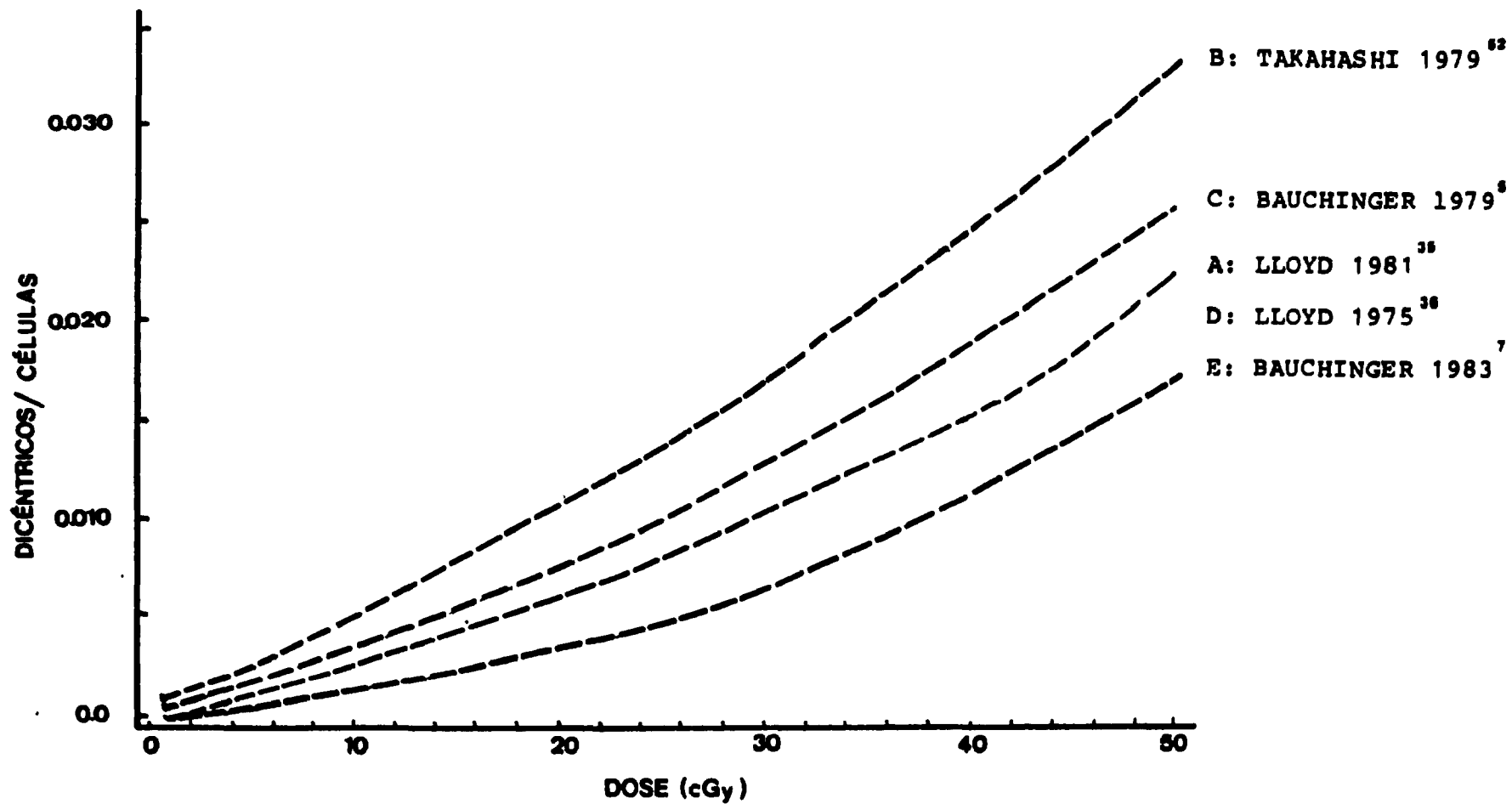


FIGURA 3 : CURVAS DOSE-RESPOSTA PARA ^{60}Co COM TAXA DE DOSE DE 0,5 GY/min OBTIDAS DA LITERATURA .

Caso nº 1

Para a estimativa de dose de C.M.C. que acidentalmente foi exposto a fonte de ^{192}Ir foram avaliadas 700 metáfas, tendo-se observado 08 aberrações do tipo dicêntrico que determinaram a frequência 0,01142 aberrações por célula. Esta frequência quando marcada nas curvas dose-resposta fornecidas pela literatura determinou as estimativas de dose conforme tabela IV.

TABELA IV : Estimativas de dose recebidas por C.M.C. no acidente com fonte de ^{192}Ir , utilizando dados fornecidos pela literatura.

AUTOR/ANO	TIPO DE RADIAÇÃO	TAXA DE DOSE	ESTIMATIVA DE DOSE RECEBIDA PELO TRABALHADOR
Bauchinger e col. 1983 ⁷	γ ^{60}Co	1,7cGy/min	33,78 cGy
	γ ^{60}Co	50 cGy/min	41,24 cGy
Lloyd e col 1981 ³⁵	γ ^{60}Co	1,7cGy/min	-----
	γ ^{60}Co	50 cGy/min	34,31 cGy
Takahashi 1979 ⁵²	γ ^{60}Co	1,7cGy/min	22,81 cGy
	γ ^{60}Co	50 cGy/min	21,46 cGy
Bauchinger e col. 1979 ⁵	γ ^{60}Co	1,7cGy/min	31,27 cGy
	γ ^{60}Co	50 cGy/min	28,25 cGy
Lloyd e col 1975 ³⁶	γ ^{60}Co	1,7cGy/min	-----
	γ ^{60}Co	50 cGy/min	34,60 cGy
DuFrain e col. 1980 ¹⁶	γ ^{192}Ir	12,3R/min	24,45 cGy

Acompanhamento

Foram colhidas amostras nos dias 06, 21, 30 e 60 dias após a exposição acidental. Para todas as amostras foram analisadas 700 metáfases. O número de dicêntricos e sua frequência por célula são indicados na tabela V. A figura 4 apresenta a distribuição das frequências de aberrações obtidas em função do tempo em dias.

TABELA V : Frequência de aberrações cromossômicas durante o período de 60 dias após a exposição acidental.

Dias após Acidente	Células Analisadas	Células Sem Aberrações Cromossômicas	Dicêntricos	Dicêntricos Por Célula
01	700	692	08	0,01142
06	700	696	04	0,00571
21	700	694	06	0,00857
30	700	699	01	0,00143
60	700	699	01	0,00143

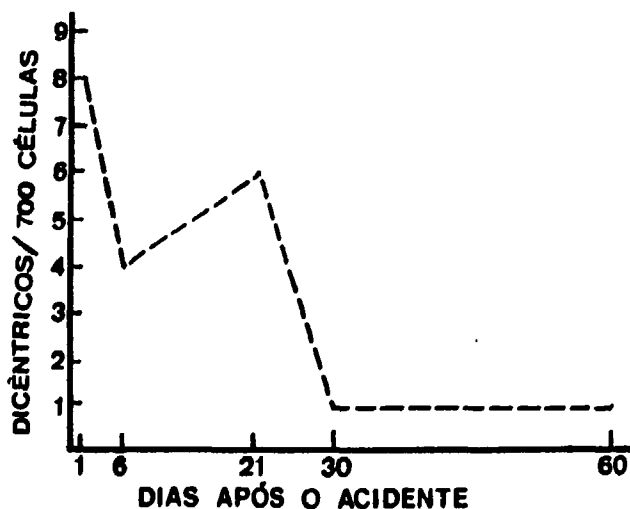


FIGURA 4 : Número de dicêntricos observados durante o período de acompanhamento (60 dias).

