

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

IRANEZ BORTOLOTTI

ANÁLISE DE DANOS NO DNA DE LINFÓCITOS NA EQUIPE DE ENFERMAGEM
OCUPACIONALMENTE EXPOSTA À RADIAÇÃO IONIZANTE

Porto Alegre

2014

IRANEZ BORTOLOTTO

**ANÁLISE DE DANOS NO DNA DE LINFÓCITOS NA EQUIPE DE ENFERMAGEM
OCUPACIONALMENTE EXPOSTA À RADIAÇÃO IONIZANTE**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Linha de pesquisa: Políticas e Práticas em Saúde e Enfermagem.

Orientadora: Profa. Dra. Angélica Rosat Consiglio

Porto Alegre

2014

CIP - Catalogação na Publicação

Bortolotto, Iranez

Análise de danos no DNA de linfócitos na equipe de enfermagem ocupacionalmente exposta à radiação ionizante / Iranez Bortolotto. -- 2014.
124 f.

Orientadora: Angelica Rosat Consiglio.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Escola de Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Dano ao DNA. 2. Radiobiologia. 3. Ensaio cometa. 4. Estresse. 5. Equipe de Enfermagem. I. Consiglio, Angelica Rosat, orient. II. Título.

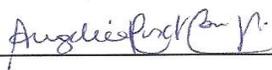
Iranez Bortolotto

Danos no DNA de linfócitos na equipe de enfermagem ocupacionalmente exposta à radiação ionizante e ao estresse.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Enfermagem da Escola de Enfermagem da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Aprovada em Porto Alegre, 15 de janeiro de 2014.

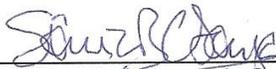
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Angélica Rosat Consiglio

Presidente da Banca – Orientadora

PPGENF/UFRGS



Profa. Dra. Sônia Beatriz Coccaro de Souza

Membro da banca

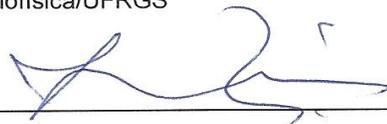
PPGENF/UFRGS



Prof. Dr. Edulfo Eduardo Diaz Rios

Membro da banca

Biofísica/UFRGS



Profa. Dra. Temenouga Nikolova Guechev

Membro da banca

Biofísica/UFRGS

AGRADECIMENTOS

A Profa.Dra. Angelica Rosat Consiglio, por aceitar a orientação, pelo incentivo e otimismo, pela sabedoria e aprendizado, pela amizade e paciência, pela dedicação e carinho, pela confiança e conhecimento compartilhados, pelas aulas valiosas. Minha profunda gratidão e eterno reconhecimento.

Aos professores do Departamento de Biofísica, pela liberação por um ano, em especial a Dra. Ana Ligia Lia de Paula Ramos, pelo incentivo, apoio e amizade. Ao Dr. Edulfo Eduardo Diaz Rios pelo incentivo e apoio, e ao Dr. Eloy Julius Garcia pelo incentivo.

À colega Jussara Beatriz J. de Freitas, pelo coleguismo, amizade e pela ajuda, serei eternamente grata pelo apoio.

Ao Projeto Radioanálise pelo apoio financeiro. Ao colega Fabiano Luiz pela ajuda incansável na área computacional e pela amizade. A Rosane pela ajuda e carinho.

Ao NAE (Núcleo de Apoio à Estatística da UFRGS), à Profa. Elsa Mundstock e seu grupo de apoio.

Ao HCPA, pelo apoio financeiro através do FIPE. Ao grupo do GPPG: Rafael Zimmer, Pablo Klein, Vania Hirokata, Roberto S. Silva e a Rosa, obrigada pelo apoio. Especialmente às 80 enfermeiras, técnicas e auxiliares de enfermagem por se disporem a participar da pesquisa.

Ao grupo do Centro de Pesquisa Clínica (CPC): Andreia Rambo, Tânia Braga, Rodrigo Pires e Suzete Guterres Coelho pelo apoio e receptividade.

Ao Geferson B. da Silva do Centro de Pesquisa Experimental (CPE) pelo profissionalismo e seriedade.

Ao Serviço de Medicina Ocupacional (SMO), em especial à Liana Zampiron, à Dra. Maria Cecília V. Viana e ao Dr. Damasio Macedo Trindade pela colaboração e atenção.

A Dra. Joiza Lins de Camargo, aos Farmacêuticos-Bioquímicos Rosane e Antonio do Laboratório de Patologia Clínica, pela análise do cortisol salivar.

Às enfermeiras do HCPA, Profa. Sônia Beatriz Cócáro de Souza, Anne Marie Weissheimer, Ana Magalhães, Gisela de Moura pela ajuda. E às colegas de mestrado e também enfermeiras do HCPA Roselene Matte um especial agradecimento pela ajuda na Hemodinâmica, pela sua amizade, e a amiga Andréia Barcellos Teixeira, obrigada pela força.

Aos físicos do serviço de Física Médica e Radioproteção do HCPA, ao Alexandre Bacelar pelo apoio, à Fernanda Trindade e Rochelle Lykawka pela atenção, gentileza e colaboração.

Às chefias de enfermagem da Radiologia: as Enfermeiras Letícia S. Erig, Sabrina, Beatriz; da Hemodinâmica: a Roselene Matte; do Ambulatório: as Enfermeiras Rossana Bercini e Maria Luiza; da Internação Obstétrica: Márcia C. Knoener, obrigada pela colaboração e atenção.

À Escola de Enfermagem por me receber, em especial à Profa. Liana Lautert pela força, incentivo e pelas aulas.

Aos meus professores e colegas do curso de Mestrado por compartilharem comigo esta experiência única com momentos agradáveis e aprendizados que levarei para a vida.

Aos colegas do grupo de pesquisa GISO, pelos conhecimentos compartilhados, pela amizade e festas.

Aos amigos e parceiros do Laboratório 210 do Dep. de Biofísica, em especial ao Cristiano Trindade e Larissa Milano pela ajuda incansável com o Cometa e MN, pelo aprendizado, pelas

dicas importantes, pelos sábados trabalhados durante 4 meses, foi cansativo, mas ao mesmo tempo prazeroso. Ao Grupo do GENOTÓX em especial à Farmacêutica Miriana Machado, e a Dra. Temenouga Nikolova Guecheva (Nucha) pelo apoio técnico e pela simpatia. A Rose, André, Michele, Diana, Jaqueline, as colombianas Grethel e Victória, por dividirem o laboratório durante os testes e pela amizade.

À colega de Mestrado Ana Paula Scherer de Brum pela ajuda incansável na coleta de dados, uma verdadeira amiga, pois saía de Videira SC para ajudar na coleta, e por um período de 4 meses incluindo janeiro, e sempre animada.

Às amigas de todas as horas, Loreni, Neusa e Marilene por me escutar, apoiar, e por entenderem a minha falta de tempo, enfim amigas para sempre.

À minha família que sempre me apoiou. Aos meus pais Luiz e Pierina pelo apoio, paciência e sabedoria. Aos meus irmãos Valdomiro e Arcemiro pelo apoio e carinho, e às queridas manas Irmanez, Maria Ignes, Amarilda e Marilene que sempre me apoiaram, sem a ajuda de vocês teria sido difícil. Ao meu filho Leonel pela ajuda, por entender minha ausência. À querida mana Marinez que tanto me apoiou, incentivou, ajudou, e sempre esteve presente, achando que tudo era possível, mas que infelizmente não está mais entre nós. Estará sempre no meu coração. Aos sobrinhos Marcio e Isadora pela ajuda e carinho. Ao Farmacêutico-Bioquímico Luis e ao Enfermeiro Luis Jr, pelo incentivo.

RESUMO

BORTOLOTTI, Iranez. **Análise de danos no DNA de linfócitos na equipe de enfermagem ocupacionalmente exposta à radiação ionizante**. 2014. 124 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem)-Escola de Enfermagem, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

Introdução: Os efeitos biológicos decorrentes da exposição às radiações ionizantes em altas doses são bem conhecidos. Já os efeitos decorrentes da exposição a baixas doses, como em situação ocupacional, não estão completamente determinados, podendo ser confundidos com a ação de outros agentes, como o estresse.

Objetivos: Analisar danos no DNA de linfócitos na equipe de Enfermagem ocupacionalmente exposta à radiação ionizante, podendo ou não estar sob estresse, em um hospital universitário no sul do Brasil.

Método: Estudo transversal, do tipo caso-controle, incluiu 79 mulheres de equipes de Enfermagem oriundas das Unidades de Hemodinâmica, Radiologia, Ambulatório e de Internação Obstétrica, e classificadas em 2 grupos: 1_Expostos à radiação ionizante, n=38 (Unidades de Hemodinâmica e Radiologia) e 2_Não Expostos à radiação ionizante, n=41 (Ambulatório e Unidade de Internação Obstétrica). Foram avaliadas as lesões no DNA de linfócitos, concentrações de cortisol salivar, a escala de estresse percebido (escore máximo de 56), o teste de Stroop, o *span* de dígitos e de palavras. Após a coleta de sangue, o dano no DNA foi analisado usando-se a técnica do ensaio cometa e de micronúcleos (MN). As células foram classificadas de acordo com a frequência (FD) e índice de danos (ID) baseados no tamanho da cauda do cometa. A concentração de cortisol salivar foi determinada em 3 momentos: ao acordar ($Cort_{zero}$), 30 minutos após acordar ($Cort_{30}$), e antes de dormir à noite ($Cort_N$). Os dados foram submetidos à ANOVA de uma via e à correlação de Pearson ou Spearman; $p < 0,05$ foi considerado como estatisticamente significativo. O estudo foi aprovado pelo comitê ético local.

Resultados: Não houve diferença significativa para as variáveis ID, FD, MN, $Cort_{zero}$, $Cort_{30}$, $Cort_N$, Stroop_palavra, Stroop_cor, Stroop_cor/palavra entre os grupos. Mais de 73 % da equipe apresentaram níveis de cortisol salivar acima de 19.7 nmol/L; o escore médio de estresse percebido foi de $23,75 \pm 7,78$. Os níveis de cortisol logo após acordar foram correlacionados positivamente com o desempenho cognitivo medido pelo teste de Stroop [(Stroop_cor: $r = +0,224$; $p = 0,048$; Stroop_palavra/cor ($r = +0,276$; $p = 0,014$)] e teste e *Span* de dígitos ($r = +0,258$; $p = 0,022$); entretanto, os níveis de cortisol salivar 30 minutos após acordar ou antes de dormir foram inversamente correlacionados com o desempenho cognitivo (Stroop_cor; $r = -0,243$; $p = 0,032$).

Conclusões: A exposição ocupacional à radiação ionizante, dentro dos limites da legislação vigente, não aumentou o dano no DNA de linfócitos na amostra estudada da equipe de Enfermagem do HCPA. Isso pode indicar uma conduta adequada de radioproteção, como rotação na equipe, ou efeito de hormese, assim como apontar outros riscos à equipe de Enfermagem além da radiação ionizante. As correlações entre aumento de estresse, redução da cognição e aumento de dano, alertam para as conseqüências do estresse para estes profissionais que lidam com a saúde.

Palavras-chave: Dano ao DNA. Radiobiologia. Ensaio cometa. Teste para micronúcleos. Equipe de Enfermagem. Estresse. Cortisol. Teste de Stroop. Saúde ocupacional

Suporte Financeiro: FIPE/HCPA e Projeto FAURGS-Radioanálise

ABSTRACT

BORTOLOTTI, Iranez. **Lymphocytes DNA damage evaluation in a nursing team occupationally exposed to Ionizing radiation**. 2014. 124 f. Dissertation (Master in Nursing)-School of Nursing, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

Introduction: The biological effects due to exposure to ionizing radiation at high doses are well known. On the other hand, the effects due to low doses exposures, as in an occupational status, are not well defined and can still be mistaken by other agents, such as stress.

Aim: To evaluate DNA damage in lymphocytes in a nursing team occupationally exposed to ionizing radiation, under stress or not, in a university hospital in southern Brazil.

Method: Cross-sectional study, case-control design, included 79 women working in a nursing team in Hemodynamics, Radiology, Ambulatory and Midwifery Unit. They were classified in two groups: 1_Exposed to ionizing radiation, n=38 (Hemodynamics and Radiology Units) and 2_Unexposed to ionizing radiation, n=41 (Ambulatory and Midwifery Unit). DNA damage in lymphocytes and their salivary cortisol levels, the perceived stress scale (maximum score 56), the Stroop test, the digit and word span were evaluated. Blood was collected and DNA damage was analyzed using the comet assay and micronucleus test (MN). The cells were classified according to the damage frequency (FD) and index (DI) based on the comet tail size. Salivary cortisol levels were determined in three time points: at awakening ($Cort_{zero}$), 30 minutes after waking up ($Cort_{30}$) and before sleeping at night ($Cort_N$). Data were submitted to a one way ANOVA and to Pearson or Spearman's correlation test; $p < 0.05$ was considered statistically significant. The study was approved by the local ethics committee. **Results:** No difference was found for the variables DI, FD, MN, $Cort_{zero}$, $Cort_{30}$, $Cort_N$, Stroop_word, Stroop_color, Stroop_color/word between the groups. More than 73 % of the team had the morning salivary cortisol levels above 19.7 nmol/L; the average perceived stress score was 23.75 ± 7.78 . The cortisol levels soon after awakening were positively related to cognitive performance measured by the Stroop test (Stroop_color: $r = +0.224$; $p = 0.048$; Stroop_word/color ($r = +0.276$; $p = 0.014$)) and digit span test ($r = +0.258$; $p = 0.022$); however, the cortisol levels taken 30 minutes after waking or at night were inversely related to the cognitive performance (Stroop test_color; $r = -0.243$; $p = 0.032$).

Conclusions: DNA damage in lymphocytes did not differ between nursing teams occupationally exposed or not exposed to ionizing radiation. It may indicate a good radioprotection policy, such as staff rotation, or hormesis effect for the exposed ones, as well as risks other than radiation to the healthcare team. Correlations among stress, cognition decrease and DNA damage increase, highlight the importance of stress consequences for those professionals responsible for public healthcare.

Keywords: DNA damage. Radiobiology. Comet assay. Micronucleus test. Nursing team. Stress. Cortisol. Stroop test. Occupational health

Acknowledgements: Supported by FIPE/HCPA and Radioanalysis- FAURGS Project

RESUMEN

BORTOLOTTO, Iranez. **Análisis de daños en el ADN de los linfocitos del personal de enfermería ocupacionalmente expuesto a la radiación ionizante.** 2014. 124 f. Tesina (Maestría en Enfermería)- Escuela de Enfermería, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

Introducción: Los efectos biológicos de la exposición a las radiaciones ionizantes en dosis altas son bien conocidos. Ya, los efectos de la exposición a dosis bajas, como los que ocurren en situación laboral, no son completamente definidos y se puede confundir con la acción de otros agentes, como el estrés.

Objetivos: Analizar daños en el ADN de los linfocitos en el personal de enfermería, ocupacionalmente expuesto a la radiación ionizante pudiendo o no estar sujeto al estrés, en un hospital universitario en el sur de Brasil.

Método: El estudio transversal, del tipo caso - control, incluyó 79 mujeres de equipos de Enfermería, procedentes de las unidades de Hemodinámica, Radiología, Ambulatorios y de hospitalización obstétrica; ellas fueron clasificadas en 2 grupos: 1- Expuestos a la radiación ionizante, n= 38 (Unidades de Hemodinámica y Radiología) y 2- No Expuestos a la radiación ionizante, n= 41 (Unidad Intensiva y de Internación Obstétrica). Fueron evaluados de acuerdo al daño en el ADN de los linfocitos, las concentraciones de cortisol salival, la escala de estrés percibido (puntuación máxima 56), el Teste de Stroop o span de dígitos y de palabras. Después de la colecta de sangre, se analizó el daño en el ADN mediante la técnica del teste cometa y de micronúcleos (MN). Las células fueron clasificadas de acuerdo con la frecuencia (DF) y el índice de daño (ID) basado en el tamaño de la cola del cometa. La concentración de cortisol en la saliva fué determinado en 3 momentos: al despertar (Cort_{zero}), a 30 minutos después de despertar (Cort₃₀) y antes de dormir, por la noche (Cort_N). Los datos fueron sometidos a ANOVA de una vía y a la correlación de Pearson o Spearman; p < 0,05 fue considerado estadísticamente significativo. El estudio fue aprobado por el comité de ética local.

Resultados: No hubo diferencia significativa, entre los grupos, para las variables ID, FD, MN, Cort_{zero}, Cort₃₀, Cort_N, Stroop_palabra, Stroop_color/palabra. Mas de 73 % del personal presentó niveles de cortisol salival mayores que 19,7 nmol/L; la puntuación media percibida de estrés fue $23,75 \pm 7,78$. Los niveles de cortisol después de despertarse correlacionaron positivamente con el rendimiento cognitivo, medido por el Teste de Stroop [(Stroop_color: r = +0,224 , p = 0,048; Stroop_palabra / de color (r = +0,276, p = 0,014)] y el Teste de span de dígitos (r = 0,258, p = 0,022); no obstante, los niveles de cortisol en la saliva 30 minutos después de despertar, o antes de acostarse, correlacionasen inversamente con el rendimiento cognitivo (Stroop_color, r = - 0,243, p = 0,032).

Conclusiones: La exposición ocupacional a la radiación, dentro de los límites de la Legislación vigente, no aumento el daño en el ADN de los linfocitos, en la muestra estudiada, del personal de Enfermería del HCPA. Esto puede indicar una conducta adecuada a la protección radiológica, como la rotación dentro del equipo, o al efecto de hormesis, así como puede apuntar a otros riesgos para el equipo de enfermería, a parte de la radiación ionizante. Un alto porcentaje de los profesionales de enfermería se encuentra bajo estrés. Las concentraciones de cortisol, al despertar y antes de dormir, están correlacionadas con los procesos de atención y memoria, que son de gran relevancia para los profesionales que actúan en la salud.

Palabras clave: Daño al ADN. Radiobiología. Teste Cometa. Teste para micronúcleos. Personal de enfermería. Estrés. Cortisol. Teste de stroop. Salud ocupacional

Apoyo financiero: FIPE/HCPA y Proyecto FAURGS-Radioanálise

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Diferenças entre as técnicas de micronúcleos e ensaio cometa.....	49
Tabela 2 - Caracterização dos dados sócio-profissional-demográfico da equipe de Enfermagem analisada do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2013.....	53
Tabela 3 - Caracterização da amostra da equipe de Enfermagem analisada por Unidade do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2013.....	54
Tabela 4 - Avaliação de dano no DNA em linfócitos, dose total acumulada e idade, na Equipe de Enfermagem conforme Exposição Ocupacional ou não à Radiação Ionizante	55
Tabela 5 - Valores da Concentração de Cortisol Salivar e Escore de Estresse Percebido na Equipe de Enfermagem conforme Exposição Ocupacional ou não à Radiação Ionizante	56
Tabela 6 - Distribuição de Frequência de Ocorrência de Estresse em função do Estado Civil.....	57
Tabela 7- Distribuição de Frequência de Ocorrência de Estresse em função do Número de Filhos	58
Tabela 8 - Distribuição de Frequência de Ocorrência de Estresse em função do Setor de Trabalho	58
Tabela 9 - Distribuição de Frequência de Alteração da Concentração de Cortisol Salivar em função do Uso de Medicamentos.....	59
Tabela 10 - Resultados do teste de <i>Stroop</i> , <i>Span</i> de dígitos e <i>Span</i> de Palavras.....	60
Tabela 11 - Valores de Índice e Frequência de Dano no DNA de Linfócitos, Frequência de Micronúcleos, IMC e Testes Cognitivos de Atenção e Memória de acordo com Hábitos de Tabagismo, Consumo de Álcool e Atividade Física	73

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Valores da Concentração de Cortisol Salivar na Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	57
Gráfico 2 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_2 e a concentração de cortisol salivar ao acordar da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	62
Gráfico 3 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_3 e a concentração de cortisol salivar ao acordar da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	63
Gráfico 4 - Correlação entre o resultado do teste de Span de dígitos e a concentração de cortisol salivar ao acordar da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	64
Gráfico 5 - Correlação entre o Índice de Dano no DNA de Linfócitos e a Concentração de Cortisol Salivar 30 minutos após acordar da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	65
Gráfico 6 - Correlação entre a Frequência de Dano no DNA de Linfócitos e a Concentração de Cortisol Salivar 30 minutos após acordar da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	66
Gráfico 7 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_2 e a Concentração de Cortisol Salivar antes de dormir da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	67
Gráfico 8 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_1 e a Frequência de Micronúcleos da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	68
Gráfico 9 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_2 e a Frequência de Micronúcleos da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	69
Gráfico 10 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_3 e a Frequência de Dano no DNA de Linfócitos da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	70

Gráfico 11 - Correlação entre Inclinação da Curva do Cortisol Salivar e a Frequência de Micronúcleos em Linfócitos da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	71
Gráfico 12 - Correlação entre Inclinação da Curva do Cortisol Salivar e o resultado do teste de Stroop_1 da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.	72
Gráfico 13 - Correlação entre a Dose Ocupacional de Radiação Ionizante no Último Ano de Trabalho com o Escore no Span de Dígitos nas Unidades de Radiologia e Hemodinâmica	74

Lista de Figuras

Figura 1 - Representação esquemática de vários ativadores e inibidores de produtores de espécies reativas de oxigênio, em verde a esquerda (produtores), em vermelho a direita (inibidores) de EROs.....	29
Figura 2 - Fontes geradoras de ERO.	30
Figura 3 - Organograma.	40
Figura 4 - Resultado de possíveis danos que podem ser encontrados no Ensaio Cometa.	46
Figura 5 - Representação de células encontradas no teste de micronúcleos.	49

Lista de Abreviaturas

μL – Microlitro

AC – Área sob a curva

ALARA – *As Low As Reasonably Achievable*

CBMN – *Cytokinesis-block micronucleus* (micronúcleos com bloqueio da citocinese celular)

cGy – Centigray

CNEN – Comissão Nacional de Energia Nuclear

CPC – Centro de Pesquisa Clínica

CPE – Centro de Pesquisa Experimental

DMSO – Dimetilsulfóxido

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DSB – Rompimento duplo de cadeia (*Double strand break*)

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

EPI – Equipamento de proteção individual

ER – Receptor estrogênio

ERO – Espécies reativas de oxigênio

FC – Frequência cardíaca

FD – Frequência de dano

Gy – Gray

H_2O_2 – Peróxido de hidrogênio

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HPA – Hipotálamo-pituitária-adrenal

IAEA - Agência Internacional de Energia Atômica

ICRP – *International Commission on Radiological Protection*

ID – Índice de dano

IDNC – Índice de divisão nuclear considerando a citotoxicidade

IND – Índice de divisão nuclear

ISRS – inibidores seletivos de recaptção de serotonina

LET – Transferência linear de energia
mM – Milimolar
MN – Micronúcleos (*micronuclei*)
MS – Ministério da Saúde
mSv – MiliSievert
NaCl – Cloreto de sódio
NaOH – Hidróxido de sódio
NBPR – Normas Básicas de Proteção Radiológica
NE – Norma Experimental
nmol/L – Nanomol por litro
NR – Norma Regulamentadora
OIT – Organização Internacional do Trabalho
PHA – Fitoemaglutinina
PNP – Ponte nucleoplasmática (*nucleoplasmatic bridges*)
PR – Receptor de progesterona
PSD – Pressão sanguínea diastólica
PSS – (*Perceived Stress Scale*) Escala de Estresse Percebido
PSS – Pressão sanguínea sistólica
R – Roentgen
rad – radiation absorbed dose
RCA – Resposta do cortisol ao acordar
rem – Roentgen equivalent man
SAR – Síndrome aguda da radiação
SCGE – Single cell gel electrophoresis
SOD – Superóxido dismutase
Sv - Sievert
TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido
UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UNSCEAR – *United Nations Scientific Committee on Effects of Atomic Radiation* (Comitê Científico das Nações Unidas sobre os Efeitos das Radiações Ionizantes)
 λ - Comprimento de onda

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	24
2.1	Gerais	24
2.2	Específicos	24
3	REVISÃO DE LITERATURA	25
3.1	A radiação ionizante em serviços diagnósticos por imagem	25
3.2	Efeitos biológicos da radiação ionizante	26
3.3	Avaliação de dano em DNA em indivíduos expostos às radiações ionizantes	32
3.4	Princípios de radioproteção	33
3.5	O Estresse, radicais livres e o cortisol	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1	Local do estudo	36
4.2	População e amostra	37
4.3	Delineamento	39
4.4	Coleta de dados e amostras	40
<i>4.4.1</i>	<i>Cortisol salivar</i>	41
<i>4.4.2</i>	<i>Sinais vitais, medidas antropométricas e outros dados</i>	41
<i>4.4.3</i>	<i>Escalas de auto-informe para avaliação do estresse</i>	42
<i>4.4.4</i>	<i>Avaliação de atenção e memória</i>	42
<i>4.4.5</i>	<i>Avaliação da genotoxicidade pelo ensaio cometa</i>	44
<i>4.4.6</i>	<i>Avaliação da frequência de micronúcleos pela técnica de Bloqueio da Citocinese Celular (CBMN)</i>	47
<i>4.4.7</i>	<i>Leitura dos dosímetros</i>	49
4.5	Análise dos dados	50

4.6	Considerações éticas	52
5	RESULTADOS	53
5.1	Dados sócio-demográficos e profissionais.....	53
5.2	Avaliação da presença de danos no DNA em linfócitos	54
5.3	Avaliação do nível de estresse por meio do cortisol salivar e estresse percebido em indivíduos ocupacionalmente expostos e não expostos às radiações ionizantes.....	56
5.4	Avaliação da função cognitiva da memória e atenção	59
5.5	Correlações entre danos no DNA, cortisol e as funções cognitivas de memória e atenção	61
5.5.1	<i>Para expostos e não expostos à radiação ionizante</i>	61
5.5.2	<i>Para expostos à radiação ionizante</i>	73
6	DISCUSSÃO	75
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
7.1	Principais resultados	90
7.2	Conclusões	91
7.3	Implicações	92
8	APOIO FINANCEIRO	92
	REFERÊNCIAS	93
	ANEXO 1 - FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS	109
	ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	113
	ANEXO 3 - ESCALA DE ESTRESSE PERCEBIDO	115
	ANEXO 4 - ORIENTAÇÕES TESTE STROOP (SOUZA, 2004)	117
	ANEXO 5 - STROOP_1	118
	ANEXO 6 - STROOP_2	119
	ANEXO 7 - STROOP_3	120
	ANEXO 8 - SPAN DE DÍGITOS E SPAN DE PALAVRAS	121
	ANEXO 9 - ROTEIRO DE COLETA DO CORTISOL SALIVAR - TRABALHADORES HCPA	122
	ANEXO 10 - APROVAÇÃO PELA COMPESQ ENF/UFRGS	123
	ANEXO 11 - APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HCPA	124

1 INTRODUÇÃO

As explosões nucleares de 1945 fizeram a humanidade despertar para a realidade dos efeitos biológicos da radiação ionizante e os riscos a que populações podem estar sendo expostas (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY - IAEA, 1992 ; FERNANDES, 2000; MACEDO, 2003).

Entretanto, alguns efeitos das radiações ionizantes em tecidos humanos já são conhecidos há mais tempo, logo após a descoberta dos raios x em 1895 por Roentgen (MATUSHITA, 2002). Desde então, usos terapêuticos foram pesquisados e adotados utilizando estas práticas, como por exemplo, a radioterapia. Durante muito tempo, muitas informações foram acumuladas sobre os efeitos danosos da radiação ionizante. Assim, houve a necessidade de regulamentar a exposição¹ de indivíduos a essa radiação e aprimorar técnicas a fim de evitar a exposição desnecessária tanto do trabalhador como do público.

A enfermagem vem atuando cada vez mais com as tecnologias emissoras de radiação em seu processo de trabalho, sendo assim, torna-se indispensável qualificar o profissional para atuar com segurança nessas especialidades. Pesquisas apontam que a equipe de enfermagem tem pouco conhecimento sobre cuidados de radioproteção e dos efeitos biológicos provocados por essas radiações que podem causar danos, mesmo dentro dos limites permitidos pela legislação.

As principais radiações ionizantes encontradas em situações ocupacionais relacionadas à saúde são a radiação x, a radiação gama, partículas beta e elétrons. O setor de medicina nuclear prepara e administra radiofármacos para as cintilografias diagnósticas, que emitem basicamente radiação gama. Na radiologia convencional e na tomografia, há emissão de raios-x. Na radioterapia, aceleradores lineares emitem raios-x com energia mais alta do que aquela utilizada para diagnóstico, ou ainda podem emitir elétrons; pode-se ainda utilizar fontes de cobalto-60 ou céscio-137 que são emissores de radiação gama. A fluoroscopia, muito utilizada em avaliação

cardiológica, resulta em níveis ocupacionais de exposição aos raios-x geralmente altos. Diferentes grupos profissionais ficam expostos a essas radiações ionizantes: médicos, enfermeiros, farmacêuticos, bioquímicos, técnicos e tecnólogos, etc.

As radiações ionizantes podem gerar efeitos determinísticos (a severidade da lesão é dependente da dose) ou estocásticos (como por exemplo, o câncer) em que a probabilidade (mas não a severidade) de ocorrência aumenta com a dose¹. O principal mecanismo de ação das radiações ionizantes é a radiólise da água, e a consequente formação de radicais livres, que em desequilíbrio com as defesas antioxidantes, gera o estresse oxidativo. Entretanto, não só as radiações ionizantes geram esse estresse oxidativo: o estresse físico e/ou psicológico também, e portanto pode apresentar efeitos semelhantes à exposição às radiações ionizantes.

Devido à crescente implementação de novas tecnologias que utilizam radiação ionizante, o trabalhador de Enfermagem deve observar as leis sobre proteção radiológica e o controle ocupacional. Ações educativas visam promover atitudes de radioproteção, e normas nacionais e internacionais estipulam valores máximos anuais de doses absorvidas com o objetivo de reduzir a probabilidade de dano radioinduzido. Os indivíduos que estão potencialmente sujeitos às radiações ionizantes devem portar dosímetros individuais, que geralmente são mensurados mensalmente e se submeterem à análise de hemograma e contagem de plaquetas periodicamente. O intuito, ao adotar as regras básicas de radioproteção, é evitar a exposição desnecessária do indivíduo à radiação ionizante. O controle de radioproteção ocupacional dos trabalhadores deve ser efetivo, isto é as fontes de radiação devem ser mantidas sob controle, a proteção física (blindagem, distância, tempo de exposição) deve ser adequada, os controles de áreas e de trabalhadores devem ser efetivos e um programa de avaliação frequente dos resultados de monitoração de áreas e de dosimetria² individual deve ser posto em prática.

¹ Dose Absorvida (Gy) é a energia depositada por unidade de massa.

Dose Equivalente (Sv) grandeza equivalente à dose absorvida no corpo humano, modificada de maneira a constituir uma avaliação do efeito biológico, onde o dano biológico causado pela radiação é aproximadamente proporcional à energia depositada.

Dose Efetiva (Sv) grandeza que expressa a soma dos produtos de todas as doses equivalentes pelos fatores respectivos de ponderação do órgão irradiado (Xavier et al., 2006, IPEN, 2005, CNEN, 2005).

² Monitoração individual é a monitoração da dose externa de radiação do trabalhador exposto (CNEN/DRS, 2009).

No segundo Congresso Internacional de Radiologia, em 1928, houve um amplo consenso quanto à necessidade de formular recomendações que serviriam a diversos países como base para elaborar Normas de Radioproteção (MASSERA, 2003). Em 1934, a Comissão Internacional de Proteção Radiológica (International Commission on Radiological Protection – ICRP), adotou, como limite, o valor de 0,2 R/dia para a exposição ocupacional, sendo que este valor vigorou até 1950 (BRASIL, 2005). Depois, com a Segunda Guerra Mundial, houve um crescente interesse por energia nuclear e, na década de 50, foram conquistados muitos avanços importantes na área de radioproteção. Assim, a taxa de exposição máxima permissível para indivíduos ocupacionalmente expostos foi reduzida para 0,3 R/semana, correspondendo, para radiação x ou gama, a uma dose de 15 rem/a (0,15 Sv/a) (BRASIL, 2005). Na segunda metade da década de 50, foi recomendada outra redução para a dose ocupacional, para 5 rem/ano. Depois, o limite de dose acumulada até a idade N não poderia exceder o valor $5(N-18)$, tendo também sido adotado o limite trimestral de 3 rem (BRASIL, 2005). No Brasil, em 1973, foram aprovadas as Normas Básicas de Proteção Radiológica (NBPR) pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, CNEN. Princípios básicos de radioproteção foram fixados para vigorar no país, dentre eles, os limites de dose que vinham sendo recomendados internacionalmente (BRASIL, 2005). A Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) aprovou, em 1988, a norma “Diretrizes Básicas de Radioproteção (NE – 3.01)”, fundamentando-se no conceito de “detrimento”, ou seja, no fato de que qualquer dose, por menor que seja, está associada à probabilidade de ocorrência de danos (efeitos estocásticos – em que a probabilidade, mas não a severidade de ocorrência aumenta com a dose de exposição). E adota três princípios básicos:

Princípio da Justificativa, em que qualquer atividade envolvendo radiação ionizante ou exposição deve ser justificada em relação a outra alternativa e produzir um benefício líquido para a sociedade, ou seja, o benefício em si supera qualquer possível dano associado ao emprego da radiação ionizante, levando em conta fatores sociais e econômicos, entre outros.

