

COINTER PDVS 2023

V CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS DA SAÚDE
Edição Presencial Recife (PE) | 29, 30 de nov a 1 de dez
ISSN: 2764-1856 | PREFIXO DOI: 10.31692/2764-1856

TÉCNICA FISH APLICADA À DOSIMETRIA BIOLÓGICA: UMA BREVE REVISÃO

TÉCNICA FISH APLICADA A LA DOSIMETRÍA BIOLÓGICA: UNA BREVE REVISIÓN

FISH TECHNIQUE APPLIED TO BIOLOGICAL DOSIMETRY: A BRIEF REVIEW

Apresentação: Pôster

Caio Victor Barros Gonçalves Silva¹; Amanda Silva de França²; Mariana Esposito Mendes³; Gael Freires de Lima⁴; Fabiana Farias de Lima⁵

INTRODUÇÃO

As radiações geradas artificialmente apresentam diversas aplicabilidades na indústria e na agricultura, mas seu uso se destaca na medicina, pois os avanços tecnológicos possibilitaram as melhorias em termos de diagnóstico e de tratamento (IAEA, 2011; Herate; Sabatier, 2020). Ao longo dos anos, com o emprego crescente das radiações em todos os setores, seus efeitos indesejáveis começaram a ser relatados, resultantes principalmente de fontes órfãs, como no acidente de Goiânia, Brasil, em 1987, e de sobreviventes de acidentes nucleares, como o acidente de Chernobyl (IAEA, 2011; Sakamoto-Hojo, 2018).

Diante disso, surge a dosimetria biológica para quantificar a dose absorvida pelo organismo humano após incidentes ou acidentes envolvendo a radiação ionizante. Da mesma forma, a dosimetria biológica também pode ser empregada nos casos de exposições ocupacionais ou de exposições médicas em que a estimativa de dose por meio de dosimetria física não possa ser determinada ou, até mesmo, covalidar os dados obtidos por outros métodos dosimétricos (IAEA, 2011; Herate; Sabatier, 2020; M'Kacher *et al.*, 2023; Sakamoto-Hojo, 2018).

Apesar da existência de vários indicadores biológicos de exposição à radiação, como mutações, expressão gênica, modificações proteicas, intermediários metabólicos e assinaturas proteômicas, as alterações citogenéticas ainda permanecem como as mais utilizadas e as

¹ Graduando em Biomedicina, UFPE, caio.victors@ufpe.br

² Bacharel em Ciências biológicas, UNIBRA, amandafranca.bio@gmail.com

³ Doutora em Genética, CRCN-NE/CNEN, mariespositomendes@gmail.com

⁴ Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares, UFPE, gaelfreires@outlook.com

⁵ Doutora em Tecnologias Energéticas e Nucleares, CRCN-NE/CNEN, fabiana.farias@cnen.gov.br

técnicas citogenéticas estabelecidas como as mais confiáveis para quantificar uma dose de radiação absorvida (IAEA, 2011; Goh *et al.*, 2019; Herate; Sabatier, 2020; M’Kacher *et al.*, 2023). Dentre as técnicas desenvolvidas para este fim, estão a análise citogenética convencional de cromossomos dicêntricos, o ensaio de micronúcleos com bloqueio de citocinese e a análise com Condensação Prematura de cromossomos (IAEA, 2011).

Estes ensaios biodosimétricos, entretanto, são aplicados para estimar o dano recente à radiação ionizante uma vez que esses marcadores biológicos são representativos do dano instável e suas frequências são reduzidas com a eliminação dos linfócitos por meio da taxa de renovação celular. Por isso, para reconhecer e estudar os danos mais persistentes nas células, se utiliza marcadores citogenéticos do tipo translocações e as translocações recíprocas têm sido usadas para exposições que ocorreram anos a décadas no passado, utilizando uma técnica denominada hibridização *in situ* fluorescente – FISH (IAEA, 2011; Goh *et al.*, 2019; M’Kacher *et al.*, 2023).

Assim, este trabalho visa realizar uma revisão bibliográfica sobre a aplicação da técnica FISH em dosimetria biológica.

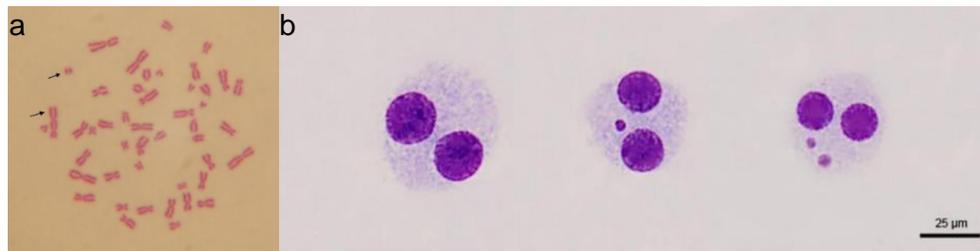
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Com o amplo uso das radiações ionizantes, indivíduos ocupacionalmente expostos, indivíduos submetidos a exposições médicas e indivíduos do público, principalmente residentes em regiões próximas às usinas nucleares, estão mais sujeitos a incidentes ou acidentes radiológicos ou nucleares. Em caso de ocorrência, a biodosimetria citogenética é indispensável para estimar a dose absorvida de radiação nos mais diversos cenários de exposição acidental (Goh *et al.*, 2019; Jeong *et al.* 2023).

