



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**

Вера Спасојевић - Тишма

**УТИЦАЈ ТЕРАПИЈЕ РАДИОАКТИВНИМ ЈОДОМ ^{131}I НА
ХЕМАТОЛОШКЕ ПАРАМЕТРЕ И АНТИОКСИДАТИВНИ СТАТУС
ПАЦИЈЕНАТА СА ДИФЕРЕНТОВАНИМ КАРЦИНОМОМ
ШТИТАСТЕ ЖЛЕЗДЕ**

Докторска дисертација

Ментор: др сци. Ана Тодоровић, научни сарадник

Крагујевац, 2018.

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>I Аутор</i>	
Име и презиме: Вера Спасојевић - Тишма	
Датум и место рођења: 15.01.1960 год., Земун	
Садашње запослење: ЈП Нуклеарни објекти Србије	
<i>II Докторска дисертација</i>	
Наслов: Утицај терапије радиоактивним јодом ¹³¹ I на хематолошке параметре и антиоксидативан статус пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде.	
Број страница: 128	
Број слика: 36, број табела: 86	
Број библиографских података: 252	
Установа и место где је рад израђен: Клинички центар Крагујевац, Центар за нуклеарну медицину	
Научна област (УДК): Медицина	
Ментор: др сци. Ана Годоровић, научни сарадник	
<i>III Оцена и одбрана</i>	
Датум пријаве теме: 13.05.2016 год.	
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-260/14 од 08.03.2017 год.	
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата:	
1. Проф.др Снежана Живанчевић-Симоновић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник	
2. Проф.др Драган Ђурић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија, члан	
3. Доц. др Олгица Михаљевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, члан	
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата:	
1. Доц. др Олгица Михаљевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник;	
2. ВНС Снежана Пејић, виши научни сарадник Лабораторије за молекуларну биологију и ендокринологију Института за нуклеарне науке Винча за ужу научну област Биомедицина, члан;	
3. Доц. Др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан.	
Датум одбране дисертације:	

САЖЕТАК

Утицај терапије радиоактивним јодом ^{131}I на хематолошке параметре и антиоксидативни статус пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде

Малигни тумори штитасте жлезде представљају 95% случајева свих дијагностикованих карцинома ендокриног система. Годишња стопа инциденце у различитим деловима света се креће од 0,5-10 случајева на 100,000 становника, а у Србији број новооболелих износи 1,6 мушкараца и 5,8 жена на 100,000 становника на годишњем нивоу.

Терапијска примена радиоактивног јода (^{131}I) ради аблације постоперативно преосталог ткива штитасте жлезде и јодавидних метастаза је део стандардне процедуре лечења оболелих од диферентованих тиреоидних карцинома (DTC). Терапија ^{131}I , иако релативно безбедна, носи извештан ризик од појаве нежељених ефеката који су последица радијационог оштећења здравих ткива и органа, међу којима су костна срж и периферна крв. Циљ ове студије је да се код пацијената са DTC испитају хематолошки параметри (ниво леукоцита, еритроцита, тромбоцита, хемоглобина и хематокрита), параметри оксидативног стреса (активности антиоксидативних ензима, концентрација реактивних кисеоничних врста и интензитет липидне пероксидације) пре и након апликације великих доза радиоактивног ^{131}I (3,70 и 5,55 GBq). Такође, циљ студије је био и да се добијене вредности анализирају у односу на дозу апликованог ^{131}I и време протекло од његове примене (3, 7 и 30 дана након терапије). Истраживањем је обухваћено 68 пацијената оба пола, којима је урађена тиреоидектомија, постављена дијагноза добро диферентованог карцинома штитасте жлезде и аплициран ^{131}I у дози од 3,70 или 5,55 GBq. Добијени резултати указују да терапија било којом од испитиваних доза ^{131}I доводи до смањења свих хематолошких параметара у посматраним временским тачкама у односу на вредност пре терапије. Обе аблационе дозе ^{131}I индукују повећање оксидативног стреса које се огледа у повећању нивоа TBARS-а, и то у 3. и 7. дану након примене дозе од 3,70 GBq, а у 3. и 30. дану након дозе од 5,55 GBq. Терапија ^{131}I код пацијената са DTC индукује и промене вредности АО параметара. Активност SOD након примене ^{131}I у дози од 3,70 GBq значајно је повећана 3. и 30. дана, а након примене ^{131}I од 5,55 GBq 3. и 7. дана у односу на вредност пре терапије. Након дозе од 3,70 GBq активност CAT показује снижење 30. дана, док доза ^{131}I од 5,55 GBq повећава активност CAT 7. дана у односу на 0. дан. Обе дозе ^{131}I доводе до значајног пораста вредности GSH 7. дана, док само доза од 5,55 GBq доводи до снижења GSH 30. дана у односу на 0. дан. ^{131}I индукује значајне промене нивоа слободних радикала у крви DTC пацијената. Терапија ^{131}I у дози од 5,55 GBq повећава ниво O_2^- само у 30. дану, док вредности O_2^- након примене дозе од 3,70 GBq нису значајно промењене у односу на 0. дан. Ниво H_2O_2 у крви DTC пацијената је снижен 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq, а не мења се значајно ни након примене дозе од 5,55 GBq. Ниједна од испитиваних доза ^{131}I не индукује статистички значајну промену вредности NO у односу на ниво пре терапије. Анализа корелисаности TBARS-а и хематолошких параметара је показала да је TBARS негативно корелисан са Hgb и Hct. Анализом корелисаности ензима и њихових супстрата утврђено је да је активност SOD позитивно корелисана са нивоом O_2^- само 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq. Активност CAT је негативно корелисана са H_2O_2 у свим посматраним временским тачкама након дозе од 3,70 GBq ^{131}I , а након дозе од 5,55 GBq само 30. дана.

Резултати мултипле линеарне регресије су показали да од пет тестираних параметара (SOD, CAT, GSH, $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 и $\cdot NO$) само активност SOD и концентрације H_2O_2 и $O_2^{\cdot-}$ значајно утичу на ниво TBARS-а у крви DTC пацијената.

Резултати ове студије указују да терапија ^{131}I индукује повећање оксидативног стреса, које се огледа у повећању нивоа TBARS-а, али и у нарушеном балансу ензимских и неензимских компоненти антиоксидативне заштите и продукције слободних радикала који могу имати значајан утицај на касније ефекте терапије ^{131}I .

Кључне речи: оксидативни стрес, антиоксидативни ензими, липидна пероксидација, радиојодна терапија, диферентовани карцином штитасте жлезде.

ABSTRACT

The effect of radioactive iodine therapy ^{131}I on the haematological parameters and the antioxidant status of patients with differentiated thyroid carcinoma

Malignant tumors of the thyroid gland represent 95% of all diagnosed endocrine cancers. The annual incidence rate ranges from 0.5 to 10 cases per 100 000 inhabitants, and in Serbia this incidence is 1.6 men and 5.8 women per 100 000.