Princípio da Otimização, onde as exposições devem ser tão reduzidas quanto razoavelmente exequível (ALARA – As Low As Reasonably Achievable), levando-se em consideração fatores

sociais e econômicos. Assim, a magnitude de doses individuais, a probabilidade de provocar exposição e o número de pessoas expostas devem ser minimizados.

Princípio da Limitação da Dose Individual, onde as doses individuais de trabalhadores e indivíduos do público não devem exceder os limites anuais de dose estabelecidos pela CNEN, em particular, 50 mSv (5 rem) para o trabalhador e 1 mSv (0,1 rem) para o indivíduo do público (BRASIL, 2005).

Nota-se que a tendência mundial tem sido a de adotar limites de doses ainda mais restritivos, limites esses recomendados pela ICRP em 1990 e que, no Brasil, já foram adotados pelo Ministério da Saúde para radiodiagnóstico médico e odontológico, por meio da Portaria 453, de 01/06/1998. Sendo assim, para trabalhadores destas áreas, a dose média anual não deve exceder a 20 mSv (2 rem) em qualquer período de 5 anos consecutivos, não podendo exceder a 50 mSv em nenhum ano. Esclarece que a dose equivalente anual não deve exceder a 500 mSv para extremidades e a 150 mSv para o cristalino (BRASIL, 2005). Entretanto, em 2011, o limite de dose para o cristalino foi reduzido para 20 mSv/ano para o trabalhador (VAÑO; COSSET; REHAN, 2011). Além disso, o Conselho Federal de Enfermagem (Resolução COFEN/211, 1998) dispõe sobre a atuação dos profissionais de Enfermagem que trabalham com radiação ionizante, regulamentando normas de radioproteção (BRASIL, 2004). Estudos demonstram a necessidade de educação permanente (o que reforça a idéia da Portaria nº 198/04GM/MS como estratégia do Sistema Único de Saúde para a formação e o desenvolvimento dos trabalhadores da saúde), e particularmente na educação em radioproteção na Equipe de Enfermagem, conforme evidenciado em um estudo nacional (FLÔR, 2010).

Em 2002 o tema proteção radiológica teve uma primeira conferência nacional dedicada à proteção radiológica ocupacional na sede da Organização Internacional do Trabalho (OIT), em Genebra, na Suíça, com a preocupação de proteger o trabalhador da área das radiações ionizantes. Também foi recomendado um plano, em particular pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) e a Organização Internacional do Trabalho, para a concretização das

recomendações para reforçar a proteção radiológica. Percebe-se a preocupação e o cuidado por parte dos organismos regulamentadores nos cuidados com os trabalhadores expostos que necessitam desses cuidados, bem como o público (MASSERA, 2003). Com o objetivo de monitorar a exposição ocupacional à radiação ionizante, o trabalhador deve, com periodicidade semestral, (e em situação admissional) realizar hemograma completo e contagem de plaquetas (NR-7 do Ministério do Trabalho). A NR-6 do Ministério do Trabalho instrui sobre o uso de equipamentos de proteção individual para exposição às radiações ionizantes (proteção do tronco e uso de luvas). Já a NR-15 do Ministério do Trabalho informa sobre os limites de tolerância para as radiações ionizantes, considerando como atividades insalubres (SALIBA et al., 2010; 2011).

A exposição ocorre em procedimentos intervencionistas, minimamente invasivos, utilizados na radiologia intervencionista, a qual realiza procedimentos com fluoroscopia para fins diagnósticos e/ou terapêuticos que fornece uma imagem em tempo real (LUZ et al., 2007; DURÁN et al., 2009). Esta técnica é muito útil, pois produz uma imagem instantânea e contínua, guiando procedimentos como funções dinâmicas e identificar doenças (ISHIGUCHI, 2002). Os resultados do estudo, que examinou se o trabalhador da Enfermagem, que exerce as atividades se expondo a radiação ionizante, cumpre as normas da Resolução do COFEn 211/1998, que rege sobre a atuação dos profissionais de Enfermagem que trabalham com radiação ionizante. E diagnosticou que essa resolução além de não ser cumprida era desconhecida pelos profissionais (FLÔR; KIRCHOF, 2005; FLÔR, 2005). Além disso, aquela pesquisa mostrou alguns problemas de saúde, como: leucemia, anemia, câncer, hipo e hipertireoidismo e abortos, que podem estar associados a efeitos biológicos das radiações ionizantes, embora esses efeitos possam ser devido a outras causas (FLÔR, 2005). Outro estudo, que tratou da exposição ocupacional relativa à carga física de radiação em trabalhadores da hemodinâmica, demonstrou doses mais elevadas nas extremidades, dos outros serviços de radiologia e diagnóstico por imagem (ALONSO, 2005).

O direito ao trabalho seguro e à redução de riscos inerentes as atividades deste estão garantidos pela Constituição de 1988 (BRASIL, 1998). Os riscos ocupacionais estão amplamente discutidos e descritos na literatura, em estudos sobre a saúde do trabalhador de Enfermagem.

Por outro lado, pesquisas sobre estresse e sua relação com riscos ocupacionais tem abordado o adoecimento tanto físico como mental, provenientes do estresse. O estudo de Ribeiro et al. (2012), aborda o adoecimento do trabalhador de enfermagem, bem como as doenças ocasionadas como ansiedade, depressão, hipertensão, úlceras, entre outros, e também, fatores como elevado absenteísmo. Além do desgaste físico, o desgaste emocional pode acarretar a perda da capacidade, biológica e psíquica, podendo ou não ser expressa como patologia pela medicina (MASLACH; LEITER, 1999).

Os efeitos do trabalho no processo saúde-doença nos trabalhadores implicam ética, técnica e legalmente, e refletem a organização e assistência. Assim sendo, devido aos riscos ocupacionais na área da saúde, o Ministério do Trabalho promulgou a Norma Regulamentadora (NR-32) a qual trata das condições e necessidades dos trabalhadores em atividades de atenção à saúde e estabelece as diretrizes básicas para a implementação de medidas de proteção à segurança e à saúde dos trabalhadores em estabelecimentos de assistência à saúde (BRASIL, 2005). Vale salientar a crescente preocupação com a saúde e estresse dos profissionais de enfermagem que atuam em hospitais, pois, além de enfrentarem no seu dia-a-dia situações de limite físico e psicológico, convivem em um ambiente de trabalho com riscos de agentes químicos, físicos, biológicos e psíquicos, capazes de causar danos à sua saúde. O estresse afeta negativamente níveis de satisfação, produtividade, saúde e desempenho do profissional (SCHIMIDT, 2009; CAREGNATO; LAUTERT, 2005), e afeta mais profundamente quando as atividades envolvem inter-relacionamento de profissionais. De acordo com estes autores, o estresse provoca dificuldade de atenção e concentração, confusão mental, perda efêmera da memória, irritabilidade, cansaço, mal estar generalizado e acidentes. Petterson et al. (1995), evidenciou em estudo com enfermeiros suecos, valores superiores a 80% de estresse elevado a muito elevado nestes profissionais. Outro estudo, realizado por Caregnato e Lautert (2005)

reforça que apesar de contratempos com pacientes ocasionarem experiências marcantes, o paciente foi considerado o menor causador de estresse ocupacional nos profissionais, sendo as relações interpessoais os estressores mais expressivos. Os mesmos autores, referindo-se ao estresse ocupacional, onde avaliaram 368 enfermeiros de um hospital, os quais responderam duas escalas que mensurava nível de estresse e capacidade para o trabalho, indicou que 23,6% apresentaram experiências e rotinas significativas de estresse (NEGELISKI; LAUTERT, 2011).

Portanto, ressalta-se importância da intensificação dos estudos de diagnósticos e clínicos, para a problemática do estresse ocupacional em profissionais da saúde, que é uma discussão atual e merece investigação, pois cada vez mais estudos têm demonstrado que estes profissionais representam uma classe profissional à mercê de elevados níveis de estresse diários.

Existem poucos trabalhos publicados sobre exposição ocupacional à radiação ionizante do trabalhador de Enfermagem (CALEGARO; TEIXEIRA, 2007). Um estudo sobre o trabalhador de Enfermagem em Hemodinâmica aborda que há um processo de desgaste provocado pela exposição à radiação ionizante que está velado por ser uma carga física invisível (FLÔR, 2010).

A idéia central desse estudo é avaliar danos mensuráveis em sangue periférico (DNA de linfócitos) e alterações na memória e atenção, de indivíduos ocupacionalmente expostos às radiações. Pretende-se determinar se a equipe de Enfermagem ocupacionalmente exposta às radiações ionizantes, dentro dos limites de exposição determinados pela legislação vigente, apresenta maior dano no DNA de linfócitos do que a equipe não exposta às radiações ionizantes. Muitos efeitos determinados e atribuídos pela exposição à radiação ionizante não são exclusivamente causados por ela, podendo ser gerados por outros fatores. O nível de estresse será avaliado concomitantemente, pois pode atuar como um fator confundidor na avaliação de dano.

Já há uma legislação clara para proteção radiológica. Se este estudo mostrar alguma associação relevante entre dano no DNA de linfócitos e estresse (fator confundidor), pode ser mais um importante passo como subsídio para buscar metas e políticas de apoio de prevenção e proteção ocupacional (e individual) contra o estresse.

O presente estudo fundamenta-se na hipótese de que indivíduos ocupacionalmente expostos às radiações ionizantes apresentam mais danos quanto maior for a dose acumulada de radiação recebida (aguda ou cronicamente), perceptível mesmo dentro dos limites de exposição atualmente permitidos pela legislação vigente. Outros fatores, entretanto, podem contribuir (e/ou potencializar) aguda ou cronicamente esse resultado, como o estresse. Sucintamente, espera-se uma correlação: a) positiva entre dano no DNA x dose acumulada de radiação e estresse; e b) invertida entre memória x dano no DNA, dose acumulada de radiação e estresse.

2 OBJETIVOS

2.1 Gerais

- Avaliar a presença (aumento) de dano de DNA em sangue periférico, em profissionais de Enfermagem expostos ocupacionalmente às radiações ionizantes, em relação aos não expostos.

2.2 Específicos

- Avaliar a presença de dano de DNA em linfócitos, em indivíduos ocupacionalmente expostos às radiações ionizantes utilizadas para fins diagnósticos (raios x, tomografia computadorizada, fluoroscopia);
- Correlacionar o dano mensurado no DNA com a dose acumulada de radiação ao longo dos anos de exposição ocupacional;
- Averiguar o nível de estresse em indivíduos ocupacionalmente expostos às radiações ionizantes;
- Correlacionar os resultados de danos no DNA vs exposição à radiação vs estresse vs função cognitiva da memória;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A radiação ionizante em serviços diagnósticos por imagem

A radiação ionizante é definida como qualquer partícula ou radiação eletromagnética que, ao atingir a matéria biológica, ioniza seus átomos ou moléculas, ou seja, é a radiação cuja energia é superior à energia de ligação dos elétrons de um átomo com o seu núcleo, sendo capaz de arrancar elétrons de seus orbitais (KHALIL, 2011; MATTLER, 2008; NOUAILHETAS, [s.d.]).

Elementos químicos instáveis ou radioativos podem emitir radiações eletromagnéticas (radiação gama e x) e/ou partículas, como alfa e beta (THRALL; ZIESSMAN, 2001). A partícula alfa (α) possui pequeno poder de penetração, e pode ser barrada por uma folha de papel, mas pode arrancar elétrons das substâncias que vai interagir, portanto é altamente ionizante. A partícula beta (β), mais penetrante do que a alfa, possui menor poder de ionização; pode ser negativa, e sua emissão ocorre quando o núcleo está com excesso de nêutrons, possuindo as mesmas características dos elétrons, porém com origem nuclear, ou pode ser positiva (emissão de pósitrons), partículas com massa igual à do elétron, porém com carga positiva, que são emitidas quando o núcleo possui excesso de prótons. Após a emissão de partículas alfa ou beta, o núcleo resultante encontra-se ainda com excesso de energia e estabiliza-se emitindo o excesso em forma de onda eletromagnética, via a emissão de radiação gama (γ). Torna-se importante ressaltar que a diferença entre a radiação γ e a radiação x (RX) está em sua origem, onde a radiação gama tem origem do núcleo e a radiação x é originada da eletrosfera do átomo (XAVIER, 2006; KHALIL, 2011; MATTLER, 2008).

As aplicações dos raios x estão ligadas ao seu pequeno comprimento de onda (quanto menor λ , maior a energia e maior penetração na matéria), e a sua capacidade de atravessar corpos opacos à luz. Os RX são produzidos pelo freamento de elétrons em alta velocidade. O equipamento de RX possui um polo positivo chamado de ânodo e um polo negativo que é o cátodo, fechados a vácuo numa válvula. Com o aquecimento de um filamento de tungstênio,

ocorre a liberação de elétrons. A aplicação de uma alta voltagem entre o ânodo e o cátodo, acelera os elétrons em direção ao ânodo onde são então bruscamente freados. Os RX produzidos são emitidos em todas as direções, mas podem ser focalizados com um colimador. Os RX passam através do paciente, incidem em um filme radiográfico que se encontram entre duas telas fluorescentes com cristais fotossensíveis inseridos em um cassete. Esses cristais, quando estimulados pelos raios x, emitem fótons de luz e sensibilizam o filme. Assim, e após um processo de revelação, cria-se a imagem radiológica, permitindo diferenciar e avaliar as estruturas diferentes do corpo, como o osso, a gordura e os tecidos moles. O estudo de algumas estruturas pode requerer o uso concomitante de contraste (injetável ou via oral) com a incidência de RX. O contraste pode ser mais radiopaco (contraste positivo) ou menos radiopaco (contraste negativo) do que os tecidos que delimitam os órgãos. Exemplos de contraste positivo são: o bário (avaliação de aparelho digestivo) e o iodo (estudo de artérias e veias), e para o contraste negativo, o ar (estômago e intestino) (GARCIA, 1997).

No presente estudo, a radiação ionizante envolvida foi aquela produzida por equipamentos convencionais de raios x (com ou sem o uso de contraste), assim como o raios x produzido por equipamentos de tomografia computadorizada. Não se trabalhou com exposição às emissões radioativas alfa, beta ou gama. Equipamentos de ressonância magnética ou de ultrassom não envolvem emissão de radiação ionizante.

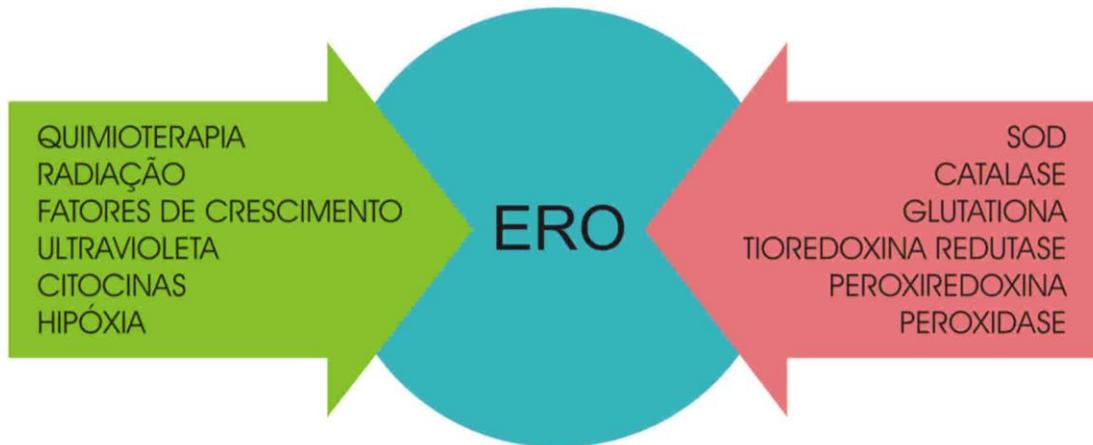
3.2 Efeitos biológicos da radiação ionizante

As radiações ionizantes podem produzir lesões no DNA, causando danos como quebras de cadeia simples, dupla, danos de bases e açúcares, pontes entre proteínas-DNA e pontes intercadeia DNA-DNA. Quebras duplas de DNA e os danos múltiplos localizados são genotóxicos para as células e origem dos efeitos mutagênicos, carcinogênicos, de transformação e das instabilidades genéticas. Os efeitos diretos são causados pela ionização direta de um átomo de uma molécula alvo, enquanto que os efeitos indiretos são provocados principalmente por radicais livres provenientes da radiólise da água (SAFFI; HENRIQUES, 2003, HALL, 2000). A importância da radiólise da água se deve ao fato de que a célula é constituída de 80% de água, e o

radical hidroxil (OH^\cdot) proveniente da interação da radiação com a água é altamente reativo, ou seja, extremamente danoso à célula, pois causa quebra na fita dupla do DNA. Se o dano causado pela radiação for oncogênico, o aparecimento do câncer pode levar até 40 anos. Se causar mutação numa célula germinativa, pode provocar alterações hereditárias (HALL, 2000). O termo espécies reativas de oxigênio (EROs) inclui todas as moléculas quimicamente reativas derivadas de oxigênio, denominados de radicais livres, onde o átomo apresenta o mesmo número de prótons e de elétrons, porém o elétron da última camada eletrônica encontra-se desemparelhado; esta instabilidade é rapidamente eliminada pela combinação com outro átomo complementar ou por uma estrutura molecular que lhe cede o elétron necessário para sua estabilização, como o radical hidroxil (HO^\cdot) e o ânion superóxido (O_2^\cdot). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio singlet ($^1\text{O}_2$), não são considerados radicais livres, apesar da grande reatividade com componentes celulares. As espécies reativas de oxigênio (EROs) são produtos encontrados normalmente no metabolismo celular e sua presença nas células pode ser benéfica ou não, dependendo da concentração em que estão presentes (HALLIWELL, 2007), considerando ainda que a toxicidade do oxigênio é influenciada pela presença, na dieta, de quantidades de vitaminas. O estresse oxidativo pode ocorrer quando há um aumento de produção das espécies reativas de oxigênio e/ou redução das defesas antioxidantes destas moléculas (MA, 2010; VAN LOON et al., 2010), ou ainda por ambos (HALLIWELL, 2007). Os agentes oxidantes podem provocar lesões na molécula de DNA genômico e mitocondrial (SLIVAR et al., 2011). No DNA, podem produzir lesões, danificando as bases nitrogenadas, desoxirriboses, causando quebras simples e duplas na cadeia, criando sítios apurínicos e apirimidínicos, modificações nas bases e ligações cruzadas entre DNA e proteínas. Assim, os danos oxidativos no DNA podem provocar bloqueio na replicação, mutações, anormalidades cromossômicas e conseqüentemente uma grande citotoxicidade (VALKO et al., 2006; SLIVAR et al., 2011). Portanto, as EROs fazem parte do processo de instalação de várias doenças, como Doença de Parkinson e de Alzheimer, esclerose múltipla, distrofia muscular, cataratas e retinopatias, enfisema pulmonar, cirrose hepática e vários tipos de câncer (HALLIWELL, 2007). Os alvos de ataques das espécies reativas de oxigênio (EROs) são os lipídios (peroxidação lipídica), proteínas, carboidratos e ácidos nucléicos (DNA) (HENRIQUES et al., 2001). A produção excessiva de EROs pode levar a um estresse oxidativo, perda da função, e até apoptose ou necrose (NORDBERG; ÅRNER, 2001).

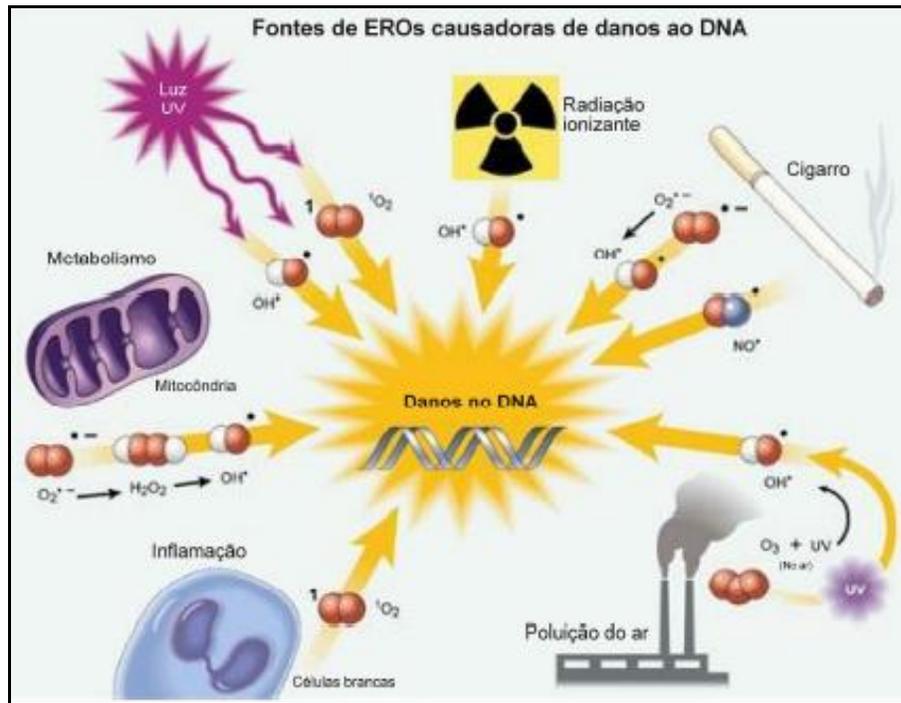
A exposição à radiação ionizante pode promover a ocorrência de aberrações cromossômicas (ACs) em linfócitos de sangue periférico humano. As ACs são biomarcadores carcinogênicos genotóxicos na exposição ocupacional e ambiental. Entretanto, as aberrações cromossômicas podem ser provenientes não só da exposição à radiação ionizante, mas também da deficiência de micronutrientes ou de fatores de suscetibilidade individuais (metabolismo carcinogênico, polimorfismo relacionados à estabilidade genômica) (NORPPA, 2004; HALL, 2000). As aberrações cromossômicas estruturais (ACSS) originam-se da quebra de fita dupla ou de reparo incompleto. Ocorrem geralmente *in vivo*, por clastógenos (radiação). Na metáfase, podem-se observar as aberrações do tipo quebras e trocas, cromossomos dicêntricos, em anel e translocações balanceadas. Por outro lado, as aberrações estruturais isocromatídicas (ACTs) são formadas *in vitro* (preferencialmente) e *in vivo*, por modificações de bases e quebra de fita única induzida por clastógenos (químicos) (HAGMAR et al., 2004; ALBERTINI et al., 2000; HALL, 2000). Em suma, os dicêntricos são instáveis e letais para as células, mas não passam para os descendentes. Por outro lado, as translocações são estáveis, ou seja, perduram por vários anos, pois não são letais para as células, e assim passam para os descendentes (HALL, 2000).

Figura 1 - Representação esquemática de vários ativadores e inibidores de produtores de espécies reativas de oxigênio, a esquerda (produtores), a direita (inibidores) de EROs



Fonte: Adaptado a partir de Reuter et al., 2010

Figura 2 - Fontes geradoras de EROs



Fonte: Adaptado de MA, 2010.

Há grupos celulares que são mais sensíveis às radiações ionizantes. Essa maior vulnerabilidade depende do tipo de tecido, da fase do ciclo celular, entre outros. Células cuja taxa de divisão é alta, tornam-se mais vulneráveis à ação das radiações. Quando uma lesão no DNA resultar em quebra da molécula, a célula passa a ter dificuldades em dividir o material genético entre as células filhas, que podem morrer após uma ou duas divisões subsequentes. A lei de Bergonié e Tribondeau (1906) afirma que as células com intensa atividade mitótica e/ou menos especializadas são mais radiosensíveis (há exceções). Portanto, quanto maior o grau de diferenciação celular e menor a taxa de divisão, menores serão as possibilidades de morte celular induzida pela radiação. Quanto menor a diferenciação celular, maior a probabilidade de indução de morte por ação das radiações ionizantes (HALL, 2000; NOUAILHETAS, [s.d.]). Dentre os grupos de maior vulnerabilidade estão os linfócitos, o tecido hematopoiético, células da camada germinativa da pele, células da cripta intestinal, etc. Enquanto que neurônios maduros são pouco sensíveis às radiações ionizantes, deve-se ressaltar que no cérebro adulto há duas regiões especializadas em que ocorre proliferação celular: a zona subventricular (alinhando-se aos

ventrículos laterais) e o giro denteado do hipocampo. Essas regiões contêm células tronco e populações precursoras que se auto-renovam e geram neurônios e glia durante a vida (ERIKSSON et al., 1998; DOETSCH et al., 1999). Portanto, essa região de neurogênese é vulnerável às radiações ionizantes.

Estudos em roedores mostram que a exposição à radiação x gerou estresse oxidativo e alteração na memória na dose de 5 Gy em neonatos (CACERES et al., 2010), reduziu a neurogênese no hipocampo de ratas adultas na dose de 10 Gy (MONJE et al., 2002) e suprimiu de forma irreversível a neurogênese em ratos adultos na dose de 25 Gy (PANAGIOTAKOS et al., 2008). Além disso, uma reduzida neurogênese no giro denteado (hipocampo) como, por exemplo, ocorrendo após a exposição à radiação ou a outros agentes, tem sido relacionada com um prejuízo nas tarefas cognitivas dependentes do hipocampo (ROLA et al., 2004; TADA; PARENT, 2000).

As doses de radiação, aplicadas nos exemplos com experimentação animal acima, são altas e relacionam-se com aplicações terapêuticas. As doses de interesse deste trabalho são inferiores, e estão relacionadas aos níveis ocupacionais de exposição dos trabalhadores das áreas de radiologia, e exames cardiovasculares por fluoroscopia (hemodinâmica).

Enquanto que limites de doses para exposição ocupacional são expressos em doses equivalentes (efeitos determinísticos) em tecidos específicos, e podem causar doenças como a catarata (limite de dose para o cristalino 20 mSv/ano para o trabalhador) (VAÑÓ; COSSET; REHAN, 2012), para efeitos estocásticos utiliza-se a terminologia de dose efetiva. De acordo com o UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON EFFECTS OF ATOMIC RADIATION - UNSCEAR (1994), o limiar para indução de catarata na exposição aguda é de 2-10 Gy (radiação de baixa LET- transferência linear de energia) e 1-2 Gy (radiação de alta LET) e na exposição crônica 0,15 Gy/ano (radiação de baixa LET). A probabilidade de risco de câncer, bem como de problemas genéticos induzidos pela radiação, está relacionada com a dose efetiva. Os efeitos hereditários decorrentes da exposição à radiação ionizante tem caráter cumulativo e independem da taxa de dose, ou seja, não há doses inoperantes (XAVIER, 2006; HALL, 2000). Em suma, efeitos somáticos irão causar modificações apenas no indivíduo exposto, enquanto que

os efeitos hereditários podem ser passados a gerações futuras (MATTLER, 2008). Daí vem a importância da recomendação de não exposição de gestantes às radiações ionizantes, pois o feto em formação no primeiro trimestre de gravidez poderá ser afetado, podendo ocorrer retardo mental na exposição intra – uterina, no período sensível (0,12 a 0,2 Gy) de 8–15 semanas após a concepção, correspondente ao período de organogênese. Os efeitos típicos da radiação no embrião são retardo do crescimento intrauterino, mal-formações congênitas, morte fetal ou neonatal. Ocorre ainda maior risco de câncer (leucemia espontânea), tanto na infância como na vida adulta (efeito estocástico) (HALL, 2000; MATTLER, 2008).

A síndrome aguda da radiação (SAR, irradiação de corpo inteiro) é uma manifestação de efeito determinístico e provoca os seguintes efeitos: **hematopoiético**, com dose de 2–10 Gy (morte dentro de 10–30 dias); **gastrointestinal**, dose de 10–100 Gy (morte dentro de 3–5 dias); **sistema nervoso central**, dose de 100–1000 Gy (morte dentro de 1–2 dias); morte celular individual pelo efeito estocástico; morte de um grande número de células por efeito determinístico (disfunção do órgão ou tecido) (HALL, 2000).

3.3 Avaliação de dano em DNA em indivíduos expostos às radiações ionizantes

Há relato de danos no DNA de linfócitos em indivíduos que foram ocupacionalmente expostos às radiações ionizantes, a doses inferiores à máxima estabelecida pelas normas vigentes de radioproteção (BOYACI et al., 2004).

A avaliação de dano em DNA de linfócitos (pelo ensaio cometa) já tem sido utilizada em cardiologistas (BOYACI et al., 2004) e outros trabalhadores expostos a baixos níveis de radiação x (MALUF et al., 2001), para avaliação de exposição ocupacional às radiações ionizantes. Essa técnica tem-se mostrado sensível para detecção de exposição a baixos níveis de radiação. Os resultados indicaram uma diferença significativa de dano em DNA de linfócitos na equipe de cateterização cardíaca em relação ao grupo controle, bem como entre fumantes (BOYACI et al., 2004); resultado semelhante em outro estudo mostrou efeitos genotóxicos em indivíduos

ocupacionalmente expostos a baixos níveis de raios x, através do ensaio cometa e teste de micronúcleo (MALUF et al., 2001).

Doses abaixo de 10 cGy são relevantes do ponto de vista de exposição ocupacional e portanto de interesse para investigação. Foi detectado através do teste cometa que doses baixas de radiação gama, tais como 5 cGy, causaram quebras nas cadeias de DNA de sangue total e linfócitos, sendo estes últimos mais sensíveis (SUDPRASERT et al., 2006).

Intervencionistas em radiologia são geralmente expostos a doses ocupacionais de radiação altas (ex: cardiologistas durante fluoroscopias) e diretrizes são revistas com o propósito de radioproteção (MILLER et al., 2010).

O biomonitoramento através da análise pelo ensaio cometa tem sido crescente entre indivíduos ocupacionalmente expostos a radiações ionizantes ou a outros agentes potencialmente genotóxicos (VALVERDE; ROJAS, 2009; MOHAMMADI et al., 2006; GURAJ-VRHOVAC; JOPJAR, 2003).

3.4 Princípios de radioproteção

Proteção radiológica ou radioproteção é um conjunto de medidas que visam proteger o ser humano e seus descendentes contra possíveis efeitos indevidos causados pela radiação ionizante.

O controle da exposição à radiação, necessário para garantir o atendimento aos requisitos estabelecidos em normas de radioproteção, fundamenta-se em três fatores principais, que são: 1. **Tempo de exposição**, a redução tanto quanto possível do tempo de permanência em áreas onde estão presentes fontes de radiação ionizante é uma maneira simples de evitar exposições desnecessárias, uma vez que a dose acumulada é diretamente proporcional ao tempo de exposição a essa radiação (dose = taxa de dose x tempo). 2. **Distância da fonte**, o aumento da distância entre uma fonte de radiação ionizante e um indivíduo é também uma solução simples para minimizar a exposição e conseqüentemente o acúmulo de dose. A atenuação da radiação é baseada na lei do inverso do quadrado da distância. 3. **Blindagem**, a atenuação da radiação por

meio de anteparos de concreto, chumbo, entre outros (HALL, 2000; INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES – IPEN, 2005).

Um dos princípios básicos de radioproteção é a *Justificativa*, assim sendo, qualquer prática que envolva radiação ionizante, deve ser justificada em relação a outras alternativas e produzir benefício positivo para a sociedade. Qualquer exposição à radiação deve ainda ser otimizado, ou melhor, deve ser tão baixa quanto razoavelmente exequível (*ALARA – As Low As Reasonably Achievable*), ou seja, devem ser minimizadas.

O Conselho Federal de Enfermagem (Resolução COFEN/211, 1998) dispõe sobre a atuação dos profissionais de enfermagem que trabalham com radiação ionizante, regulamentando normas de radioproteção (COFEN, 2004) e fundamenta-se nas normas estabelecidas pela CNEN. Em termos de saúde do trabalhador, os limites de doses (efetivas) anuais estabelecidos pelas normas vigentes são os seguintes: para o indivíduo ocupacionalmente exposto é de 20mSv/ano, não devendo ultrapassar a 50 mSv no ano no período de 5 anos. A limitação de dose individual para o trabalhador sujeito à radiação considera ser necessário conhecer os riscos, estar treinado, e tanto trabalhador como indivíduo do público, não devem receber, por ano, doses superiores aos limites estabelecidos pela Norma CNEN-NE-3.01 (XAVIER et al., 2006). O uso de dosímetros, por exemplo, os termoluminescentes, serve para informar a dose recebida em um determinado período de tempo. A Norma Regulamentadora NR 32 do Ministério do Trabalho e Emprego estabelece a necessidade de exames periódicos como hemograma e plaquetas para indivíduos expostos a radiações.