Aspectos Hematológicos

A tabela VI apresenta os resultados dos leucogramas das amostras de sangue colhidas nos dias 01, 06, 08 , 21, 30 e 60 após a exposição acidental de C.M.C..

TABELA VI : Leucogramas de C.M.C., referentes ao acompanhamento durante 60 dias

Valores Normais ³			Dias Após a Exposição Acidental											
			01		06		08		21		30		60	
Tipos Celulares	R ¹	A ²	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A
Neutrófilos	55-76	2750-7600	67	5910	58	3712	59	4130	54	3618	67	4758	53	2968
Segmentados	55-70	2750-7000	66	5610	58	3712	59	4130	53	3551	66	4687	52	2912
Bastonetes	0-5	0-500	01	85	0	0	0	0	01	67	01	71	01	56
Metamielócitos	0-1	0-100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eosinófilos	1-4	50-400	01	85	06	384	03	210	01	67	01	71	07	392
Basófilos	0-1	0-100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Linfócitos	20-35	1000-3500	27	2295	30	1920	32	2240	42	2814	24	1704	32	1792
Monócitos	4-8	200-800	05	425	06	384	06	420	03	201	08	568	08	448
NO Total de Leucócitos /mm ³	5.000-10.000		5.000	6400	7000		6700	7100	5600					

1. Valor relativo em % ;
2. Valor absoluto (cél.s./mm³);
3. Intervalo de normalidade extraído da literatura.

A tabela VII e figura 5 apresentam dados resumidos referentes à variação do quadro leucocitário após a exposição acidental e sua distribuição em função do tempo em dias.

TABELA VII : Quadro leucocitário de C.M.C., durante o acompanhamento.

Dias Após Acidente	Leucócitos/mm ³	Linfócitos/mm ³	Neutrófilos/mm ³
01	8500	2595 (27)	5695 (67)
06	6400	1920 (30)	3712 (58)
08	7000	2240 (32)	4130 (59)
21	6700	2814 (42)	3618 (54)
30	7100	1704 (24)	4757 (67)
60	5600	1792 (32)	2968 (53)

(): Valor relativo das células em porcentagem

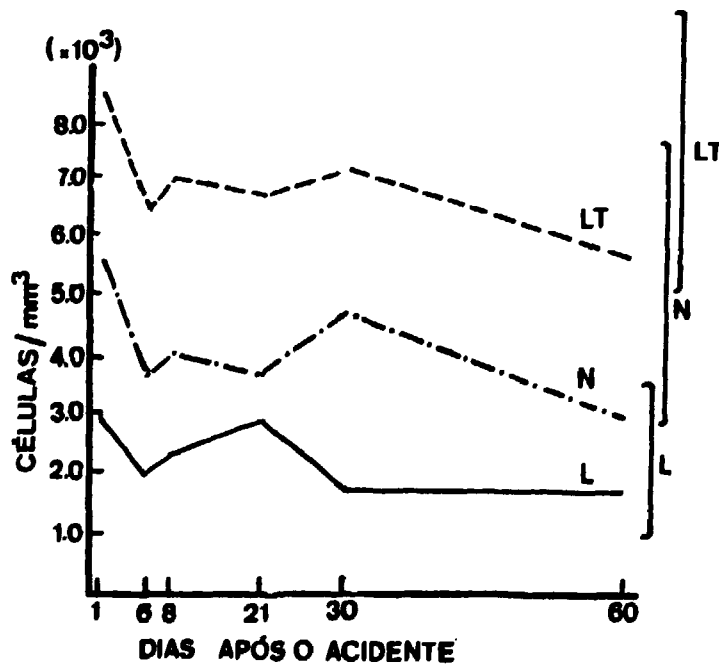


FIGURA 5: Acompanhamento leucocitário. LT: Leucócitos Totais/mm³ (-); N: Neutrófilos/mm³ (-.-.-); L: Linfócitos/mm³ Intervalo de normalidade (—).

As fontes de ^{192}Ir utilizadas em radiografia industrial possuem energia de cerca 400 KeV. A curva de calibração deste isótopo situa-se entre as dos raios X e γ . A curva do ^{192}Ir é considerada estar entre as curvas do ^{60}Co e ^{137}Cs ²⁷.

Foi efetuada a análise de um número de metáfases com o intuito de minimizar o erro estatístico em decorrência da informação prestada pela dosimetria física que havia suspeita de tratar-se de uma exposição em dose baixa pela leitura do dosímetro, fato que ficou posteriormente comprovado quando da reconstituição do acidente (tabela I e II).

A freqüência de aberrações por célula observada nas 700 metáfases analisadas foi de 0,01142 para o ^{192}Ir com taxa de exposição para o tronco - medida pela Proteção Radiológica - de 4,6 R/min. Quando esta freqüência de aberrações por célula foi avaliada na curva para ^{192}Ir com uma taxa de dose de 12,3 R/min ¹⁶ (tabelas III e IV, figura 1) , a dose estimada foi de 24 cGy. Utilizando-se as curvas de literatura para ^{60}Co com uma taxa de dose de 1,7 cGy/min. (tabelas III e IV, figura 2) a dose estimada situou-se em um intervalo de 23 a 34 cGy. Utilizando-se as curvas para ^{60}Co com uma taxa de dose de 50 cGy/min a dose estimada situou-se no intervalo de 21 a 41 cGy (tabelas III e IV, figura 3). O limite de confiança a 95% ²⁷ para as doses estimadas situou-se no intervalo de 10 - 50 cGy.

Com respeito ao aspecto hematológico podemos observar na tabela VII e figura 5 que houve uma pequena queda no nível leucocitário total, tendo contudo, permanecido dentro do intervalo de normalidade. Analisando-se os dados, observamos que a queda foi decorrente da diminuição dos neutrófilos que atingiram o limite inferior do intervalo de normalidade. O declínio dos valores absolutos dos neutrófilos não indica ser devido ao efeito da radiação, principalmente em dose baixa (25 cGy). Os linfócitos que são células mais radiosensíveis apresentaram um leve declínio e posteriores oscilações, mas sempre dentro do intervalo de normalidade, indicando que não houve alterações significativas.

Case nº 2

A estimativa de dose de 11 pacientes envolvidos no acidente com fonte de ^{137}Cs do Instituto Goiano de Radioterapia e internados na unidade da FEBEM, Goiânia (Go), são apresentados na tabela VIII. As amostras foram colhidas 30 dias após o acidente.

TABELA VIII : Estimativa de dose de 11 pacientes, 30 dias após o acidente com fonte de ^{137}Cs utilizando as curvas dose-resposta para ^{60}Co (1,7 cGy/min) e ^{192}Ir (12,3 R/min).

PACIENTES	CÉLULAS ANALISA DAS	DICÊN- TRICOS	ANÊIS	ABERRA ÇÕES POR CÉLULA	DOSE ESTI MADA (cGy)		LIMITE DE CONFIANÇA	
					^{60}Co	^{192}Ir	^{60}Co	^{192}Ir
L.N.F. (35a)	400	04	0	0,0100	32	22	10-50	8-50
M.P.G. (33a)	248	06	0	0,0242	58	42	20-80	20-80
S.P.Q. (13a)	307	02	0	0,0065	22	16	<0,5-50	<0,5-50
E.F. (42a)	400	04	1	0,0125	36	26	10-50	8-50
C.F.R.S. (16a)	265	01	0	0,0038	14	10	<0,5-50	<0,5-50
M.N.F. (7a)	300	00	0	0				
M.A.M. (59a)	200	04	1	0,0250	60	43	25-90	20-80
F.J.M.S. (7a)	324	02	0	0,0062	23	14	<0,5-50	<0,5-50
C.M.S. (4a)	400	04	1	0,0125	36	26	10-50	8-50
P.F.M.S. (6a)	400	04	0	0,0100	32	22	10-50	8-50
C.A.R.J. (7a)	200	02	0	0,0100	32	22	5-60	<0,5-60

Aspectos Hematológicos

A tabela IX apresenta os leucogramas de alguns dos pacientes relacionados na tabela VIII.