Therapeutic use of radioactive iodine (^{131}I) for the ablation of postoperatively residual thyroid tissue and iodine metastases is part of the standard procedure for patients with differentiated thyroid carcinoma (DTC). Although treatment is tolerated well by most patients adverse effects of DTC treatment have been increasingly recognized, and are reason for a debate on the required aggressiveness of DTC treatment. Adverse effects result from radiation damage of the healthy tissues and organs, including bone marrow and peripheral blood.

This study included 68 patients of both sexes who were diagnosed with DTC, underwent thyroidectomy, and were treated with fixed doses of 3.70 or 5.55 GBq of ^{131}I . The aim of the study was to investigate hematologic parameters (leukocyte, erythrocyte, platelet, hemoglobin and hematocrit levels) as well as oxidative stress parameters (antioxidant enzymes activity, levels of reactive oxygen species and lipid peroxidation) their correlation and significance for lipid peroxidation in blood of DTC patients 0, 3, 7 and 30 days after therapy. The obtained results indicate that compared to the pre-therapy values in the 3rd, 7th and 30th day after radiotherapy both of the examined ^{131}I doses a decrease in all hematological parameters. TBARS level was elevated in 3rd and 7th day after a dose of 3.70 GBq, and in 3rd and 30th day after exposure to dose of 5,55 GBq. Following dose of 3.70 GBq the SOD activity was significantly increased in the 3rd and 30th days, and after the application of 5.55 GBq in the 3rd and 7th days after therapy. Activity of CAT was decreased in 30th day after a dose of 3.70 GBq, while a dose 5.55 GBq increased CAT activity only in 7th day compared to day 0. Both doses of ^{131}I led to a significant increase in GSH values in 7th day, while only a dose of 5.55 GBq induced a GSH reduction in 30th day after radiotherapy. As regards the level of free radicals, therapy with 5.55 GBq of ^{131}I increased the level O_2^- only in 30th days, while administration of 3.70 GBq did not change the O_2^- level in any of the examined time points. The H_2O_2 level in the blood of the DTC patients was decreased in 7th and 30th day after a dose of 3.70 GBq, and it was not changed significantly following the dose of 5.55 GBq. None of the examined ^{131}I doses induced a significant change in 'NO value compared to its pre-treatment level.

The correlation analysis of TBARS and hematological parameters showed that TBARS was negatively correlated with Hgb and Hct. Regarding enzymes activity and levels of their substrates it was found that SOD correlated with the O_2^- only in 30th day after a dose of 5.55 GBq, and the correlation was positive. The CAT activity was negatively correlated with H_2O_2 in all observed time points after a dose of 3.70 GBq, and after a dose of 5.55 GBq only in 30th day following exposure. Results of multiple linear regression analysis indicated that among all five tested parameters (SOD, CAT, GSH, O_2^- , H_2O_2 and 'NO), only SOD activity and levels of H_2O_2 and O_2^- had the statistically significant importance on TBARS level in blood of DTC patients.

This study showed that treatment with high doses of ^{131}I induced an increase in oxidative stress, seen as increased level of TBARS, disturbed balance of enzymatic and nonenzymatic antioxidant components and production of free radicals. Understanding of these early redox processes is important since their progress could affect the latter effects of ^{131}I therapy.

Key words: oxidative stress, antioxidant enzymes, lipid peroxidation, radioiodine therapy, differentiated thyroid carcinoma

ЗАХВАЛНИЦА

Захваљујем се колективу Центра за нуклеарну медицину Клиничког центра Крагујевац који ми је помогао у изради експерименталног дела ове докторске дисертације.

Огромну захвалност дугујем свом ментору, др. сци Ани Тодоровић на несебичној стручној помоћи, љубазности и стрпљењу које ми је прижила током израде ове тезе. Без њене подршке било би много теже истрајати и овај рад привести крају.

Поштовање и захвалност за идеју докторске тезе и омогућеном експерименталном раду дугујем проф. др Миловану Матовићу.

Велику захвалност дугујем проф. др Снежани Живанчевић-Симоновић на разумевању и стручним сугестијама који су ми помогли у писању ове докторске тезе

Проф. др Љиљани Мијатовић-Теодоровић се захваљујем на пријатељској подршци.

Проф. др Владимиру Јаковљевићу се захваљујем на стручним саветима.

Доц. др Олгици Михаљевић захваљујем на ентузијазму и корисним саветима који су били неопходни у изради ове тезе.

Др сци. Снежани Пејић се захваљујем на сарадњи и помоћи у анализи добијених података.

Доц. др Ивану Срејовићу се захваљујем на корисним сугестијама у завршној изради докторске тезе.

Проф. др. Вери Тодоровић се захваљујем на дугогодишњој сарадњи и подршци.

Проф. др Жељку Крнети се захваљујем на труду и времену уложеном за прорачуне и анализу добијених резултата.

Велику захвалност упућујем дипл. физичару Марији Јеремић на разумевању, личном и професионалном залагању и подршци у тешким тренуцима током израде тезе кад није све ишло како смо планирали.

Душку Кошутућу дипл. физичару дугујем посебну захвалност. У њему сам увек налазила саговорника спремног да саслуша, разуме и помогне.

За помоћ и труд око припреме резултата захваљујем се Владимиру Бркљачи.

Мирославу Адамовићу се искрено захваљујем на помоћи при техничкој обради докторске тезе.

Мом супругу Милораду, се захваљујем на разумевању, и подели лепих и тешких тренутака у изради ове тезе. Велико и топло хвала на бескрајном стрпљењу и љубави мојим ћеркама Јелени и Ивани, мојим звездама водиљама уз које сваки успех има већи сјај, стога је ова дисертација посвећена њима.

Садржај

1	УВОД.....	1
1.1	ЈОНИЗУЈУЋЕ ЗРАЧЕЊЕ – ПРИРОДА И ДЕЈСТВО.....	1
1.1.1	Осетљивост организма на зрачење у зависности од врсте извора и типа емисије ...	2
1.2	АНТИОКСИДАТИВНИ СИСТЕМ (AOS)	4
1.3	РЕДУКОВАНИ ГЛУТАТИОН (GSH).....	5
1.4	ЕНЗИМСКИ АНТИОКСИДАнти	7
1.4.1	Супероксид дисмутаза (SOD).....	7
1.4.2	Каталаза (CAT).....	9
1.4.3	Глутатион пероксидаза (GSH-Px)	11
1.4.4	Глутатион редуктаза (GR).....	12
1.5	ОКСИДАЦИОНИ СТРЕС И РЕАКТИВНЕ ВРСТЕ КИСЕОНИКА (ROS).....	13
1.5.1	Супероксид анјон радикал ($O_2^{\cdot-}$).....	15
1.5.2	Хидроксил радикал (OH^{\cdot})	16
1.5.3	Водоник пероксид (H_2O_2).....	17
1.5.4	Синглет кисеоник (1O_2).....	17
1.5.5	Азот оксид (NO).....	18
1.6	ШТИТАСТА ЖЛЕЗДА (Glandula thyreoidea, тиреоидна жлезда)	19
1.6.1	Малигни тумори штитасте жлезде.....	21
1.6.2	Терапија радиоактивним јодом (^{131}I).....	22
1.6.3	Припрема пацијената за терапију	24
1.6.4	Смештај пацијената у терапијски блок	25
1.6.5	Нежељени ефекти терапије ^{131}I	26
1.6.6	Праћење пацијената након примене ^{131}I	27
2	ЦИЉ.....	28
3	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	29
3.1	ПАЦИЈЕНТИ.....	29
3.1.1	Радиојодна терапија	29