3.5 O Estresse, radicais livres e o cortisol

Assim como as radiações ionizantes geram efeitos biológicos via formação de radicais livres, outras situações também o fazem, como o estresse. Os eventos estressantes podem prejudicar a saúde mental e o bem-estar a curto e longo prazo e contribuir para uma série de doenças psiquiátricas. Uma função cognitiva sensível ao estresse é a memória, e uma das áreas cerebrais relevantes para essa função é o hipocampo. Por sua vez, o hipocampo participa na

regulação do eixo HPA (hipotálamo-pituitária-adrenal), que é determinante na resposta ao estresse (ANDERSEN; TEICHER, 2004; BREMNER, 2002; MCEWEN, 2008; PRUESSNER et al., 2010), tendo principalmente um efeito inibitório na atividade desse eixo (em HERMAN et al., 2005). Existem vários mecanismos propostos para a ação do estresse no hipocampo: dentre eles, encontram-se o cortisol e os radicais livres/estresse oxidativo. O cortisol é um hormônio glicocorticóide secretado pelo córtex da supra-renal e é um importante modulador da resposta ao estresse. Ele é detectado no plasma, na urina ou saliva (BOOTH et al., 2002): é máximo pela manhã, declina ao longo do dia, encontra-se em baixa concentração próximo à meia noite, e aumenta nas primeiras horas após dormir (ENGELAND; ARNHOLD, 2005; YOUNG et al., 2004; VAN CAUTER et al., 1996). Ao acordar, os níveis são altos, e aumentam em 50-60% após 30-45 min desde o momento de acordar (PRUESSNER et al., 1997). O aumento do cortisol pode ser mensurável em 10 min após a exposição ao estressor, com um pico ao redor de 20-30 min, e recupera-se em 45-60 min (DICKERSON; KEMENY, 2004; KIRSCHBAUM et al., 1993; KUDIENKA et al., 2010). A vulnerabilidade do hipocampo aos glicocorticóides está bem estabelecida (MCEWEN, 2008). A exposição a um cenário de exposição psicossocial nos seres humanos que responderam com aumento dos níveis de cortisol está associada à desativação do hipocampo (PRUESSNER et al., 2010) e, em roedores adultos, promoveu a diminuição da neurogênese no hipocampo (GOULD et al., 1997). Um evento único de estresse agudo foi capaz de danificar o DNA em áreas específicas do cérebro de ratos. Um acompanhamento sete dias após o estresse agudo mostrou que o dano ao DNA no hipocampo ainda estava presente (CONSIGLIO et al., 2010). Em um modelo animal de mania, o estresse oxidativo foi associado com a mudança transitória e permanente em danos no DNA (ANDREAZZA et al., 2008). Recentemente, o dano no DNA foi detectado no hipocampo de ratos machos cronicamente estressados, mas não em ratas (NOSCHANG et al., 2009). Em relação à exposição às radiações, a oxidação resultante produziu efeitos comportamentais e neuronais semelhantes aos observados no envelhecimento em animais. A irradiação de corpo inteiro em ratos prejudicou a memória espacial no dia 30 após a exposição, mas nenhuma mudança significativa foi observada em intervalos de iniciais (dias 1, 7 e 15 de pós-exposição).

Indivíduos que trabalharam na recuperação do ambiente após o acidente em Chernobyl ocorrido em 1986 (chamados de liquidadores), e que foram considerados expostos a baixos níveis

de radiação, apresentaram 4 anos após o término desse serviço, alterações nos níveis plasmáticos do cortisol, dentre outros hormônios. Entretanto, tais alterações não são unicamente induzidas pelas radiações, mas também podem ter sido causadas pelo estresse (SOUCHKEVITCH; LYASKO, 1997).

Assim, uma vez que o hipocampo é sensível ao cortisol, e sendo um local de neurogênese onde células precursoras são particularmente sensíveis ao estresse oxidativo (PAIZANIS et al., 2007; ANDRES-MACH et al., 2008), e que danos ao hipocampo podem eventualmente contribuir para a deficiência na memória, pretende-se também nesse estudo avaliar a memória de indivíduos ocupacionalmente expostos às radiações ionizantes, com avaliação paralela de variáveis relacionadas ao estresse.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do estudo

A coleta de dados desse estudo deu-se no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com profissionais dos setores de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Unidade de Internação Obstétrica. Foi utilizado o Centro de Pesquisa Clínica (CPC) para coleta de dados e material biológico.

Os procedimentos necessários para avaliação de genotoxicidade dos linfócitos foram realizados nos laboratórios do Departamento de Biofísica, Instituto de Biociências da UFRGS: Laboratório de Biociências Nucleares, Genotoxicidade de Produtos Naturais, Reparação de DNA em eucariotos. A análise do cortisol salivar foi realizada pelo Laboratório de Patologia Clínica do HCPA.

4.2 População e amostra

A população do estudo incluiu 147 profissionais da equipe de Enfermagem do turno diurno (enfermeiros, técnicos e auxiliares de enfermagem) das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Unidade de Internação Obstétrica e Ambulatório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Critérios de Inclusão: Foram incluídos na amostra sujeitos do sexo feminino, ativos, na faixa etária entre 18 e 65 anos, que estavam lotados no turno diurno do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Critérios de Exclusão: Indivíduos que estavam afastados ou licenciados no período de coleta de dados, ou que ultrapassaram as doses de radiação máximas permissíveis anuais (média de 20mSv/ano durante um período de 5 anos e 50 mSv/ano), trabalhadores noturnos, gestantes, lactantes e fazendo uso de corticóides por via oral ou injetável.

A estimativa para o tamanho amostral considerou a correlação entre fator em estudo (exposição à radiação ionizante ocupacional) e desfecho (dano no DNA de linfócitos) de 0,7 com poder de 80% para um nível de significância de 5% (MALUF et al., 2001). A amostra inicial foi constituída de 82 sujeitos (41 indivíduos expostos e 41 não expostos à radiação). A amostra foi selecionada de forma aleatória simples, a partir de lista fornecida pelas Chefias dos setores (Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Unidade de Internação Obstétrica), após concordância das mesmas. A amostra foi dividida em 2 grupos: 1_“Expostos”, grupo ocupacionalmente exposto à radiação ionizante (Radiologia e Hemodinâmica), n=38 e 2_“Não Expostos”, grupo ocupacionalmente não exposto à radiação ionizante, n=41 (Unidade de Internação Obstétrica e Ambulatório).

Os sujeitos foram convidados a participar do estudo e, após foi solicitada assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Após, a seqüência foi: 1) sorteio (amostra aleatória simples); 2) primeiro encontro com o sujeito de pesquisa, para a primeira coleta de dados de

identificação; 3) análise dos indivíduos a serem excluídos; 4) completar a coleta na segunda entrevista.

Oitenta funcionárias participaram da coleta. Não foi possível avaliar um teste de micronúcleos (mas mantiveram-se as demais medidas) e foi excluída da análise uma funcionária que apresentava níveis elevados de cortisol (278 nmol/L). A amostra final foi constituída por 79 sujeitos.

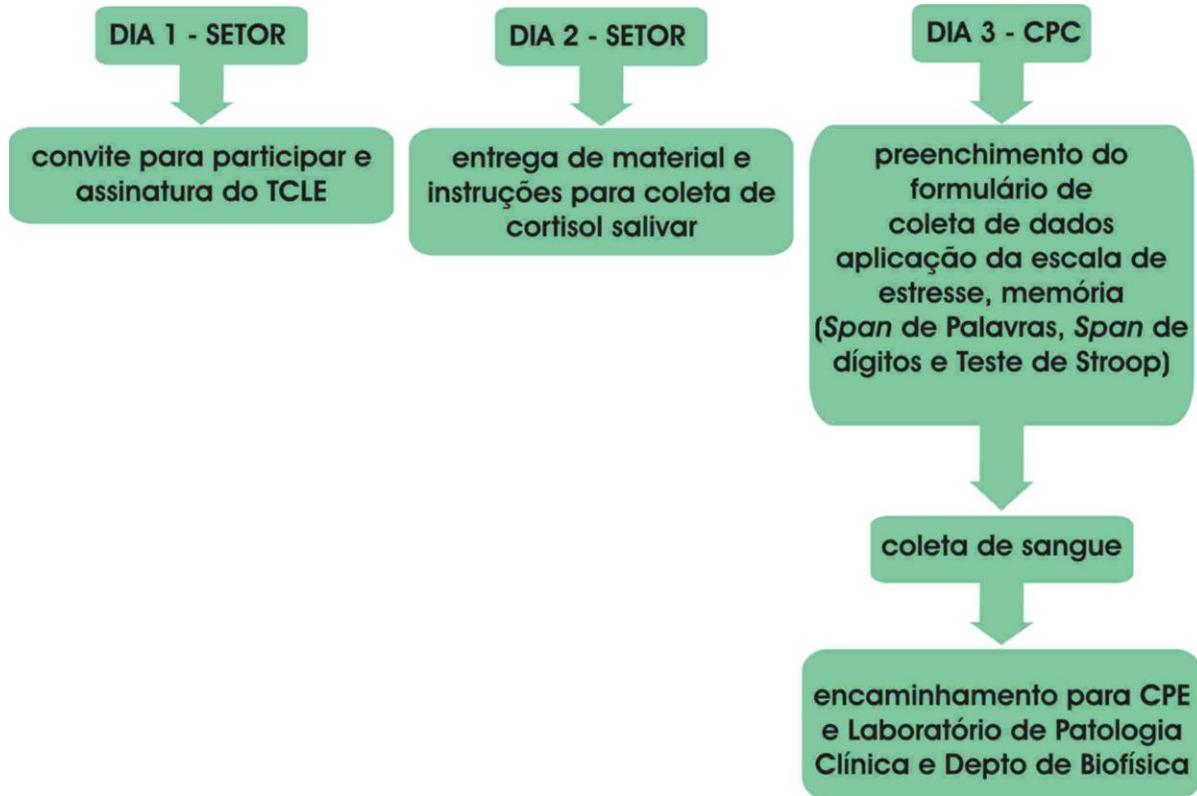
Características Específicas da Amostra: as atividades exercidas pela equipe de Enfermagem variam de acordo com a Unidade. Sucintamente, a equipe de Enfermagem do Ambulatório presta assistência direta e atividades educacionais ao paciente e familiar nas áreas da saúde da criança, mulher e adulto e realiza visita domiciliar. A Unidade de Internação Obstétrica faz parte do Serviço de Enfermagem Materno_Infantil no atendimento a mulheres no ciclo gravidez, parto e puerpério (pós-parto). Atividades na UIO promovem a interação precoce entre mãe, pai, bebê e família e estimulam o aleitamento materno. Nas Unidades de Radiologia e Hemodinâmica, acrescidas às atividades de enfermagem usuais, há a exposição ocupacional à radiação ionizante. A exposição à radiação ionizante pela equipe de Enfermagem no setor de Radiologia envolve atividades na tomografia computadorizada e raios-x convencional (com ou sem contraste). Há também a exposição à radiação não ionizante (oriunda do equipamento de ressonância magnética). O intervalo de tempo dispendido em atenção a um exame nessa Unidade pode variar aproximadamente de 5 a 30 minutos. Na Unidade de Hemodinâmica, há exposição aos raios-x convencional com contraste. Os procedimentos diagnósticos duram cerca de 15 a 30 minutos; os procedimentos terapêuticos duram aproximadamente de 1 a 4 horas. Já o tempo de exposição é inferior e também varia conforme o procedimento. O técnico de Enfermagem é quem instrumenta o procedimento (e portanto fica mais próximo à exposição à radiação). Como medida de radioproteção, nessas duas unidades há uso de EPIs (equipamento de proteção individual) e rodízio (semanal ou quinzenal) dos funcionários da equipe de Enfermagem.

4.3 Delineamento

Estudo transversal, do tipo caso-controle. A coleta de dados ocorreu em três encontros com os indivíduos envolvidos (não necessariamente encontros sequenciais, mas agendados conforme a disponibilidade dos indivíduos e dos laboratórios), às quartas-feiras; os questionários e coletas foram realizados no Centro de Pesquisa Clínica do HCPA.

- a) no primeiro encontro, convidou-se os trabalhadores a participar e coletou-se a assinatura dos TCLEs;
- b) no segundo encontro, entregou-se os frascos e orientou-se quanto ao procedimento para a coleta de saliva, previstas para ocorrerem a domicílio em 3 momentos do dia: ao acordar, 30 minutos após acordar e antes de dormir; as amostras deveriam ser mantidas a temperatura ambiente ou na geladeira até a entrega ao pesquisador no mesmo dia da última coleta.
- c) no terceiro encontro, uma farmacêutica (IB) e enfermeira treinadas (APSB) coletaram os dados por meio dos questionários e escalas, e as medidas da frequência cardíaca, pressão arterial e antropométricas. As amostras de saliva coletadas a domicílio foram recolhidas e o sangue foi coletado (10 mL) por um profissional coletador do HCPA. As amostras de saliva foram encaminhadas para o Centro de Pesquisa Experimental (CPE) para transferência de frasco e geração do código de barras, e após foram enviadas ao Laboratório de Patologia Clínica do HCPA para análise. As amostras de sangue em tubos heparinizados foram acondicionadas em caixa com gelo, transportadas pela pesquisadora ao laboratório do Departamento de Biofísica, e imediatamente procedeu-se o início da análise.

Figura 3 - Organograma



Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

4.4 Coleta de Dados e Amostras

A coleta de dados e amostras ocorreu no período de janeiro a maio de 2013, no horário entre 10-16h, às quartas-feiras (exceto a coleta de algumas amostras de cortisol salivar que ocorreu em outros dias da semana). Os testes de memória e atenção foram aplicados em sala (consultório) silenciosa e sem interferências, para evitar interrupções e desvios de atenção. Os questionários e testes foram aplicados pela pesquisadora e por uma mestrande devidamente treinada. A aceitação para participar na pesquisa foi alta. Dentre 95 convidados, 1 gestante, 1 lactante, 4 em licença foram excluídas, e 9 desistiram e ou/não aceitaram participar; uma funcionária apresentou cortisol salivar atipicamente alto para o estudo e foi excluída da amostra, mesmo após uma segunda coleta de saliva ter apresentado níveis normais.

4.4.1 Cortisol salivar

O estresse foi avaliado através da mensuração da concentração de cortisol salivar em três momentos: ao acordar, 30 minutos após acordar e antes de dormir.

A coleta de saliva (HARRIS et al., 2010) é uma alternativa à coleta de plasma, é prática e não invasiva e válida para dosagem de cortisol (GATTI et al., 2009). Salivettes[®] com rolos de algodão foram utilizadas para coleta de saliva, sendo coletados em casa. Instruções orais e escritas foram fornecidas para o procedimento de coleta de saliva, e incluíam: evitar alimento, bebida, fumo e não escovar os dentes 30 min antes da coleta. A terceira amostra serve como informação quanto à recuperação depois do dia de trabalho (SLUITER et al., 1998). As amostras de saliva foram encaminhadas para o laboratório de Patologia Clínica do HCPA, e determinadas pelo método de quimioluminescência, em um volume de 20 µL (SIEMENS, 2009), por técnico cego quanto ao desenho experimental.

4.4.2 Sinais vitais, medidas antropométricas e outros dados

As medidas cardiovasculares analisadas foram pressão sanguínea (sistólica: PSS, diastólica: PSD) e frequência cardíaca (FC). Foram verificadas as medidas antropométricas de peso, altura, circunferência da cintura e do quadril dos indivíduos, sob condições de vestuário leve e sem sapatos. A estatura foi verificada com os profissionais eretos e com os calcanhares unidos, utilizando-se para isso uma régua antropométrica (registro em centímetros). A verificação do peso foi realizada em balança própria da instituição (registro em gramas). A circunferência da cintura foi medida horizontalmente na altura da cicatriz umbilical na distância média entre a última costela flutuante e a crista ilíaca sem fazer pressão; a circunferência do quadril foi medida com a fita métrica posicionada na área de maior protuberância glútea. A partir dessas medidas, fez-se o cálculo do índice de massa corporal [IMC= Peso em Kg/ (Altura em metro)²].

Dados gerais como idade, escolaridade, anos na área de trabalho e turno de trabalho foram coletados, bem como hábitos (atividade física, fumo, álcool e cafeína), uso de medicamentos, e

exposição a exames envolvendo radiações, pois são considerados fatores que podem causar um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas anti-oxidantes (CASTELAO; GAGO-DOMINGUEZ, 2008; CARDONA, 2004; DAS; VASUDEVAN, 2007; RADAK et al., 2008; IARMACOVAI et al., 2008; REUTER, 2010; NOSCHANG et al., 2009; PAPATHANASSOGLU et al., 2010; WHITE et al., 2010).

4.4.3 Escalas de auto-informe para avaliação do estresse

O Estresse Percebido foi avaliado no terceiro encontro, por meio da Escala para Avaliação do Estresse Percebido (“*Perceived Stress Scale*”). Cohen et al., em 1983, propuseram uma escala para mensurar o estresse percebido, ou seja, uma escala que mede o grau no qual os indivíduos percebem as situações como estressantes. Esta escala, denominada *Perceived Stress Scale (PSS)*, foi inicialmente apresentada com 14 itens (PSS 14), sendo também validada com dez (PSS 10) e quatro questões (PSS 4). Os itens foram construídos para verificar o quão imprevisível, incontrolável e sobrecarregados os respondentes avaliam suas vidas. Estes três fatores têm sido considerados como componentes centrais na experiência de estresse. A PSS é uma escala geral, que pode ser usada em diversos grupos etários, pois não contém questões específicas do contexto. A PSS possui 14 questões com opções de resposta que variam de zero a quatro (0=nunca; 1=quase nunca; 2=às vezes; 3=quase sempre 4=sempre). As questões com conotação positiva (4, 5, 6, 7, 9, 10 e 13) têm sua pontuação somada invertida, da seguinte maneira, 0=>4, 1=>3, 2=>2, 3=>1 e 4=>0. As demais questões têm conotação negativa e devem ser somadas diretamente. O total da escala é obtido a partir da soma das pontuações destas 14 questões, e os escores podem variar de zero a 56. Os resultados da validação da PSS 14 para o português (LUFT et al., 2007) foram satisfatórios, com consistência interna de $r=0,82$ e mostraram-se eficaz para detectar diferenças entre grupos.

4.4.4 Avaliação de atenção e memória

A atenção e memória foram avaliadas no terceiro encontro. Os testes utilizados nesse estudo foram o *span* de palavras e dígitos (WECHSLER, 1981) e o teste de Stroop (anexos 4 a 8).

No teste de Stroop, a leitura de palavras que combinam com as cores dá-se de forma rápida (primeira coluna; aqui identificado como “Stroop_1 ou S1 ou Stroop_palavra”); a leitura da cor da tinta também (segunda coluna; aqui identificado como “Stroop_2 ou S2 ou Stroop_cor”); porém dá-se de forma mais lenta quando as palavras não combinam com as cores (terceira coluna; aqui identificado como “Stroop_3 ou S3 ou Stroop_cor/palavra”). A representação baseada na palavra parece ser automática, e interfere – retardando – a leitura da cor que não combina com a palavra. Essa representação é ativada, mesmo não sendo relevante à tarefa (GAZZANIGA, 2006). Uma forma de determinação do escore pelo teste de Stroop baseia-se no cálculo da diferença de escores do “Stroop_2” e “Stroop_3” (=S2-S3) (in MACLEOD, 1991). Outra forma adotada para determinar o escore pelo teste de Stroop baseia-se no resultado obtido a partir da expressão matemática (MOURIK et al., 2005):

$$\text{Escore Interferência (Stroop_Interf)} = S3 - [(S1 \times S2)/(S1+S2)]$$

Os escores variam de acordo com o sexo e idade do indivíduo testado. A interferência declina na vida adulta (idade menor do que 60 anos), ou seja, o escore no Stroop_Interf aumenta; a interferência aumenta com o avanço da idade (acima de 60 anos), ou seja, o escore no Stroop_Interf diminui (in MACLEOD, 1991). Os escores de interferência também estão correlacionados modestamente com a educação e quocientes de inteligência (in: STRAUSS et al., 2006).

A escala de memória de Wechsler tem como propósito acessar a memória declarativa visual e auditiva, e memórias de trabalho auditivas e visuais em adultos e adolescentes. O *span* de dígitos e o *span* de palavras fazem parte dessa escala. No *span* de dígitos, o indivíduo repete uma seqüência crescente de dígitos dita pelo examinador (in: STRAUSS et al., 2006); no *span* de palavras, o indivíduo é solicitado a repetir uma lista de palavras dita pelo examinador (SOUZA, 2004; SOUZA et al., 2012).

4.4.5 Avaliação da genotoxicidade pelo ensaio cometa

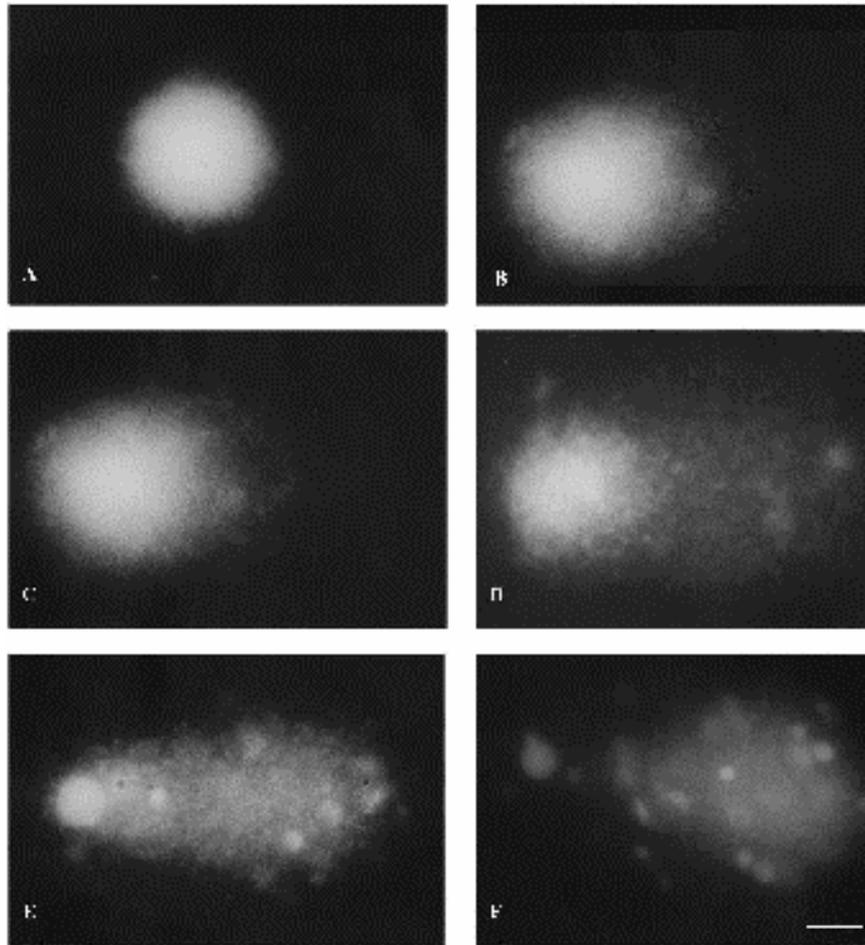
No terceiro encontro, foram coletadas amostras de sangue periférico (10 mL) dos indivíduos expostos e não expostos às radiações, em tubos heparinizados e mantidos em gelo até chegada ao laboratório para análise. O processamento das amostras dos grupos controle e dos expostos deu-se simultaneamente.

O ensaio Cometa ou teste de eletroforese para célula única em gel (SCGE - *single cell gel electrophoresis*) é um biomarcador de exposição, sendo uma técnica, que quando comparada a outras é de baixo custo, simples, rápida e sensível e portanto muito útil para analisar lesões e detectar efeitos de reparo no DNA (SINGH et al., 1988; FAIRBAIRN et al., 1995) em células individuais expostas a agentes genotóxicos do tipo alquilante, intercalante e oxidante. Detecta danos no DNA como as quebras simples ou duplas, danos alcali-lábeis, ligações cruzadas e quebras resultantes de reparo por excisão não concluídas (SINGH et al., 1988; FAIRBAIRN et al., 1995; SPEIT; HARTMANN, 1999; MERK; SPEIT, 1999; ALBERTINI et al., 2000). Introduzida por Östling e Johanson em 1984, esta técnica microeletroforética permite a visualização direta do dano no DNA em células individuais (Valverde & Rojas, 2009; Liao et al., 2009).

O ensaio cometa alcalino foi realizado conforme descrito por Collins (2004). Em ambiente sob pouca iluminação, uma alíquota de 5 µL de sangue foi misturada a 95 µL de agarose de baixo ponto de fusão. Imediatamente, a mistura foi espalhada com a pipeta em uma lâmina de vidro, pré-revestida com uma camada de 1% de agarose normal, e sobre ela foi colocada uma lamínula. A lâmina ficou na geladeira (2-8 C°) por 5 minutos (para solidificar). Após este tempo, as lamínulas foram removidas e as lâminas colocadas para incubar numa cubeta vertical contendo solução de lise gelada (2,5M NaCl, 10mM Tris, 100mM EDTA, 1% Triton X-100, 10% DMSO e pH 10), a qual foi coberta por papel alumínio para proteger da luz e incubada em geladeira por 1 dia sob refrigeração, a fim de remover os conteúdos citoplasmáticos e membranas nucleares, deixando o DNA como nucleóides. Depois do procedimento de lise, as

lâminas foram transferidas para uma cuba horizontal de eletroforese, que por sua vez foi colocada dentro de uma bandeja de plástico preenchida com gelo. Em seguida, foi adicionado na cuba, o tampão alcalino para eletroforese, até cobrir as lâminas (300mM NaOH, 1mM EDTA e pH >13,0) e expostas por 30 minutos, permitindo que o DNA relaxe (desnovelamento) e deixe expostos os sítios álcali-lábeis e de fita única. A eletroforese foi realizada com uma fonte a 25V e 300 mA, por 25 minutos (a corrente foi controlada com o volume do tampão). Todas as etapas anteriores foram realizadas sob luz amarela ou no escuro, a fim de prevenir danos adicionais ao DNA. Após a eletroforese, procedeu-se a neutralização das lâminas realizada em cubeta vertical com tampão Tris 0,4M e pH 7,5, por 5 minutos. O procedimento de neutralização foi repetido por 3 vezes. Posteriormente, as lâminas foram lavadas com água destilada por 5 minutos e o procedimento foi repetido por mais duas vezes, e em seguida foram fixadas durante 10 minutos (solução fixadora). As lâminas foram secas durante a noite. Antes da coloração, foram hidratadas durante 5 minutos em água destilada e coradas com solução contendo nitrato de prata por 30-40 minutos, com agitação e a 37 °C, lavadas com água destilada 3 vezes, e submetidas à solução de parada com ácido acético a 1% por 5 minutos, lavadas novamente 3 vezes com água destilada (NADIN et al., 2001). Após a coloração, as lâminas secaram a temperatura ambiente durante a noite. Finalmente, foram analisadas utilizando um microscópio óptico, onde verificou-se nas células lesadas o DNA livre que migrou do núcleo para o ânodo, evidenciando uma cauda que lembra a forma de um cometa. Foram selecionadas 100 células de cada lâmina, em triplicata, de acordo com os critérios descritos por Collins (2004) e Collins et al. (2008). Estas foram visualmente classificadas, de acordo com o comprimento da cauda do cometa, em cinco classes: Classe 0: não danificada, sem cauda; Classe 1: com uma cauda mais curta do que o diâmetro da cabeça (núcleo); classe 2: com uma cauda 1-2 vezes o diâmetro da cabeça; classe 3: com uma cauda com mais de 2 vezes o diâmetro da cabeça; e classe 4: cometas sem cabeça. Então, o índice de danos de cada grupo pesquisado variou de zero (100x0; 100 células completamente sem danos) a 400 (100x4; 100 células observadas com o dano máximo). A frequência de danos (FD) foi calculada descontando o número de células sem danos (classe 0) do número de células com danos (classe 1, 2, 3 e 4) e expressa em porcentagem.

Figura 4 - Resultado de possíveis classes de dano que podem ser encontrados no Ensaio Cometa



Visualização de classes de dano: (A) zero; (B) um; (C) dois; (D) três; (E) quatro; (F) Apoptose.

Fonte : Adaptado de Silva et al., 2000.

4.4.6 Avaliação da frequência de micronúcleos pela técnica de Bloqueio da Citocinese Celular (CBMN)

O teste do micronúcleo é o ensaio *in vitro* mais utilizado para a detecção de agentes clastogênicos (que quebram cromossomos), e de agentes aneugênicos (que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal) (MACGREGOR et al., 1987). Os micronúcleos aparecem nas células filhas, em decorrência de danos induzidos nas células parentais. Os fragmentos cromossômicos que resultam de quebras podem não ser incorporados no núcleo principal das células filhas após a mitose. Uma membrana nuclear se formará em volta do fragmento, o qual será visível como um pequeno (micro) núcleo separado do núcleo principal da célula. O Teste de Micronúcleos com Bloqueio da Citocinese (CBMN - *Cytokinesis-block micronucleus*) é utilizado para determinar a presença e a extensão de dano cromossômico. Nesta técnica, as células são cultivadas, pois o linfócito, que é mononucleado, necessita de uma divisão celular.

Após coleta de sangue periférico do indivíduo em um tubo heparinizado e estéril, foi realizada a cultura dos linfócitos. Em condições estéreis, foi inoculado 0,5 mL de amostra de sangue em um frasco contendo meio nutritivo para cultura de células (PB-MAX 12557- GIBCO), contendo soro fetal bovino, L-glutamina e fitoemaglutinina (PHA), num volume de 4,5 mL. Os frascos de cultura foram colocados numa estufa a 37°C, e a uma atmosfera 5% de CO₂, por 44 horas, para estimulação pela PHA. Após as 44 horas, adicionou-se Citocalasina B (Sigma, St. Louis, MO; concentração final, 4 µg/mL), preparada a partir de uma solução estoque, a uma concentração de 0,1 mg/mL, dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO), com uma concentração final de citocalasina B de 4 µg/mL, conforme descrito pelo método de Fenech e Morley, (FENECH; MORLEY, 1985; FENECH et al., 2003; 2007). A função da citocalasina B é de impedir a divisão do citoplasma sem afetar a divisão do núcleo, e dependendo do número de divisões, essas células podem ter dois ou mais núcleos (PALAZZO; MALUF, 2011). As culturas permaneceram por mais 28 horas em incubação, e após completarem 72 horas de cultura, foram transferidas para um tubo (falcon) de 15 mL e centrifugadas por 5 minutos a 800 rpm a temperatura de 10°C. Após, o sobrenadante foi descartado, e as células ressuspendidas em 5 mL de solução KCl 0,075M gelado a 4°C (tratamento hipotônico), após 2 minutos foram centrifugadas por 5 minutos, a 800 rpm (temperatura 10°C). Nesta etapa, procedeu-se uma pré-

fixação, adicionou-se 500 µL de fixador (metanol:ácido acético 3:1 v/v - Merck) nos 5 mL de KCl 0,075 M, homogeneizou-se, centrifugou-se. Posteriormente, adicionou-se 5 mL de fixador (metanol:ácido acético 3:1), homogeneizou-se com pipetas Pasteur, para evitar grumos e bolhas. Centrifugou-se em seguida. Repetiu-se o procedimento por mais 2 vezes ou até clarear o sobrenadante, após foram colocadas na geladeira a 4°C, por no mínimo 1 hora. Após, centrifugou-se, deixando-se 500 µL em suspensão. Então, ressuspendeu-se o precipitado cuidadosamente. Finalmente, gotejou-se a suspensão celular em lâminas de vidro limpas. As lâminas utilizadas para a montagem foram mantidas a 4°C, num frasco com água destilada. Então, a suspensão celular foi gotejada em lâminas, contendo um filme de água destilada (3-5 cm de altura da lâmina). As lâminas foram secas a temperatura ambiente durante a noite. E posteriormente, as lâminas foram coradas com Giemsa 2% e metanol 3% por 5 minutos. Duas mil células foram analisadas por teste, 1000 células de cada lâmina, O teste foi realizado em duplicata, e avaliado quanto à presença de micronúcleos, pontes nucleoplasmáticas entre cromátides irmãs, e brotos nucleares (*buds*), usando-se microscópio óptico no aumento de 200-1000 X.

A análise do índice de divisão nuclear (IND) deu-se a partir da seguinte fórmula:

$$\text{IND} = [\text{M1} + 2(\text{M2}) + 3(\text{M3}) + 4(\text{M4})] / \text{NT} \text{ onde:}$$

M1 a M4= número de células com 1, 2, 3 e 4 núcleos, respectivamente.

NT: número total de células viáveis.

A análise do índice de divisão nuclear considerando a citotoxicidade (IDNC):

$$\text{IDNC} = [\text{Apop} + \text{Necr} + \text{M1} + 2(\text{M2}) + 3(\text{M3}) + 4(\text{M4})] / \text{NT} \text{ onde:}$$

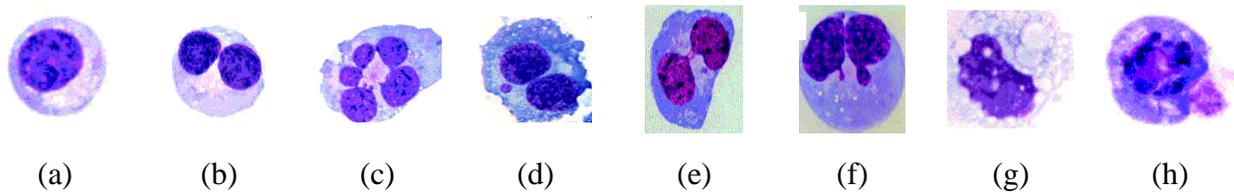
Apop: número de células apoptóticas.