TABELA IX : Leucogramas de seis pacientes internados na Unidade da Febem de Goiânia (Go)

Tipos Celulares	Valores Normais ³		MNF		MAM		FJMS		CMS		PFMS		CAJ	
	R ¹	A ²	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A
Neutrófilos	55-76	2750-7600	54	4266	63	3780	50	3000	31	2294	49	3798	54	3672
Segmentados	55-70	2750-7000	53	4187	62	3720	49	2940	30	2220	48	3720	53	3604
Bastonetes	0-5	0-500	01	79	01	60	01	60	01	74	01	77	01	68
Metamielócitos	0-1	0-100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eosinófilos	1-4	50-400	07	553	06	360	05	300	14	1036	04	310	06	408
Basófilos	0-1	0-100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Linfócitos	20-35	1000-3500	32	2528	22	1320	31	1860	45	1330	30	2325	30	2040
Monócitos	4-8	200-800	07	553	09	540	14	840	10	740	17	1317	10	680
Nº Total de Leucócitos/mm ³	5.000-10.000		7.900		6.000		6.000		7.400		7.750		6800	

1. Valor relativo em %;
2. Valor absoluto (cél./mm³);
3. Intervalo de normalidade extraído da literatura.

Foram utilizadas para estimativa de dose as curvas para ^{60}Co (taxa de dose de 1,7 cGy/min) e ^{192}Ir (taxa de dose de 12,3 R/min) por não possuímos curvas de calibração para ^{137}Cs . Indicações feitas pela IAEA (Technical Reports Series nº 260, Vienna 1986)²⁷ mostram que a eficiência do ^{137}Cs em produzir dano se situa próxima ac do ^{192}Ir .

Deve-se levar em consideração que a estimativa de dose foi realizada em amostras colhidas após 30 dias da comunicação do acidente.

Caso nº 3

A estimativa de dose de 14 indivíduos envolvidos no acidente com a fonte de ^{137}Cs do Instituto Goiano de Radioterapia e internados no Hospital Geral de INAMPS e unidade da FEBEM de Goiânia, encontram-se na tabela X.

TABELA X: Estimativa de dose de 14 pacientes 60 dias após o acidente com a fonte de ^{137}Cs , utilizando curvas dose-resposta para ^{60}Co (1,7 cGy/min) e ^{192}Ir (12,3 R/min).

PACIENTES	CÉLULAS ANALISADAS	DICÊX-TRICOS	ANÉIS	ADERRAÇÕES POR CÉLULA	DOSE ESTIMADA (cGy)		LIMITE DE CONFIANÇA 95%	
					^{60}Co	^{192}Ir	^{60}Co	^{192}Ir
E.F. (46a)	300	01	0	0,033	12	9	0.5-50	0.5-50
L.K.F. (14a)	140	06	1	0,05	95	69	70-140	20-90
L.O.M.S. (28a)	100	10	0	0,1	146	106	100-300	70-200
M.G.A. (57a)	100	27	0	0,27	261	185	180-350	100-300
K.S.S. (31a)	241	07	0	0,029	66	49	25-90	20-80
I.A.F. (40a)	254	13	0	0,051	96	70	70-140	20-90
O.A.F. (32a)	260	09	0	0,034	75	55	30-100	20-90
O.A.F. Jr (13a)	230	02	0	0,0087	27	20	10-50	8-50
D.A.F. (36a)	71	25	0	0,352	303	219	200-450	150-400
E.F. (42a)	300	15	0	0,05	95	70	70-140	20-90
R.S.A. (22a)	555	22	0	0,4	325	235	200-500	150-400
E.A.S. (35a)	300	04	0	0,013	38	28	10-50	8-50
M.P.G. (59a)	164	02	0	0,012	36	26	10-50	8-50
M.A.M. (59a)	162	04	0	0,024	60	43	25-90	20-80

Aspectos Hematológicos

As tabelas XI e XII apresentam os leucogramas de alguns dos pacientes internados no Hospital Geral do INAMPS e na Unidade da FEBEM de Goiânia.

TABELA XI: Leucogramas de sete pacientes internados no Hospital Geral do INAMPS e Unidade da FEBEM de Goiânia (Go).

Tipos Celulares	NOMES DOS PACIENTES															
	Valores Normais ³		EF		LNF		LOMS		MGA		KSS		IAF		OAF	
	R ¹	A ²	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A
Neutrófilos	55-76	2750-7600	68	2873	52	1664	58	1798	51	1287	52	2860	76	5776	72	6480
Segmentados	55-70	2750-7000	66	2788	51	1632	56	1736	48	1176	51	2805	72	5472	70	6300
Bastonetes	0-5	0-500	02	85	01	32	02	62	03	111	01	55	04	304	02	180
Metamielócitos	0-1	0-100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eosinófilos	1-4	50-400	03	126	12	384	01	31	11	407	07	385	01	76	04	360
Basófilos	0-1	0-100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Linfócitos	20-35	1000-3500	24	1014	21	672	30	930	23	851	30	1650	22	1672	19	1710
Monócitos	4-8	200-800	05	212	15	480	12	341	15	555	11	605	01	76	05	450
Nº Total de Leucócitos/mm ³	5.000-10.000		4225		3200		3100		3700		5500		7600		9000	

1. Valor relativo em %;
2. Valor absoluto (célis./mm³):
3. Intervalo de normalidade extraído da literatura.

TABELA XII: Leucogramas de seis pacientes internados no Hospital Geral do INAMPS e Unidade da FEBEM de Goiânia (Go).

Tipos Celulares	NOMES DOS PACIENTES													
	Valores Normais ³		OAFJ		DAF		EF		EAS		MPG		MAH	
	R ¹	A ²	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A
Neutrófilos	55-76	2750-7600	73	2482	74	4514	26	1352	60	4340	50	2800	50	2000
Segmentados	55-70	2750-7000	67	2278	72	4392	24	1248	59	4248	49	2744	48	1920
Bastonetes	0-5	0-500	06	204	02	122	02	104	01	72	01	56	02	80
Metalielócitos	0-1	0-100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eosinófilos	1-4	500-400	04	136	02	122	26	1352	03	216	13	728	05	200
Basófilos	0-1	0-100	0	0	0	0	0	0	0	0	02	112	0	0
Linfócitos	20-35	1000-3500	13	442	15	915	36	1872	30	2160	30	1680	41	1640
Monócitos	4-8	200-800	10	340	09	549	12	624	07	504	05	280	04	160
nº total de Leucócitos/mm ³		5.000-10.000		3400		6100		5200		7200		5600		4000

1. Valor relativo em %;
2. Valor absoluto (cél./mm³)
3. Intervalo de normalidade extraído da literatura.

Utilizaram-se para a estimativa de dose as curvas para ^{60}Co (taxa de dose 1,7 cGy/min) e ^{132}Ir (taxa de dose de 12,3 R/min). Deve-se levar em consideração que a estimativa de dose foi realizada em amostras colhidas após 60 dias da comunicação do acidente.

Os leucogramas foram efetuados no IPEN-CNEN/SP, Divisão de Radiobiologia, com o intuito de avaliar a crise sanguínea e complementar os dados dos pacientes. Os resultados mostraram que os pacientes E.F., L.N.F., L.O.M.S., e M.A.M. apresentaram na amostra analisada número leucocitário total abaixo do nível de normalidade, bem como, os valores absolutos linfocitários dos pacientes L.N.F., L.O.M.S., M.G.A., O.A.F.Jr. e D.A.F..