3.2	ПРИПРЕМА УЗОРАКА ИЗ КРВИ	30
3.2.1	Крвна плазма	30
3.2.2	Лизат крвних ћелија	31
3.2.3	Екстракција хемоглобина (Hgb) из крвних ћелија	31
3.3	ОДРЕЂИВАЊЕ ХЕМАТОЛОШКИХ ПАРАМЕТАРА	31
3.4	ОДРЕЂИВАЊЕ АНТИОКСИДАТИВНИХ ПАРАМЕТАРА	32
3.4.1	Одређивање ензимске активности супероксид дисмутазе (SOD)	32
3.4.2	Одређивање ензимске активности каталазе (CAT)	33
3.4.3	Одређивање ензимске активности редукованог глутатиона (GSH).....	34
3.5	ОДРЕЂИВАЊЕ ОКСИДАТИВНИХ ПАРАМЕТАРА (ПАРАМЕТАРА ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА)	35
3.5.1	Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)	35
3.5.2	Одређивање концентрације супероксид анјон радикала ($O_2^{\cdot-}$)	36
3.5.3	Одређивање концентрације водоник пероксида (H_2O_2)	37
3.5.4	Одређивање концентрације азот оксида ($\cdot NO$)	38
3.6	СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА	40
4	РЕЗУЛТАТИ	41
4.1	ХЕМАТОЛОШКИ ПАРАМЕТРИ	41
4.1.1	Леукоцити (Le).....	41
4.1.2	Еритроцити (Er)	44
4.1.3	Хемоглобин (Hgb)	48
4.1.4	Хематокрит (Hct)	51
4.1.5	Тромбоцити (Tr)	55
4.2	ПАРАМЕТРИ АНТИОКСИДАТИВНОГ СТАТУСА	59
4.2.1	Индекс липидне пероксидације (TBARS).....	59
4.2.2	Супероксид дисмутаза (SOD)	62
4.2.3	Каталаза (CAT)	66
4.2.4	Редуковани глутатион (GSH)	69
4.3	СЛОБОДНИ РАДИКАЛИ	73
4.3.1	Супероксид анјон радикал ($O_2^{\cdot-}$).....	73

4.3.2	Водоник пероксид (H_2O_2).....	76
4.3.3	Азот оксид (NO).....	80
4.4	КОРЕЛИСАНОСТ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАТИВНИХ ЕНЗИМА И ЊИХОВИХ СУПСТРАТА	84
5	ДИСКУСИЈА.....	89
5.1	ЕРИТРОЦИТИ, ХЕМОГЛОБИН И ХЕМАТОКРИТ.....	91
5.2	ТРОМБОЦИТИ	93
5.3	ПАРАМЕТРИ АНТИОКСИДАТИВНОГ СТАТУСА	95
5.3.1	Оксидативни стрес	95
6	ЗАКЉУЧЦИ	102
7	ЛИТЕРАТУРА.....	105

1 УВОД

1.1 ЈОНИЗУЈУЋЕ ЗРАЧЕЊЕ – ПРИРОДА И ДЕЈСТВО

Јонизујуће зрачење је јак мутагени агенс у природи и саставни део средине у којој се човек рађа, одраста, ради и живи. То су електромагнетска или честична зрачења која имају довољно енергије да могу да јонизују материју кроз коју пролазе. При проласку кроз ћелију јонизујућа зрачења са одређеном вероватноћом предају део своје енергије појединим молекулима дуж путање. Какав ће бити ефекат зрачења на организам зависи од низа фактора међу којима су врста зрачења, величина дозе, дужина излагања, радиоосетљивост имуног система и капацитет репарационих система организма.

Како је ћелија основна градивна и функционална јединица свих живих бића, ефекти зрачења индукују значајне промене на цитолошком нивоу. Јонизујуће зрачење на ћелију може деловати директно и индиректно. Директно деловање јонизујућих зрачења огледа се у депоновању енергије зрачења у биомолекуле у ћелији при чему долази до њиховог оштећења. Индиректно деловање јонизујућих зрачења се заснива на радиолизи воде која чини 60-80% грађе ћелије живих организама. При томе настају веома реактивни слободни радикали ($\text{OH}\cdot$, $\text{H}\cdot$, H_2 и H_2O_2), који су моћни агенси оксидације и редукције. Ови молекули имају кратак полуживот (1 ns) и ограничен домет (3,5 nm) па делују у близини места настанка (1). Радикал $\text{H}\cdot$ је снажан редукујући агенс, док су $\text{OH}\cdot$ и H_2O_2 снажни оксиданси. Њихове реакције са биомолекулима могу довести до деградације хемијске структуре саме ћелије и њених конституената (дезоксирибонуклеинске киселине (DNK), протеина, липида, угљених хидрата, ензима), што за последицу има губитак њихове биолошке функције.

Ефекти радијације зависе од осетљивости и способности ћелије да репарационим механизмима исправи настала оштећења. Активно пролиферативне и недиферентоване ћелије су најосетљивије на зрачење, док су зреле ћелије релативно радиорезистентне. Код ћелија са брзим митотичким циклусима време за деловање репарационих механизма и исправљање оштећења је скраћено због чега се повећава

ризик за настанак хромозомских аберација, генетских мутација, поремећаја ћелијских функција и смрти ћелије (2).

1.1.1 Осетљивост организма на зрачење у зависности од врсте извора и типа емисије

Осетљивост организма на зрачење је различита и зависи од старосног доба, физиолошког стања организма, степена диферентованости ћелија, метаболизма и интензитета деобних процеса. Са смањењем способности ћелије за деобу смањује се и њена радиоосетљивост. Млађе и мање диферентоване ћелије су осетљивије на дејство јонизујућег зрачења. Осетљивост ћелије зависи и од фазе ћелијског циклуса у коме је изложена зрачењу. Ћелије су најосетљивије на дејство зрачења у G2 фази, а одлагање деобе је дуже уколико је доза зрачења већа (3). Након озрачивања, велики број ћелија пролази митозу и дели се, али се већ после прве деобе јављају мртве ћелије којих све више има након сваке наредне митозе. Битна карактеристика овог процеса је у томе да је код озрачених ћелија од момента озрачивања до деобе очувана метаболичка активност, али оне не могу дати потомство способно да се даље дели. Као резултат укупног повећања синтезе ћелијских елеманата (DNK, RNK и протеина) стварају се „гигантске“ ћелије које могу бити и стотину пута веће од неозрачених ћелија. Поремећај чврстине мембране и промене оптималног односа њихове површине и запремине најчешће доводе до смрти ћелије.