Necr: número de células necróticas.

M1 a M4: número de células com 1 a 4 núcleos.

NT: número total de células analisadas (incluindo viáveis e inviáveis).

Figura 5 - Representação de células encontradas no teste de micronúcleos



Visualização de células: (a) mononucleada; (b) binucleada; (c) multinucleada; (d) binucleada com micronúcleo; (e) ponte nucleoplasmática; (f) *buds* nucleares (broto); (g) necrótica; (h) apoptótica.

Fonte: <http://www.icb.ufmg.br/bioq/prodap/2003/micronucleos/imagens.html>.

Os resultados obtidos a partir das técnicas de micronúcleos e ensaio cometa detectam tipos diferentes de dano. As principais diferenças entre elas podem ser vistas na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Diferenças entre as técnicas de micronúcleos e ensaio cometa

	Teste Micronúcleos	Ensaio Cometa
Tipo de alteração	Mutação cromossômica	Dano de DNA
Reparo	Não reparável	Reparável
Divisão celular	Necessária	Não necessária
Tempo de exposição	Mediano/longo(dias/meses)	Curto/mediano(minutos/horas)
Deteção de Aneuploidia	Detecta	Não é possível

Fonte: Silva; Bernardo; Henriques, 2003.

4.4.7 Leitura dos dosímetros

A leitura da dose de radiação absorvida pelos indivíduos ocupacionalmente expostos deu-se a partir de registros mensais coletados e arquivados no Hospital.

4.5 Análise dos dados

As variáveis quantitativas foram previamente testadas quanto à homogeneidade da variância (teste Kolmogorov Smirnov). Caso não apresentassem homogeneidade da variância, e se razão entre as variâncias fosse maior do que 7 (GOMES, 2009), as variáveis eram submetidas a uma transformação matemática (como raiz quadrada). As variáveis independentes (preditoras) foram a dose acumulada de radiação absorvida de forma ocupacional e a concentração de cortisol salivar. As variáveis dependentes (desfecho) são o nível de dano (frequência e índice) no DNA do linfócito, a frequência de micronúcleos, e o escore referente à avaliação da memória/atenção.

As variáveis: concentração de cortisol salivar ao acordar ($Cort_{zero}$), concentração de cortisol salivar 30 minutos após acordar ($Cort_{30}$), concentração de cortisol salivar antes de dormir ($Cort_N$) são valores brutos obtidos diretamente da análise de quimioluminescência; as variáveis: área em baixo da curva (AC), inclinação, e resposta do cortisol ao acordar, foram calculadas a partir dos valores brutos de cortisol salivar. A área em baixo da curva do cortisol foi obtida a partir dos 3 pontos das dosagens de cortisol salivar. A inclinação da reta foi determinada a partir dos pontos $Cort_{zero}$ e $Cort_N$ das dosagens de cortisol salivar (CENTRE..., 2007; CLOW et al., 2004). A resposta do cortisol ao acordar (RCA) foi obtida a partir da diferença entre as dosagens de $Cort_{30}$ e $Cort_{zero}$. A variável dose total acumulada de radiação foi obtida somando-se os valores anuais que o trabalhador recebeu durante os anos de trabalho com exposição à radiação ionizante na Instituição (HCPA), através de consulta aos relatórios enviados por firma especializada nessa atividade.

As variáveis $Cort_{zero}$, $Cort_{30}$, $Cort_{Noite}$, AC, inclinação, RCA, o escore obtido a partir da escala de estresse percebido, índice de dano (ID), frequência de dano (FD) e IMC foram submetidas ao teste de t de Student para grupos independentes, comparando-se o grupo exposto ao grupo não exposto à radiação.

As variáveis Stroop_1, Stroop_2 e Stroop_3 referem-se aos escores obtidos na leitura de palavras que combinam com as cores, na leitura das cores, e na leitura das cores quando não

combinam com as palavras, respectivamente, em um período de 45 segundos. O escore máximo por planilha para o Stroop_1, Stroop_2 e Stroop_3 é 100. Caso o indivíduo termine a leitura da planilha antes do tempo do teste, ele reinicia a leitura da mesma planilha até o tempo previsto, podendo portanto, ter escore acima de 100. A partir desses escores, foram calculados Stroop_Interf e S2-S3. O Stroop_Interf foi calculado a partir da fórmula (MOURIK et al., 2005):

$$\text{Escore Interferência (Stroop_Interf)} = S3 - [(S1 \times S2)/(S1+S2)]$$

e S2-S3 foi calculado pela diferença entre os escores do Stroop_2 e Stroop_3. O escore máximo para o *Span* de dígitos é 14 e para o *Span* de palavras é 10.

As variáveis: raiz quadrada da frequência de micronúcleos (rqMN), índice de divisão nuclear (IDN), índice de divisão nuclear considerando a citotoxicidade (IDNC), Stroop_1, Stroop_2, Stroop_3, Stroop_Interf, S2-S3, *Span* de dígitos e *Span* de Palavras foram submetidas à análise da variância de uma via para comparar o grupo exposto ao não exposto à radiação, considerando-se que essas variáveis covariavam com a idade (PALAZZO; MALUF, 2011; MACLEOD, 1991; SOUZA, 2004).

Correlações bivariadas de Pearson ou Spearman foram realizadas entre as variáveis (quando realizada só entre os trabalhadores expostos à radiação ionizante) ou entre os resíduos das variáveis (quando realizada com os trabalhadores expostos e os não expostos à radiação ionizante) para avaliar a relação entre os escores obtidos nas escalas de Estresse Percebido e Stroop e *Span* de dígitos e palavras, com as medidas de nível de dano no DNA do linfócito, com os anos/doses de exposição à radiação ionizante e com os níveis de cortisol salivar.

Foram consideradas diferenças estatisticamente significativas quando $p < 0,05$; considerou-se como tendência à significância quando p era maior do que 0,05 e menor do 0,10.

A condição de estresse foi categorizada de forma dicotômica (com estresse ou sem estresse, segundo o critério de Cort_{zero} ou Cort₃₀ > 19,7 nmol/L). A frequência de ocorrência de

estresse foi analisada pelo teste do qui quadrado segundo o estado civil, o número de filhos e a Unidade de trabalho.

A frequência de ocorrência de aumento de cortisol (segundo o critério de $Cort_{zero}$ ou $Cort_{30} > 19,7$ nmol/L, ou $Cort_N > 9,7$ nmol/L) foi analisada pelo teste do qui quadrado, em relação ao uso de medicamentos.

4.6 Considerações éticas

Este projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (projeto número 11-0603), e a coleta de dados teve início após sua aprovação. Foi solicitada anuência e autorização das chefias, e utilizou-se um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde), em duas vias, com igual teor, o qual foi apresentado ao trabalhador na ocasião em que foi convidado a participar da investigação, antes da primeira coleta de dados.

5 RESULTADOS

5.1 Dados sócio-demográficos e profissionais

As características sócio-profissional-demográficas estão inseridas nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2 - Caracterização dos dados sócio-profissional-demográfico da equipe de Enfermagem analisada do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2013

Dados sócio-profissional-demográfico	Média \pm DP	N	%
Idade (anos)	45,24 \pm 8,80	79	
Sexo (feminino)			100
Estado Civil			
Solteiro		26	32,9
Casado		53	67,1
Escolaridade (anos)			
Médio/fundamental		65	82,28
Superior		14	17,72
Profissão			
Enfermeiro		14	17,72
Técnico de Enfermagem		29	36,71
Auxiliar de Enfermagem		36	45,57
Anos de Trabalho			
na Instituição:	16,01 \pm 10,66	79	100
com Radiação Ionizante (grupo dos expostos)	13,21 \pm 10,74	38	48,1

Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.
Coleta direta de dados por meio de questionário.

Tabela 3 - Caracterização da amostra da equipe de Enfermagem analisada por Unidade do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2013

	Expostos		Não Expostos		
	Radiologia	Hemodinâmica	Unid. Int. Obstétrica	Ambulatório	Total
Enfermeira	2	6	2	4	14
Técnica de Enfermagem	5	10	7	7	29
Auxiliar de Enfermagem	15	0	1	20	36
Total	n=22	n=16	n=10	n=31	n=79

Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

5.2. Avaliação da presença de danos no DNA em linfócitos

Os dados referentes aos danos no DNA em linfócitos através do teste cometa e de micronúcleo, em indivíduos ocupacionalmente expostos (ou não) às radiações ionizantes utilizadas para fins diagnósticos, estão inseridos na Tabela 4.

Tabela 4 - Avaliação de dano no DNA em linfócitos, dose total acumulada e idade, na Equipe de Enfermagem conforme Exposição Ocupacional ou não à Radiação Ionizante

	Expostos n=38	Não-Expostos n=41
ID	58,12 ± 46,30	69,66 ± 40,38
FD	35,92 ± 21,17	42,81 ± 17,44
MN	2,41 ± 1,96	2,44 ± 1,83
IND	1,88 ± 0,14	1,88 ± 0,17
INDC	1,87 ± 0,14	1,87 ± 0,17
Dose Total Acumulada (mSv)	5,72 ± 4,09	-
Idade	45,05 ± 8,79	45,41 ± 8,90

Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: ID = Índice de Dano, FD = Frequência de Dano, MN = frequência de micronúcleos em mil células, IND = índice de Divisão Nuclear, INDC = Índice de Divisão Nuclear considerando a Citotoxicidade, Dose Total Acumulada (mSv) = Dose Total Acumulada em millisievert. Resultados obtidos (média ± desvio padrão) na equipe de Enfermagem exposta (Radiologia e Hemodinâmica) ou não (Ambulatório e Unidade de Internação Obstétrica) à radiação ionizante. As variáveis ID e FD foram submetidas ao teste de t de Student para grupos independentes, comparando-se o grupo exposto com o grupo não exposto à radiação. As variáveis rqMN, IDN e IDNC foram submetidas à análise da variância de uma via comparando-se o grupo exposto com o não exposto à radiação, considerando-se a idade como covariável.

Não houve diferença estatisticamente significativa para as variáveis índice de dano, frequência de dano, frequência de micronúcleos, índice de divisão nuclear, índice de divisão nuclear considerando a citotoxicidade, entre os grupos expostos e não expostos à radiação ionizante (Tabela 4).

5.3 Avaliação do nível de estresse por meio do cortisol salivar e estresse percebido em indivíduos ocupacionalmente expostos e não expostos às radiações ionizantes

Os dados referentes ao cortisol salivar obtidos e o escore obtido a partir da escala de estresse percebido, em indivíduos ocupacionalmente expostos (ou não) às radiações ionizantes, estão inseridos na Tabela 5 e Gráfico 1.

Não houve diferença significativa entre o grupo exposto e o não exposto à radiação ionizante para as variáveis $Cort_{zero}$, $Cort_{30}$, $Cort_N$, AC, inclinação, RCA e o escore obtido a partir da escala de estresse percebido (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores da Concentração de Cortisol Salivar e Escore de Estresse Percebido na Equipe de Enfermagem conforme Exposição Ocupacional ou não à Radiação Ionizante

	Expostos n=38	Não-Expostos n=41
$Cort_{zero}$, (nmol/L)	16,76 ± 9,97	17,88 ± 11,19
$Cort_{30}$, (nmol/L)	24,91 ± 12,83	22,47 ± 12,61
$Cort_N$, (nmol/L)	4,71 ± 4,75	4,52 ± 4,96
AC, (nmol.h/L)	231,07 ± 87,30	235,57 ± 11,19
Inclinação, (nmol/lLh)	-0,34 ± 2,05	-0,72 ± 0,84
RCA, nmol/L	8,14 ± 9,89	4,59 ± 14,27
Estresse Percebido	24,06 ± 6,08	23,12 ± 7,38

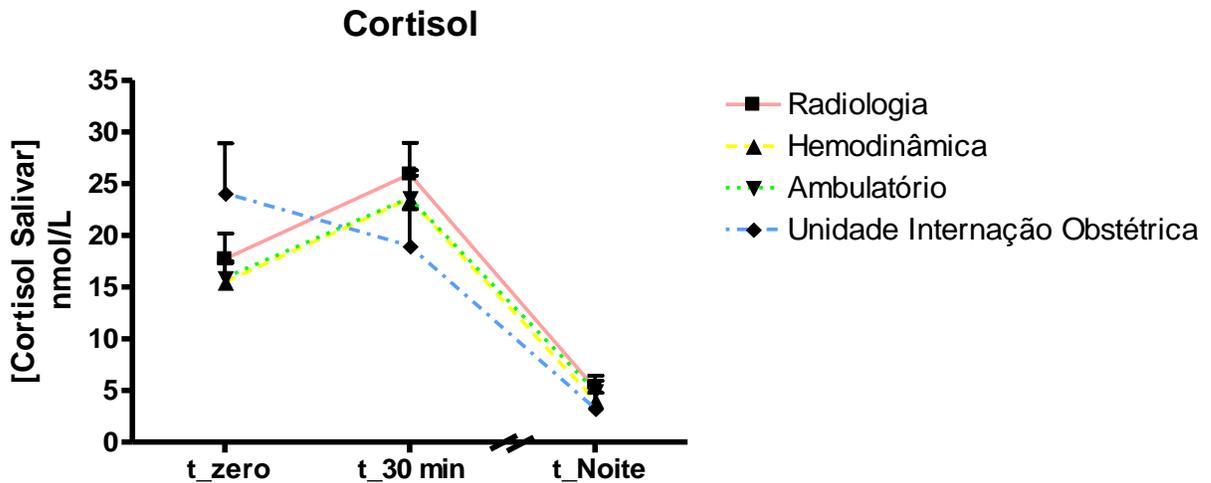
Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: $Cort_{zero}$ = concentração de cortisol salivar ao acordar; $Cort_{30}$ = concentração de cortisol salivar 30 minutos após acordar; $Cort_N$ = concentração de cortisol salivar antes de dormir; AC = área em baixo da curva; RCA = resposta do cortisol ao acordar; Inclinação = inclinação da reta segundo a concentração de cortisol ao longo do dia

(entre acordar e dormir). Resultados obtidos (média \pm desvio padrão) na equipe de Enfermagem exposta (Radiologia e Hemodinâmica) ou não (Ambulatório e Unidade de Internação Obstétrica) à radiação ionizante. As variáveis foram submetidas ao teste de t de Student para grupos independentes, comparando-se o grupo exposto com o grupo não exposto à radiação.

No presente estudo, a consistência interna da escala de estresse percebido, avaliada pelo alfa de Cronbach, foi de 0,609. Geralmente, o alfa acima de 0,6 ou 0,7 é considerado aceitável (Pereira et al., 2010; Hulley et al, 2008).

Gráfico 1 - Valores da Concentração de Cortisol Salivar na Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.



Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: t_zero = logo ao acordar; t_30min = 30 minutos após acordar; t_Noite: antes de dormir. Resultados obtidos (média \pm desvio padrão) para as variáveis Cort_{zero}, Cort₃₀, Cort_{t_N} da equipe de Enfermagem nas quatro unidades avaliadas (Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Unidade de Internação Obstétrica).

Tabela 6 - Distribuição de Frequência de Ocorrência de Estresse em função do Estado Civil

Estresse: (Cort _{zero ou 30} > 19,7nmol/L)	Amostra Completa % (n)	Estado Civil: Solteiro	Estado Civil: Casado
% (N amostra)	100% (79)	28,9% (26)	67,09% (53)
Estresse: SIM	73,4% (58)	32,9% (17)	67,1% (41)
Estresse: NÃO	26,6% (21)	42,9% (9)	57,1% (12)

Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: Cort_{zero ou 30} = concentração de cortisol salivar ao acordar ou 30 minutos após acordar.

De acordo com o teste do qui quadrado, não houve diferença significativa na frequência de ocorrência de estresse segundo o estado civil.

Tabela 7- Distribuição de Frequência de Ocorrência de Estresse em função do Número de Filhos

Estresse: (Cort _{zero ou 30} > 19,7nmol/L)	Amostra Completa % (n)	Número de Filhos			
		0	1	2	3
(N amostra)	100% (79)	26	26	18	9
Estresse: SIM	73,4% (58)	32,9%	32,9%	22,8%	11,4%
Estresse: NÃO	26,6% (21)	67,1%	67,1%	77,2%	88,6%

Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: Cort_{zero ou 30} = concentração de cortisol salivar ao acordar ou 30 minutos após acordar.

De acordo com o teste do qui quadrado, não houve diferença significativa na frequência de ocorrência de estresse segundo o número de filhos.

Tabela 8 - Distribuição de Frequência de Ocorrência de Estresse em função do Setor de Trabalho

Estresse: Cort _{zero ou 30} > 19,7 nmol/L)	Amostra Completa % (n)	UNIDADE			
		Radiologia	Hemodinâmica	Ambulatório	UIO
N amostra	79	22	16	31	10
Estresse: SIM	73,4% (58)	72,7% (16)	81,3% (13)	74,2% (23)	60% (6)
Estresse: NÃO	26,6% (21)	27,3% (6)	18,7% (3)	25,8% (8)	40% (4)

Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: Cort_{zero ou 30} = concentração de cortisol salivar ao acordar ou 30 minutos após acordar.

De acordo com o teste do qui quadrado, não houve diferença significativa na frequência de ocorrência de estresse segundo a Unidade de trabalho.

Assim, não há evidências de diferenças na distribuição de frequências de ocorrência da condição de estresse segundo o estado civil, número de filhos ou Unidade de trabalho na amostra estudada.

Na amostra aqui estudada, 58% fazia uso de algum fármaco. Dentre os funcionários que faziam uso de algum medicamento (antidepressivos, antihipertensivos, anticoncepcional, analgésicos, antiinflamatórios, hormônios tireoideus), 82,6 % apresentavam aumento de cortisol salivar logo após ou 30 minutos do acordar (considerando o valor de 19,7 nmol/L), ou antes de dormir (considerando o valor de 9,7 nmol/L). Dentre os funcionários que não faziam uso de algum medicamento, 54,5% apresentavam aumento de cortisol salivar. Dentre os que não tiveram aumento de cortisol salivar, 65,2% não fazia uso de medicamentos. Foi encontrada uma associação significativa entre o aumento dos níveis de cortisol salivar e o uso de medicamentos ($p=0,011$), assim como uma associação entre níveis não alterados de cortisol salivar para quem não faz uso de medicamentos ($p=0,011$) (Tabela 9).

Tabela 9 - Distribuição de Frequência de Alteração da Concentração de Cortisol Salivar em função do Uso de Medicamentos

	Não faz uso de medicamento (n)	Faz uso de medicamentos (n)	Total
Aumento de Cortisol	18	38*	56
Cortisol normal	15*	8	23
Total	33	46	79

Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Teste do qui quadrado; * $p = 0,011$.

5.4 Avaliação da função cognitiva da memória e atenção

A avaliação da função cognitiva de memória e atenção avaliadas pelos testes de Stroop, *Span* de dígitos e *Span* de palavras está inserida na Tabela 10.

Não houve diferença significativa entre os expostos e os não expostos à radiação ionizante no que se refere às variáveis Stroop_1, Stroop_2, Stroop_3, Stroop_Interf, S2-S3, *Span* de dígitos e *Span* de palavras (Tabela 10).

Tabela 10 - Resultados do teste de *Stroop*, *Span* de dígitos e *Span* de Palavras

	Expostos n = 38	Não-Expostos n = 41
Stroop_1	87,87 ± 15,38	84,58 ± 14,51
Stroop_2	62,53 ± 10,90	61,33 ± 9,25
Stroop_3	34,58 ± 9,23	34,8 ± 8,7
Stroop Interf	-1,79 ± 8,43	-0,38 ± 9,0
S2-S3	27,94 ± 9,84	26,52 ± 11,37
<i>Span</i> Dígitos	8,05 ± 3,03	7,70 ± 3,28
<i>Span</i> Palavras	6,05 ± 1,22	5,73 ± 1,03

Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Resultados obtidos (média ± desvio padrão) na equipe de Enfermagem exposta (Radiologia e Hemodinâmica) ou não (Ambulatório e Unidade de Internação Obstétrica) à radiação ionizante. As variáveis Stroop_1, Stroop_2, Stroop_3, Stroop_Interf, S2-S3, *Span* de dígitos e *Span* de palavras foram submetidas à análise da variância de uma via comparando o grupo exposto com o não exposto à radiação, considerando-se que essas variáveis covariavam com a idade.

5.5 Correlações entre danos no DNA, cortisol e as funções cognitivas de memória e atenção

5.5.1 Para expostos e não expostos à radiação ionizante

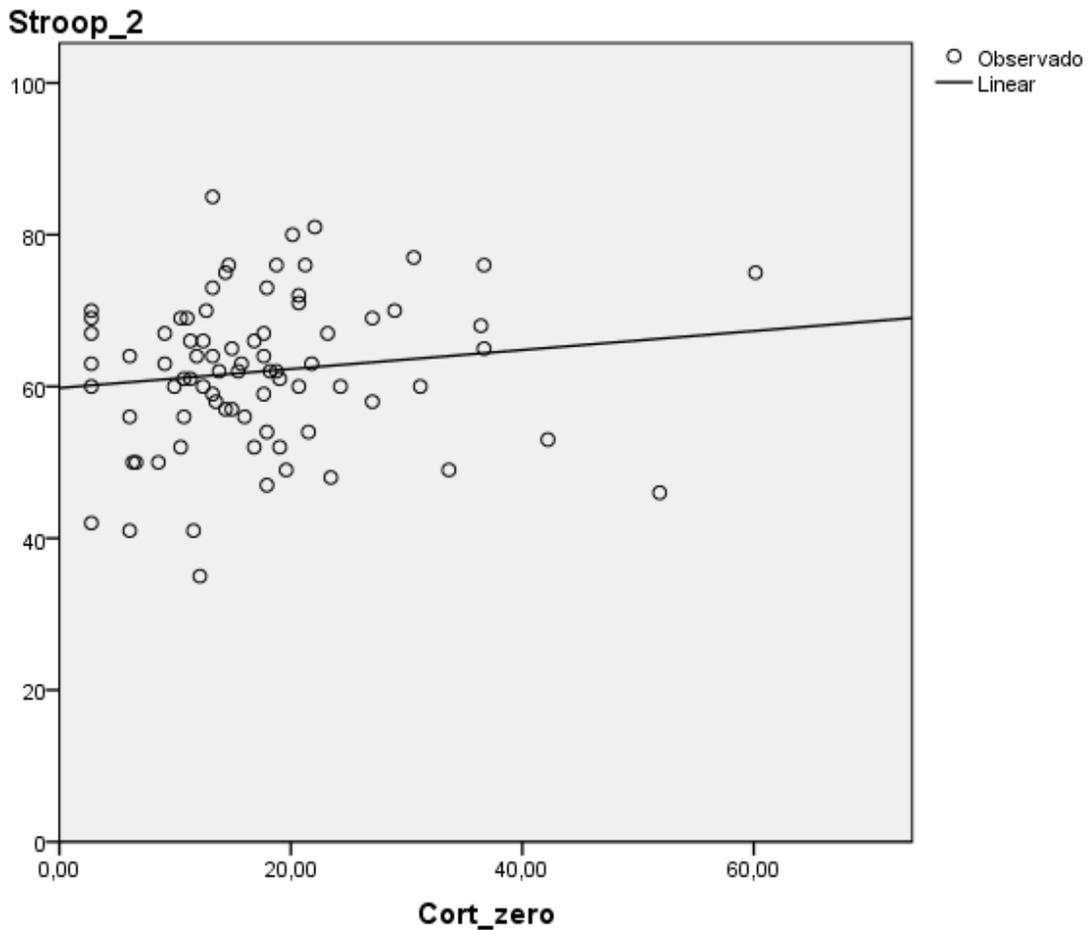
As correlações encontradas com a avaliação da função cognitiva da memória e atenção e o dano no DNA, e com a concentração de cortisol salivar estão descritas abaixo, para expostos e não expostos à radiação ionizante, ou seja, para a amostra total independente da condição de exposição à radiação. As correlações mais relevantes estão também ilustradas nos Gráficos 2 a 13.

A frequência de dano (FD) está correlacionada significativa e positivamente com o Cort_30 ($r = 0,220$; $p = 0,053$; $n=79$) (Gráfico 6); a FD apresenta uma tendência a uma correlação negativa com o escore obtido em Stroop_3 ($r = - 0,215$; $p = 0,059$; $n=79$) (Gráfico 10). O índice de dano (ID) apresenta uma tendência de correlação positiva com o Cort_30 ($r= 0,192$; $p = 0,093$) (Gráfico 5).

Há uma correlação positiva entre o Cort_zero e os escores obtidos em Stroop_2 ($r= +0,224$; $p = 0,048$; $n=78$) (Gráfico 2), Stroop_3 ($r= 0,276$; $p = 0,014$) (Gráfico 3) e *Span* de dígitos ($r= 0,258$; $p = 0,022$; $n=78$) (Gráfico 4). Por outro lado, há uma correlação significativa e negativa entre o Cort_N e o escore obtido em Stroop_2 ($r = - 0,243$; $p = 0,032$) (Gráfico 7) e uma tendência de correlação negativa entre a frequência de micronúcleos e Stroop _2 ($r = - 0,200$; $p= 0,079$) (gráfico 9) ou seja, quanto maior a frequência de micronúcleos menor é o desempenho do teste Stroop_2.

Sucintamente, as correlações acima indicam que o desempenho no Stroop (2 e 3) e a memória avaliada pelo *Span* de dígitos são melhores quando os níveis de cortisol salivar logo ao acordar são mais altos. Há mais dano detectado no DNA e um pior desempenho no Stroop_3 quanto mais alto for o nível de cortisol salivar 30 minutos após acordar. O desempenho no Stroop_2 é pior quando há elevação no cortisol salivar antes de dormir.

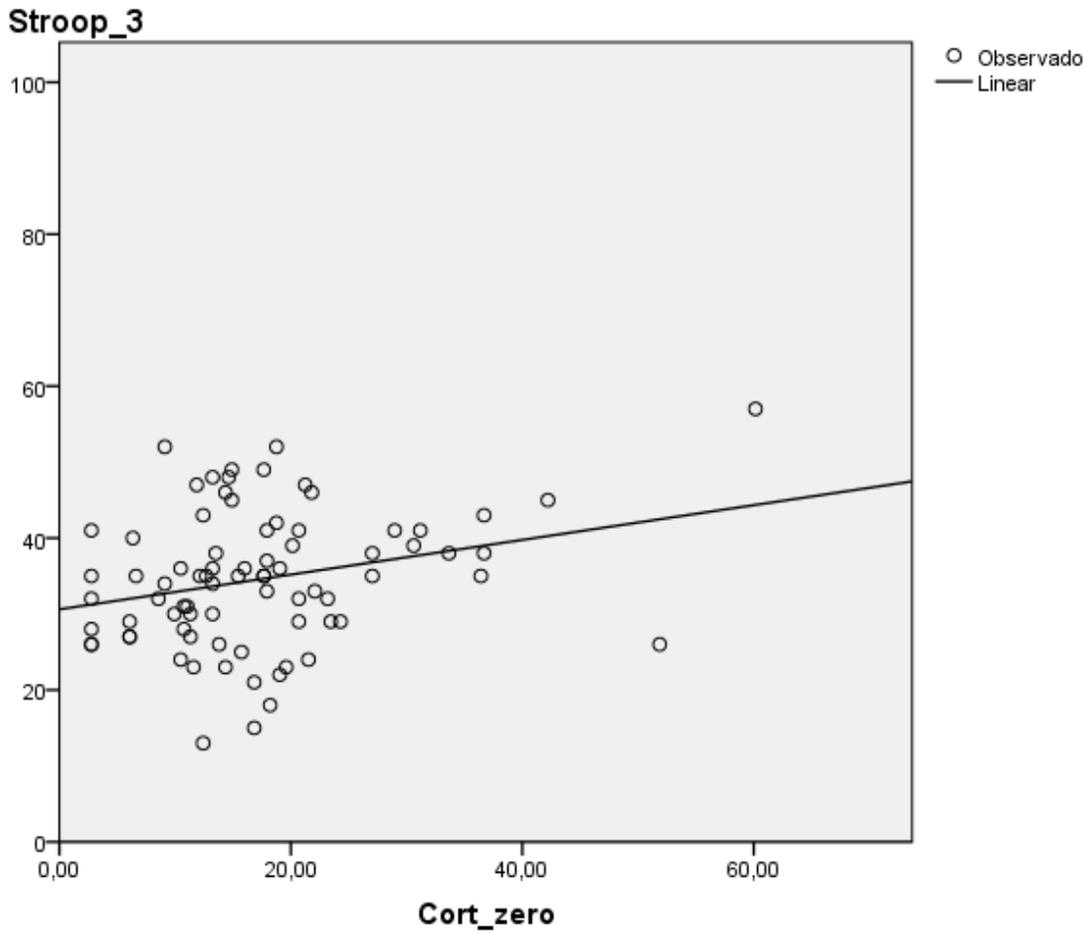
Gráfico 2 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_2 e a concentração de cortisol salivar ao acordar da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica.



Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: Cort_zero = cortisol salivar ao acordar, em nmol/L; Stroop_2 = escore do teste de Stroop_2; correlação de $r = +0,224$; $p = 0,048$.

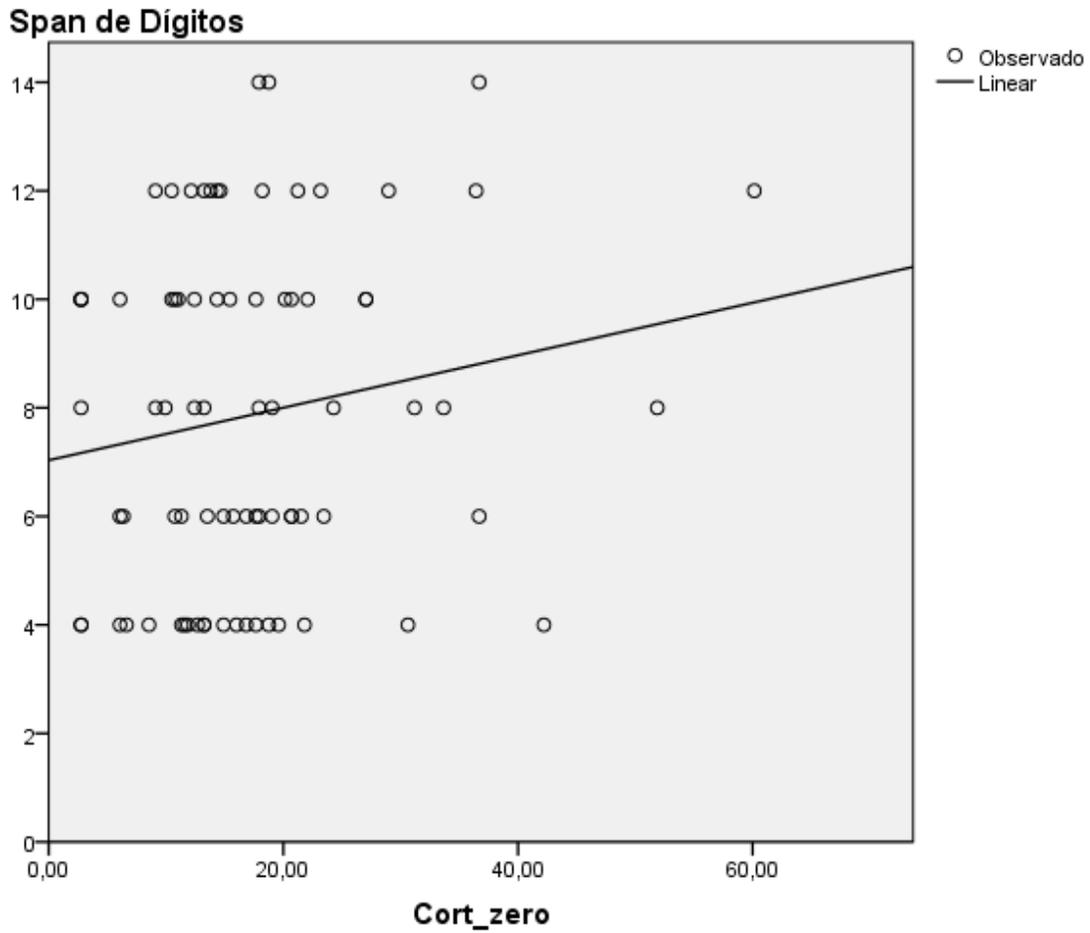
Gráfico 3 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_3 e a concentração de cortisol salivar ao acordar da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica



Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: Cort_zero = cortisol salivar ao acordar, em nmol/L; Stroop_3 = escore do teste de Stroop_3; correlação de $r = +0,276$; $p = 0,014$.