Case nº 4

A amostra sanguínea de W.M.F. foi colhida em 11.12.1987. Foram analisadas 700 metáfases tendo sido observados 06 dicêntricos e nenhum anel. A frequência obtida foi de 0,00857 dicêntricos/célula que quando marcada nas curvas dose-resposta fornecidas pela literatura indica as doses estimadas (tabela XIII).

TABELA XIII : Curvas adotadas da literatura e estimativas de dose para W.M.F..

AUTOR/ANO	TIPO DE RADIACÃO	TAXA DE DOSE	DOSE ESTIMADA	LIMITE DE CONFIANÇA 95%
BAUCHINGER e Col.;1983 ⁷	$\gamma^{60}\text{Co}$	1,7cGy/min	27 cGy	10 - 50cGy
DuFRAIN e col., 1980 ¹⁶	$\gamma^{192}\text{Ir}$	12,3 R/min	20 cGy	10 - 40cGy

Aspectos Hematológicos

O leucograma efetuado na amostra sanguínea do paciente W.M.F., apresentou os valores conforme tabela XIV.

TABELA XIV : Leucograma do paciente de W.M.F.

TIPOS CELULARES	R ¹	A ²	R	A
Neutrófilos	55-76	2,750-7,600	56	4928
Segmentados	55-70	2,750-7,000	55	4840
Bastonetes	0-5	0-500	01	88
Metamiecócitos	0-1	0-100	0	0
Eosinófilos	1-4	50-400	01	88
Basófilos	0-1	0-100	0	0
Linfócitos	20-35	1,000-3,500	32	2816
Monócitos	4-8	200-800	11	968
No total de Leucócitos/mm ³		5,000-10.000		8,800

1. Valor relativo em %;
2. Valor absoluto (células/mm³);
3. Intervalo de normalidade extraído da literatura.

Foram utilizadas para estimativa de dose as curvas para ⁶⁰Co (taxa de dose de 12,3 R/mm). Deve-se levar em consideração que a estimativa de dose foi realizada em amostra colhida 70 dias da comunicação do acidente. O leucograma não apresentou alterações numéricas ou morfológicas.

Caso nº 5

A amostra sangüínea de N.B. foi colhida em 19.01 1988 . Foram analisadas 500 metáfases tendo sido observados 02 dicêntricos que resultaram numa freqüência de 0,004 dicêntricos/célula. Esta freqüência quando marcada nas curvas dose-resposta fornecidas pela literatura indica as doses estimadas.

Dose estimada : 8 cGy (Curva de calibração utilizada: R-X de 250 kVp³⁶ , taxa de dose 100 cGy/min).

Limite de Confiança 95%: < 0,5 - 34 cGy

Aspectos Hematológicos

O leucograma efetuado na amostra sangüínea do paciente N.B. apresentou resultado conforme tabela XV.

TABELA XV : Leucograma da amostra sangüínea do paciente N.B.

TIPOS CELULARES	VALORES	NORMAIS ³	N.B.	
	R ¹	A ²	R	A
Neutrófilos	55 - 76	2750 - 7,600	58	4611
Segmentado	55 - 70	2750 - 7,000	56	4452
Bastonetes	0 - 5	0 - 500	02	159
Metamielócitos	0 - 1	0 - 100	0	0
Eosinófilo	1 - 4	50 - 400	01	80
Basófilos	0 - 1	0 - 100	0	0
Linfócitos	20 - 35	1000 - 3500	29	2305
Monócitos	4 - 8	200 - 800	12	954
Nº Total de Leucócitos/mm ³		5.000 - 10.000		7.950

1. Valor relativo em %;
2. Valor absoluto (céls/mm³);
3. Intervalo de normalidade extraído da literatura.

O leucograma não apresentou alterações numéricas e morfológicas.

Caso nº 6

A amostra sangüínea de E.P.S. foi colhida em 16.05.1988. Foram analisadas 500 metáfases, não tendo sido observados dicêntricos ou anel cêntrico o que resultou numa estimativa de dose zero.

Como o caso ao ser encaminhado ao IPEN-CNEN/ SP era de suspeita de exposição à radiação, o resultado pelo método da dosímetria biológica citogenética indicou não ter havido exposição.

Aspectos Hematológicos

O leucograma efetuado na amostra sangüínea colhida em 16.05.1988 do paciente E.P.S. apresentou os valores conforme a tabela XVI.

TABELA XVI : Leucograma da amostra sangüínea de E.P.S..

TIPOS CELULARES	VALORES NORMAIS ³		E.P.S.	
	R ¹	A ²	R	A
Neutrófilos	55-76	2750-7600	65	3770
Segmentados	55-70	2750-7000	64	3712
Bastonetes	0 - 5	0 - 500	01	58
Metamielócitos	0 - 1	0 - 100	0	0
Eosinófilos	1 - 4	50 - 400	01	58
Basófilos	0 - 1	0 - 100	0	0
Linfócitos	20-35	1000-3500	27	1566
Monócitos	4 - 8	200- 800	06	348
Nº Total de Leucócitos/mm ³	5000-10.000		5800	

1. Valor relativo em %;
2. Valor absoluto (cél./mm³);
3. Intervalo de normalidade extraído da literatura.

O leucograma não apresentou alterações numéricas e morfológicas.

Caso nº 7

As amostras de P.P.C.; C.J.R. e L.T.S. foram colhidas em 19.07.1988. Foram analisadas 500 metáfases de cada paciente e a estimativa de dose encontra-se na tabela XVII.

TABELA XVII.: Estimativa de dose dos pacientes P.P.C.; C.J.R. e L.T.S., expostos acidentalmente a fonte de ^{192}Ir .

NOME DOS PACIENTES			
	P.P.C.	C.J.R.	L.T.S.
Nº de Células <u>Anali</u> sadas	500	500	500
Dicêntricos e Anéis Cêntricos Observados	10	02	07
Freqüência	0,02	0,004	0,014
Dose Estimada	37 cGy	11 cGy	29 cGy
Límite de Confiança 95%	20-60 cGy	<0,5-34cGy	15-50cGy
Curva de Calibração Utilizada	^{192}Ir taxa dose 12,3 R/min	^{192}Ir taxa de dose 12,3 R/min	^{192}Ir taxa de dose 12,3R/min

Aspectos Hematológicos

os leucogramas efetuados a partir das amostras sanguíneas apresentaram o resultado de acordo com a tabela XVIII.

TABELA XVIII: Leucogramas de L.T.S.; C.J.S. e P.P.C.

TIPOS CELULARES	NOMES DOS PACIENTES							
	VALORES NORMAIS ³		L.T.S.		C.J.R.		P.P.C.	
	R ¹	A ²	R	A	R	A	R	A
Neutrófilos	55-76	2750-7600	76	3268	67	3953	59	3245
Segmentados	55-70	2750-7000	75	3225	66	3894	58	3190
Bastonetes	0-5	0-500	01	43	01	59	01	55
Metalielócitos	0-1	0-100	0	0	0	0	0	0
Eosinófilos	1-4	50-400	03	129	04	236	02	110
Basófilos	0-1	0-100	0	0	0	0	0	0
Linfócitos	20-35	1000-3500	20	860	22	1298	36	1980
Monócitos	4-8	200-800	01	43	07	413	03	165
Nº Total de Leucócitos /mm ³		5.000-10.00	4300		5900		5500	

1. Valor relativo em %;
2. Valor absoluto (célis/mm³);
3. Intervalo de normalidade extraído da literatura:

Os leucogramas de C.J.R. e P.P.C. efetuados em amostras colhida em 19.07.1988, apresentaram número total e morfologia normal para os leucócitos, enquanto que o leucograma de L.T.S. apresentou contagem de leucócitos totais/mm³ e de límfócitos, ligeiramente abaixo do intervalo de normalidade.