Јонизујући ефекат појединих врста зрачења дуж њихових путања није исти и може се међусобно упоредити на основу физичке величине LET. Линеарни енергетски трансфер (LET) представља губитак енергије по дужини пута јонизујуће честице и изражава се у keV/ μ m. Разлике у вредностима LET-а условљавају и разлике у биолошком одговору (4) и могу бити последица разлике у временској и просторној расподели енергије зрачења. Ефекат ^{131}I се базира на емисији бета честица (β – око 90%) и гама зрака (γ – око 10%) при радиоактивном распаду до стабилног ^{131}Xe .

LET бета честица износи од 0,2 до 1,0 keV/ μ m. Мада алфа честице имају знатно већу енергију од бета честица, њихов домет у ткиву је реда микрометра у односу на милиметарски домет бета честица (5). Само један погодак алфа честице, који потиче са

површине циљане ћелије и пролази кроз једру, у стању је да изазове двоструки прекид ланца ДНК и тиме спречи могућност репарације, док је за постизање истог ефекта бета честицама потребно чак 2000 до 3000 погодака (6). Осим директног дејства јонизације биомолекула, честице високог LET-а индиректно делују на биомолекуле преко слободних радикала који настају у великом броју на месту дејства честица (7).

Дејством зрачења ниског LET-а (x и γ зраци) енергија је распршена по читавој ћелији, а лезије које настају појединачним јонизацијама су распоређене по принципу случајности. Уколико свака лезија ДНК има једнаку шансу да формира хромозомску аберацију, онда ће и хромозомске аберације бити распоређене по принципу случајности што је и експериментално потврђено (8).

Постоји велика индивидуална варијабилност у остљивости на дејство јонизујућег зрачења (9). Најзначајнији показатељ повећане радиосензитивности генома код људи је хетерозиготност генског локуса за атаксиа телеангиектазија (АТ локус), као и активност 8 супресорских гена који контролишу његову активност (10). Како се хетерозиготност АТ локуса не уочава фенотипски, овакав генотип се најчешће детектује индукцијом дозног одговора *in vitro*.

1.2 АНТИОКСИДАТИВНИ СИСТЕМ (AOS)

Сматра се да је аеробни начин живота настао пре три и по милијарде година (11). Акумулација молекулског кисеоника у атмосфери је омогућила настанак и развој великог броја аеробних организама који користе O_2 као акцептор електрона и тиме остварују већи енергетски принос у односу на ферментацију и анаеробну респирацију. Упоредо са предностима аеробног начина живота, ови организми су се морали суочити и са штетним ефектима реактивних врста кисеоника ROS („Reactive Oxygen Species“) који се ослобађају у току аеробних метаболичких процеса. Показано је да 1-5% укупно конзумираног O_2 у организму бива непотпуно редуковано и ослобођено у форми ROS. У ниским концентрацијама ови реактивни молекули регулишу широк спектар физиолошких процеса као што су: генска регулација, ћелијска сигнализација, диференцијација, апоптоза и старење (12; 13; 14; 15; 16; 17; 18; 19). Са друге стране, у високим концентрацијама молекули ROS-а могу интераговати са ћелијским протеинима, липидима, нуклеинским киселинама и угљеним хидратима, те тиме изазвати промене у структури и функцији ћелије, па чак и њену смрт (20; 21).

У циљу одржања ROS-а у уском опсегу физиолошких концентрација, аеробни организми су развили комплексан систем регулације којим се ниво ових молекула може одржати на оптималном нивоу (22). Део овог сложеног механизма чине и антиоксиданти. Према Halliwell-у и Gutteridge-у (23) главни критеријум по коме неко једињење припада антиоксидативном систему јесте његова способност да у малим концентрацијама значајно одложи или спречи оксидацију супстрата. Исти аутори поделили су антиоксидативни систем у две категорије:

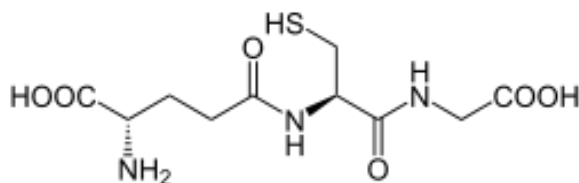
1. Неензимски антиоксиданси у које спадају: Витамин Ц (аскорбинска киселина), Витамин Е (алфа-токоферол), редуковани глутатион (GSH), тиреодоксин (Trx), алфа-липоинска киселина (ALA);

2. Ензимски антиоксиданси: супероксид дисмутазе (SOD), каталазе (CAT) и глутатион пероксидазе (GSH-Px).

1.3 РЕДУКОВАНИ ГЛУТАТИОН (GSH)

Глутатион је антиоксиданс који се састоји из три аминокиселине: глутаминске, цистеина и глицина (слика 1). Има га у свим ћелијама нашег организма (0-11 μM), највише га има у ћелијама јетре (до 10 μM), затим слезини, бубрезима, еритроцитима и леукоцитима (24), а у плазми га има знатно мање – око 4,5 μM (25). Сулфидрилна (тиол) група (SH) цистеина служи као дозор протона и одговорна је за биолошку активност глутатиона.

Он такође уклања хидрокси радикале и синглет кисеоник, а ензиме и остале ћелијске компоненте држи у редукваном стању (26). Како се у том процесу GSH оксидује, два молекула димеризују путем дисулфидног моста и реверзибилно формирају глутатион дисулфид тј. оксидовани глутатион (GSSG). Оксидовани глутатион се нагомилава у ћелији, а однос GSH/GSSG је добар параметар оксидативног стреса (27). У здравој ћелији и ткивима оксидовани глутатион не прелази 10% укупног ћелијског глутатиона, а 90% је у редукваном облику (28).



Слика 1. Структурна формула редукваног глутатиона (GSH)

http://sr.wikipedia.org/sr/Antioksidativna_za%C5%A1tita

Захваљујући свом редукуюћем потенцијалу, GSH помаже обнављање активних форми других антиоксиданата као што су витамин Ц и Е (29). Битна је и његова улога у контроли имуног одговора организма тако што помаже презентацију антигена лимфоцитима чиме утиче на производњу цитокина и хуморалном одговору, повећава пролиферацију лимфоцита, побољшава активност цитотоксичних Т ћелија и NK ћелија

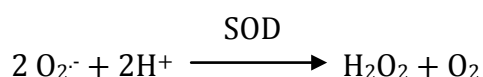
(Natural killer cells – „ћелије убице“). Новија истраживања указују да GSH регулише и ћелијску апоптозу (30).