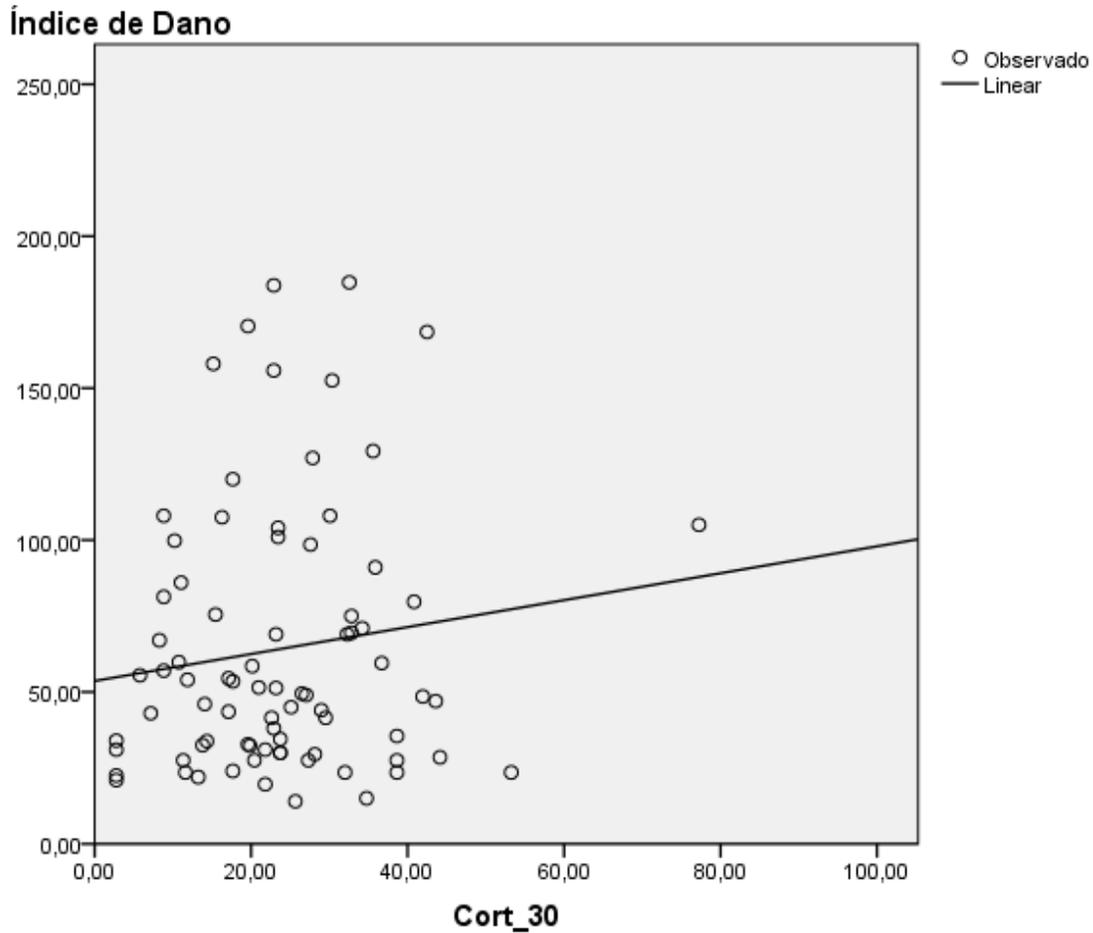
Gráfico 4 - Correlação entre o resultado do teste de Span de dígitos e a concentração de cortisol salivar ao acordar da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica



Fonte: Dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviatura: Cort_zero = cortisol salivar ao acordar, em nmol/L; correlação de $r = + 0,258$; $p = 0,022$.

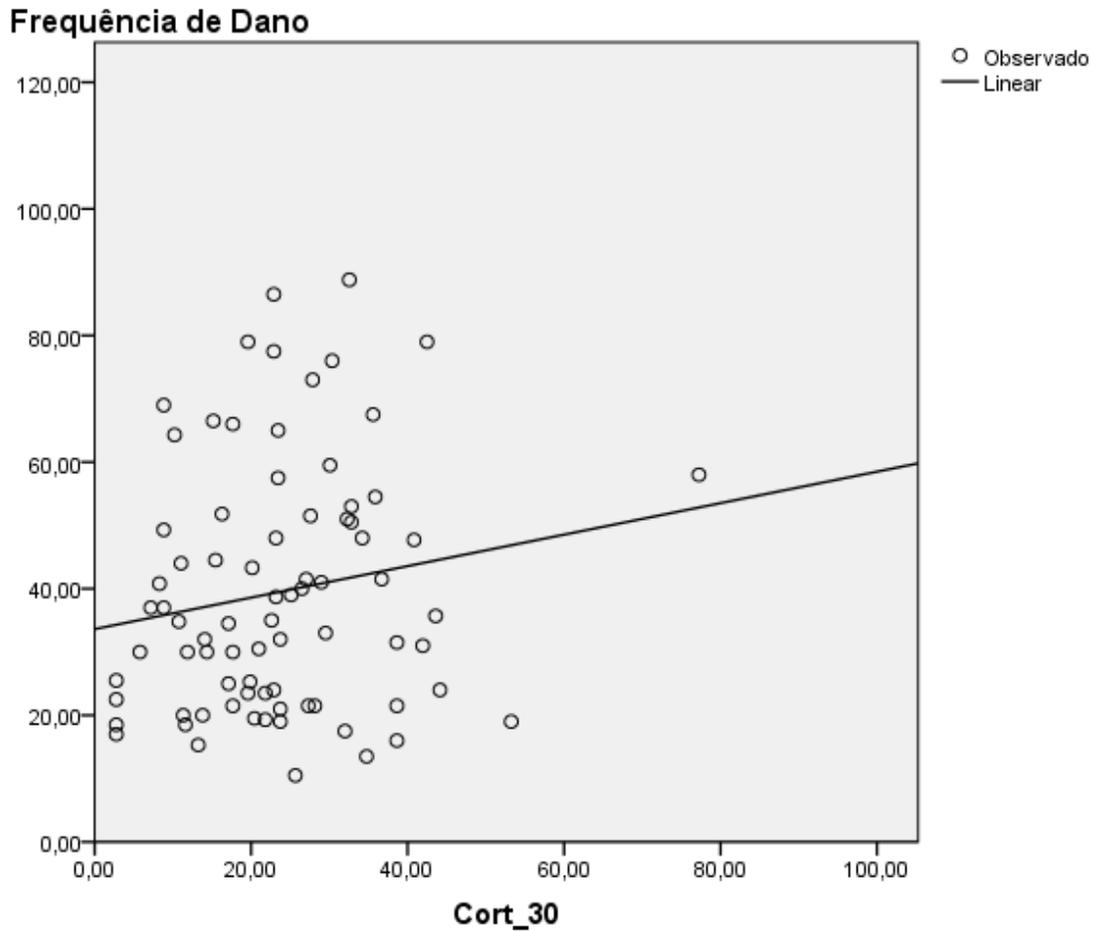
Gráfico 5 - Correlação entre o Índice de Dano no DNA de Linfócitos e a Concentração de Cortisol Salivar 30 minutos após acordar da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica



Fonte: Dados da pesquisa. Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: ID = Índice de Dano; Cort_30 = cortisol salivar 30 minutos após acordar, em nmol/L; correlação de $r = +0,192$; $p = 0,093$.

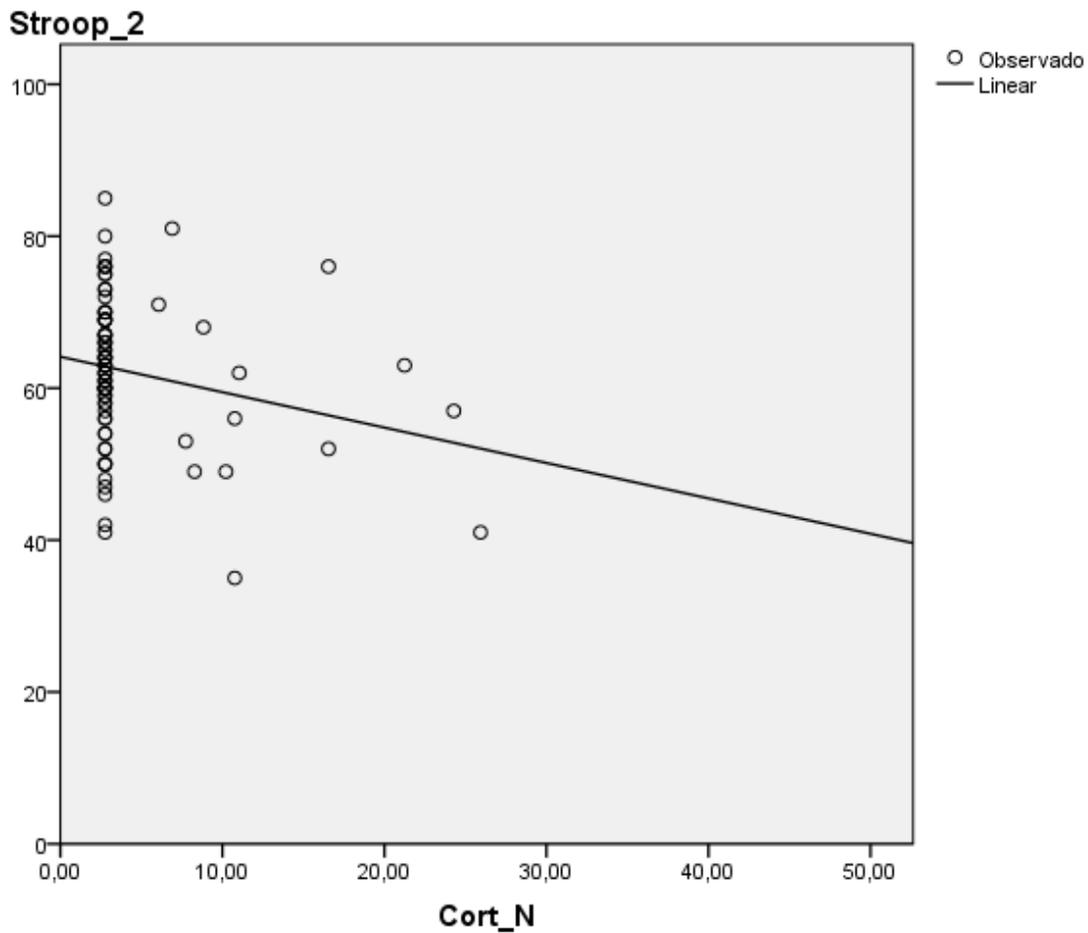
Gráfico 6 - Correlação entre a Frequência de Dano no DNA de Linfócitos e a Concentração de Cortisol Salivar 30 minutos após acordar da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica



Fonte: Dados da pesquisa. Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: FD = Frequência de Dano; Cort_30 = cortisol salivar 30 minutos após acordar, em nmol/L; correlação de $r = +0,220$; $p = 0,053$.

Gráfico 7 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_2 e a Concentração de Cortisol Salivar antes de dormir da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica

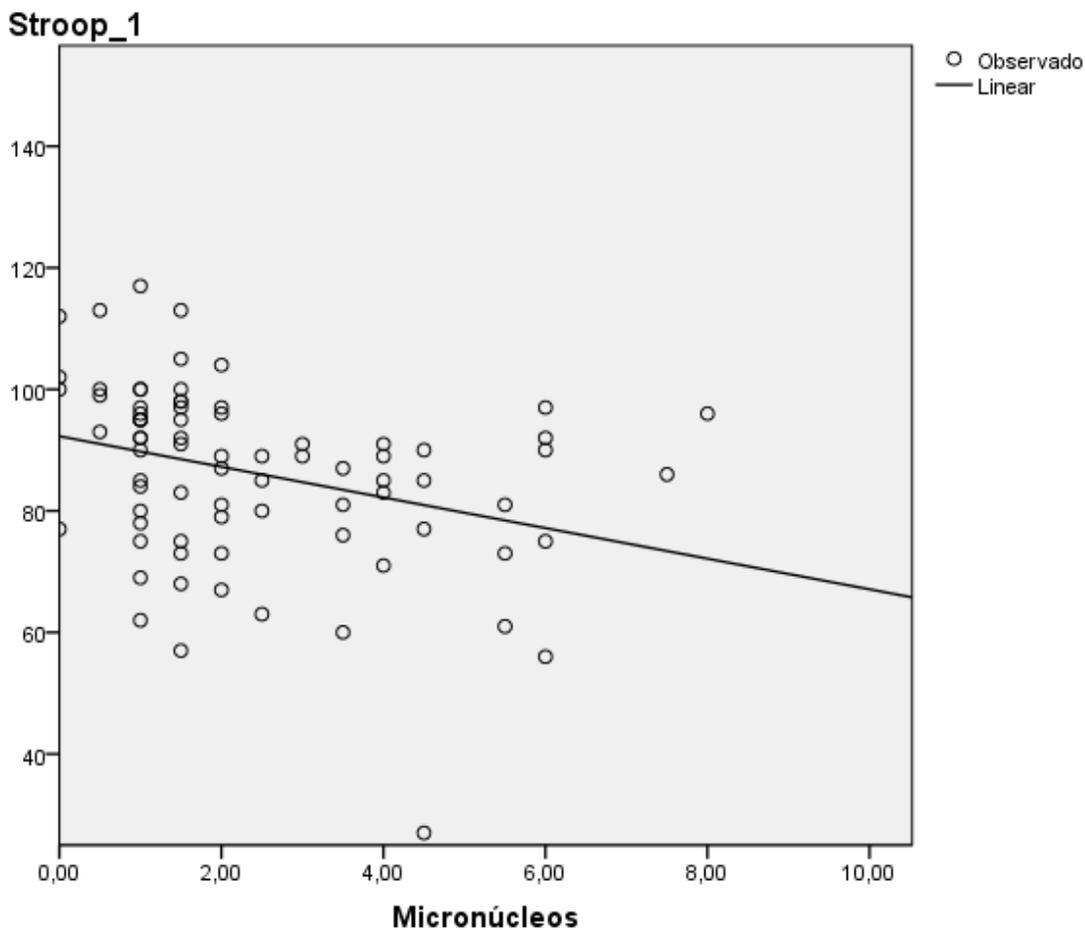


Fonte: Dados da pesquisa. Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: Stroop_2 = escore do teste de Stroop_2; Cort_N = Cortisol salivar antes de dormir, em nmol/L; correlação de $r = -0,243$; $p = 0,032$.

A frequência de micronúcleos está correlacionada significativa e negativamente com o escore obtido em Stroop_1 ($r = -0,324$, $p = 0,034$; $n=78$), e apresenta uma tendência para a correlação negativa com escore obtido em Stroop_2 ($r = -0,200$, $p = 0,079$; $n = 78$). A frequência de micronúcleos está correlacionada significativa e positivamente ($r = 0,276$; $p = 0,014$) com a inclinação da reta que caracteriza a queda do cortisol.

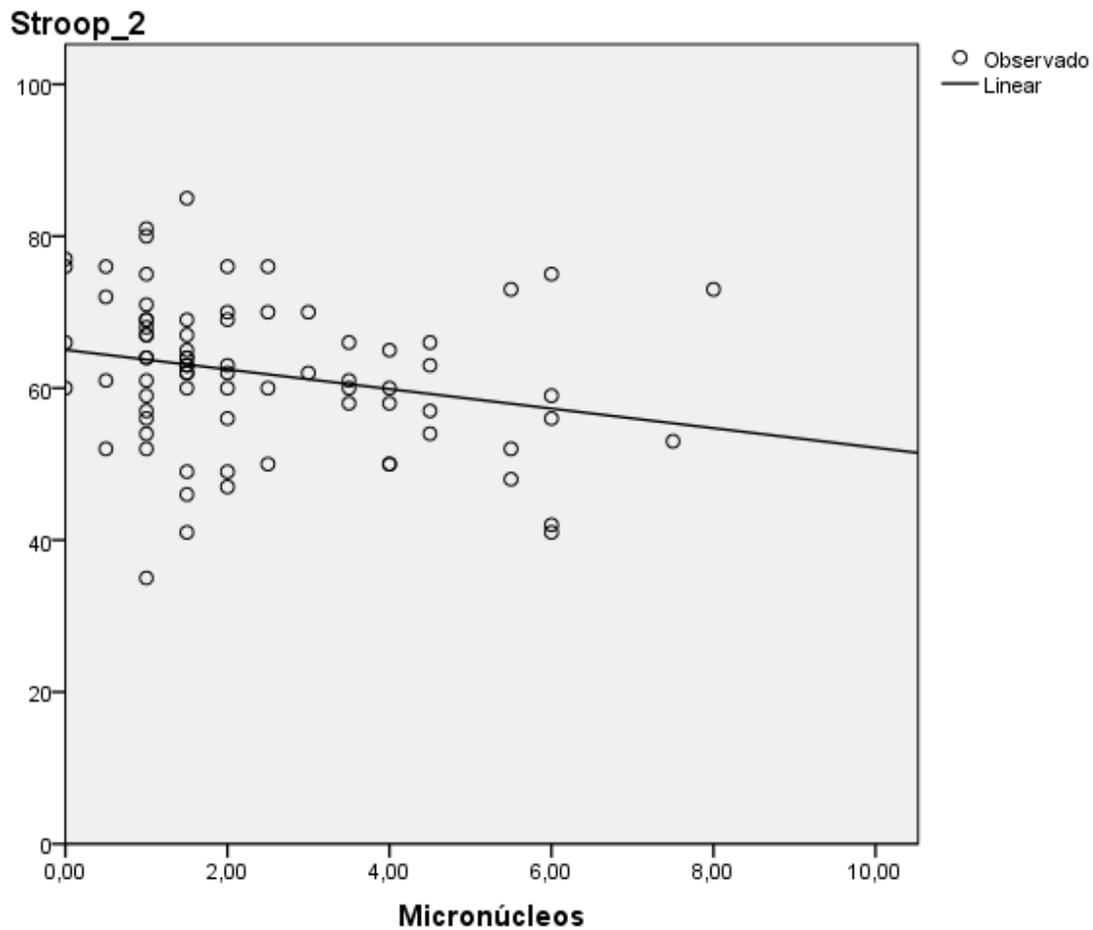
Gráfico 8 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_1 e a Frequência de Micronúcleos da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica



Fonte: dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: Stroop_1 = escore do teste de Stroop_1; Micronúcleos = Frequência de Micronúcleos; correlação de $r = -0,324$; $p = 0,034$.

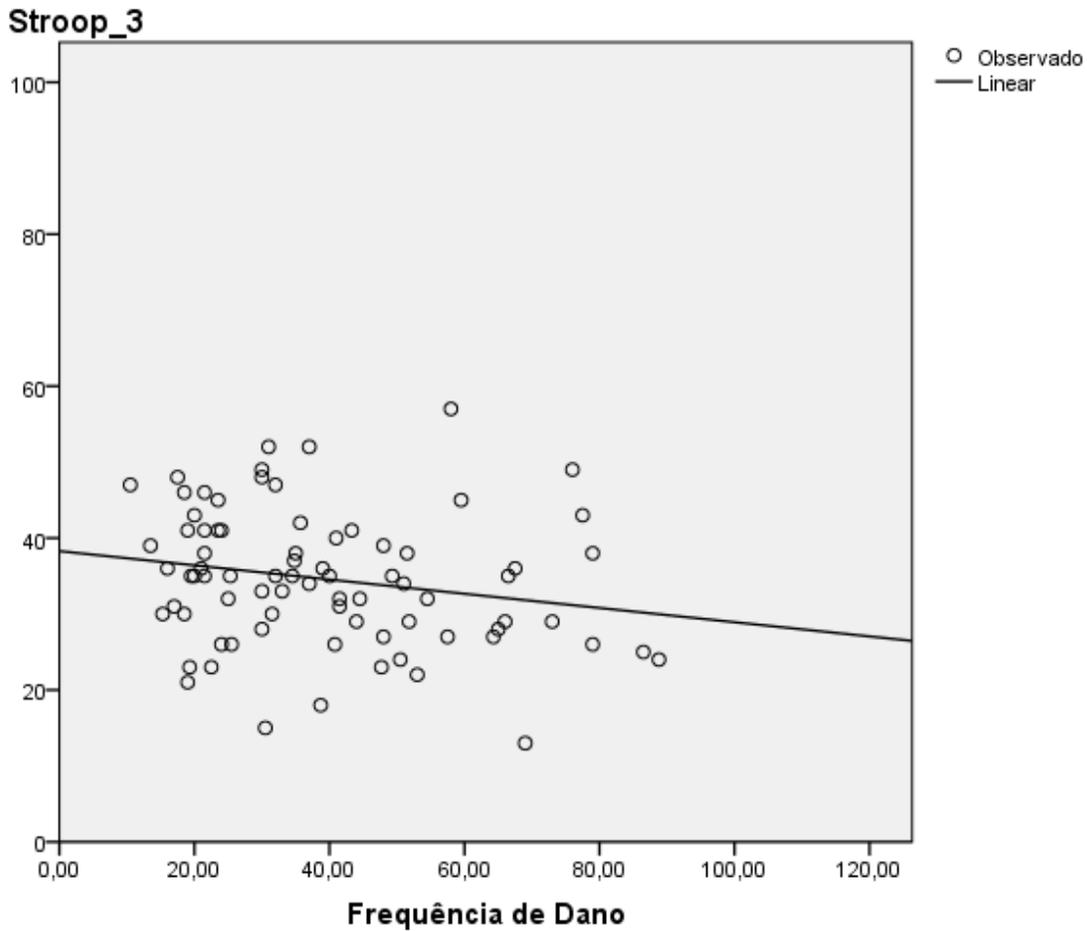
Gráfico 9 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_2 e a Frequência de Micronúcleos da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica



Fonte: dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: Stroop_2 = escore do teste de Stroop_2; Micronúcleos = Frequência de Micronúcleos; correlação de $r = -0,200$; $p = 0,079$.

Gráfico 10 - Correlação entre o resultado do teste de Stroop_3 e a Frequência de Dano no DNA de Linfócitos da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica



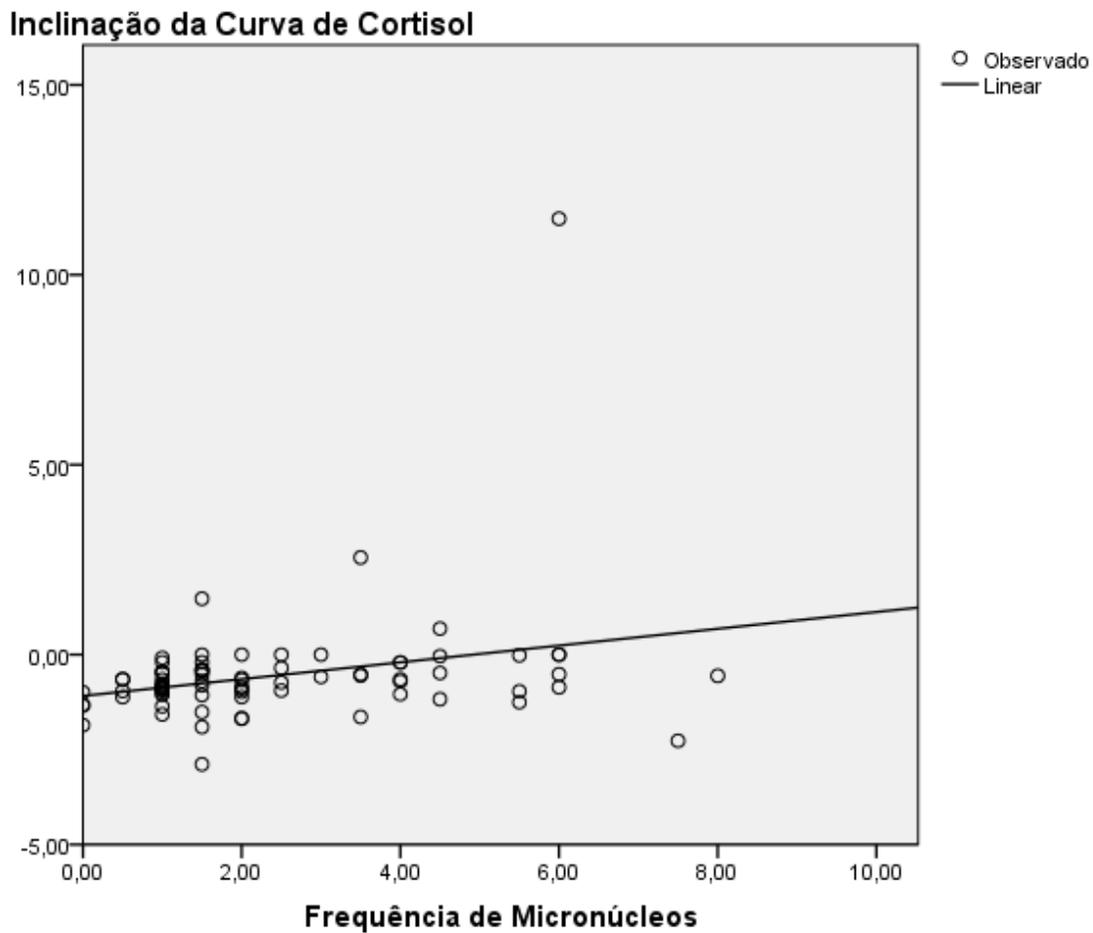
Fonte: dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: Stroop_3 = escore do teste de Stroop_3; correlação de $r = -0,215$; $p = 0,059$.

A inclinação da curva de cortisol salivar está correlacionada positivamente com a frequência de micronúcleos ($r = +0,276$; $p = 0,014$) e negativamente com o escore obtido no Stroop_1 ($r = -0,240$; $p = 0,034$) (Gráficos 11 e 12)

De acordo com o teste do qui quadrado, não houve diferença significativa nos valores de dano no DNA de linfócitos, IMC e escores obtidos nos testes cognitivos de atenção e memória de acordo com os hábitos de tabagismo, consumo de álcool e atividade física (Tabela 11).

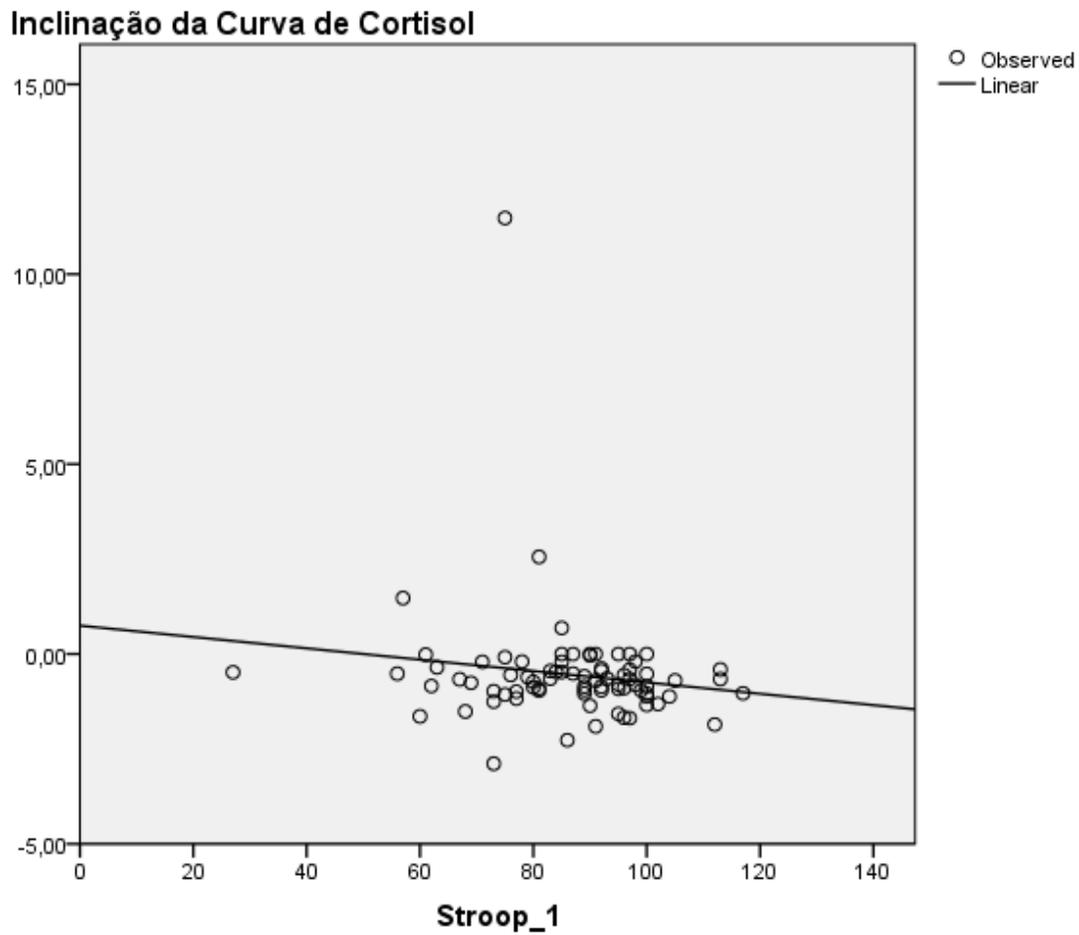
Gráfico 11 - Correlação entre Inclinação da Curva do Cortisol Salivar e a Frequência de Micronúcleos em Linfócitos da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica



Fonte: dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Correlação de $r = + 0,276$; $p = 0,014$.

Gráfico 12 - Correlação entre Inclinação da Curva do Cortisol Salivar e o resultado do teste de Stroop_1 da Equipe de Enfermagem das Unidades de Radiologia, Hemodinâmica, Ambulatório e Internação Obstétrica



Fonte: dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas: Stroop_1 = escore do teste de Stroop_1; correlação de $r = -0,240$ $p = 0,034$.

Tabela 11 - Valores de Índice e Frequência de Dano no DNA de Linfócitos, Frequência de Micronúcleos, IMC e Testes Cognitivos de Atenção e Memória de acordo com Hábitos de Tabagismo, Consumo de Álcool e Atividade Física

N = 79	Tabagista		Álcool		Exercício Físico	
	Sim 4	Não 75	Sim 28	Não 51	Sim 21	Não 58
ID	81,20±70,99	63,20 ± 42,05	63,20 ± 49,13	64,62±40,49	65,58±44,86	63,58±43,30
FD	46,58±29,78	39,12±19,04	38,47±23,05	40,07±17,50	39,64±20,87	39,45±19,19
MN	5,00±4,24	4,77±3,78	4,32± 3,64	5,04±3,86	5,14±4,30	4,66±3,60
IMC	26,83±5,27	28,20±4,69	28,12±4,93	28,14±4,61	27,50± 4,50	28,35±4,78
Stroop_1	83,75±7,89	86,49±15,22	86,79±13,35	86,12±15,84	86,71±16,78	86,22±14,34
Stroop_2	61,75±6,02	61,99±10,19	64,46±9,14	60,61±10,27	63,29±10,47	61,50±9,87
Stroop_3	32,25±13,96	34,71±8,69	34,18±9,06	34,80±8,91	34,90±9,33	34,47±8,83
Stroop_Interf	-3,22±11,83	-1,13±8,67	-2,67±8,94	- 0,45±8,67	-1,52±9,42	-1,13±8,61
S2-S3	29,50±12,29	27,28±10,64	30,29±10,49	25,80±10,51	28,38±11,27	27,03±10,50
<i>Span</i> Dígitos	7,00±3,46	7,92±3,13	8,64±3,36	7,45± 2,94	7,43±3,41	8,03±3,03
<i>Span</i> palavras	6,50±1,29	5,87±1,13	5,79±1,13	5,96 ±1,15	5,81±1,17	5,93±1,14

Fonte: dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Abreviaturas:

Os valores estão expressos como média ± desvio padrão. Teste do qui-quadrado.