Dentre as técnicas citogenéticas mais comuns, a análise do cromossomo dicêntrico (Figura 1a) é a mais utilizada em citogenética, sendo estas alterações cromossômicas específicas da radiação ionizante e, devido a isso, é considerada a técnica “padrão ouro” da dosimetria biológica (IAEA, 2011; Goh *et al.*, 2019; Herate; Sabatier, 2020; M’Kacher *et al.*, 2023). Outro marcador citogenético frequentemente utilizado no monitoramento de indivíduos expostos a RI, apesar de não ser um biomarcador específico da radiação ionizante, são os micronúcleos por meio do ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese – CBMN, (Figura 1b), sendo mais utilizado em triagem para acidente em grande escala (IAEA, 2011).



Figura 01: a) Metáfase com um cromossomo dicêntrico e seu fragmento acêntrico; b) Células binucleadas sem micronúcleos, com 1 micronúcleo e 2 micronúcleos.



Fonte: IAEA (2011)

Entretanto, estes biomarcadores são alterações instáveis, uma vez que se eliminam do conjunto de linfócitos do sangue periférico a medida que as células se renovam, e que, conseqüentemente, são utilizados apenas em casos de exposições recentes à radiação. Por isso, para reconhecer e estudar os danos mais persistentes nas células se utiliza marcadores citogenéticos do tipo translocações. As translocações recíprocas têm sido usadas para exposições que ocorreram anos a décadas no passado (IAEA, 2011; McKenna *et al.*, 2019; Haskins e Kato, 2019).

Uma técnica denominada hibridização *in situ* fluorescente (FISH) foi, então, desenvolvida no início da década de 1980 e suas aplicações têm aumentado desde a década de 1990 (RATAN *et al.*, 2017). Esta técnica emprega sequências específicas de DNA que podem ser usadas como sondas para uma parte específica do genoma e, em seguida, por ligação de vários fluorocromos para destacar ou ‘pintar’ as regiões com cores diferentes. As translocações são vistas como rearranjos coloridos em um microscópio de fluorescência, como se observa na figura 2 (IAEA, 2011). Diante da possibilidade de identificar translocações, o método FISH se tornou a técnica citogenética para realizar dosimetria biológica retrospectiva (IAEA, 2011; Goh *et al.*, 2019; Herate; Sabatier, 2020; Jeong *et al.* 2023).

METODOLOGIA

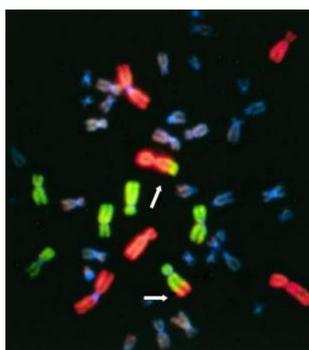
Este trabalho trata-se de uma revisão sistemática de literatura em que as buscas de trabalhos científicos foram realizadas em novembro de 2023 por meio da base de dados da PubMed, usando os descritores em ciências da saúde (DeCS): Radiation, FISH Technic, Translocation, Dosimetry.

Foram selecionados 8 artigos dentre os anos de 2018 a 2023 e os critérios de inclusão foram: Publicações nos últimos 5 anos; pesquisas envolvendo a técnica FISH em humanos,



exposição de indivíduos à radiação ionizante e em qualquer idioma. Os que não atendiam eram excluídos da análise. Vale ressaltar que uma publicação da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, 2011) foi inserida ao trabalho, apesar de não cumprir o primeiro critério, por sua relevância no tema. Estes primeiros selecionados, foram lidos o título e resumo e selecionado os mais relevantes para posterior leitura.

Figura 02 Metáfase corada com FISH em que os cromossomos 2 e 5 aparecem com uma translocação recíproca.



Fonte: IAEA (2011)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A radiação ionizante pode produzir muitas aberrações cromossômicas; no entanto, uma série de aberrações não são facilmente visualizadas com uma coloração Giemsa convencional e requerem métodos de coloração especiais. Um método que identifica estas alterações cromossômicas não detectáveis, como as translocações, está disponível: coloração de hibridização *in situ* por fluorescência – FISH (Herate e Sabatier, 2020; Haskins and Kato, 2019; Robinson et al, 2019).