Глутатион игра кључну улогу у бројним метаболичким и биохемијским реакцијама, као што су DNK синтеза и репарација, синтеза протеина, синтеза простагландина, транспорт аминокиселина и ензимска активност (31). Глутатион учествује у синтези леукотриена и као кофактор у синтези ензима глутатион пероксидазе (32). Код људи мутација гена укључених у синтезу GSH доводи до снижења концентрације GSH у ћелијама и ткивима: у леукоцитима на 50% нормалне вредности, у мишићима на око 25%, а у еритроцитима на 3%. Наследни недостатак GSH код људи није смртоносан вероватно зато што се извесна количина може унети храном. Недостатак глутатиона је праћен хемолитичком анемијом, периферном неуропатијом, миопатијом и аминокацидуријом (33).

1.4 ЕНЗИМСКИ АНТИОКСИДАнти

1.4.1 Супероксид дисмутаза (SOD)

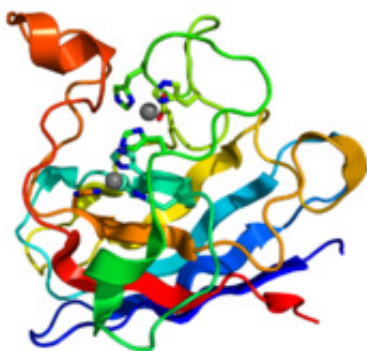
Супероксид дисмутаза (EC 1.15.1.1) су класа ензима који катализују дисмутацију супероксида у молекулски кисеоник и водоник пероксид (34) према следећој реакцији:



SOD су важни антиоксидативни ензими, налазе се код свих аеробних организама (35) и у свим деловима ћелије које стварају кисеоник.

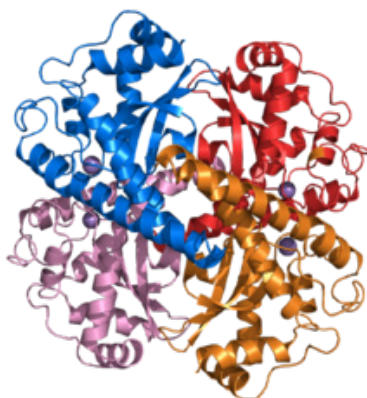
Код сисара су познате три изоформе овог ензима, а разликују се по локализацији и металу присутном у активном центру: *бакар-цинк супероксид дисмутаза* (CuZnSOD, SOD1), *манган супероксид дисмутаза* (MnSOD, SOD2) и *екстрацелуларна супероксид дисмутаза* (ES-SOD, SOD3).

Бакар-цинк супероксид дисмутаза (CuZnSOD, SOD1) је хомодимер молекулске тежине 32,5 kD (слика 2). У активном центру садржи бакар који је неопходан за каталитичку активност и цинк који доприноси стабилности ензима (36). Код човека ген за овај ензим се налази на хромозому 21 (37). Код особа са Дауновим синдромом активност овог ензима је повећана (38) и може довести до прераног старења и дегенерације неурона, као последица накупљања H_2O_2 (39). Мишеви којима недостаје SOD1 развијају различите болести, укључујући и хепатоцелуларни карцином (40), убрзани губитак мишићне масе (41) и смањен животни век. Мутације у CuZnSOD ензиму (SOD1) могу узроковати фамилијарну амиотрофичну латералну склерозу (ALS) облик болести моторног неурона (42).



Слика 2. Тродимензионална структура бакар-цинк супероксид дисмутаза
(http://en.wikipedia.org/wiki/Superoxide_dismutase)

Манган супероксид дисмутаза (MnSOD, SOD2) је тетрамер молекулске масе 96 kD који садржи манган у активном центру и углавном се налази у матриксу митохондрија (43) (слика 3). Активност MnSOD чини 10-15% од укупне SOD активности у ћелији. За разлику од CuZnSOD "knock-out" мишева који се, осим након трауматских повреда, не разликују од својих нормалних парњака, мишеви којима недостаје SOD2 умиру неколико дана након рођења, због масивног оксидативног стреса (44).



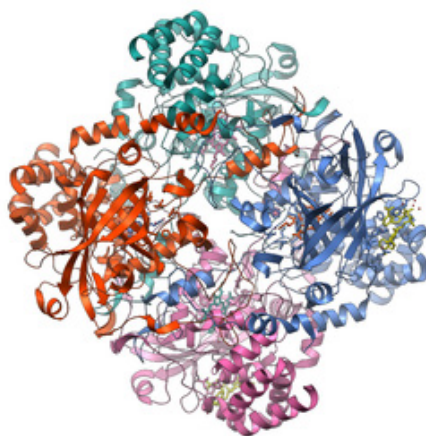
Слика 3. Тродимензионална структура манган супероксид дисмутаза
(http://en.wikipedia.org/wiki/Superoxide_dismutase)

Екстрацелуларна супероксид дисмутаза (ES-SOD, SOD3) је тетрамер молекулске масе 135 kD. Налази се у екстрацелуларном простору и чини највећи део SOD активности измерене у плазми, лимфи и синовијалној течности (45). Свака субјединица ES-SOD тетрамера у активном центру садржи по један атом цинка и један

атом бакра (46). Највећа концентрација овог ензима нађена је у плућима, срцу и тиреоидној жлезди (47; 48).

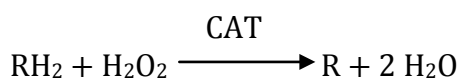
1.4.2 Каталаза (CAT)

Каталаза (ЕС 1.11.1.6) је хемопротеин, тетрамер састављен од четири субјединице од којих свака у активном центру садржи ферипротопорфиринску групу и има молекулску масу од 60 kD (49) (слика 4). Присутна је у свим ткивима сисара и основна улога јој је разградња водоник пероксида H_2O_2 до воде и молекулског кисеоника. Највећа активност јој је у јетри и еритроцитима, а мала активност је нађена у мозгу, срцу, скелетним мишићима и слезини. У самој ћелији каталаза је локализована у пероксизомима, али се може наћи и у цитоплазми и у митохондријама (50; 43). Ген за хуману каталазу се налази на хромозому 11 (51).



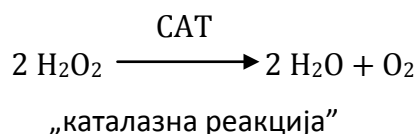
Слика 4. Тродимензионална структура CAT
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Catalase>)

У зависности од концентрације H_2O_2 разликује се брзина каталазне активности у ћелији. На ниским концентрацијама каталаза ће испољити спору „пероксидазну активност”. Велики број донора водоника (етанол, витамин Ц) ће бити оксидовани уз утрошак једног молекула H_2O_2 .



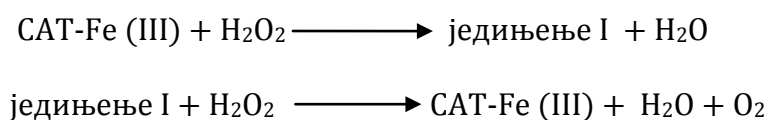
„пероксидазна реакција”

При високим концентрацијама H_2O_2 , CAT га разлаже великом брзином у такозваној „каталазној реакцији“ где се H_2O_2 понаша и као донор и као акцептор молекула водоника (52).