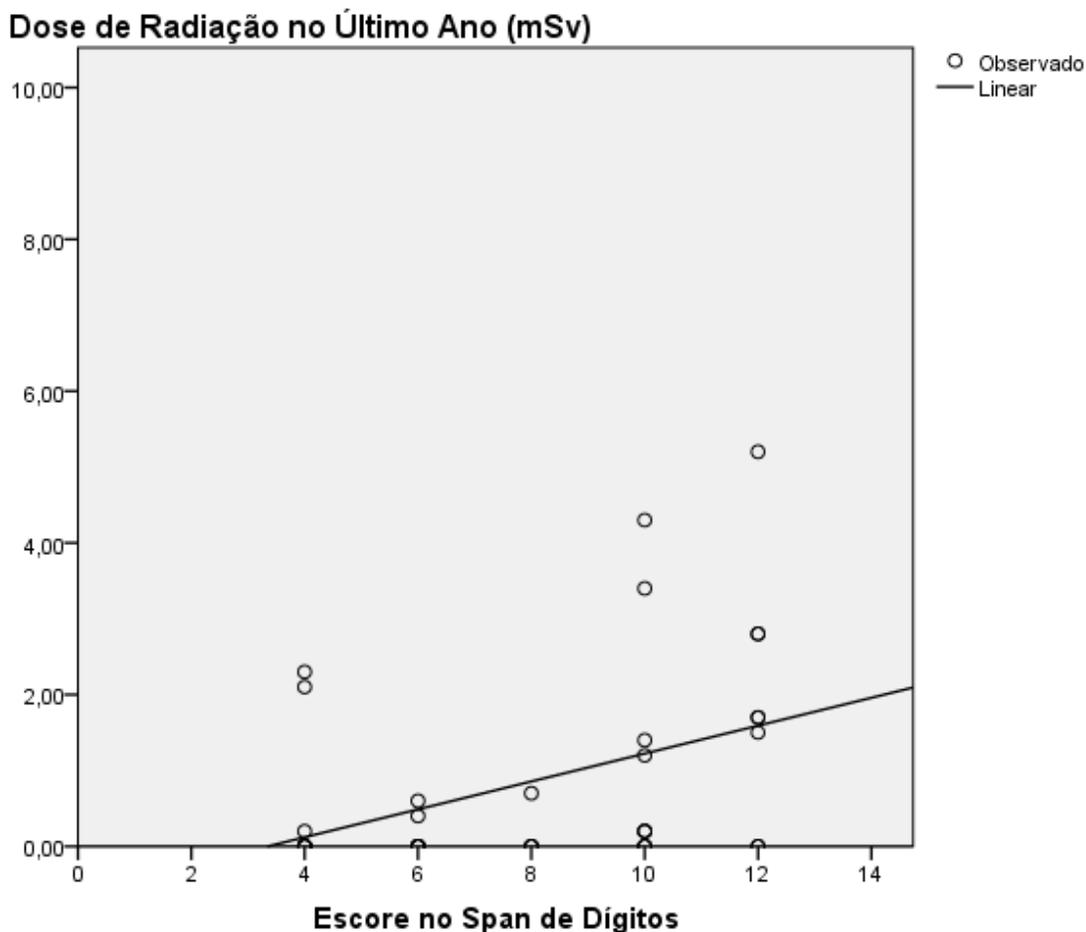
5.5.2 Para expostos à radiação ionizante

Ao se considerar somente o grupo de funcionárias expostas à radiação ionizante, obteve-se as seguintes correlações (Spearman): a frequência de micronúcleos está significativa e negativamente correlacionada com o escore obtido em Stroop_1 ($r = - 0,532$; $p = 0,001$; $n=38$) e Stroop_2 ($r = - 0,332$; $p = 0,042$; $n=38$). Há uma tendência de correlação negativa entre o índice de dano (ID) com o escore obtido no Stroop_3 ($r = - 0,294$; $p = 0,073$; $n=38$). Há uma correlação negativa entre o resultado do *Span* de dígitos e o índice de dano ($r = - 0,340$; $p = 0,037$; $n=38$). Há tendência de correlação negativa entre a frequência de danos (FD) e o resultado do *Span* de dígitos ($r = - 0,271$; $p = 0,10$; $n=38$).

Segundo a análise de correlação de Spearman não houve correlação significativa entre o índice de dano no DNA de linfócitos com as doses registradas nos dosímetros nos meses (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) anteriores à coleta de sangue, nem com a dose total no último ano, e nem com os anos de “trabalho envolvendo radiações ionizantes, nem com a dose total acumulada

durante os anos de exposição na Instituição”. Também não houve correlação significativa entre a frequência de micronúcleos e as doses registradas nos dosímetros nos meses (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) anteriores à coleta de sangue, nem com a dose total registrada no último ano, nem com os anos de trabalho envolvendo radiações ionizantes, nem com a dose total acumulada durante os anos de exposição na Instituição. Entretanto, obteve-se uma correlação positiva entre o escore no *Span* de dígitos e a dose recebida no último ano de trabalho ($r = + 0,424$; $p = 0,008$, $n=38$) (Gráfico13). Verificou-se também uma correlação negativa significativa entre escolaridade (anos de estudo) e frequência de micronúcleos ($r = - 0,338$, $p = 0,038$, $n=38$).

Gráfico 13 - Correlação entre a Dose Ocupacional de Radiação Ionizante no Último Ano de Trabalho com o Escore no Span de Dígitos nas Unidades de Radiologia e Hemodinâmica



Fonte: dados da pesquisa, Porto Alegre, 2013.

Correlação de $r = + 0,424$; $p = 0,008$, $n=38$.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo não identificou aumento de dano de DNA em sangue periférico em mulheres da equipe de Enfermagem expostas ocupacionalmente às radiações ionizantes para fins diagnósticos quando comparadas àquelas que trabalham em outras unidades sem exposição à radiação ionizante. Segundo os registros de doses de radiação dos funcionários, os limites de exposição atualmente permitidos pela legislação vigente não foram ultrapassados na amostra estudada. Um possível motivo para essa diferença não ter sido encontrada poderia ser a necessidade de avaliar uma amostra maior, já que as doses envolvidas são baixas. Por outro lado, outros estudos mostraram a possibilidade de identificar aumento de danos com baixas doses quando a exposição à radiação se dava com equipes da área da saúde, porém quando comparadas com a de outros setores, como o administrativo.

Num estudo, realizado no mesmo hospital onde foi desenvolvida nossa pesquisa, foi encontrado um aumento significativo de dano no DNA através do ensaio cometa e teste de micronúcleos no sangue periférico de trabalhadores expostos aos raios-x, quando comparados a trabalhadores não expostos. Porém, este estudo não avaliou somente a equipe de Enfermagem. O ensaio cometa detecta danos momentâneos no DNA e/ou atividade de reparação. Em resumo, o estudo demonstrou a presença de efeitos genotóxicos nos trabalhadores expostos aos raios-x, e indicou que a combinação do ensaio cometa com o teste de micronúcleos parece ser útil para o controle das populações cronicamente expostas à radiação ionizante (MALUF et al., 2001). O método do cometa (“Single cell gel electrophoresis”) é uma técnica bioquímica que sob condições alcalinas permite detectar lesões no DNA como quebras nas fitas simples e sítios alcali-lábeis induzidos por agentes genotóxicos em nível de células individuais.

Um aumento significativo de dano no DNA também já foi observado após o dia de trabalho de exposição ocupacional à radiação dos trabalhadores, em comparação com as amostras antes do dia de trabalho, bem como com os do grupo não exposto. Houve correlação positiva entre a dose mensal de radiação e o comprimento de migração da cauda do DNA, antes e depois da jornada de trabalho. Também houve diferenças significativas no comprimento das caudas dos cometas entre os trabalhadores de diferentes departamentos, os da Radiologia têm menos danos

no DNA do que os indivíduos dos departamentos da Medicina Nuclear e Radioterapia. Todos os trabalhadores expostos mostraram um aumento na fragmentação do DNA após a jornada de trabalho. A quantidade de radiação em todos os três serviços é diferente; em Medicina Nuclear e Radioterapia, os trabalhadores mostraram uma maior dose mensal de exposição e maiores danos no DNA do que os trabalhadores de Radiologia. As caudas mais longas foram observadas em Medicina Nuclear, onde radionuclídeos são utilizados; essas substâncias radioativas são manipuladas e administradas aos pacientes, por via oral ou por via intravenosa, pelos trabalhadores. A maioria dos danos detectados no DNA pelo teste cometa é reparado. No entanto, uma parte deles pode resultar em rearranjos cromossômicos estáveis que pode representar um risco para a saúde a longo prazo. Frequentemente, estudos citogenéticos tem demonstrado um incremento na frequência de aberrações cromosômicas em trabalhadores expostos a baixas doses de radiação ionizante em comparação com indivíduos não expostos (MARTINEZ et al., 2010).

O presente estudo não detectou correlação significativa entre o índice de dano no DNA de linfócitos com as doses de radiação registradas nos dosímetros nos meses 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 anteriores à coleta de sangue, nem com a dose total no último ano, e nem com os anos de trabalho envolvendo radiações ionizantes. Vale ressaltar que o dano avaliado pelo teste cometa aparece principalmente em resposta a exposições recentes como minutos ou horas, sendo que no presente estudo não se tinha informação sobre a dose instantânea do dia da coleta. Além disso, também não houve correlação significativa entre a frequência de micronúcleos e as doses registradas nos dosímetros nos meses 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 anteriores à coleta de sangue, nem com a dose total registrada no último ano, e nem com os anos de trabalho envolvendo radiações ionizantes. Mesmo não tendo sido encontrada relação significativa entre as doses parciais ou totais de radiação com a frequência de micronúcleos e o dano no DNA em linfócitos, a correlação positiva entre o escore no *Span* de dígitos e a dose recebida no último ano de trabalho apontam para um possível efeito indireto da radiação sobre o sistema nervoso central, manifestando-se como aumento na capacidade da memória de trabalho. Surpreendente é ter sido encontrada uma correlação positiva, e não negativa entre essas variáveis, já que o hipocampo é uma área radiosensível, e portanto, esperaria-se dano e redução de memória. A correlação aqui encontrada pode apontar para um possível efeito do tipo hormese (discutido novamente mais adiante), quando avaliado em um prazo relativamente longo, como um ano de exposição a baixas

doses. A variável dose total acumulada utilizada no presente estudo refere-se àquela registrada em todos anos de trabalho no HCPA, dos setores de Radiologia e Hemodinâmica. Por outro lado, não se tem informação sobre a dose recebida dos trabalhadores da UIO e Ambulatório que possam ter recebido radiação de outros setores do HCPA em anos anteriores; ainda, quem trabalha e/ou trabalhou em outras instituições com radiação ionizante, também é desconhecida a dose possivelmente recebida. Portanto, as doses aqui registradas podem estar subestimadas e podem contribuir como fonte de erro às conclusões.

A técnica aqui utilizada para avaliação de dano foi o ensaio cometa introduzido por Singh et al. (1988), que utiliza eletroforese em condições alcalinas ($\text{pH} > 13$) para analisar o dano no DNA, detectar quebras simples de cadeias de DNA e sítios álcali-lábeis em células individuais (LIAO et al., 2009). O ensaio cometa detecta lesões primárias que podem ser reparadas, sem que resultem em alterações genéticas permanentes, porém algumas delas como os rompimentos de cadeia duplas (DSB) podem ser relevantes na formação de aberrações cromossômicas, bem como as modificações ao DNA, tais como os sítios abásicos, sendo importantes na indução de mutações genéticas (BRENDLER-SCHWAAB et al., 2005). Um aumento no dano do DNA significa que há quebras em sítios álcali-lábeis e/ou de cadeias e também, a contínua atividade de reparo por excisão pode elevar a migração do DNA, pelas quebras de cadeia devido às incisões. Por outro lado, a redução do dano no DNA quando comparado com o controle pode estar relacionado com a indução de *crosslinks*, e o reparo normalmente reduz a migração do dano porque elimina as lesões causadas ao DNA (PALAZZO; MALUF, 2011). A técnica de micronúcleos com bloqueio da citocinese celular (CBMN) em linfócitos do sangue periférico é utilizada para determinar a presença e a extensão de dano cromossômico de trabalhadores expostos a baixas doses a agentes genotóxicos, como radiação ionizante (ROPOLO, et al., 2012; BOURAOUI et al., 2013). Este ensaio possibilita medir a frequência de quebra e perda cromossômica (MN), rearranjos cromossômicos (PNP) e amplificação gênica (*buds*). MN são fragmentos acêntricos (efeito clastogênico) ou cromossomos inteiros que durante a divisão celular não ficaram ligados ao fuso mitótico (efeito aneugênico), e que são visualizados como pequenos núcleos adicionais próximos ao núcleo principal no citoplasma das células filha (FENECH et al., 2011; PALAZZO; MALUF, 2011; BOURAOUI et al., 2013). As pontes nucleoplásmicas (PNPs) informam o tipo de mutação (clastogênica ou aneugênica), e os *buds* (brotos) nucleares são encontrados na periferia

nuclear e correspondem à amplificação de DNA, ou seja, são biomarcadores de amplificação gênica (FENECH, 2010). A análise do índice de divisão nuclear considerando a citotoxicidade (IDNC) é uma medida mais eficiente do que a análise do índice de divisão nuclear (IDN), porque inclui na análise as células apoptóticas e necróticas, permitindo analisar o efeito citotóxico (PALAZZO; MALUF, 2011).

Os resultados de um estudo na equipe de enfermagem, Flôr (2010), mostraram que os trabalhadores, não associam a carga física ao desgaste por exposição à radiação ionizante. Preferem negar e relacionar esse desgaste à herança familiar, por ser mulher e acaso. A tese da autora é de que “na práxis da Enfermagem em hemodinâmica há um processo de desgaste provocado pela exposição à radiação ionizante que pode estar velado por tratar-se de carga física invisível” é confirmada, além de outras cargas de trabalho adicionadas, como as fisiológicas, mecânicas, biológicas, químicas, psíquicas e as físicas.

O dano em DNA pode ser causado não só pela radiação ionizante, mas também por outros agentes, como o estresse (ANDERSEN; TEICHER, 2004; BRENNER et al., 2003; MCEWEN, 2008; PRUESSNER et al., 2010). Observou-se no presente estudo uma correlação positiva (limítrofe) entre o cortisol salivar mensurado 30 minutos após acordar e o índice e frequência de danos no DNA, ou seja, quanto maior o cortisol nesse momento, maior o dano. Ainda que o nível de significância encontrado no presente estudo tenha sido discretamente superior a 0,05, (ou seja, igual a 0,053), o conjunto de resultados mostra uma forte tendência a essa interpretação.

Enquanto somente as Unidades de Hemodinâmica e Radiologia foram expostas à radiação ionizante, por outro lado, o estresse estava presente em mais de 60% do grupo dentre cada Unidade estudada. O percentual de funcionárias sob estresse atingiu 73,4 % da equipe de Enfermagem e não foi detectada diferença no cortisol salivar entre as 4 Unidades de Enfermagem.

O grupo amostral pesquisado não tinha poder para discriminar diferença de cortisol salivar entre os grupos. Os valores de referência para o cortisol salivar diferem do cortisol plasmático, e também de acordo com a técnica utilizada para sua dosagem, sendo geralmente

determinados pelo laboratório que faz a mensuração (BAUM; GRUNBERG, 1997; SHIMADA, 1995). A técnica aqui utilizada foi a de quimioluminescência. De acordo com o Laboratório Reação (Palhoça, SC), o valor de referência entre 7-9h é de 0,14 a 0,73 µg/dL (equivalentes a 3,86 a 20,14 nmol/L) e entre 23-24h é de até 0,13 µg/dL (equivalente a 3,59 nmol/L). No período de coleta no HCPA, o padrão de referência informado pelo Laboratório de Patologia do HCPA foi aquele obtido com a técnica (anterior) de eletroquimioluminescência, sendo de 19,7 nmol/L para as 8h da manhã e 9,7 nmol/L para as 23h. Utilizamos como referência o cortisol salivar de 19,7 nmol/L para o período da manhã, para estimar possíveis candidatos a estarem sob a condição de estresse, sabendo entretanto que o valor utilizado não é um critério absoluto para tal. A maioria dos estudos que abordam o estresse sob o ponto de vista de cortisol salivar não utilizam um padrão de referência como ponto de corte, e sim, se apóiam na medida do cortisol para comparar grupos sob situações diferentes.

Nosso estudo mostrou, através da medida de cortisol salivar, que 73,4 % da equipe de Enfermagem está estressada. O cortisol é um glicocorticóide humano biomarcador de estresse, sendo essencial para vida, regulando as funções cardiovasculares, metabólicas, imunológicas e hematológicas (ADAM et al., 2009; FINCH et al., 2001). No campo da saúde, os biomarcadores ou marcadores biológicos são as mudanças bioquímicas, fisiológicas ou morfológicas mensuráveis, e são utilizados como indicadores de risco ou do estado de saúde dos indivíduos (RAMIRES, 2006; REPETTO; KUHN; REPETTO, 2009; LÓN-MEJÍA et al., 2011; ESPITIA-PÉREZ, 2011). Um levantamento na literatura brasileira sobre o estresse na enfermagem publicada no Brasil entre 1982 e 2001, indicou que os fatores relacionados ao estresse nos ambientes de trabalho são: sobrecarga, relações interpessoais insatisfatórias, trabalho noturno e maior tempo de serviço (COUTRIN et al., 2005; COSTA et al., 2011). Outro fator considerado como estressor é a constante exposição à angústia e ao sofrimento do paciente e o impacto dessa sobre sua condição psicológica (COSTA et al., 2011; FARIAS et al., 2011). Assim, parece haver uma relação entre o estresse e as condições de trabalho, com a equipe de Enfermagem, sendo que a excessiva padronização dos procedimentos de trabalho, atividades rotineiras e repetitivas e a baixa remuneração faz com que os profissionais desempenhem longas jornadas de trabalho, além das dificuldades nas relações interpessoais (COSTA et al., 2011; THEME FILHA et al., 2013). Algumas características da organização do trabalho na enfermagem podem

desencadear o estresse, como as jornadas de trabalho prolongadas e os ritmos acelerados de trabalho, a atitude repressora, autoritária e vertical, a fragmentação das tarefas, a ausência de reconhecimento, a inadequação da legislação em seu exercício profissional podendo ocasionar desequilíbrio mental e desgaste emocional, além de outros desgastes, como enxaqueca e distúrbios digestivos, e assim resultar em absenteísmo, incapacidade temporária ou permanente, o que compromete a qualidade da assistência aos pacientes e a qualidade de vida dos profissionais (HANZELMANN et al., 2009; MININEL et al., 2011). O conflito intragrupal é também um potencial estressor nas atividades laborais da enfermagem. Problemas nas relações interpessoais são uma das fontes de estresse com maior peso (PASCHOALINI et al., 2008; COSTA et al., 2011). Em pesquisas brasileiras, as relações interpessoais conflitantes entre os membros da equipe de trabalho estão entre as principais fontes estressoras nos profissionais de enfermagem (SIMONS et al., 2000; PASCHOALINI et al., 2008; COSTA et al., 2011). Outro estudo evidenciou que a enfermagem é a quarta profissão mais estressante do setor público (FARIAS et al., 2011). A idade parece ser também um fator relevante. Profissionais mais jovens tem maior nível de estresse no trabalho, talvez relacionado à maturidade e estratégias de enfrentamento (SHERIDAN et al., 1978; COSTA et al., 2011; SELEGHIM et al., 2012). Falta de controle e de apoio social podem também contribuir como fonte de estresse. Escores mais baixos são encontrados entre técnicos de enfermagem, enquanto enfermeiros alcançam escores mais altos, já que assumem coordenação de serviços e chefias, e portanto mais autonomia no trabalho (NEGROMONTE et al., 2011; SELEGHIM et al., 2012). Além disso, um estudo recente entre enfermeiros com pós-graduação e sem pós-graduação, mostrou percentuais maiores de estressados entre os últimos, evidenciando que a busca pelo conhecimento prepara o indivíduo para enfrentar as dificuldades laborais, atenuando o estresse (NEGESLISKII; LAUTERT, 2011). Já em outro estudo controverso, enfermeiros mostram maior intensidade dos estressores ocupacionais, em relação a auxiliares e técnicos de enfermagem, e os agentes estressores produziram efeitos cognitivos e emocionais associados (PASCHOALINI et al., 2008). É importante salientar que durante o período desse estudo, o hospital encontrava-se em processo de acreditação, e a equipe de Enfermagem mostrava-se afetada por isso.

Na nossa pesquisa, não houve correlação do estresse percebido com o cortisol salivar, bem como não houve diferença no cortisol salivar entre as quatro unidades de enfermagem que

foram estudadas. Talvez se o coeficiente alfa de Cronbach encontrado no presente estudo (de 0,601) fosse mais alto, indicando melhor confiabilidade da escala, poderia ter sido encontrada alguma correlação com o cortisol salivar. Entretanto, é importante salientar que, não se avaliou somente o estresse no trabalho, mas sim o estresse como um todo, ou seja, o estresse social, o familiar, e todas as formas de estresse. O estresse é um agravo multifatorial, caracterizado pelo desgaste do indivíduo na luta pelo sucesso e para satisfazer os ideais determinados pela sociedade e pelo trabalho (SELEGHIM et al., 2012). A coleta de cortisol propriamente dita não deve ter contribuído para o alto nível de estresse no presente estudo, já que a coleta de cortisol salivar foi realizada em casa, evitando os efeitos do estresse adicional quando comparado à coleta em hospitais ou em laboratórios, refletindo o dia-a-dia e do ambiente de trabalho (YOUNG et al., 2004) e facilitando a colaboração dos indivíduos na coleta (ALVES et al., 2010).

Os escores obtidos na escala de estresse percebido variaram de $21,8 \pm 6,97$ a $24,77 \pm 6,22$ entre os grupos estudados. Apesar da avaliação de estresse percebido não ter indicado correlação com o cortisol salivar mensurado, ainda assim, o estresse pode trazer prejuízos cognitivos que influenciam na vida pessoal e profissional do trabalhador. Segundo a avaliação de atenção e memória, quando baseadas pelo teste de Stroop e *span* de dígitos e palavras, identificou-se desempenhos melhores (Stroop_2 e 3 e *span* de dígitos) quando o cortisol estava alto ao acordar, porém piores (Stroop_2) quando o cortisol estava mais alto à noite (antes de dormir). A memória pode ficar prejudicada em decorrência da ação de glicocorticóides, como em situações de estresse (ENGELAND; ARNHOLD, 2005; YOUNG et al., 2004; VAN CAUTER et al., 1996). Um estudo que avaliou uma amostra de adultos idosos, evidenciou que efeitos cumulativos ao longo do dia podem resultar em níveis de cortisol elevados ao dormir, indicando que o indivíduo não conseguiu se recuperar do estresse do dia (ADAM et al., 2006).

A resposta do cortisol ao acordar (RCA) na Unidade de Internação Obstétrica foi diferente da obtida com a equipe do Ambulatório, indicando um padrão diferente ao esperado, ou seja, em que 30 minutos após o acordar era esperado que houvesse um aumento nos níveis de cortisol.

Os resultados da presente pesquisa indicam que o aumento do cortisol salivar ao acordar está relacionado à melhor performance no Stroop_2 e Stroop_3 bem como no *Span* de Dígitos, o

que nos leva a pensar que uma maior concentração de cortisol ao acordar prepara melhor o indivíduo para enfrentar o dia-a-dia, melhorando sua atenção e memória.

A resposta do cortisol ao acordar ou RCA é correlacionada com uma variedade de resultados de processos psicossociais e de saúde (PRUESSNER et al., 1997, 1999; CLOW et al., 2004; STEPTOE et al., 2004; ADAM et al., 2006; NATER et al., 2008). Mas a ausência ou uma RCA atípica é associada à saúde negativa. O achatamento da inclinação da curva do cortisol diurno é indicado por uma taxa mais lenta de declínio no cortisol durante o dia, e tem sido relacionada com estresse psicossocial crônico e agudo (ADAM et al., 2006), doença subclínica (MATTHEW et al., 2006) e aumento da mortalidade por câncer de mama (SEPHTON et al., 2013). Cohen et al. (2006), descobriu em seu estudo, que menor nível socioeconômico (medido pela educação e renda), raça/etnia (ser negro) foram associados a níveis mais altos de cortisol à noite, assim como o tabagismo, sintomas depressivos, apoio social fraco e sentimentos de desamparo.

Os déficits de memória de curta duração, como o de lembrar itens em uma lista de dígitos (*span* de dígitos), podem ser relacionados a danos em subcomponentes do sistema de memória de trabalho. As áreas cerebrais envolvidas com memória de trabalho são distintas daquelas envolvidas com memória de longa duração (GAZZANIGA; IVRY; MANGUN, 2006). A memória de trabalho é processada por neurônios piramidais do córtex pré-frontal, e por alguns sistemas na amígdala lateral e hipocampo (IZQUIERDO in: KAPCINSKI et al., 2011).

Estudos em humanos saudáveis mostraram que quanto maior a resposta do cortisol ao estresse, pior é o desempenho nas tarefas de memória declarativa; em animais, o estresse crônico retardou de modo significativo a aquisição da memória de referência e da memória de trabalho. Além disso, a neurogênese no giro denteado é regulada por esteróides da adrenal, podendo ser suprimida por experiências estressantes. O estresse pode também afetar o aprendizado emocional, já que o giro denteado tem conexões com a amígdala, estrutura importante na memória aversiva. O declínio nas funções cognitivas relacionadas ao hipocampo, como a memória espacial e a memória episódica, pode ser correlacionado com aumento da atividade do eixo HHA por 3 a 4 anos. Indivíduos com maior declínio também apresentam maior redução no volume hipocampal, semelhante ao observado em idosos (KAPCZINSKI et al., 2011).

O sistema nervoso central é suscetível a danos gerados pelas espécies reativas de oxigênio e pode estar sujeito ao estresse oxidativo. Radicais livres podem ser gerados em decorrência da interação da radiação ionizante com a molécula de água. Células menos especializadas e com alta taxa de mitose, como as células precursoras, são muito sensíveis às radiações ionizantes. Esse fato constitui um motivo pelo qual as células envolvidas em neurogênese, localizadas na região subventricular e giro do hipocampo sejam vulneráveis à radiação ionizante. Dependendo do dano, pode ser esperada uma alteração na função desempenhada por essas estruturas, entre elas o prejuízo na memória, como já observado após a radioterapia de cabeça (BARANI; BENEDICT; LIN, 2007). No presente estudo, os resultados do Stroop_1 e 2 foram piores quando houve aumento de micronúcleos, e o resultado do Stroop_3 foi pior quando havia maior frequência de dano no DNA, indicados pelas correlações negativas entre essas variáveis. O aumento da frequência de micronúcleos pode sugerir que um pior desempenho no Stroop_1 tenha sido desencadeado por fatores de longo prazo, enquanto que o aumento de dano no DNA pelo teste cometa pode sugerir uma interferência de curto prazo sobre o desempenho no Stroop_3.

Apesar de não se ter avaliado a atuação da equipe de Enfermagem, convém lembrar que a atenção e memória são requisitos básicos para o cuidado de enfermagem, fazendo-se necessária para a redução de erros ao administrar medicamentos, reduzir o risco de acidentes, etc.

Dentre as correlações significativas encontradas, verificou-se não somente correlações positivas entre escolaridade e desempenho cognitivo nos testes de Stroop e *span* de dígitos, mas também correlações negativas entre escolaridade e frequência de micronúcleos. Ou seja, quanto menor a escolaridade, maior o número de micronúcleos. Essa relação pode sugerir algumas interpretações. A função exercida por uma determinada categoria profissional pode ser inerente à maior exposição a riscos. A equipe de Enfermagem é composta por enfermeiros (nível superior), técnicos de enfermagem (nível médio) e auxiliares de enfermagem (nível médio). A proximidade física e o tempo dedicado à assistência prestados pelos auxiliares e técnicos de enfermagem são geralmente maiores do que pelos enfermeiros. Tanto a distância quanto o tempo de exposição são fatores importantes de radioproteção. Devido ao menor número de enfermeiros (14, sendo 7 expostos à radiação) comparado ao de técnicos (29, sendo 15 expostos à radiação) e auxiliares

(36, sendo 16 expostos à radiação) de enfermagem, não seria aconselhável estatisticamente estratificar esses grupos quanto à categoria profissional além da unidade de trabalho. Outra possibilidade de interpretação é de que o melhor desempenho cognitivo pelo maior nível de escolaridade pode propiciar uma condição de maior consciência dos riscos envolvidos no trabalho, incluindo maior atenção às atitudes de radioproteção, como uso adequado de blindagem, distância das emissões e menor tempo de exposição, acarretando portanto menor frequência de micronúcleos. Entretanto, a relação pode ser mais complexa, onde a escolaridade mais baixa pode fazer parte de um quadro de condições mais desfavoráveis, entre elas, salários baixos, jornadas de trabalho concomitantes em outros empregos, exposição a outros fatores de risco que possam causar dano. Esse dano poderia promover um pior desempenho cognitivo, que perpetuaria a exposição a riscos e a mais dano.

Porém, há controvérsias sobre os danos provocados pela radiação ionizante, Gori e Munzel (2012), apresentam dados que podem confirmar a hipótese de que doses baixas de radiação induzem a um fenótipo protetor para seres humanos. Hormese na radiação é considerada por alguns como uma resposta celular adaptativa na exposição crônica à radiação, como foi visto em estudo com cardiologistas intervencionistas. Esse mesmo grupo de pesquisadores evidenciou que a exposição profissional a baixas doses de radiação, em cardiologistas intervencionistas, está associada a um aumento da biodisponibilidade de glutathione reduzida em eritrócitos e uma capacidade antioxidante total intacta, apesar do aumento do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no plasma - um marcador de estresse oxidativo (RUSSO et al., 2012; GORI; MUNZEL, 2012). Porém, as concentrações de superóxido dismutase (SOD – eliminador de radical superóxido) eram reduzidas em intervencionistas. O resultado é que a biodisponibilidade de ERO não foi diferente entre os grupos. Autores, também mostram um aumento de apoptose (que elimina as células danificadas), em resposta à radiação (RUSSO et al., 2012; GORI; MUNZEL, 2012). Os dados são importantes, pois podem confirmar o conceito de que doses baixas de radiação conferem proteção. A expressão “hormese da radiação” refere-se à hipótese de que radiação ionizante, em baixas doses pode produzir efeitos benéficos, estimulando a ativação de mecanismos de reparo, e podem proteger contra doenças (GORI; MUNZEL, 2012), bem como a estimulação imunitária (FEINENDEGEN, 2005). Por outro lado, há sugestão de que a hormese deva ser distinguida de respostas adaptativas, e refere-se a uma resposta reduzida a uma segunda

dose de radiação quando as células têm sido expostas com uma dose inicial de radiação. Diminuição da resposta pode se dar na forma de reparação do DNA, na frequência de transformação, ou na letalidade celular. Para uma visão geral, consultar a conferência internacional sobre o tema publicado em Saúde Física e relatado pelo Comité Científico das Nações Unidas sobre Efeitos da Radiação Atômica (UNSCEAR - United Nations Scientific Committee on Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR, 1994) e VII Comitê de Efeitos Biológicos das Radiações Ionizantes (BEIR - Biological Effects of Ionizing Radiations) (BEIR VII, 2006). O relatório BEIR VII indicou que, com base em informações atuais, o pressuposto é injustificável que quaisquer efeitos estimulantes de baixas doses de radiação ionizante possam reduzir substancialmente os efeitos da radiação prejudicial a longo prazo em humanos (MATTLER, 2008).

A exposição ocupacional à radiação de trabalhadores tem sido vastamente estudada, e muitos estudos mostram os problemas de saúde encontrados devido a baixas doses de exposição, porém existem vários outros fatores que podem contribuir, como por exemplo, fumo, álcool, sedentarismo, estilo de vida, entre outros.

Por outro lado, convém lembrar que um baixo dano encontrado em DNA de linfócitos não garante que não tenha havido danos maiores em outros tecidos, mais radiosensíveis, como seria possivelmente o caso do hipocampo e da medula óssea (dados não publicados Consiglio et al., em ratos). Tais amostras biológicas não seriam adequadas para estudos em humanos.

Características demográficas como estado civil e número de filhos não contribuíram para discriminar quanto à diferença em estresse nessa amostra estudada.

Fatores Confundidores e/ou Agravantes:

O estresse estimula o eixo HPA, que aumenta a secreção de cortisol (SAPOLSKY, 2000). O estresse agudo é importante para enfrentar o dia-a-dia, porém, quando o estímulo (estresse) é crônico pode levar a doenças como: síndrome metabólica (BREMNER, 2002; BELMAKER;

AGAN, 2008), riscos para doenças cardiovasculares (SMITH et al., 2005), depressão (HAWKEN et al., 2006; BELMAKER; AGAM, 2008) e redução cognitiva (SEEMAN et al., 1997).

Uma das dificuldades em se trabalhar com seres humanos está em formar um grupo controle ideal. A maioria apresenta alguma condição mórbida e/ou faz uso de medicamentos. Tanto o medicamento pode estar afetando a liberação de cortisol, quanto a doença crônica (hipertensão, dor, fibromialgia, depressão, transtorno bipolar, hiper/hipotireoidismo) pode desencadear estresse e conseqüentemente aumentar a liberação de cortisol. Ou ainda, o estresse poderia ser o agente desencadeador das doenças crônicas. Da forma como os dados se apresentam não dá para discernir o agente causador, apenas que eles aparecem de forma concomitante.