5. DISCUSSÃO

Com a crescente utilização de fontes de radiação conforme relatado por HANDEE²² (1969), o número de acidentes tem aumentado significativamente e tem sido comprovada a necessidade de adoção de um método de estimativa de dose que auxilie tanto a dosimetria física quando o acidente apresenta características que impossibilita a avaliação de dose absorvida, seja pela ausência de dosímetro, ou seja pela falta de informações-quanto ao clínico na esquematização do tratamento.

Para o estabelecimento de uma metodologia de estimativa biológica de dose para indivíduos expostos acidentalmente ou suspeitos de exposição foi necessário o desenvolvimento de uma pesquisa que teve um início relevante com SAX(1938)⁴⁹ ao fazer as primeiras relações entre a irradiação de pólen de *Tradescantia* e a produção de aberrações de acordo com a dose utilizada. Em 1962 BENDER e GOOCH⁶ preconizaram que as aberrações cromossômicas em linfócitos sanguíneos poderiam ser utilizadas como uma medida quantitativa de dose em indivíduos expostos à radiação. Vários estudos permitiram o desenvolvimento da metodologia; MOORHEAD e col.⁴⁰ (1960) com preparações cromossômicas de leucócitos cultivados a partir de sangue periférico humano, a introdução de tratamento hipotônico para células mitóticas que foi aperfeiçoado por HUNGERFORD²⁶ (1965) e a utilização de 5-bromodeoxiuridina (BrdU) na determinação das várias divisões celu

lares conforme o descrito por SCOTT⁵⁰ (1979).

Tem-se observado a partir de provas mutagênicas, EVANS¹⁸ (1975), que o cromossomo apresenta uma resposta biológica direta à radiação. SASAKI⁴⁷ (1983) demonstrou que o cromossomo é uma estrutura extremamente sensível à ação da radiação e a propriedade desta em provocar alterações têm sido amplamente descrita por vários autores, por exemplo, BENDER e col.⁸ (1962); DOLPHIN e cols.¹³ (1973); EVANS e col.¹⁸ (1975); IAEA²⁷ (1986); LINIECK e cols.²⁶ (1983); LLOYD e cols.^{30,32,31,35,33,34} (1975, 1977, 1978, 1981, 1983, 1988); LUCNICK e col.³⁷ (1976); PITOUT e cols.⁴² (1983); FURROTT e col.^{44,45} (1972 e 1976); SASAKI^{46,47} (1971, 1983); SCOTT e col.⁵⁰ (1979) tendo isto ficado também demonstrado neste trabalho quando as freqüência de aberrações dos casos descritos foram determinadas.

As aberrações características utilizadas para a estimativa biológica de dose são o dicêntrico e anel cêntrico, descritas por PURROTT e col.⁴⁵ (1976) e SASAKI⁴⁶ (1971) e têm demonstrado uma grande equivalência quando comparadas com a freqüência observada em linfócitos irradiados "in vitro" conforme DuFRAIN e cols.¹⁵ (1980) e FABRY e col.¹⁹ (1986).

De acordo com a literatura, EVANS e col.¹⁷ (1978), cada laboratório deve gerar suas próprias curvas, contudo, quando do aparecimento dos casos acidentais relatados, como ainda não possuíamos as curvas adequadas, fizemos um levantamento de

trabalhos dos autores mais referenciados e mais recentes, cujos coeficientes se mostravam dentro de uma concordância e para tanto adotamos as curvas efetuadas por BAUCHINGER e cols.⁷ (1983); LLOYD e cols.^{30.32.33} (1975, 1977, 1983); DuFRAIN e cols.¹⁸ (1980) e IAEA²⁷ (1986).

O linfócito sanguíneo periférico foi preferido pelos pesquisadores que iniciaram o desenvolvimento do método de dosimetria biológica por causa das suas características de radiosensibilidade, tempo de sobrevivência, obtenção, cultivo, estágio celular, conforme BUCKTON e cols.¹⁰ (1967) e IAEA²⁷ (1986). Outro aspecto relevante foi a capacidade dessa célula ser estimulada por fitomitogênicos. O mitogênico que mais se adequou as nossas condições laboratoriais foi a fitohemaglutinina (PHA) semelhante ao descrito por TROWELL⁵³ (1961) e IAEA²⁷ (1986). Este trabalho demonstrou por meio dos casos apresentados que o método preenche os requisitos descritos por HUBNER e cols.²⁵ (1986) podendo ser considerado um método para estimativa biológica de dose e demonstra a importância da adoção desta metodologia como auxiliar da dosimetria física na confirmação ou comparação da estimativa de dose ou nos casos em que exista a impossibilidade da realização de medidas físicas, principalmente, para os casos em que haja suspeita de exposição.

Dentre as aplicações da técnica citogenética para estimativa biológica de dose, este trabalho reúne diversas categorias de indivíduos para os quais as avaliações são fre

q̃entemente solicitadas. Estas avaliações de dose têm sido a
plicadas em casos de exposições não uniformes quando a relação
entre a dose acusada no dosímetro de filme e a recebida pelo
corpo é incerta, quando de suspeita de altas doses de exposi
ção em pessoas que não portavam dosímetro ou quando de exposi
ções cujas estimativas de dose de corpo inteiro não podem ser
feitas por medidas físicas por causa da inexistência ou insu
ficiência de informações sobre o acidente²² .

Considerando os casos apresentados, podemos a
firmar que cada um deles com suas características próprias, en
quadram-se dentro das categorias citadas acima. Os casos des
critos com os números 2, 3, 4 são típicos de exposições que a
dosimetria física não teve condições para avaliar a dose por
causa das condições do acidente. Nestes casos houve uma conta
minação generalizada, exposições irregulares à radiação e por
se tratar de indivíduos que não trabalham com materiais radioau
tivos, não utilizavam quaisquer tipos de dosímetros.

Já nos demais casos denominados 1, 5, 6, e 7, o
correram com indivíduos que trabalham com fontes radioativas o
que possibilitou a estimativa de dose e a comparação por dosi-
metria física e biológica citogenética. No caso 6, do trabalhau
dor E.P.S., a leitura do dosímetro pessoal acusou uma dose re
lativamente alta (53 cSv) quando comparada com a dose máxima
permissível anual que é de 5 cGy⁴¹ . Quando a amostra sangüí-
nea foi submetida a estimativa biológica de dose não foram de

tectados quaisquer tipos de aberrações cromossômicas em 500 células analisadas e este resultado permitiu-nos informar que o trabalhador não havia se exposto à radiação.

A produção das aberrações cromossômicas depende essencialmente da distribuição da dose no interior do corpo. É esperado que as aberrações cromossômicas produzidas estejam relacionadas com a exposição do sangue e tecidos onde os glóbulos brancos são produzidos e estocados. Atualmente, tem sido estudado se a dose integral nesses tecidos é um fator crítico ou se a dose nos diferentes compartimentos contribui de várias maneiras para a produção das aberrações cromossômicas. Uma distribuição homogênea da dose recebida nunca ocorre na prática, mesmo nos casos de exposição de corpo inteiro com radiação eletromagnética de alta energia que ocorre uma variação na dose causada pelas diferenças de absorção dos tecidos moles e ossos. Quando se trata de irradiação parcial do corpo a situação torna-se mais complexa, nos casos de irradiação não homogênea, aparecem dificuldades adicionais por causa dos processos de substituição das células sanguínea entre o sangue periférico e os diferentes tecidos e não é possível determinar se os linfócitos que foram colhidos para análise após a irradiação estavam localizados na região do corpo que recebeu a radiação¹. O acidente com ¹³⁷Cs em Goiânia (casos de nºs 2 e 3) mostra com muita evidência a dificuldade da estimativa de dose em consequência da não homogeneidade da irradiação e pelo alto nível de contaminação interna e externa dos indivíduos envolvidos.