Каталазна активност је уочена код великог броја различитих протеина укључујући монофункционалне хем-каталазе, бифункционалне каталазе-пероксидазе и нехем-каталазе. Иако се ради о хетерогеној групи протеина, механизам њиховог каталитичког деловања је принципијелно исти и одвија се у два нивоа (53).

Ракција је двостепена и захтева везивање два молекула водоник пероксида у активном центру ензима. Један молекул H_2O_2 оксидује ферикаталазу у једињење I, а други молекул H_2O_2 редукује једињење I у ферикаталазу. Током каталитичког циклуса се H_2O_2 разлаже на воду и кисеоник (54).

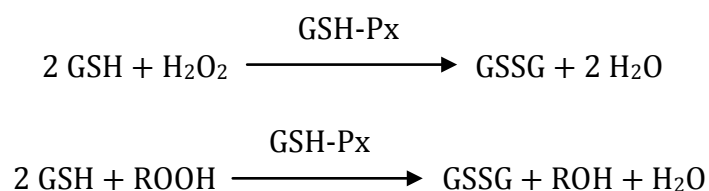


Један молекул каталазе разгради око 6×10^6 молекула водоник пероксида за један минут када су његове концентрације високе (52).

Када је активност каталазе инхибирана, концентрација H_2O_2 у јетри расте (55). Мутација гена за CAT код људи изазива Такахарину болест или акаталазију (56). Болест се манифестује сниженом активношћу CAT у еритроцитима и честим инфекцијама и улцерозним променама у устима. Бројни експериментални подаци указују да каталаза има важну улогу у процесима инфламације (49), мутагенезе (57), превенцији апоптозе (58) и стимулацији различитих врста тумора (59).

1.4.3 Глутатион пероксидаза (GSH-Px)

GSH-Px (EC1.11.1.9) је једна од најважнијих група антиоксидативних ензима и експримира се у свим аеробним организмима (60) (слика 5). Осим PHGPx, која је мономер (19 kD), остале изоформе GSH-Px су хомотетрамери, изграђени од четири идентичне субјединице молекулске масе од 19-25 kD. GSH-Px катализује глутатион-зависну редукцију водоник пероксида у воду и органских хидропероксида у одговарајуће алкоhole (61). Сматра се да је улога GSH-Px у еритроцитима везана за детоксификацију органских хидропероксида и одржавање у редукованом стању SH групе структурних и функционалних протеина еритроцита.



До сада су код сисара идентификоване четири селен-зависне изоформе овог ензима: целуларна GPx (GPx1), гастроинтестинална GPx (GPx2), екстрацелуларна GPx (GPx3) и фосфолипид хидропероксид GPx (GPx4). Осим ових селен-зависних, у ткивима сисара су присутне и четири селен-независне изоформе GPx: GPx5, GPx6, GPx7 и GPx8. Интересантно је да активни центар GPx6 код људи садржи селеноцистеин, а код мишева и пацова цистеински остатак без селена (62). Најважнија функционална разлика између ове две групе глутатион пероксидазе је та што селен-зависне GPx катализују редукцију и органских и неорганских пероксида, док селен-независне GPx реагују искључиво са органским пероксидима (63; 64).

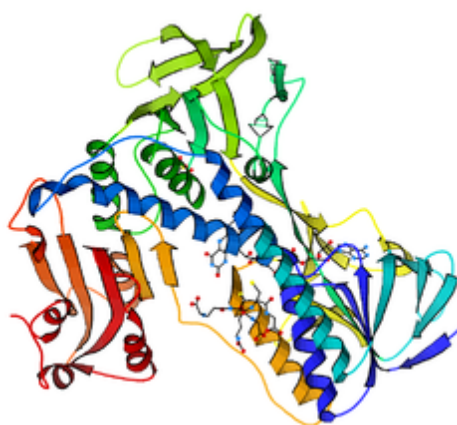
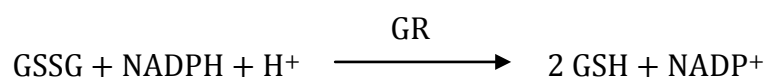


Слика 5. Трoдимензионална структура глутатион-пероксидазе (GSH-Px)

(http://en.wikipedia.org/wiki/Glutathione_peroxidase)

1.4.4 Глутатион редуктаза (GR)

Глутатион редуктаза (EC1.8.1.7) је флавопротеин који у активном центру садржи редокс активну дисулфидну групу (слика 6). Мада су код неких организама пронађени и тетрамерни облици овог ензима (65; 66) најчешће се јавља као димер. У ћелији га има у цитосолу и митохондријама. Глутатион редуктаза катализује реакцију редукције оксидованог глутатиона (GSSG) у редуковани глутатион (GSH) уз учешће NADPH као редукујућег кофактора (66).



Слика 6. Тродимензионална структура глутатион редуктазе
(http://en.wikipedia.org/wiki/Glutathione_reductase)

Глутатион редуктаза има улогу у заштити организма од оксидационих оштећења. Повећана активност GR запажена је у туморским ћелијама и ћелијама у којима је вештачким путем изазван оксидациони стрес (64).

1.5 ОКСИДАЦИОНИ СТРЕС И РЕАКТИВНЕ ВРСТЕ КИСЕОНИКА (ROS)

У току метаболичких процеса у ћелијама аеробних организама највећи део молекулског кисеоника се редукује до воде у процесу оксидативне фосфорилације на унутрашњој мембрани митохондрија, тако што се на сваки молекул кисеоника везује четири електрона. Приликом редукације молекулског кисеоника мањим бројем електрона који се дешава у око 5% случајева редукације O_2 настају делимично редуковани и токсични међупроизводи метаболизма кисеоника који се зову и слободни радикали кисеоника (68). Сам кисеоник је у организму слабо реактиван и није токсичан услед високе енергије активације и поседовања два неспарена електрона (69; 70). У већим концентрацијама и продукцијом његових реактивних врста, кисеоник може изазвати различита оштећења у ћелијама и ткивима (71) проузрокујући деградацију или инактивацију есенцијалних биомолекула тј. оксидациони стрес.

Оксидациони стрес је стање у коме расте продукција слободних радикала и/или опада брзина њихове елиминације, то јест када продукција ROS-а надмаши антиоксидативне одбрамбене капацитете ћелије. Показатељи оксидационог стреса су промена активности антиоксидационих ензима, оштећења DNK, стварање продукта оксидације протеина и липидне пероксидације. Процењено је да ћелију човека погађа $1,5 \times 10^5$ оксидативних удара дневно (72). Различити фактори из спољашње средине могу својим деловањем изазвати продукцију слободних радикала. То могу бити: високоенергетска зрачења, тешки метали, пестициди, висока температура, алкохол, анестетици, цитостатици, неки ароматични угљоводоници, хладноћа (73). Који ће део ћелије реаговати (протеини, нуклеинске киселине, мембрански липиди) са слободним радикалима зависи од природе радикала, места и извора његовог стварања (74; 75).