Neste contexto, um estudo com homens, segundo Hawken et al. (2006), utilizando antidepressivo em uma dose de citalopram 40 mg (antidepressivo - inibe seletivamente a recaptação de serotonina-ISRS), resultou num aumento das concentrações de cortisol no plasma. Uma análise sobre enfermeiros que utilizam medicamentos para dormir, mostrou que os níveis de estresse estão elevados e comprometem a qualidade do sono (ROCHA; MARTINO, 2009). O estresse tem uma significativa relação com a depressão e estão presentes na equipe de enfermagem, nos profissionais menos experientes e casados, segundo estudos em um hospital. A preocupação é no sentido de que os enfermeiros mostram intenção de abandonar a profissão (CHIANG; CHANG, 2012). O estresse psicológico provoca aumento na atividade simpática, acompanhado por uma resposta cardiovascular. O estresse psicológico é considerado um componente de risco cardiovascular (FONTES et al., 2011). Respostas neuroendócrinas relacionadas ao estresse estão associadas ao aumento da ativação imune e menor sensibilidade aos glicocorticóides no transtorno bipolar (WIECK et al., 2013). Lupien, em seu estudo, revelou que os participantes tinham aumento dos níveis de cortisol combinados com maiores níveis de deficiência de memória e aumentos de triglicérides (LUPIEN et al., 1998; ADAM et al., 2009). O hipertireoidismo devido à doença de Graves é de origem auto-imune. A doença ainda é pouco compreendida. Numerosos estudos populacionais mostram que os fatores genéticos têm um papel principal, mas o ambiente e qualquer tipo de estresse também podem contribuir para o aparecimento da doença (CONTE-DEVOLX; VIALETES, 2013). Existe uma correlação entre

o câncer de pulmão e tratamento com o hormônio tiroxina (T4), e o estresse oxidativo causado por suplementação com T4 pode ser uma das causas (CORNELLI et al., 2013). O hipertireoidismo causa dano estrutural e funcional para a mitocôndria, que conduz à depleção de energia e à disfunção cardíaca (MAITY et al., 2013). Há evidências significativas de que o estresse oxidativo tecidual esteja correlacionado em algumas disfunções produzidas por hipertireoidismo (VENDITTI et al., 2011). O papel de fator psicossocial em diferentes estágios de desordens temporomandibulares (DTM) tem sido estudado, e muitos sugerem que a depressão, sintomas físicos não-específicos (somatização) e estresse desempenham um papel na predisposição, iniciação e perpetuação da DTM (LAJNERT et al., 2010; ANDRADE et al., 2008). Pesquisas demonstram que existe um elevado grau de comorbidade entre DTM e depressão. E, dentre os sintomas da DTM, aqueles relacionados à dor tem as relações mais significativas para o taxa de depressão (NILSSON; DAHLSTROM, 2010). Além disso, o nível de estresse percebido elevado está correlacionado com elevado nível de cortisol (VAN ECK et al., 1996; MALARKEY., 1995). De fato, um estudo relatou que poderia haver dois subgrupos de pacientes com DTM, que respondem com o aumento da liberação de cortisol em resposta ao estresse e outro que mostram uma resposta disfuncional do cortisol (JONES et al., 1997; JASIM, 2014). O estudo de Nilsson e colaboradores com metoprolol (beta bloqueador - 1 - seletivo) e propranolol (não seletivo), foram usadas no tratamento de pacientes com hipertireoidismo. A resposta do hormônio da hipófise ao estresse, a hipoglicemia induzida por insulina, foram investigadas antes e durante o bloqueio beta- adrenérgicos. A conclusão foi que o tratamento com beta bloqueadores em pacientes com hipertireoidismo não tem influência clinicamente importante na liberação de hormônios do estresse durante a hipoglicemia (NILSSON et al., 1980).

O cortisol estimula a formação de glicose (gliconeogênese) e a quebra de moléculas armazenadoras de energia (gorduras, proteínas, hidratos, etc), promove a resposta simpática ao estresse, diminui a inflamação e a função imune, bem como acelera a secreção de ácido gástrico. Valores elevados podem ocorrer em: adenoma adrenal, queimaduras, Síndrome de Cushing, eclampsia, tumores produtores de ACTH, exercício físico, hiperpituitarismo, hipertensão,

hipertireoidismo, doenças infecciosas, obesidade, gravidez, estresse, drogas: anfetaminas, estrógenos, álcool etílico, carbonato de lítio, metadona, nicotina, contraceptivos orais, glicocorticóides sintéticos (prednisona, prednisolona), entre outros.

O colesterol não só é precursor dos hormônios esteróides gonadais como também do cortisol. Assim, indivíduos com aumento de colesterol plasmático e/ou em tratamento para a redução do colesterol, podem apresentar alterações nos níveis salivares de cortisol.

Maina (2012) evidenciou que fumantes foram associados a maior secreção de cortisol ao despertar. Também indicou que níveis mais elevados de cortisol ao despertar previram maior secreção total de cortisol e elevando-se pós-acordar, e mais íngreme declínio cortisol durante o dia. Também apontou indivíduos com nível superior apresentando maiores níveis de cortisol salivar ao acordar. No presente estudo, o tabagismo poderia ter contribuído como uma variável de confusão, entretanto, a maioria (95%) das mulheres avaliadas não era fumante.

As variáveis que envolviam avaliação de dano e desempenho cognitivo não foram diferentes entre os grupos que consumiam ou não álcool. Vale lembrar que as informações aqui obtidas sobre o consumo de álcool era de que bebiam socialmente, em festas, e eventualmente no final de semana. A maioria da amostra estudada (65%) não consumia álcool. Não foram observadas diferenças entre as variáveis estudadas devido à participação dos sujeitos em atividades físicas. A atividade física poderia ter tido uma ação protetora ou não. Estudo em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), mostra que o exercício físico leva à diminuição significativa da peroxidação lipídica no plasma, diminuição da susceptibilidade à mutágeno exógeno, e uma melhor eficiência na reparação do dano no DNA. Ou seja, a formação de ERO durante o exercício gera adaptações, tais como, o aumento da capacidade antioxidante / reparo do dano causado por estresse oxidativo, realizado pela atividade enzimática, há aumento da resistência ao estresse oxidativo, e níveis mais baixos de danos oxidativos, e também, o DNA danificado pode ser eliminado por apoptose (SILVA et al., 2013). Por outro lado, o exercício físico excessivo pode ser associado ao estresse oxidativo, ocasionando dano no DNA, que pode ser detectado pelo ensaio cometa e peroxidação lipídica. Entretanto, não existem evidências de

aumento na frequência de aberrações cromossômicas ou micronúcleos (PALAZZO; MALUF, 2011).

Outro fator que pode interferir nos resultados é a dieta alimentar (STARCEVIC et al.; FENECH et al., 2003) onde danos ao genoma são reconhecidos como uma causa fundamental de doenças do desenvolvimento e degenerativas. Vários micronutrientes desempenham um papel importante na proteção contra danos ao DNA gerados através de fatores endógenos e exógenos, agindo como cofatores ou substratos para enzimas que desintoxicam genotoxinas bem como enzimas envolvidas no reparo do DNA, a metilação e síntese. Qualquer deficiência ou excesso de micronutrientes pode alterar a estabilidade do genoma, e esses efeitos também podem depender da interação dos nutrientes e micronutrientes com o gene (FENECH, 2010). Valores de referência alimentares são destinados a fornecer um guia para a ingestão adequada de nutrientes para a prevenção de doenças causadas pela deficiência (por exemplo, escorbuto, no caso da vitamina C) ou excesso (por exemplo, doença de sobrecarga de ferro, o que pode ser fatal (FENECH, 2010).

Preliminarmente, doenças crônicas em funcionários podem ser sugestivas de que os mesmos apresentem cortisol elevado, seja como causa, consequência, ou pelo uso de medicamento, embora no presente estudo não tenha sido feita uma análise estatística das probabilidades, pois a heterogeneidade dos casos impedia a formação de grupos com número de amostra suficiente.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A proposta inicial do presente estudo era avaliar danos biológicos decorrentes da exposição ocupacional às radiações ionizantes pela equipe de Enfermagem. Prevendo-se que o estresse poderia contribuir para potencializar o dano, comparou-se o grupo exposto com o não exposto às radiações ionizantes, com avaliação adicional do nível de estresse.

7.1 Principais resultados

A seguir, os principais resultados desse estudo:

1. O presente estudo não identificou aumento de dano de DNA em sangue periférico em mulheres da equipe de Enfermagem expostas ocupacionalmente às radiações ionizantes para fins diagnósticos quando comparadas àquelas que trabalham em outras unidades sem exposição à radiação ionizante.
2. Não foi identificada correlação significativa entre o índice de dano no DNA de linfócitos ou frequência de micronúcleos com as doses de radiação registradas nos dosímetros nos meses 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 anteriores à coleta de sangue, nem com a dose total no último ano, e nem com os anos de trabalho envolvendo radiações ionizantes.
3. Houve uma correlação positiva e significativa entre a dose de radiação recebida no último ano e o escore no *Span* de dígitos.
4. O percentual de funcionárias sob estresse atingiu 73,4% da equipe de Enfermagem.
5. Não houve correlação entre o estresse percebido e o cortisol salivar.

6. O aumento do cortisol salivar ao acordar (e não 30 minutos após acordar) foi associado com melhor desempenho no Stroop_2 e Stroop_3 bem como no *Span* de Dígitos, o que nos leva a pensar que uma maior concentração de cortisol ao acordar prepara melhor o indivíduo para enfrentar o dia-a-dia, melhorando sua atenção e memória.
7. Observou-se uma correlação positiva (limítrofe) entre o cortisol salivar mensurado 30 minutos após acordar e o índice e frequência de danos no DNA, ou seja, quanto maior o cortisol nesse momento, maior o dano.
8. O escore obtido em Stroop_1 correlacionou-se significativa e negativamente com a frequência de micronúcleos em linfócitos.

7.2 Conclusões

A exposição ocupacional à radiação ionizante, dentro dos limites de dose da legislação vigente, não aumentou o dano no DNA de linfócitos na amostra estudada da equipe de Enfermagem do HCPA. A ausência de identificação de aumento de dano no grupo exposto à radiação é uma vantagem, e pode indicar uma atitude de radioproteção adequada pelas equipes estudadas. Deve-se ter cautela com esse achado, entretanto, já que outros tecidos radiosensíveis não foram avaliados pela dificuldade inerente a estudos com seres humanos.

Por outro lado, as correlações entre aumento de estresse, redução da cognição e aumento de dano no DNA, alertam para a necessidade de uma maior preocupação com a saúde na equipe de Enfermagem, que apresentou um percentual de estresse de 73,4%. Sucintamente, o presente estudo indicou correlações importantes entre danos biológicos e estresse de forma mais relevante do que entre as baixas doses de exposição à radiação ionizante e os danos no DNA e frequência de micronúcleos em linfócitos.

Os resultados obtidos no presente estudo permitem sugerir que algumas medidas de danos biológicos potencialmente úteis para avaliação de dano por exposição à radiação ionizante

correlacionam-se também com fatores relacionados ao estresse, e portanto, em algumas circunstâncias, pode ser difícil determinar a origem do dano.

7.3 Implicações

A técnica utilizada para avaliar o dano provocado pela radiação ionizante, nesse e em vários outros estudos, foi o ensaio cometa e o teste de micronúcleos. Entretanto, considerando que o estresse na equipe de Enfermagem tem sido alto, e que o estresse pode também contribuir para o dano, sugere-se a necessidade de avaliação concomitante de estresse quando o interesse for mensurar dano pela radiação em baixas doses, como é o caso de vários profissionais de saúde em situação ocupacional.

Enquanto que a legislação voltada para a radioproteção está bem estabelecida e inclui limites de exposição, menos clara é a legislação com foco na proteção, identificação de biomarcadores, e apoio ao trabalhador sob estresse.

Considerando-se que o estresse é um fator de risco à saúde, o alto índice de estresse na equipe de Enfermagem, a importância da atenção e memória no cuidado ao paciente e como elas podem ser afetadas pelo estresse, e em atenção à equipe de saúde e ao paciente que ela atende, propõe-se que haja uma preocupação maior em termos de política de saúde do trabalhador no que concerne ao estresse, assim como já existe para a radioproteção.

8 APOIO FINANCEIRO

Este projeto obteve apoio financeiro (R\$ 8.240,00) do FIPE/HCPA, e do Projeto Radioanálise do Departamento de Biofísica/UFRGS (R\$ 5.014,00), sob nº 3504-1/FAURGS.

REFERÊNCIAS

- ADAM, E.K.; KUMARI, M. Assessing salivary cortisol in large-scale, epidemiological research. **Psychoneuroendocrinology**, Oxford, v. 34, p.1423-1436, 2009.
- ADAM E.K. et al. Day-to-day dynamics of experience-cortisol associations in a population-based sample of older adults. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, D.C., v. 103, n. 45, p. 17058-17063, 2006.
- ALBERTINI, R.J. et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans: international programme on chemical safety. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 463, no. 2, p. 111-172, 2000.
- ALMEIDA, D.M.; MCGONAGLE, K.; KING, H. Combining stressor exposure and salivary cortisol. **Biodemography and Social Biology**, Syracuse, v. 55, no.2, p. 219-237, 2009.
- ALONSO, T.C. **Investigação das doses ocupacionais da equipe médica em procedimentos hemodinâmicos**. Belo Horizonte, 2005. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Técnicas Nucleares) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005. Disponível em: <http://servicos.capes.gov.br/Prod_Bib.pdf>. Acesso em: 20 agosto 2012.
- ALVES, M.; NEVES, C.; MEDINA, J.L. Diagnóstico Laboratorial de Síndrome de Cushing. **Acta Médica Portuguesa**, Lisboa, v. 23, p. 63-76, 2010.
- ANDERSEN, S.L.; TEICHER, M.H. Delayed effects of early stress on hippocampal development. **Neuropsychopharmacology**, London, v. 29, p. 1988-1993, 2004.
- ANDRADE A.S. et al. Salivary cortisol levels in young adults with temporomandibular disorders. **Minerva Stomatologica**, Turin, v. 57, n. 3, p. 109-16, Mar. 2008.
- ANDREAZZA, A.C. et al. Effects of mood stabilizers on DNA damage in an animal model of mania. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, Ottawa, v. 33, no. 6, p.516-524, 2008.
- ANDRES-MACH, M.; ROLA, R.; FIKE, J.R. Radiation effects on neural precursor cells in the dentate gyrus. **Cell and Tissue Research**, Berlin, v. 231, no.1, p. 251-262, 2008.
- BARANI I.J., BENEDICT S.H., LIN P.S. Neural stem cells: implications for the conventional radiotherapy of central nervous system malignancies. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, Terrytown, v. 68. no. 2. p. 324-33, 2007.

BAUM, A.; GRUNBERG, N. Measurement of stress hormones. In: COHEN, S.; KESSLER, R.C.; GORDON, L.U. **Measuring stress: a guide for health and social scientists**. New York: Oxford University Press, p.175-92, 1997.

BELMAKER, R.H.; AGAM, G. Major depressive disorder. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 358, no. 1, 55-68, Jan. 2008.

BERGONIÉ, J.; TRIBONDEAU, L. Interpretation of some results from radiotherapy and an attempt to determine a rational treatment technique. **Yale Journal of Biology and Medicine**, New Haven, v.76, p.181-2, 2003.

BOURAOUI, S. et al. A cytogenetic approach to the effects of low levels of ionizing radiation (IR) on the exposed tunisian hospital workers. **International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health**, Shiraz, v. 26, no. 1, p. 144-154, 2013.

BOOTH, R.E.; JOHNSON, J.P.; STOCKHAND, J.D. Aldosterone. **Advances in Physiology Education**, Bethesda, v. 26, p. 8-20, 2002.

BOYACI, B. et al. Evaluation of DNA in lymphocytes of cardiologists exposed to radiation during cardiac catheterization by the cometa assay. **Japanese Heart Journal**, Tokyo, v. 45, p. 845-853, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n°. 453 de 1° de junho de 1998. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas de proteção radiológica em radiodiagnóstico médico e odontológico, dispõe sobre uso de raios-x diagnósticos em todo território nacional e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, v. 136, n. 103-E, p. 7-16, 2 jun. 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n° 196, de 10 de outubro de 1996. Dispõe sobre as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, v. 134, n. 201, p. 21081-21085, 16 out. 1996.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. Comissão Nacional de Energia Nuclear. Resolução n° 27/2005. Aprova a revisão da Norma CNEN NN-3.01 – Diretrizes Básicas de Proteção Radiológicas. **Diário Oficial da União [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, v. 142, n. 4, p. 10-13, 6 jan. 2005.

BREMNER, J.D. Functional neuroanatomical correlates of traumatic stress revisited 7 years later, this time with data. **Psychopharmacology Bulletin**, New York, v. 37, no. 2, p. 6-25, 2002.

BRENDLER-SCHWAAB, S. et al. The in vivo comet assay: use and status in genotoxicity testing. **Mutagenesis**, Swansea, v. 20, no 4, p. 245-254, 2005.

BRENNER, D.J. et al. Cancer risks attributable to low doses of ionizing radiation: assessing what we really know, **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, D.C, v. 100 p. 13761-13766, 2003.

CACERES, L.G. et al. Hippocampal-related memory deficits and histological damage induced by neonatal ionizing radiation exposure: role of oxidative status. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1312, p. 67-78, 2010.

CALEGARO, J.U.M.; TEIXEIRA, S.M.P. Occupational exposure of nursing staff working with radioiodine therapy during 11 years. **Radiologia Brasileira**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 263-266, jul./ago. 2007.

CARDONA, F. Periodic dip of lipidperoxidation in humans: a redox signal to synchronize peripheral circadian clocks? **Medical Hypotheses**, New York, v. 63, p. 841-846, 2004.

CAREGNATO, R.C.A.; LAUTERT L. Estresse da equipe multiprofissional na sala de cirurgia. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v. 58, n. 5, p. 545-550, 2005.

CASTELAO, J.E.; GAGO-DOMINGUEZ, M. Risk factors for cardiovascular disease in women: Relationship to lipid peroxidation and oxidative stress. **Medical Hypotheses**, New York, v. 71, p. 39-44, 2008.

CASTRO, M.; MOREIRA, A.C. Análise crítica do cortisol salivar na avaliação do eixo hipotálamo hipófise-adrenal. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 47, n. 4, p. 358-367, 2003.

CENTRE FOR STUDIES ON HUMAN STRESS. **How to measure stress in humans**. Quebec: Fernand-Seguin Research Centre of Louis-H. Lafontaine Hospital, 2007. Disponível em: <http://www.humanstress.ca/documents/pdf/Mesures%20physiologiques/CESH_howMeasureStress-MB.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2013.

CHIANG, YM; CHANG, Y. Stress, depression, and intention to leave among nurses in different medical units: implications for healthcare management/nursing practice. **Health Policy**, Limerick, v. 108, no. 2-3, p. 149-157, 2012.

CLOW, A. et al. The awakening cortisol response: methodological issues and significance. **Stress**, London, v. 7, p. 29-37, 2004.

COHEN, S. Socioeconomic status, race, and diurnal cortisol decline in the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. **Psychosomatic Medicine**, Hagerstown, v. 68, no. 1, p. 41-50, 2006.

COHEN, S.; KAMARCK, T.; MERMELSTEIN, R. A global measure of perceived stress. **Journal of Health and Social Behavior**, Thousand Oaks, v. 24, no. 4, p. 385-96, 1983.

COLLINS, A.R. The cometa assay for DNA damage and repair: principles, applications and limitations. **Molecular Biotechnolology**, Totowa, v. 26, p. 249-261, 2004.

COLLINS, A.R. et.al. The comet assay: topical issues. **Mutagenesis**, Swansea, v. 23, no. 3, p. 143-151, 2008.

CONSELHO FEDERAL DE ENFERMAGEM. **Resolução nº 211, de 01 de junho de 1998**. Dispõe sobre as a atuação dos profissionais de Enfermagem que trabalham com radiação ionizante. Rio de Janeiro: COFEn; 2004. Disponível em: <<http://www.portalfcofen.com.br>> Acesso em: 20 maio 2012.

CONSIGLIO, A.R. et al. DNA brain damage alter stress in rats **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, Oxford, v. 34, no. 4, p. 652-656, 2010.

CONTE-DEVOLX, B.; VIALETTES, B. Can stress induce dysimmune dysthyroidism? **Annales d'Endocrinologie**, Paris, v. 74, n. 5-6, p. 483-486, Dec. 2013.

CORNELLI, U. et al. Levothyroxine and lung cancer in females: the importance of oxidative stress. **Reproductive Biology and Endocrinology**, London, v. 11, p. 75. Aug. 2013.

COSTA, D.T.; MARTINS, M.C.F. Estresse em profissionais de enfermagem: impacto do conflito no grupo e do poder do médico. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 45, n. 5, p. 1191-1198, 2011.

COUTRIN, R.M.G.; FREUA, P.R.; GUIMARÃES, C.M. Estresse em enfermagem: uma análise do conhecimento produzido na literatura brasileira no período de 1982 a 2001. **Texto & Contexto Enfermagem**, Florianópolis, v. 12, n. 4, p.486-494, 2005.

DAS, S.K.; VASUDEVAN, D.M. Alcohol-induced oxidative stress. **Life Science**, Amsterdam, v. 81, no. 3, p. 177-187, 2007.

DICKERSON, S.S.; KEMENY, M.E. Acute stressors and cortisol responses: a theoretical integration and synthesis of laboratory research. **Psychological Bulletin**, Washington, D.C., v. 130, p. 355-391, 2004.

DOETSCH, F. et al. A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. **Cell**, Cambridge, v. 97, p. 703-716, 1999.

DURÁN, A. et al. Proteção radiológica na cardiologia intervencionista. In: SOUSA, Amanda G. M. R. et al. **Intervenções cardiovasculares: SOLACI**. São Paulo: Atheneu, 2009.

ENGELAND, W.C.; ARNHOLD, M.M. Neural circuitry in the regulation of adrenal corticosterone rhythmicity. **Endocrine**, Totowa, v. 28, p. 325-332, 2005.

ERIKSSON, O.S. et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. **Nature Medicine**, New York, v. 4, no. 11, p. 1313-1317, 1998.

ESPITIA-PÉREZ, L. **Influência de polimorfismos em genes de metabolismo de xenobióticos e reparação de dano no DNA no risco ocupacional de mineiros de carvão a céu aberto.** 2011. 126 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011.

FAIRBAIRN, D.W.; OLIVE, P.L.; O'NEILL, K.L. The comet assay: a comprehensive review. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 339, no. 1, p. 37-59, 1995.

FARIAS, S.M.C. et al. Caracterização dos sintomas físicos de estresse na equipe de pronto atendimento. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 722-729, 2011.

FEINENDEGEN, L.E. Evidence for beneficial low level radiation effects and radiation hormesis. **The British Journal of Radiology**, London, v.78, no. 925, p. 3-7, 2005.

FENECH, M. The Genome health clinic and genome health nutrigenomics concepts: diagnosis and nutritional treatment of genome and epigenome damage on an individual basis. **Mutagenesis**, Swansea, v. 20, no. 4, p. 255-269, July 2005.

FENECH, M.; MORLEY, A.A. Measurement of micronuclei in lymphocytes. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 147, no. 1-2, p. 29-36, 1985.

FENECH, M. et al. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 534, no. 1-2, p. 65-75, 2003.

_____. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis**, Swansea, v. 26, n0. 1, p. 125-132, 2011.

_____. A more com-prehensive application of the micronucleus technique for biomonitoring of genetic damage rates in human populations-experiences from the Chernobyl catastrophe. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, New York, v. 30, no. 2, p. 112–118, 1997.

_____. Dietary reference values of individual micronutrients and nutriomes for genome damage prevention: current status and a road map to the future. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 91, Suppl, p. 1438S–1454S, 2010.

_____. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**, London, v. 2, no. 5, p. 1084-1104, 2007.

FERNANDES, H.M. Radioatividade natural: tecnologia humana aumenta risco de exposição. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 28, n.166, p. 36-42, 2000.

FINCH, C.E.; VAUPEL, J.; KINSELLA, K. (Eds.) **Cells and surveys: should biological measures be included in social science research?** Washington, National Academies Press. 2001.

FLÔR, R.C. **Exposição ocupacional à radiação ionizante em ambiente hospitalar.** 2005. 100p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

_____. **O trabalho da enfermagem em hemodinâmica e o desgaste dos trabalhadores decorrente da exposição à radiação ionizante.** 2010. 231 f. Tese (Doutorado em Enfermagem)- Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

FLÔR, R. C.; KIRCHHOF, A. L. C. Radiação ionizante e o cumprimento da resolução COFEn. **Revista Enfermagem UERJ**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 3, p. 347-353, 2005.

_____. Uma prática educativa de sensibilização quanto à exposição à radiação ionizante com profissionais de saúde. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v. 59, n. 3, p. 274-278, jun. 2006.

FONTES, M.A. et al. The dorsomedial hypothalamus and the central pathways involved in the cardiovascular response to emotional stress. **Neuroscience**, [New York?], v. 184, p. 64-74, 2011.

GARCIA, E.A.C. **Biofísica.** São Paulo: Sarvier, 1997. v. 1.

GATTI, R. Cortisol assays diagnostic laboratory procedures in human biological fluids. **Clinical Biochemistry**, Tarrytown, v. 42, no. 12, p. 1205-1217, 2009.

GAZZANIGA, M.S.; IVRY, R.B.; MANGUN, G.R. **Neurociência cognitiva: a biologia da mente.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental.** 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009.

GORI, T.; MUNZEL, T. Biological effects of low-dose radiation: of harm and hormesis. **European Heart Journal**, London, v. 33, no. 3, p. 292-295, 2012.

GOULD, E. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. **Journal of Neuroscience**, Washington, v. 17, no. 7, p. 2402-2408, 1997.

GURAJ-VRHOVAC, V.; KOPJAR, N. The alkaline Comet assay as biomarker in assessment of DNA damage in medical personnel occupationally exposed to ionizing radiation. **Mutagenesis**, Swansea, v. 18, no. 3, p. 265-271, 2003.

HAGMAR, L. et al. Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: result from Nordic and Italian cohorts. **Cancer Research**, Baltimore, v. 64, no. 6, p. 2258-2263, 2004.

HALL, E.J. **Radiobiology for the radiologist**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 35, p. 1147-1150, 2007.

HANZELMANN, R.S.; PASSOS, J.P. Imagens e representações da enfermagem acerca do stress e sua influência na atividade laboral. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 694-701, 2009.

HARRIS, A. et al. Cortisol, reaction time test and health among offshore shift workers. **Psychoneuroendocrinology**, Oxford, v. 35, no. 9, p. 1339-1347, 2010.

HAWKEN, E.R. et al. Effects of oral racemic citalopram on neuroendocrine responses. **Progress in Neuropsychopharmacol & Biological Psychiatry**, Oxford, v. 30, no. 4, p. 694-700, 2006.

HAYASHI, M. Oxidative stress in developmental brain disorders. **Neuropathology**, Melbourne, v. 29, no. 1, p. 1-8, 2009.

HENRIQUES, J.A.P. et al. Espécies reativas de oxigênio e avaliação de antioxidantes em sistemas biológicos. In: SERAFINI, L.A.; BARROS, N.; AZEVEDO, J.L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Editora Agropecuária, 2001.

HERMAN, J.P. et al. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary adrenocortical axis. **Progress in Neuropsychopharmacol & Biological Psychiatry**, Oxford, v. 29, no. 8, p. 1201-1213, 2005.

HULLEY, S.B. et al. **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

IARMACOVALI, G. et al. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of cancer patients: A meta-analysis. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 659, p. 274-283, 2008.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Effects of ionizing radiation on plants and animals at levels implied current radiation protection standards**. Vienna: IAEA, 1992. (Technical Report Series, 332).

ISHIGUCHI, T. Radiation protection for patient and operator in interventional radiology. **Nippon Acta Radiologica**, Tokyo, v. 62, no. 7, p. 356-361, jun. 2002.

JASIM, H. Salivary cortisol and psychological factors in women with chronic and acute orofacial pain. **Journal of Oral Rehabilitation**, Oxford, v. 41, no. 2, p. 122-132, Feb. 2014.

JONES, D.A.; ROLLMAN, G.B.; BROOKE, R.I. The cortisol response to psychological stress in temporomandibular dysfunction. **Pain**, Amsterdam, v.72, no. 1-2, p.171-182, 1997.

KAPCZINSKI, F. et al. **Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos**: uma abordagem translacional. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

KHALIL, M.M. **Basic sciences of nuclear medicine**. Berlin: Springer, 2011.

KIRSCHBAUM, C.; PIRKE, K.M.; HELLHAMMER, D.H. The trier social stress test- a tool for investigating psychobiological stress responses in a laboratory setting. **Neuropsychobiology**, Basel, v. 28, no. 1-2, p. 76-81, 1993.

KUDIELKA, B.M.; WÜST, S. Human models in acute and chronic stress: Assessing determinants of individual hypothalamus-pituitary-adrenal axis activity and reactivity. **Stress**, London, v. 13, no. 1, p. 1-14, 2010.

LAJNERT, V. et al. Depression, somatization and anxiety in female patients with temporomandibular disorders (TMD). **Collegium Antropologicum**, Zagreb, v. 34, no. 4, p. 1415-1419, Dec. 2010.

LIAO, W.; MCNUTT, M.A.; ZHU, W.G. The comet assay: a sensitive method for detecting DNA damage in individual cells. **Methods**, Duluth, v. 48, no. 1, p. 46-53, May 2009.

LÓN-MEJÍA, G. et al. Assessment of DNA damage in open-cast minero workers using the cytokinesis-blocked micronucleus test and the comet assay. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 409, no. 4, p. 686-691, 2011.

LUFT, C.D.B. et al. Versão brasileira da Escala de Estresse Percebido: tradução e validação para idosos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 606-615, 2007.

LUPIEN, S.J. et al. Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. **Nature Neuroscience**, New York, v.1, no. 1, p. 69-73, 1998.

LUZ, E. S. et al. A importância do controle de qualidade em serviços de hemodinâmica e cardiologia intervencionista. **Radiologia Brasileira**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 27-32, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rb/v40n1/06.pdf>>. Acesso em: 03 abril 2012.

MA, Q. Transcriptional responses to oxidative stress: pathological and toxicological implications. **Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v. 125, no. 3, p. 376-393, 2010.

MACEDO, I.B. Radioatividade natural em alimentos. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 1, p. 7-18, 2003.

MACGREGOR, J.T. et al. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 189, no. 2, p. 103-112, 1987.

MACLEOD, C.M. Half a century of research on the Stroop effect: an integrative review. **Psychological Bulletin**, Washington, v. 109, no. 2, p. 163-203, 1991.

MAITY, S. Hyperthyroidism causes cardiac dysfunction by mitochondrial impairment and energy depletion. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 217, no. 2, p. 215-228, Apr. 2013.

MAINA, G. et al. Psychosocial environment and health: Methodological variability of the salivary cortisol measurements. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 213, no. 1, p. 21-26, 2012.

MALARKEY, W.B. et al. Influence of academic stress and season on 24-hour mean concentrations of ACTH, cortisol, and beta-endorphin. **Psychoneuroendocrinology**, Oxford, v. 20, no. 5, p. 499-508, 1995.

MALUF, S.W. et al. Assessment of DNA damage in lymphocytes of workers exposed to x-radiation using the micronucleus test and the comet assay. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, New York, v. 38, no. 4, p. 311-315, 2001.

MALUF, S.W. et al. DNA damage and oxidative stress in human disease. **BioMed Research International**, New York, 2013:696104,[2 p.], 2013.

MARTÍNEZ, A. An assessment of immediate DNA damage to occupationally exposed workers to low dose ionizing radiation by using the comet assay. **Revista de Investigación Clínica**, Mexico, v. 62, n. 1, p. 23-30, 2010.

MASLACH, C.; LEITER M. **Trabalho: fonte de prazer ou desgaste?: Guia para vencer o estresse da empresa**. Campinas: Papirus, 1999.

MASSERA, G. Algunas conclusiones de la Conferencia Internacional sobre protección Radiológica Ocupacional. **Revista de la Sociedad Argentina de Radioprotección**, Buenos Aires, n. 22, p. 16-21, set. 2003.

MATTHEWS, K. et al. Diurnal cortisol decline is related to coronary calcification: CARDIA study. **Psychosomatic Medicine**, Hagerstown, v. 68, no. 5, p. 657-661, 2006.

MATTLER, F.A.; UPTON, A.C. **Medical effects of ionizing radiation**. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008.

MATUSHITA, J. P.K. História da radiologia. **Boletim do Colégio Brasileiro de Radiologia**, São Paulo, v. 168, p. 16-17, fev. 2002.

MAZZILLI, B.P. et al. **Noções básicas de proteção radiológica**. São Paulo: IPEN, 2002. Disponível em:

<<http://www.engeworks.com.br/arquivos/PROTEÇÃO%20RADIOLÓGICA.pdf>> Acesso em: 15 jan. 2013.

MCEWEN, B.S. Allostasis, allostatic load, and the aging nervous system: role of excitatory amino acids and excitotoxicity. **Neurochemical Research**, New York, v. 25, no. 9-10, p.1219-1231, 2008.

MERK, O; SPEIT, G. Detection of crosslinks with the comet assay in relationship to genotoxicity and cytotoxicity. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, New York, v. 33, no. 2, p.167-172, 1999.

MILLER, D.L. et al. T. Occupational radiation protection in interventional radiology: a joint guideline of the Cardiovascular and Interventional Radiology Society of Europe and the Society of International Radiology. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, Reston, v. 21, no. 5, p. 607-615, 2010.

MININEL, V.A.; BAPTISTA, P.C.P.; FELLI, V.E.A. Cargas psíquicas e processos de desgaste em trabalhadores de enfermagem de hospitais universitários brasileiros. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 2, p. 340-347, 2011.

MOHAMMADI, S. et al. Response of blood lymphocytes of inhabitants residing in high background radiation areas of ramsar-micronuclei, apoptosis and comet assay. **Journal of Radiation Research**, Tokyo, v. 47, no. 3-4, p. 279-285, 2006.

MONJE, M.L. et al. Irradiation induces neural precursor cell dysfunction. **Nature Medicine**, New York, v. 8, no. 9, p. 955-962, 2002.

MOURIK, R.V.; OOSTERLAAN, J.; SERGEANT, J.A. The Stroop revised: a metaanalysis of interference control in Ad/HD. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, Oxford, v. 46, no. 2, p. 227-238, 2005.

NADIN, S.B.; VARGAS-ROIG, L.M.; CIOCCA, D.R. A silver staining method for single-cell gel assay. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 1, p. 180-93, 2001.