Na busca realizada, foi observado que, como em toda técnica biodosimétrica, para o uso da técnica FISH para análise de translocações em biodosimetria, cada laboratório precisa construir sua própria curva de calibração dose-resposta (IAEA, 2011; Goh et al, 2019; Jeong *et al*, 2023).

Os trabalhos estudados ressaltam que mesmo que as translocações sejam danos estáveis, podendo ser usadas na dosimetria biológica para avaliação de exposições antigas ou crônicas, elas podem ser eliminadas no momento da divisão celular se estruturas instáveis e formas complexas estiverem na mesma célula. Assim, a curva de calibração gerada baseada em translocações em células realmente estáveis é um método estabelecido para avaliação da dose absorvida retrospectiva. Além disso, considerações como análise de mais que 2.000 células por



dose; o uso de múltiplos doadores; o uso de um mínimo de 5 pontos de dose, incluindo 0Gy, devem ser levadas em conta na construção da curva a ser utilizada tanto para dosimetria retrospectiva quanto para monitoração da exposição potencial à radiação de indivíduos residentes próximos à usina nuclear (IAEA, 2011; Goh et al, 2019; Jeong *et al*, 2023; M’Kacher et al, 2023).

No âmbito de dosimetria retrospectiva, Sakamoto-Hojo (2018) realizou um estudo com o objetivo de sumarizar os resultados dos principais estudos ocorridos com as vítimas do ^{137}Cs em Goiânia-GO até vários anos após o acidente, fornecendo lições importantes para caracterizar a eliminação de aberrações cromossômicas instáveis e a persistência de translocações, bem como as proporções de ambos os tipos de aberrações em um determinado intervalo tempo. Ela observou que as razões entre dicêntricos e translocações calculadas para indivíduos com diferentes níveis de doses absorvidas, se mostraram dose-dependentes.

No geral, esses resultados indicaram que a aplicação da dosimetria retrospectiva são mais confiável para exposições com baixas doses absorvidas (0,5Gy), enquanto acima de 0,5Gy as doses podem ser subestimadas, devido à tendência de declínio nas frequências de translocações. Nestes casos, esses resultados indicam a necessidade de aplicação de fatores de correção apropriados, que levem em consideração a persistência das translocações ao longo do tempo, além da influência de fatores endógenos e exógenos que determinam a variabilidade interindividual. Apesar de poucos indivíduos, o estudo mostrou relevância de dados relativos à análise de translocação com a técnica FISH em dosimetria retrospectiva (Sakamoto-Hojo, 2018).

CONCLUSÕES

A técnica de FISH é a técnica citogenética de escolha pela sociedade científica para realizar a dosimetria biológica retrospectiva, mesmo com algumas limitações para doses absorvidas acima de 0,5Gy. Para realização da dosimetria retrospectiva é recomendado que cada laboratório estabeleça as suas próprias curvas de calibração dose-resposta.

REFERÊNCIAS

GOH, V. S. T. *et al*. Construction of fluorescence *in situ* hybridization (FISH) translocation dose-response calibration curve with multiple donor data sets using R, based on ISO 20046: 2019 recommendations. **International Journal Of Radiation Biology**, v. 95, n. 12, p. 1668-



1684, 24 set. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/09553002.2019.1664788>.

HASKINS, J. S.; KATO, T. A. Reciprocal Translocation Analysis with Whole Chromosome Painting for FISH. **Radiation Cytogenetics**, Nova York, v. 1984, p. 117-122, 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-9432-8_14.

HERATE, C.; SABATIER, L.. Retrospective biodosimetry techniques: focus on cytogenetics assays for individuals exposed to ionizing radiation. **Mutation Research/Reviews In Mutation Research**, França, v. 783, p. 108287-108344, jan. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2019.108287>.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies, Emergency Preparedness and Response, IAEA, Vienna (2011).

JEONG, S. K. *et al.* Biological dosimetry dose-response curves for residents living near nuclear power plants in South Korea. **Science Progress**, v. 106, n. 3, p. 1-19, jul. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/00368504231198935>.

M'KACHER, R. *et al.* High Resolution and Automatable Cytogenetic Biodosimetry Using *In Situ* Telomere and Centromere Hybridization for the Accurate Detection of DNA Damage: an overview. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, p. 5699, 16 mar. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24065699>.

ROBINSON, E. *et al.* Directional Genomic Hybridization (dGH) for Detection of Intrachromosomal Rearrangements. **Radiation Cytogenetics**, v. 1984, p. 107-116, 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-9432-8_13.

SAKAMOTO-HOJO, E. T. Lessons from the accident with ¹³⁷Cesium in Goiania, Brazil: contributions to biological dosimetry in case of human exposure to ionizing radiation. **Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, v. 836, parte A, p. 72-77, dez. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.05.019>.