Оксидативни стрес има улогу и у патогенези многих болести. Тако на пример, канцер дебелог црева, акутни и хронични панкреатитис се доводе у везу са оксидативним стресом (76; 77). Нека истраживања указују да се и целијачна болест може довести у везу са оксидативним стресом и ROS-ом (78). Различити интраћелијски сигнални механизми који користе ROS као медијаторе, штите ћелије од оксидативног

стреса кога индукују повећани нивои самих ROS и тиме одржавају редокс хомеостазу (79).

Према дефиницији слободни радикали су било која хемијска врста способна за самостални опстанак, а која у спољашњој љусци електронског омотача садржи један или више неспарених електрона (22). Ако се неспарени електрон налази на кисеониковом атому, реч је о слободном радикалу кисеоника. Слободни радикали кисеоника заједно са молекулима који немају неспарене електроне, али су веома реактивни (нпр. синглет кисеоник и водоник пероксид) чине групу реактивних врста кисеоника (ROS). Према дефиницији у састав ROS-а улазе сви хемијски активни молекули који садрже кисеоник.

Неспарени електрони у спољашњој орбитали су одговорни за нестабилност и реактивност слободних радикала. Иако су у организму присутни у ниској концентрацији (10^{-5} - 10^{-9} mol), радикали лако ступају у реакције међусобно или са другим молекулима. Они покрећу ланчане реакције у којима секундарно настају други радикали као и реактивне врсте молекула који нису радикали, али који могу бити реактивнији од својих предходника у хемиској модификацији биомолекула. За ланчане реакције слободних радикала карактеристичне су три фазе: фаза иницијације, фаза пропације и фаза терминације (80).

У фази иницијације нерадикали примају или губе електрон, чиме им се значајно мењају физичке и хемијске особине.

У фази пропације новонастали слободни радикал активира околне хемијске врсте (циљани молекул) одузимајући им један електрон, при чему сам постаје стабилан, а циљани молекул преводи у форму слободног радикала. Настали слободни радикали су веома реактивни, делују даље и за веома кратко време се вишеструко умножи број слободних радикала. На тај начин добије се низ везаних ланчаних реакција које се саме пропагирају.

Фаза терминације је период заустављања, неутрализације слободних радикала и њихове пропације. За овај тип реакције задужени су: неензимски антиоксиданси, ензимски антиоксиданси или судар два слободна радикала. Овај систем антиоксиданаса пружа заштиту од токсичног дејства ROS-а, и то не само од слободних радикала кисеоника, попут супероксид анјон радикала ($O_2^{\cdot-}$), хидропероксил радикала (HO_2^{\cdot}) и хидроксил радикала ($\cdot OH$), већ и од реактивних врста кисеоника који нису

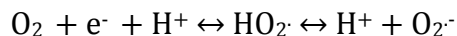
радикали, као синглет кисеоника ($^1\text{O}_2$) и водоник пероксида (H_2O_2) (81). Друге реактивне врсте кисеоника и азота, као што су органски пероксиди, алкоксил (RO) и пероксил (RO_2) радикали, пероксинитрит (ONOO^-) и азот оксид ($^{\cdot}\text{NO}$), продукти су интеракције угљеникових и азотних атома са O_2 (82).

Полуживот слободних радикала варира од неколико наносекунди за најреактивније молекуле, до пар секунди или сати за стабилније радикале (83).

1.5.1 Супероксид анјон радикал ($\text{O}_2^{\cdot-}$)

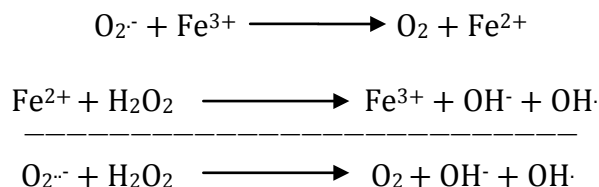
Супероксид анјон радикал ($\text{O}_2^{\cdot-}$) настаје једноелектронском редукцијом молекулског кисеоника (84).

Супероксид анјон радикал се јавља у два облика у зависности од рН вредности средине. У физиолошким рН вредностима доминантан је облик супероксид анјон радикала ($\text{O}_2^{\cdot-}$), док на нижим вредностима рН преовлађује облик хидропероксил радикала (HO_2^{\cdot}) (85).



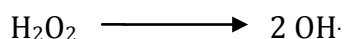
Овај радикал настаје у скоро свим аеробним ћелијама у току електронског транспорта, у митохондријама и ендоплазматском ретикулуму (49). Такође настаје и као споредан производ у неким реакцијама које катализују оксидазе и оксигеназе. Ксантин оксидаза катализује хидроксилацију пурина (86). Настаје и као резултат оксидације хемоглобина и миоглобина у метхемоглобин и метмиоглобин (87; 88). Под деловањем спољашњих фактора као што су јонизујуће зрачење (89) и неки цитостатици (90) у ћелијама настаје висока концентрација $\text{O}_2^{\cdot-}$. У физиолошким концентрацијама супероксид анјон радикал није нарочито реактиван и не изазива велика оксидативна оштећења, док у већим концентрацијама оштећује ензиме и ћелијске мембране, ремети синтезу ДНК и транскрипцију РНК, што све може бити узрок процеса канцерогенезе (88).

Штетни ефекти супероксид анјон радикала се заправо највећим делом заснивају на Haber-Weissovoj реакцији у којој $\text{O}_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 у присуству Fe^{3+} формирају екстремно реактивни хидроксил радикал (OH^{\cdot}) (91):

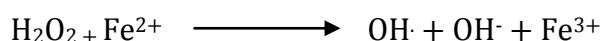


1.5.2 Хидроксил радикал (OH[·])

Хидроксил радикал настаје као продукт деловања слободних радикала у живим организмима и тренутно реагује са молекулима који га окружују одузимајући им атом водоника (92). Због изузетне реактивности реагује са свим молекулима присутним у ћелији укључујући шећере, масти, аминокиселине и нуклеотиде. OH[·] лако дифундује кроз ћелијску мембрану и степен оксидативних оштећења у ћелији је ограничен стопом дифузије. У организму OH[·] може настати као последица деловања јонизујућих зрачења када долази до радиолизе молекула воде или водоник пероксида (93).



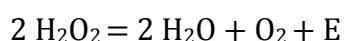
Главни извор настанка хидроксил радикала *in vivo* је Фентонова реакција. Донор електрона је феро јон Fe²⁺.



Важно је нагласити да не постоји ниједан специфични антиоксидативни механизам којим би се успешно контролисала екстремна реактивност OH[·], што истиче значај антиоксидативних стратегија које се заснивају на спречавању његове продукције. У ове стратегије спадају дисмутација O₂^{·-}, разлагање H₂O₂ до воде, везивање јона гвожђа и бакра, превенција формирања и неутрализација већ формираних ROS-а (94).