É preciso levar em consideração que o número de aberrações cromossômicas radioinduzidas presentes nos linfócitos sanguíneos periféricos decresce com o tempo e isto é dependente dos processos de seleção e reparo e também que a frequência das aberrações depende sobretudo da distribuição da dose, e do tempo que decorra entre a irradiação e a análise ⁶. Estudos tem sido realizados para demonstrar que alguns linfócitos possuem vida longa e que as aberrações cromossômicas existentes nelas tendem a desaparecer. Nestes estudos e nos vários efetuados em pessoas expostas acidentalmente à radiação, há uma evidência característica de que os linfócitos com anormalidades cromossômicas radioinduzidas podem persistir "in vitro" por muitos anos após a exposição e isto tem sido mais observado no caso das formas instáveis de anormalidades, como por exemplo, nos cromossomos dicêntricos que provavelmente são a causa da morte celular quando ocorre a tentativa de divisão. Atualmente aceita-se que os linfócitos com cromossomos dicêntricos e com fragmentos acêntricos podem estar presentes "in vitro" até 10 anos ou mais após o período da exposição a radiação provocou sua origem ¹⁰.

Vários autores estudaram a permanência das aberrações cromossômicas e o seu declínio no decorrer do tempo. BAUCHINGER e col. (1968) estudaram casos de mulheres irradiadas com raios X e rádio para tratamento de carcinomas ginecológicos. As análises cromossômicas dessas pacientes foram efetuadas por um período de 25 anos após a irradiação e observaram um decréscimo de 25%. GIMENEZ & NOWOTNY ²⁰ (1978) ao estudar um caso

de irradiação acidental com ^{137}Cs , demonstraram por meio de um acompanhamento de dez anos, que existem linfócitos de longa vida e que possuíam aberrações cromossômicas, porém em menor número. LITTLEFIELD e col.³⁰ (1980), num estudo efetuado 17 anos após a exposição de 6 indivíduos à fissão de nêutrons e radiação gama, concluíram que os linfócitos podem carregar lesões cromossômicas e serem capazes de sobreviver muitos anos após a irradiação. SASAKI e col.⁴⁸ e AWA² (1968), estudando casos de sobreviventes de Hiroshima e Nagasaki notaram que ocorreu uma diminuição na frequência das aberrações radioinduzidas após 25 anos da exposição. Fica claro, portanto, que as aberrações persistem por muitos anos mas ocorre um declínio e que, não há uma associação entre a dose de exposição e o número de aberrações observadas quando decorrido certo tempo que é determinado por alguns fatores, por exemplo, os linfócitos que são um grupo de células heterogêneas com aparência morfológica semelhante mas funcionalmente diferentes e a frequência destes diferentes linfócitos no sangue pode variar com o tempo resultando numa proporção diferente das células em cultivo; o número de metáfases examinado é muito pequeno quando comparado com a população total de linfócitos "in vivo", e os cromossomos que portam anormalidades podem sofrer evoluções cromossômicas diferentes desde o dano original²¹.

Comparativamente a esses estudos, o resultado do acompanhamento do C.M.C. (caso 1) concorda com os resultados obtidos na literatura^{4.20.48.2.21}. A primeira avali

ação cromossômica efetuada 24 h após a exposição acidental apresentou 08 dicêntricos em 700 células metafásicas, enquanto que na análise feita 2 meses após a exposição foi observado 01 dicêntrico em 700 células.

Outro ponto a ser discutido são as exposições a doses baixas. Vários pesquisadores como LLOYD e col.³⁴ (1988) tem direcionado suas pesquisas no sentido de averiguar o comportamento das células e a produção de aberrações cromossômicas produzidas com doses baixas para melhor utilização da dosimetria biológica citogenética. Uma característica desfavorável à realização de análises quando de exposições às doses baixas é a grande quantidade de células que deve ser avaliada e isso tem estimulado poucos pesquisadores a incluir doses menores do que 20 cGy, em seus estudos; outro ponto são as incertezas estatísticas que, quando associada aos dados podem levar a interpretações possivelmente enganosas. Acredita-se que com doses muito baixas ($< 0,3$ cGy) as lesões seriam reparadas por um "pool" de enzimas razoavelmente constantes. Numa faixa de 0,3 a 10 cGy, uma moderada elevação do dano estimularia uma produção adicional de enzimas resultando numa maior capacidade de reparo que leva à formação de um platô na inclinação da curva dose-resposta. Ocorre também, nesse tipo de estudo, que na menor dose utilizada (por exemplo 0,4 cGy) a frequência de aberrações cromossômicas fica abaixo do controle (2,8 dic./1000 células)³, isso porque os controles foram maiores do que o usual (0,5 a 1,5 dic./1000 células)^{8,9}.

5. CONCLUSÕES

Considerando que o objeto deste trabalho foi o de contribuir com a informação sobre uma metodologia utilizada corretamente por vários laboratórios de citogenética de numerosos países que desenvolveram projetos no campo da energia nuclear e manipulam fontes radioativas, e sua aplicação para a estimativa de dose em casos de exposição acidental à radiação, foi nos possível concluir que:

- 1 . É de grande importância para a conduta médica ou de proteção radiológica, a estimativa de dose de radiação absorvida por indivíduos comprovadamente expostos ou em casos de suspeita de exposição à radiação ;
2. A metodologia adotada e padronizada em nosso laboratório, mostrou que o meio de cultivo RPMI-1640 e o estimulador mitogênico fitohemaglutinina (PHA) são os mais eficientes para o cultivo de linfócitos;
3. O cultivo de linfócitos efetuado em um período de 48 h é suficiente para a obtenção das metáfases necessárias para que a frequência de aberrações cromossômicas se situe dentro de pequeno erro estatístico;

4. O linfócito é, atualmente, o mais preciso indicador biológico de dano por radiação e possibilita uma estimativa de dose absorvida por indivíduos expostos em casos de acidentes;
5. A irradiação de linfócitos sanguíneos periféricos "in vitro" e "in vivo" provoca danos estruturais cromossômicos semelhantes, de modo que a frequência desses danos em pessoas expostas acidentalmente podem ser estimados por meio de curvas dose-respostas produzidas "in vitro" (curvas de calibração);
6. A frequência das aberrações cromossômicas instáveis do tipo dicêntrico e anel cêntrico, mostra-se compatível com a dose estimada, o que é comprovado nos casos em que a dosimetria física foi capaz de fornecer a dose de exposição;
7. As aberrações cromossômicas instáveis de linfócitos persistem nos indivíduos expostos à radiação durante muitos anos, mas tendem a diminuir ao longo do tempo;
8. A dosimetria biológica citogenética é um método útil como auxiliar da dosimetria física para a confirmação ou comparação de estimativas de dose nos casos de exposição acidental quando existam sistemas físicos de monitoração ou informações pormenorizadas do acidente;

9. A frequência de aberrações cromossômicas de linfócitos san
güíneos periféricos utilizada pela dosimetria biológica ci
togenética é considerada ser o único método exequível nos
em que haja suspeita de exposição à radiação e não haja
possibilidade da realização de estimativa de dose por meio
de medidas físicas quando da ocorrência do acidente, seja
pela ausência de sistemas físicos de monitoração ou pela
insuficiência de informações pormenorizadas do acidente.