NATER, U.M. et al. Attenuated morning salivary cortisol concentrations in a population-based study of persons with chronic fatigue syndrome and well controls. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Chevy Chase, v. 93, no. 3, p. 703-709, Mar. 2008.

NEGELISKII, C.; LAUTERT, L. Occupational stress and work capacity of nurses of hospital group. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 3, p. 606-613, 2011.

NEGROMONTE, M.R.O.; ARAÚJO, T.C.C.F. Impacto do manejo clínico da dor: avaliação de estresse e enfrentamento entre profissionais de saúde. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 2, p. 238-244, 2011.

NILSSON, A.M.; DAHLSTRÖM, L. Perceived symptoms of psychological distress and salivary cortisol levels in young women with muscular or disk-related temporomandibular disorders. **Acta Odontologica Scandinavica**, London, v. 68, no. 5, p. 284-288, 2010.

- NILSSON, O.R. et al. Cortisol, growth hormone and prolactin responses to insulin induced hypoglycaemia in hyperthyroid patients before and during beta-adrenoceptor blockade. **Clinical Endocrinology**, Oxford, v. 12, no. 6, p. 581-588, June 1980.
- NORDBERG, J.; ÅRNER, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxins system. **Free Radical Biology & Medicine**, Tarrytown, v. 31, no. 11, p. 1287-1312, 2001.
- NORPPA, H. Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 149, no. 1-3, p. 309-334, 2004.
- NOSCHANG, C.G. et al. Sex-specific differences on caffeine consumption and chronic stress-induced anxiety-like behavior and DNA breaks in the hippocampus. **Pharmacology, Biochemical and Behavior**, Tarrytown, v. 94, no. 1, p. 63-69, 2009.
- NOUAILHETAS, Y. **Radiações ionizantes e a vida**. Rio de Janeiro: CNEN: [s.d.]. Disponível em: <http://www.cnen.gov.br/ensino/apostilas/rad_ion.pdf>. Acesso em: 06 dez. 2013.
- PAIZANIS, E.; HAMON, M.; LANFUMEY, L. Hippocampal neurogenesis, depressive disorders, and antidepressant therapy. **Neural Plasticity**, New York, 2007:73754, [7 p.], 2007.
- PALAZZO, R.P.; MALUF, S.W. Técnica de micronúcleos com bloqueio da citocinese celular. In: MALUF, S. W.; RIEGUEL, M.(Org.). **Citogenética humana**. Porto Alegre: Artmed, 2011. p.180-193.
- PANAGIOTAKOS, G. et al. Long-term impact of radiation on the stemcell and oligodendrocyte precursors in the brain. **PLoS One**, San Francisco, v. 2, no. 7, p. e588, 2008.
- PAPATHANASSOGLU, E. et al. Potential effects of stress in critical illness through the role of stress neuropeptides. **Nursing in Critical Care**, London, v. 4, no. 15, p. 204-216, 2010.
- PASCHOALINI, B. et al. Efeitos cognitivos e emocionais do estresse ocupacional em profissionais de enfermagem. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 21, n. 3, 487-492, 2008.
- PEREIRA, R.; HENEGHAN, C.; BADENOSCH, D. **Ferramentas estatísticas no contexto clínico**. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- PETTERSON, IL et al. Work environment, skills utilization, and health of Swedish nurses: results from a national questionnaire study. **Psychotherapy and Psychosomatization**, Basel, v. 64, no. 1, p. 20-31, 1995.
- PRUESSNER, J.C. ET AL. Jobst S et al. Free cortisol levels after awakening: a reliable biological marker for the assessment of adrenocortical activity, **Life Sciences**, Oxford, v. 61, no. 26, p. 2539-2549, 1997.

PRUESSNER, J.C.; HELHAMMER, D.H.; KIRSCHBAUM, C. Burnout, perceived stress, and cortisol responses to awakening. **Psychosomatic Medicine**, Hagerstown, v. 61, no. 2, p. 197-204, Mar-Apr. 1999.

PRUESSNER, J.C. et al. Stress regulation in the central nervous system: evidence from structural and functional neuroimaging studies in human populations. **Psychoneuroendocrinology**, Oxford, v. 35, no. 1, p. 179-191, 2010.

RADAK, Z.; CHUNG, HY; GOTO, S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. **Free Radical Biology & Medicine**, Tarrytown, v. 44, no. 2, p. 153-199, 2008.

RAMÍREZ, A. Biomarcadores en monitoreo de exposición a metales pesados en metalurgia. **Anales de la Facultad de Medicina**, Lima, v. 67, n. 1, p. 49-58, 2006.

REPETTO, M.; KUHN; REPETTO, G. **Toxicología médica**. Madrid: Ediciones Diaz de Santos, 2009.

REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? **Free Radical Biology & Medicine**, Tarrytown, v. 49, no. 11, p. 1603-1616, 2010.

RIBEIRO, R.P. et al. O adoecer pelo trabalho na enfermagem: uma revisão integrativa. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, n. 2, v. 46, abr. 2012.

ROCHA, M.C.; DE MARTINO, M.M. Stress and sleep quality of nurses working different hospital shifts. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 280-286, jun. 2009.

ROLA, R. et al. Radiation-induced impairment of hippocampal neurogenesis is associated with cognitive deficits in young mice. **Experimental Neurology**, Orlando, v. 188, no. 2, p. 316-330, 2004.

ROPOLO, M.C. The micronucleus assay as a biological dosimeter in hospital workers exposed to low doses of ionizing radiation. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 747, no. 1, p. 7-13, 2012.

RUSSO, G.L. et al. Cellular adaptive response to chronic radiation exposure in interventional cardiologists. **European Heart Journal**, Oxford, v. 33, no. 3, p. 408-414, 2012.

SAFFI, J.; HENRIQUES, J.A.P. Reparação de DNA em Células Eucarióticas. In: **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, v.1, p.271-273, 2003.

SALIBA, T.M.; CORRÊA, M.A.C. **Insalubridade e periculosidade**. 10. ed. São Paulo: LTr, 2011.

SALIBA, T.M.; PAGANO, S.C.R.S. **Legislação de segurança, acidentes de trabalho e saúde do trabalhador**. 7. ed. São Paulo: LTr, 2010.

- SAPOLSKY, R.M. Stress hormones: good and bad. **Neurobiology of Disease**, San Diego, v. 7, no. 5, p. 540-542, Oct. 2000.
- SCHIMIDT, D.R. et al. Estresse Ocupacional entre profissionais de enfermagem do bloco cirúrgico. **Texto & Contexto Enfermagem**, Florianópolis, v. 18, n. 2, p. 330-337, 2009.
- SEEMAN, T.E. et al. Increase in urinary cortisol excretion and memory declines: MacArthur studies of successful aging. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Chevy Chase, v. 82, no. 8, p. 2458-2465, Aug. 1997.
- SELEGHIM, M.R. et al. Sintomas de estresse em trabalhadoras de enfermagem de uma unidade de pronto socorro. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, Porto Alegre, v. 33, n. 3, p. 165-173, 2012.
- SEPHTON, S.E. et al. Diurnal cortisol rhythm as a predictor of lung cancer survival, **Brain Behavior and Immunity**, Orlando, v. 30 Suppl:S163-170, Mar. 2013.
- SHERIDAN, J.E.; VREDENBURGH, D.J. Usefulness of leadership behavior and social power variables in predicting job tension, performance and turnover of nursing employees. **Journal of Applied Psychology**, Washington, v. 63, no.1, p. 89-95, 1978.
- SHIMADA, M. et al. Determination of salivary cortisol by ELISA and its application to the assessment of the circadian rhythm in children. **Hormone Research**, Basel, v. 44, no. 5, p. 213-217, 1995.
- SIEMENS. **Manual de ensaio do ADVIA Centaur e do ADVIA Centaur XP**. Tarrytown, NY: Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2009.
- SILVA, A.L.G. et al. Effect of physical exercise on the level of DNA damage in chronic obstructive pulmonary disease patients. **ISRN Pulmonology**, Cairo, v. 2013, Article ID 907520, 2013. 8 p.
- SILVA, J. et al. Alkaline single-cell gel electrophoresis (comet assay) to environmental in vivo biomonitoring with native rodents. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, no. 1, p. 241-245, 2000.
- SILVA, Juliana.; ERDTMANN, Bernardo; HENRIQUES, João Antonio Pêgas (orgs.) **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003.
- SIMONS, T.L.; PETERSON, R.S. Task conflict and relationship conflict in top management teams: the pivotal role of intragroup trust. **Journal of Applied Psychology**, Washington, v. 85, no. 1, p. 102-111, 2000.
- SINGH, N.P. et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research**, Orlando, v. 175, no. 1, p. 184-191, 1988.

SINGH, R. et al. The relationship between biomarkers of oxidative DNA damage, polycyclic aromatic hydrocarbon DNA adducts, antioxidant status and genetic susceptibility following exposure to environmental air pollution in humans. **Mutation Research: Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, Amsterdam, v. 620, no. 1-2, p. 83-92, 2007.

SLIVAR, D. et al. Base excision repair and lesion-dependent subpathways for repair of DNA damage. **Antioxidants & Redox Signalling**, Larchmont, v. 14, no. 12, p. 2491-2507, 2011.

SLUITER, J.K.; VAN DER BECK, A.J.; FRINGS-DRESEN, M.H. Work stress and recovery measured by urinary catecholamines and cortisol excretion in long distance coach drivers. **Occupational and Environmental Medicine**, London, v. 55, no. 6, p. 407-413, 1998.

SMITH, G.D. et al. Cortisol, testosterone, and coronary heart disease: prospective evidence from the Caerphilly study. **Circulation**, Hagerstown, v. 112, no. 3, p. 332-340, July 2005.

SOUCHKEVITCH, G.; LYASKO, L. Investigation of the impact of radiation dose on hormones, biologically active metabolites and immunoglobulins in Chernobyl accident recovery workers. **Stem Cells**, Basel, v. 15, Suppl 2, p. 151-154, 1997.

SOUZA, S.B.C. **Turno de trabalho, cronotipo e desempenho de memória e atenção de profissionais da área da saúde de dois serviços de emergência da cidade de Porto Alegre**. Porto Alegre: 2004. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

SOUZA, S.B.C. et al. Influência do turno de trabalho e cronotipo na qualidade de vida dos trabalhadores de enfermagem. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, Porto Alegre, v. 33, n. 4, p. 79-85, 2012.

SPEIT, G.; HARTMANN, A. The comet assay single-cell gel test; a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. **Methods in Molecular Biology**, Totowa, v. 113, p. 203-212, 1999.

STARCEVIC, S.L. et al. Oxidative DNA damage and repair in a cell lineage model of human proliferative breast disease (PBD). **Toxicological Sciences**, Cary, v. 75, no. 1, p. 74-81, 2003.

STEPTOE A, SIEGRIST J, KIRSCHBAUM C. MARMOT M. Effort-reward Imbalance, overcommitment, and measures of cortisol and blood pressure over the working day. **Psychosomatic Medicine**, Hagerstown, v. 66, no. 3, p. 323-329, 2004.

STRAUSS, E.; SHERMAN, E.M.S., SPREEN, O. **A Compendium of neuropsychological tests**. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

SUDPRASERT, W.; NAVASUMRIT, P.; RUCHIRAWAT, M. Effects of low-dose gamma radiation on DNA damage, chromosomal aberration and expression of repair genes in human blood cells. **International Journal on Hygiene and Environmental Health**, Jena, v. 209, no. 6, p. 503-511, 2006.

TADA, E. et al. X-irradiation causes a prolonged reduction in cell proliferation in the dentate gyrus of adult rats. **Neuroscience**, [New York?] v. 99, no.1, p. 33-41, 2000.

THEME-FILHA, M.M.; COSTA, M.A.S. Estresse ocupacional e autoavaliação de saúde entre profissionais de enfermagem. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 21, n. 2, p. 475-483, 2013.

THRALL, J.H.; ZIESSMAN, H.A. **Nuclear Medicine: “the requisites”**. 2nd ed. St. Louis: Mosby, 2001. v. 1, p. 3-15.

TUNN, S. et al. Simultaneous measurement of cortisol in serum and saliva after different forms of cortisol administration. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 38, no. 8, p. 1491-1494, 1992.

UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON EFFECTS OF ATOMIC RADIATION. **Sources and effects of ionizing radiation: UNSCEAR 1994 report to the general assembly, with scientific annexes**. New York: United Nations, 1994.

VALKO, M. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-biological Interactions**, Limerick, v. 160, no. 1, p. 1-40, 2006.

VALVERDE, M.; ROJAS, E. Environmental and occupational biomonitoring using the Comet assay. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 681, no. 1, p. 93-109, 2009.

VAN CAUTER, E.; LEPROULT, R.; KUPFER, D.J. Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Chevy Chase, v. 81, no. 7, p. 2468-2473, 1996.

VAN ECK, M. et al. The effects of perceived stress, traits, mood states, and stressful daily events on salivary cortisol. **Psychosomatic Medicine**, Hagerstown, v. 58, no. 5, p. 447-458, 1996.

VAN LOON, B.; MARKKANEN, E.; HUBSCHER, U. Oxygen as a friend and enemy: How to combat the mutational potential of 8-oxi-guanine. **DNA Repair**, Amsterdam, v. 9, no. 6, p. 604-616, 2010.

VAÑÓ, E.; COSSET, J.M.; REHAN, M.M. Radiological protection in medicine: work of ICRP Committee 3. **Annals of the ICRP**, London, v. 41, no. 3-4, p. 24-31, 2012.

VENDITTI, P. Effect of vitamin E administration on response to ischaemia–reperfusion of hearts from cold-exposed rats. **Experimental Physiology**, Cambridge, v. 96, no. 7, p. 635-646, July 2011.

WHITE R.E. et al. Estrogen and oxidative stress: A novel mechanism that may increase the risk for cardiovascular disease in women. **Steroids**, New York, v. 75, no. 11, p.788-793, 2010.

WIECK, A Differential neuroendocrine and immune responses to acute psychosocial stress in women with type 1 bipolar disorder. **Brain Behavior and Immunity**, Orlando, v. 34, p. 47-55, Nov. 2013.

XAVIER Ana Maria; MORO, Jose Tullio; HEILBRON, Paulo Fernando. **Princípios básicos de segurança e proteção radiológica**. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2006.

YOUNG, E.A.; ABELSON, J.; LIGHTMAN, S.L. Cortisol pulsatility and its role in stress regulation and health. **Frontiers in Neuroendocrinology**, Orlando, v. 25,no. 2, p. 69-76, 2004.

ANEXO 1 - FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS

**Projeto de Pesquisa: Análise de Danos no DNA de Linfócitos de Indivíduos
Ocupacionalmente Expostos às Radiações Ionizantes**

Número do Questionário _____ Data ____/____/____

Nome: _____ Profissão: _____

A. DADOS GERAIS DO PROFISSIONAL

A.1 Setor de trabalho: _____

A.2 Curva de dose ao longo dos meses (exposição fracionada) do último ano:

jan _____ (mSv) fev _____ (mSv) mar _____ (mSv) abr _____ (mSv)
 mai _____ (mSv) jun _____ (mSv) jul _____ (mSv) ago _____ (mSv)
 set _____ (mSv) out _____ (mSv) nov _____ (mSv) dez _____ (mSv)

A.3 Dose total acumulada:

_____ mSv em _____ anos

A.4 Sexo:

(1) masculino

(2) feminino

A.5 Data de nascimento: ____/____/____

A.6 Escolaridade completa (em anos de estudo completos e aprovados):

A.7 Situação conjugal

(1) Solteiro ou sem companheiro, viúvo

(2) Casado ou com companheiro

A.8 Número de filhos: _____

A.9 Data de nascimento filho(s): _____; _____; _____

A.10 Data da última menstruação: ____/____/____

A.11 Tabagista?

(1) **sim**

(2) Quantos cigarros/dia?_____ Há quanto tempo fuma?_____

(2) **não**

Já fumou?_____

Há quanto tempo parou?_____

Fumou por quanto tempo? _____

A.12 Toma café preto?

(1) **sim.** Quantas xícaras (pequenas: ~60 mL) por dia: _____

(2) **não**

A.13 Número médio de horas de sono nas 24 horas: _____

A.14 Ocorrências/problemas de saúde no último ano:

(1) **sim**

(2) **não**

A.15 Se SIM, quais? _____

A.16 Medicações em uso: _____

A.17 Infecções recentes: (1) **sim** (2) **não**

Quais? _____

A. 18 Tem ou teve câncer?

(1) **não**

(2) **sim**

Se sim, fez:

() **quimioterapia** () **radioterapia** () **quimioterapia e radioterapia**

Quando? _____

A.19 Submetido a exames com radiação no último ano:

(1) **não**

(2) **sim, quantos:** () Tomografia Computadorizada () Fluoroscopia () Cintilografia

() PET () raios x

A.20 Diabetes: (1) **sim** ou (2) **não**

A.21 Álcool: Que tipo e frequência: _____

A.22 Exercício Físico regular 3 x por semana: (1) sim (2) não

Qual a duração (minutos): _____

Qual a frequência (por semana): _____

Há quanto tempo(meses) _____

A.23 Peso: _____ kg**A.24 Altura:** _____ cm**A.25 IMC** _____**A.26 Circunferência****Cintura** _____ cm**Quadril:** _____ cm**A.27 Mensuração da pressão Arterial e FC****(A) PA:** _____ mmHg - sentado**(B) FC:** _____ bpm**A.28** Participação recente em exames diagnósticos envolvendo radiação ou radioterapia/quimioterapia:**(A)** especificar exames: _____**(B)** quantas horas ou dias anteriores à coleta?**B. INFORMAÇÕES SOBRE O TRABALHADOR****B.1 Data de admissão na Instituição:** __/__/__**B.2 Tempo que trabalha na função com exposição à radiação ionizante:****(em anos completos)** _____**B.3 Trabalha em outro lugar?**

(1) sim

(2) não

em caso positivo, com exposição às radiações ionizantes?

(1) sim

(2) não

B.4 Faz horas extras?

(1) sim

(2) não

B.5 Jornada de trabalho diária (em horas): _____

B. 6 Já trabalhou com radiação ionizante (antes do trabalho atual)?

(1) sim

(2) não

Se sim quantos anos: _____

B.7 Você tem tempo para descanso?

(1) sim

(2) não

B.8 Qual seu turno de trabalho?

(1) Diurno: quantas horas/dia? ____ h

B.9 Como é o seu ritmo de trabalho?

(1) intenso

(2) adequado

(3) calmo

B.10 Como é o número de pessoas na sua escala de trabalho?

(1) bom-satisfatório

(2) parcialmente satisfatório

(3) insatisfatório

B.11 Em que ano foi seu último treinamento em radiações ionizantes: _____

B.12 Já foi exposto a produtos químicos? (1) sim (2) não

Qual? _____

ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

AUTORIZAÇÃO PARA PARTICIPAR DE UM PROJETO DE PESQUISA

Nome do estudo: Análise de Danos no DNA de Linfócitos de Indivíduos Ocupacionalmente Expostos às Radiações Ionizantes

Instituição de Origem: Escola de Enfermagem/UFRGS

Local de realização: HCPA; Telefone GPPG: (51) 3359 8304; (51) 3359 8304

Pesquisador responsável e telefone para contato:

Profª Dra. Angélica R. Consiglio – (51) 3308 7615

Pesquisadora aluna: Iranez Bortolotto

Nome do participante (preencher com letra de forma por extenso):

.....

1 CONVITE

O(A) senhor(a) está sendo convidado a participar deste estudo e responder algumas questões que fazem parte do questionário utilizado para caracterizar o perfil ocupacional em relação à exposição às radiações e ao estresse. Após, o Sr(a) será medido (peso, altura, pressão arterial, frequência cardíaca), serão coletadas três amostras de sua saliva e uma amostra de sangue.

Os dados coletados serão incorporados aos de outros indivíduos e comparados entre si com objetivo de conhecer o perfil de resposta do grupo de trabalhadores à exposição às radiações ionizantes e ao estresse em seu ambiente de trabalho.

2 OBJETIVO DESTE ESTUDO

A finalidade deste estudo é avaliar a presença de alterações no sangue periférico, em indivíduos ocupacionalmente expostos às radiações ionizantes e/ou ao estresse.

3 POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

Conforme ciência e concordância de instâncias superiores na instituição, um possível desconforto poderá estar relacionado com o tempo dispensado de aproximadamente 1h para coleta dos dados e sangue. O procedimento para a coleta de sangue pode gerar leve dor ou

desconforto de curta duração devido à punção venosa. É um procedimento que não acarretará prejuízo no bem-estar ou nas condições gerais dos indivíduos.

Sua participação é voluntária. Se concordar, poderemos iniciar aplicação do questionário, medi-lo e combinar os dias para a coleta de dados e amostras de saliva e sangue.

4 DIREITO DE DESISTÊNCIA

O(A) senhor(a) poderá encerrar a participação em qualquer fase do estudo, sem que sofra qualquer penalidade como consequência desse ato.

5 CONFIDENCIALIDADE

Todas as informações obtidas neste estudo poderão ser publicadas com finalidade científica, preservando-se completo anonimato dos participantes. Os dados coletados serão mantidos sob a responsabilidade da pesquisadora responsável. O participante não será prejudicado frente ao hospital por participar da pesquisa.

6. BENEFÍCIOS

O Sr(a) terá acesso aos resultados dos seus testes e em caso de identificarmos alguma alteração nos níveis de danos em seus linfócitos e nos níveis de cortisol, serão prontamente informados. Caso alguma alteração mais grave seja detectada, entraremos em contato com o (a) senhor(a) para sugeri-lo(a) uma visita ao Serviço de Medicina Ocupacional.

7. CONSENTIMENTO

Declaro ter lido as informações acima antes de assinar este formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas dúvidas. Por este instrumento, tomo parte, voluntariamente, do presente estudo.

Porto Alegre, ____ de _____ de 20__

Assinatura do voluntário

Assinatura das pesquisadoras responsáveis

ANEXO 3 - ESCALA DE ESTRESSE PERCEBIDO

Itens e instruções para aplicação

As questões nesta escala perguntam sobre seus sentimentos e pensamentos durante o último mês. Em cada caso, será pedido para você indicar o quão frequentemente você tem se sentido de uma determinada maneira. Embora algumas das perguntas sejam similares, há diferenças entre elas e você deve analisar cada uma como uma pergunta separada. A melhor abordagem é responder a cada pergunta razoavelmente rápido. Isto é, não tente contar o número de vezes que você se sentiu de uma maneira particular, mas indique a alternativa que lhe pareça como uma estimativa razoável. Para cada pergunta, escolha as seguintes alternativas:

0= nunca

1= quase nunca

2= às vezes

3= quase sempre

4= sempre

Neste último mês, com que frequência...					
Você tem ficado triste por causa de algo que aconteceu inesperadamente?	0	1	2	3	4
Você tem se sentido incapaz de controlar as coisas importantes em sua vida?	0	1	2	3	4
Você tem se sentido nervoso e “estressado”?	0	1	2	3	4
Você tem tratado com sucesso dos problemas difíceis da vida?	0	1	2	3	4
Você tem sentido que está lidando bem as mudanças importantes que estão ocorrendo em sua vida?	0	1	2	3	4
Você tem se sentido confiante na sua habilidade de resolver problemas pessoais	0	1	2	3	4
Você tem sentido que as coisas estão acontecendo de acordo com a sua vontade?	0	1	2	3	4
Você tem achado que não conseguiria lidar com todas as coisas	0	1	2	3	4

que você tem que fazer?					
Você tem conseguido controlar as irritações em sua vida?	0	1	2	3	4
Você tem sentido que as coisas estão sob o seu controle	0	1	2	3	4
Você tem ficado irritado porque as coisas que acontecem estão fora do seu controle?	0	1	2	3	4
Você tem se encontrado pensando sobre as coisas que deve fazer	0	1	2	3	4
Você tem conseguido controlar a maneira como gasta seu tempo	0	1	2	3	4
Você tem sentido que as dificuldades se acumulam a ponto de você acreditar que não pode superá-las?	0	1	2	3	4

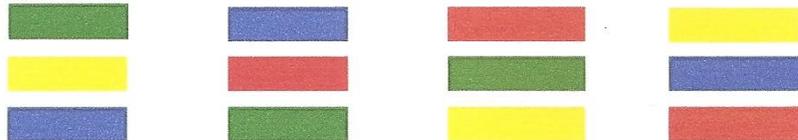
ANEXO 4 - ORIENTAÇÕES TESTE STROOP (SOUZA, 2004)

TESTE STROOP

- (a) Leia esta lista de nomes de cores o mais rápido possível.
Leia da direita para a esquerda em cada linha.

Vermelho	Amarelo	Azul	Verde
Azul	Vermelho	Verde	Amarelo
Amarelo	Verde	Vermelho	Azul

- (b) Nomeie estas etiquetas coloridas o mais rápido possível.
Nomeie da esquerda para a direita em cada linha.



- (c) Nomeie o mais rápido possível a cor de tinta com a qual cada palavra foi impressa. Nomeie da esquerda para a direita em cada linha.

Vermelho	Azul	Verde	Amarelo
Amarelo	Vermelho	Azul	Verde
Azul	Amarelo	Verde	Vermelho

ANEXO 5 - STROOP_1

VERMELHO	AZUL	VERDE	VERMELHO	AZUL
VERDE	VERDE	VERMELHO	AZUL	VERDE
AZUL	VERMELHO	AZUL	VERDE	VERMELHO
VERDE	AZUL	VERMELHO	VERMELHO	AZUL
VERMELHO	VERMELHO	VERDE	AZUL	VERDE
AZUL	VERDE	AZUL	VERDE	VERMELHO
VERMELHO	AZUL	VERDE	AZUL	VERDE
AZUL	VERDE	VERMELHO	VERDE	VERMELHO
VERDE	VERMELHO	AZUL	VERMELHO	AZUL
AZUL	VERDE	VERDE	AZUL	VERDE
VERDE	VERMELHO	AZUL	VERMELHO	VERMELHO
VERMELHO	AZUL	VERMELHO	VERDE	AZUL
VERDE	VERMELHO	AZUL	VERMELHO	VERDE
AZUL	AZUL	VERMELHO	VERDE	VERMELHO
VERMELHO	VERDE	VERDE	AZUL	AZUL
AZUL	AZUL	VERMELHO	VERDE	VERMELHO
VERMELHO	VERDE	AZUL	VERMELHO	VERDE
VERDE	VERMELHO	VERDE	AZUL	AZUL
VERMELHO	AZUL	VERMELHO	VERDE	VERMELHO
VERDE	VERMELHO	VERDE	AZUL	VERDE

ANEXO 7 - STROOP_3

VERMELHO	AZUL	VERDE	VERMELHO	AZUL
VERDE	VERDE	VERMELHO	AZUL	VERDE
AZUL	VERMELHO	AZUL	VERDE	VERMELHO
VERDE	AZUL	VERMELHO	VERMELHO	AZUL
VERMELHO	VERMELHO	VERDE	AZUL	VERDE
AZUL	VERDE	AZUL	VERDE	VERMELHO
VERMELHO	AZUL	VERDE	AZUL	VERDE
AZUL	VERDE	VERMELHO	VERDE	VERMELHO
VERDE	VERMELHO	AZUL	VERMELHO	AZUL
AZUL	VERDE	VERDE	AZUL	VERDE
VERDE	VERMELHO	AZUL	VERMELHO	VERMELHO
VERMELHO	AZUL	VERMELHO	VERDE	AZUL
VERDE	VERMELHO	AZUL	VERMELHO	VERDE
AZUL	AZUL	VERMELHO	VERDE	VERMELHO
VERMELHO	VERDE	VERDE	AZUL	AZUL
AZUL	AZUL	VERMELHO	VERDE	VERMELHO
VERMELHO	VERDE	AZUL	VERMELHO	VERDE
VERDE	VERMELHO	VERDE	AZUL	AZUL
VERMELHO	AZUL	VERMELHO	VERDE	VERMELHO
VERDE	VERMELHO	VERDE	AZUL	VERDE

ANEXO 8 - SPAN DE DÍGITOS E SPAN DE PALAVRAS

SPAN DE DÍGITOS

Ler pausadamente cada série e solicitar que o indivíduo repita após cada leitura.
Interromper após falhas em ambas as tentativas de qualquer item. Aplicar as duas tentativas de cada item, mesmo se o indivíduo acertar a primeira.

5 8 2
6 9 4

6 3 9 4
7 2 8 6

4 2 7 3 1
7 5 8 3 6

6 1 9 4 7 3
3 9 2 4 8 7

5 9 1 7 4 2 8
4 1 7 9 3 8 6

5 8 1 9 2 6 4 7
3 8 2 9 5 1 7 4

2 7 5 8 6 2 5 8 4
7 1 3 9 4 2 5 6 8

ESCORE SPAN DE DÍGITOS (Escore máximo =14):

SPAN DE PALAVRAS

Orientar o indivíduo que as palavras lidas serão lidas pausadamente e que após, deverá repeti-las conforme a ordem em que for lembrando.
Anotar a ordem de evocação

#HOMEM
CARRO
FLOR
LIVRO
CASA
PANELA
RUA
JARDIM
CADEIRA
ESTRELA

ESCORE SPAN DE PALAVRAS (Escore máximo=10):

ANEXO 9 - ROTEIRO DE COLETA DO CORTISOL SALIVAR - TRABALHADORES HCPA¹

Coleta de cortisol salivar:

Cuidados antes da coleta:

1. A coleta da saliva deverá ser realizada em três horários: **ao acordar (tubo: manhã), 30 minutos após acordar (tubo: tarde) e antes de dormir (tubo: noite).**
2. Por um período de 30 minutos antes da coleta não ingerir nenhum alimento, cigarro ou bebida (com exceção de água).
3. Jejum não é necessário, porém após o jantar aguardar no mínimo 3 horas para coletar a terceira amostra de saliva.
4. Não fazer exercício físico por 1 hora antes da coleta.
5. Imediatamente antes da coleta é aconselhável lavar a boca com água através de bochechos leves.
6. Não é recomendável a coleta em casos de lesões orais com sangramento ativo ou potencial.
7. Não ter feito tratamento dentário nas últimas 24 horas.
8. Não ter escovado os dentes nas últimas 3 horas, a fim de evitar sangramento gengival.
9. Guardar os tubos (3 amostras de saliva) em geladeira, se possível.
10. Entregar as 3 amostras de saliva coletadas no próximo dia de trabalho para a pesquisadora, no CPC (Centro de Pesquisa Clínica).

Coletar a saliva da seguinte forma:

1. Remova a tampa superior do tubo.
2. Coloque o algodão presente no interior do tubo, sob a língua e aguarde por um período de 3 minutos. Se preferir, pode mastigá-lo suavemente para estimular o fluxo salivar.
3. Durante este período de coleta não é permitido ingestão de água, alimento ou qualquer tipo de líquido.
4. Após este período, remova o algodão da boca, retire o êmbolo da seringa, coloque o algodão na seringa, coloque o êmbolo e aperte-o até sair toda a saliva, qual deve ser colocada dentro do tubo.
5. O volume de saliva deverá ser no mínimo 1 ml.
6. Na **terça-feira**: coletar no tubo antes de dormir, **quarta-feira**: coletar ao acordar e 30 minutos após acordar.

ATENÇÃO: Qualquer dúvida entrar em contato com o pesquisador.

¹Projeto “Análise de dano no DNA de linfócitos de trabalhadores expostos à radiação ionizante”. Pesquisadora responsável Profa. Dra. Angélica Rosat Consiglio.

ANEXO 10 - APROVAÇÃO PELA COMPEAQ ENF/UFRGS

Projetos

Page 1 of 1

Sistema Pesquisa - Pesquisador: Angelica Rosat Consiglio**Projeto Nº:** 23526**Título:** ANALISE DE DANOS NO DNA DE LINFOCITOS DE INDIVIDUOS OCUPACIONALMENTE EXPOSTOS AS RADIACOES IONIZANTES

COMISSAO DE PESQUISA DE ENFERMAGEM: Parecer

Projeto de mestrado aprovado em Seminário de Pesquisa do PPGENF e no CEP/HCPA, conforme documento em anexo.

ANEXO 11 - APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HCPA



**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CEP/HCPA), que é reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/CNS) e pelo Office For Human Research Protections (OHRP/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisou o projeto:

Projeto: 110603

Data da Versão do Projeto: 24/05/2012

Data da Versão do TCLE: 13/02/2012

Pesquisadoras:

ANGÉLICA ROSATI CONSIGLIO

ALEXANDRE BACELAR

DANASIO MACEDO TRINDADE

IRANEZ BORTOLOTTI

MARIA GEGILIA VERÇOZA MAMA

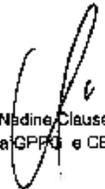
SHARBEL WEIDNER MALUF

Título: ANÁLISE DE DANOS NO DNA DE LINFÓCITOS DE INDIVÍDUOS
OCUPACIONALMENTE EXPOSTOS ÀS RADIAÇÕES IONIZANTES

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos, bem como o respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as diretrizes e normas nacionais e internacionais de pesquisa clínica, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

- Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa não participaram do processo de avaliação dos projetos nos quais constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEP/HCPA.
- Somente poderá ser utilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido no qual conste o carimbo de aprovação do CEP/HCPA.

Porto Alegre, 15 de Junho de 2012.


Profª Nadine Clausell
Coordenadora GPRO e CEP/HCPA