APENDICE



Figura 1. Fotomicrografia de uma metáfase (aumento 1250x)

As setas indicam:

nº 1 e 4 - Aberração cromossômica do tipo dicêntrico

nº 2, 5, 6 - Fragmentos acêntricos

nº 3 - Fragmento acêntrico puntiforme (minuto)



Figura 2. Fotomicrografia de uma metáfase (aumento 1250x)

As setas indicam:

nº 1 e 5 - Aberração cromossômica do tipo dicêntrico

nº 2 e 3 - Fragmento acêntrico puntiforme (minuto)

nº 4 - Fragmento acêntrico

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDREWS, G.A. Radiation and their managements. Radiat. Res. supp., 7:390-97, 1967.
2. AWA, A.A. Chromosome aberrations in somatic cells. J. Radiat. Res., 16:122, 1968.
3. BARAL, E. & BLOMGREN, H. Response of human lymphocytes to mitogenic stimuli after irradiation in vitro. Acta Radiol. Ther. Phys. Biol., 15(2):149-61, 1976.
4. BAUCHINGER, M. Chromosomenaberr. u. cherezeitl. Veränderung nach radium - Roentgen, Therapie Gynäkogischer Tumoren. Strahlentherapie, 135:553, 1968.
5. BAUCHINGER, M.; SCHIMID, E.; DRESP, J. Calculation of the dose-rate dependence of the dicentric yield after ^{60}Co gamma-irradiation of human lymphocytes. Int. J. Radiat. Biol. 35(3):229-33, 1979.
6. BAUCHINGER, M.; SCHMID, E.; HUG, O. The relevance of chromosome aberration yields for biological dosimetry after low-level occupational irradiation. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Advances in physical and biological radia

tion detectors: proceed of a symposium on..., held in Vienna 23-27 november, 1970. Vienna, 1971. p. 623-31.

7. BAUCHINGER, M.; SCHIMID, D.; STRENG, S.; DRESP, J. Quantitative analysis of the chromosome damage at first division of human lymphocytes after ^{60}Co gamma-irradiation. Radiat Environ. Biophys., 22:225-9, 1983.
8. BENDER, M.A. & GOOCH, P.C. Types and rates of X-ray induced chromosome aberration in human blood irradiated "in vitro". Proc. Nat. Acad. Sci. (USA), 48:522-23, 1962.
9. BREEWEM, J.G. & GENGOZIAN, N. Radiation induced chromosome aberrations. III. Human "in vitro" and "in vivo" irradiation marmoset leucocytes. Mutat. Res. 13:383-91, 1971.
10. BUCKTON, K.E.; COURT BROWN, W.M.; SMITH, P.G. Lymphocytes survival in men treated with X-rays for ankylosing spondylitis. Nature, 214:470-3, 1967.
11. CASARETT, A.P. Radiation Biology. Englewood Cliffs, N.J. Prentice-Hall, 1968.
12. COLOWICK, P.S. & KAPLAN, N.O. Monoclonal antibodies. Pt.B. Methods. Enzymol., 73:3-46, 1981.

13. CRADDOCK, D.G.; LONGMIRE, R.; MCMILLIAN, R. Lymphocytes and the immune response. N.Engl.J.Med., 285:324-78, 1971.
14. DEKNUDT, G.H. & LÉONARD, A. Stimulation of irradiated human lymphocytes by different mitogens. Int.J.Radiated.Biol., 38(3):361-64, 1980.
15. DOLPHIN, G.W.; LLOYD, D.C.; PURROTT, R.J. Chromosome aberration analysis as a dosimetric technique in radiological protection. Health Phys., 25:7-15, 1973.
16. DuFRAIN, R.J.; LITTLEFIELD, L.G.; JOINER, E.E.; FROMME, E.L. "in vitro" human cytogenetics dose-response systems. In: HÜBNER, K.F. & FRY, S.A. eds. The medical basis for radiation accidents preparedness. Amsterdam, North-Holland, 1980. p.357-374.
17. EVANS, H.J. & LLOYD, D.C. Mutagen-induced chromosome damage in man. Edinburgh, University Press,, 1978.
18. EVANS, H.J. & O'RIOR DAN, M.L. Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. Mutat.Res., 31:135-48, 1975.

19. FARRY, L. & LEMAIRE, M. Dose response relationship for radiation induced chromosome aberrations in human lymphocytes "in vivo" and "in vitro". Strahlentherapie, 162:63-7, 1986.
20. GIMENEZ, J.C.; NOWTNY, G. Seguimiento de un caso de irradiation humana accidental. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY Late biological effect of ionizing radiation: proceed of a symposium on ... , held in Vienna 13-17 March, 1978. Vienna, 1979. p. 279-85.
21. GOH, K. Total-body irradiation and human chromosome. IV. Cytogenetic follow-up studies 8 and 10 1/2 years after total body irradiation. Radiat. Res., 62:364-73, 1975.
22. HENDER, W.R. Management of individuals accidentally exposed to radiation or radioactive materials. Sem. Nucl. Med., 16(3):203-10, 1986.
23. HENRY, J.B. Diagnósticos clínicos e conduta terapêutica por exames laboratoriais. 16 ed., São Paulo, Manole, 1983 . v. 1,2.
24. HÜBNER, K.F. & FRY, S.A. The medical basis for radiation accidents preparedness. Amsterdam, North-Holland, 1980.
25. HÜBNER, K.F.; LITTLEFIELD, L.G.; DuPRAJN, R.J. Experiences in the practical application of biological indicator. Berlin, MMV, Medizin Verlag, 1986. p. 17-34.

26. HUNGERFORD, D.A. Leucocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl. Stain. Technol. 40(6):333-38, 1965.
27. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Biological dosimetry chromosomal aberration analysis for dose assessment. Vienna, 1986. (Technical Report Series, 260).
28. KOZINETS, G. Manual on radiation haematology. Vienna, 1971. (Technical Report Series, 123).
29. LINIECK, J.; BAJERSKA, A.; WYSZYNSKA, K. Dose-response relationships for chromosome aberration in peripheral blood lymphocytes after whole and partial body irradiations I. Effects immediately after irradiation. Mutat. Res. 110:83-101, 1983.
30. LITTLEFIELD, L.G.; JOINER, E.E.; DuFRAIN, R.J.; HÜBNER, K.F.; BECK, W.L. Cytogenetic dose estimative from "in vivo" samples from person involved in real or suspected radiation exposures. In: HÜBNER, K.F. & FRY, S.A. The medical basis for radiation accident preparedness. Amsterdam, North - Holland, 1980. p.375-90.
31. LLOYD, D.C. The problems of interpreting aberration yields induced by "in vivo" irradiation of lymphocytes. In: EVANS, H.J. & LLOYD, D.C., eds. Mutagen-induced chromoso
-

- me damage in man. New Haven, University Press, 1978. p. 77-88.
- 32.LLOYD, D.C. & DOLPHIN, G.W. Radiation induced chromosome damage in human lymphocytes. Br. J. Med., 34:261-73, 1977.
- 33.LLOYD, D.C. & EDWARDS, A.A. Chromosome aberration in human lymphocytes: effects of radiation quality, dose, and dose rate. In: ISHIHARA, T.; SASAKI, N.S., eds. Radiation-induced chromosome damage in man. New York, Alan R.Liss, 1983. p. 23-49.
- 34.LLOYD, D.C.; EDWARDS, A.A.; LÉONARD, A.; DEKNUDT, Gh; NATARAJAN, A.; OBE, G.; PALITTI, F. ; TANZARELLA, C.; TAWN, E.J. Frequencies of chromosomal aberrations induced in human blood lymphocytes by low doses of X-rays. Int. J. Radiat. Biol., 53(1):49-55, 1988.
- 35.LLOYD, D.C. & PURROTT, R.J. Chromosome aberration analysis in radiological protection dosimetry. Radiat. Prot. Dosim., 1:1928, 1981.
- 36.LLOYD, D.C.; PURROTT, R.J.; DOLPHIN, G.W.; BOLTON, D.; EDWARDS, A.A.; CORP, M.J. The relationship between chromosome aberrations and low LET radiation dose to human lymphocytes. Int. J. Radiat. Biol., 28:75-90, 1975

37. LUCHNIK, N.V.; SEVANKAEV, A.V. Radiation-induced chromosomal aberrations in human lymphocytes. I. Dependence on the dose of gamma-rays and anomaly at low doses. Mutat. Res., 36:363-78, 1976.
38. MCLEAN, A.S. Radiation accidents: reflections and reminiscences. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Handling of radiation accidents: proceed of a symposium on the held in Vienna, 28 Feb.- 4 March, 1977. Vienna, 1977. p. 3 - 17.
39. MILROY, W.C. Management of irradiated and contaminated casualty victims. Emerg. Med. Clin. North America, 2(3): 667-86.
40. MOORHEAD, P.S.; NOWELL, P.C.; MELLMAN, W.J.; BATIPS, D.M.; HUNGERFORD, D.A. Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell. Res., 20:613-16, 1960
41. NATIONAL COUNCIL ON RADIATION PROTECTION AND MEASUREMENTS. Management of persons accidentally contaminated with radio nuclides. Washington, D.C., 1980. (NCRP-65).
42. PITOUT, M.J.; LOUW, W.K.A.; VUUREN, C.J. van; IZATT, H.; HUGO, N.; WATT, J.J. van der. Lymphocytes and radiosusceptibility. Nucl. Act., 28:29-32, 1983.

43. PROSSER, J.S. Survival of human T and B lymphocytes after X-irradiation Int.J.Radiat.Biol., 30(5):459-65, 1976.
44. PURROTT, R.J. & LLOYD, D.C. The study of chromosome aberration yield in human lymphocytes as an indicator of radiation dose. I. Techniques. Harwell, England, National Radiological Protection Board, 1972. (NRPB-82).
45. PURROTT, R.J. & REEDER, R. The effects of changes in dose rate on the yield of chromosome aberrations in human lymphocytes exposed to gamma irradiation. Mutat. Res., 35:437-44, 1976.
46. SASAKI, M.S. Radiation induced chromosome aberrations in lymphocytes: possible biological dosimeter in man. In: SUGAHARA, T. & HUG, O. Biological aspects of radiation protection. Tokio, Igaku, Shain, 1971. p.81-91.
47. SASAKI, M.S. Use of lymphocytes chromosome aberrations in biological dosimetry: possibilities and limitations. In: SASAKI, M.S. Radiation-induced chromosome damage in man. New York, Alan Liss, 1983 . p. 585-604.
48. SASAKI, M.S. & MIYATA, H. Biological dosimetry in atomic survivors. Nature, 220:1189, 1968.

49. SAX, K. Chromosome aberrations induced by X-ray. Genetics, 23:494-516, 1938.
50. SCOTT, D. & LYONS, C.Y. Homogeneous sensitivity of human peripheral blood lymphocytes to radiation induced chromosome damage. Nature, 278:756-58, 1979.
51. SILBERSTEIN, E.B.; CHEN, I-WEN; SAENGER, E.L.; KEREIAKES, J. G. Cytologic-biochemical radiation dosimeters in man. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Biochemical indicators of radiation injury in man: proceed of a scientific meeting on..., held in Paris Le-Vesinet, France, 22-26 June, 1970. Vienna, 1971. p. 181-214.
52. TAKAHASHI, E.I.; HIRAI, M.; TOBARI, I.; NAKAI, S. Dose-response relations for dicentric yield in Go lymphocytes of man and crabeating monkey following acute and chronic gamma-irradiations. Mutat. Res., 60:357-65, 1979.
53. TROWELL, O.A. Radiosensitivity of the cortical and medullary lymphocytes in the thymus. Int. J. Radiat. Biol., 4:163, 1961.
54. WASGSTAFF, J. Lymphocyte migration studies in man. New York, Plenum Press, 1985. p. 319-43. (NATO Advanced Study Institute on Radiolabeled Celular Blood).

ERRATA

Página	Linha	Onde se lê	Leia-se
Abstract	Cabeçalho	Lymphocytes	Lymphocytes
"	7	though	thought
2	12	sérios	séricos
2	22	no qual	na qual
3	1	aberração	aberrações
4	8	radiação	irradiação
7	5	no qual	na qual
8	1	" vitro "	" in vitro "
11	17	distinguem	distinguem
14	18	radiossensibilidade	radiossensibilidade
15	23	populações	subpopulações
19	17	cromossomos	cromossomo
19	23	raios-X	raios X
21	5	linfócitos	linfócito
22	26	de ou um mais	de um ou mais
24	2	Produção	produção
24	10	o trabalhador	O trabalhador
25	8	encontram-se	encontra-se
28	3	material cultivado	material foi cultivado
28	21	estimativa	para a estimativa
29	8	dosímetro	dosímetros
29	12	L.T.S.	L.T.S.
30	4	estéril sem	estéril e sem
30	7	siringa	seringa
31	11	cultilab	Cultilab
31	14	NaOH 0,1	NaOH 0,1 N,
32	1	estufa em câmara	estufa, levados para câmara
32	12	à 37°C	a 37°C
32	22	Adicionaram-se	Adicionou-se
35	tabela III	R-X 250KVp	R X 250 KVp
39	8	recebidas	recebida
44	6	número de	número elevado de
45	9	são células	são as células
48	14	encontram-se	encontra-se
50	3	Goiania.	Goiania (Go).

Página	Linha	Onde se lê	Leia-se
52	tabela XII	Metalielócitos	Metamielócitos
53	1	Utilizaram-se	Utilizou-se
53	9	mostrara	mostraram
55	tabela XIV	Metamiecócitos	Metamielócitos
		<hr/>	<hr/>
		R ¹ A ²	Valores Normais ³
		<hr/>	<hr/>
55	tabela XIV	R ¹ A ²	R ¹ A ²
		<hr/>	<hr/>
55	2	⁶⁰ Co (taxa de dose de 12,3 R/mm).	¹⁹² Ir (taxa de dose de 12,3 R/min) .
56	4	nas curvas	na curva
56	5	fornecidas pela literatura indica as doses estimadas.	fornecida pela literatura indica a dose estimada.
56	8	R-X	R X
60	3	a estimativa de dose encontra-se	as estimativas de dose encontram-se
61	2	o resultado	os resultados
61	tabela XVIII	Metalielócitos	Metamielócitos
62	2	colhida	colhidas
63	6	impossibilita	impossibilitam
63	12	um pesquisa	uma pesquisa
64	2	mutagênicos	mutagênicas
66	12	2, 3, 4	2, 3 e 4
67	14	ocorre	provoca
67	19	sangüínea	sangüíneas
68	17	acêntricos	acêntricos
68	19	a radiação provocou	à radiação que provocou
68	26	estudar	estudarem
69	13	associação	correlação
69	14	tempo que é	tempo e isto é
69	15	linfócitos que são um	linfócitos embora pertençam a um
69	16	morfológica	morfologia
69	17	mas funcionalmente diferentes	desempenham funções distintas
69	18	tempo resultando	tempo e resultar
69	22	sofrer evoluções	apresentar transformações
69	23	diferentes desde o dano	diversas daquelas produzidas quando do dano

Página	Linha	Onde se lê	Leia-se
70	10	citogenética	citogenética
70	15	associada	associadas
71	1	objeto	objetivo
71	3	corretamente	correntemente
72	20	exposição acidental	exposições acidentais
73	3	nos em que	nos casos em que

EXCLUIR

69	18	diferentes linfócitos
----	----	-----------------------