1.5.3 Водоник пероксид (H_2O_2)

Водоник пероксид може настати двоелектронском редукцијом молекулског кисеоника, једноелектронском редукцијом супероксид анјон радикала или ензимском дисмутацијом супероксид анјон радикала под дејством SOD. Њега могу да стварају и други ензими као нуспроизвод. У ћелији се ствара у пероксизомима, митохондријама, ендоплазматском ретикулуму, као и у ћелиској мембрани (93). Водоник пероксид је бистра течност, која лако дифундује кроз ћелијске мембране. Штетно деловање H_2O_2 се испољава оксидацијом сулфидрилних група протеина као и иницијацијом процеса липидне пероксидације (95). У физиолошким условима H_2O_2 има важну улогу у путевима сигналне трансдукције, док у патолошким стањима може довести до некрозе и апоптозе (55). При високим концентрацијама H_2O_2 ензим каталаза га разлаже на воду и молекулски кисеоник где се H_2O_2 понаша и као акцептор и као донор молекула водоника (96). Водоник пероксид има значајну улогу у процесу заштите организма од бактерија јер у његовом присуству ензим мијелопероксидаза фагоцита продукује реактивну хипохлорну киселину (HClO) и хидроксил радикал ($\text{OH}\cdot$) који су неопходни за овај процес (97). H_2O_2 подлеже спонтаном распадању на воду и кисеоник уз ослобађање енергије.



1.5.4 Синглет кисеоник ($^1\text{O}_2$)

Синглет кисеоник није радикал јер нема неспарених електрона. Може настати ексцитацијом молекулског кисеоника енергијом, ослобођеном при осветљавању неких пигмената (хлорофил а и б, флавин), као и низом реакција у биолошким системима: активношћу пероксидаза и липоксигеназа, реакцијом H_2O_2 са хипохлоритом (98) или активношћу фагоцита (99). Снажан је оксидујући агенс (100). Да би се вратио у основно стање мора да преда вишак енергије на други молекул, што у ствари узрокује његову реактивност.

1.5.5 Азот оксид (NO)

Азот оксид је радикал у гасовитом стању, који има улогу оксидативног молекула у многим физиолошким процесима у организму. У организму се ствара у неуронима, неутрофилима, макрофагима и васкуларном ендотелијуму захваљујући активношћу NO синтетазе. Због тога има улогу у регулацији крвног притиска, неуротрансмисији, релаксацији глатких мишића и одбрани организма (67,79).

Такође NO настаје током азот оксид синтетазом катализоване оксидације гуанидинске групе L-аргинина у цитрулин (101). У васкуларном ендотелу има улогу у спречавању крварења и ширења инфективних агенаса. NO учествује у регулацији васкуларне отпорности при чему блокира адхезију инфективног агенса за зидове крвних судова. Овим се активирају и одређени сигнални путеви који активирају проинфламаторне процесе чиме се спречава инфекција (102).

1.6 ШТИТАСТА ЖЛЕЗДА (*Glandula thyreoidea*, тиреоидна жлезда)

Штитаста жлезда је ендокрина жлезда у нашем организму просечне тежине око 20 грама. Има изглед штита или лептира и смештена је на предњој страни врата, испред душника, између крикоидне хрскавице и супрастерналне јаме. Састоји се из два лобуса који су спојени истмусом. На задњој страни тиреоидне жлезде налазе се паратиреоидне жлезде којих обично има четири, највише шест (103) (слика 7). Основна јединица грађе штитасте жлезде је фоликул. Епител који гради фоликул има један ред ћелија које су коцкастог облика окренуте ка шупљини фоликула, а ослоњене на базалну мембрану. Унутрашњост фоликула испуњава колоид чији је главни састојак тиреоглобулин кога луче фоликуларне ћелије и по саставу је гликопротеин велике молекулске масе. Између епителних ћелија фоликула су смештене парафоликуларне Ц ћелије које синтетишу и луче хормон тиреокалцитонин (TST). Штитаста жлезда ствара и секретује хормоне тетрајодтиронин (тироксин T4), тријодтиронин (T3), реверзни тријодтиронин (rT3) и тиреокалцитонин.

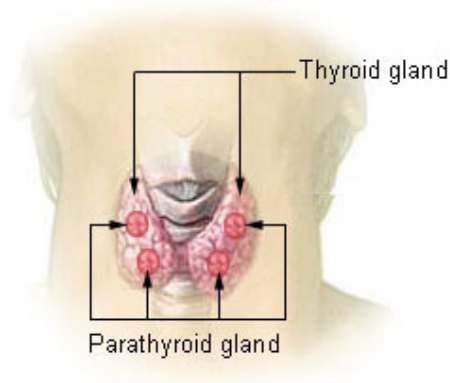
За стварање тироксина (T4) и тријодтиронина (T3) потребно је присуство јода. Он се углавном уноси храном и водом из спољашње средине, а у организму потиче од разградње и дејодинације хормона. Јод унет из спољашње средине се апсорбује у гастроинтестиналном тракту као јодид. Дневне потребе су 100-200 микрограма јода. Из црева путем циркулације јод доспева до епителних ћелија фоликула где се уз помоћ ензима пероксидазе оксидује до елементарног јода. Из плазме јод се у штитасту жлезду транспортује активним преносом кроз базалну мембрану и пасивним транспортом кроз апикалну плазматску мембрану тиреоцита. Активан пренос врши транспортни протеин Na/I симпортер (NIS), а пасивни обавља транспортни протеин пендрин (104) и апикални јодни транспортер (Apical Iodide Transporter (AIT)) (105). Затим се оксидисани јод уз помоћ ензима јодазе везује за тирозинске остатке у тиреоглобулину. Овакав тиреоглобулин се депонује у средини фоликула у виду колоида (106). Секреција и стварање хормона T4 и T3 у штитастој жлезди су под директним утицајем тиреостимулишућег хормона хипофизе (TSH), а он је под утицајем

тиреотропина (TRH) хормона хипоталамуса. TSH се везује за рецепторе на фоликуларним ћелијама, који онда индукују синтезу и лучење тироидних хормона.

Регулација синтезе се одвија по принципу негативне повратне спреге тј. пораст тироидних хормона у плазми инхибира секрецију TSH и TRH, и обрнуто. Дакле за нормално функционисање штитасте жлезде потребно је да нормално функционише хипоталамусно-хипофизно-тиреоидни систем (107; 106). Тироидни хормони путем крвотока доспевају до циљних органа. У крвотоку хормони су у слободном облику или су везани за транспортне протеине плазме: тироксин везујући глобулин (Thyroxine Binding Globuline (TBG)), везујући преалбумин (Thyroxine Binding Prealbumine (TBPA)) и албумин. Овим везивањем се спречава губитак хормона путем бубрега, а везани облик чини и резерву хормона. Слободни се налазе у веома малој количини око 0,1% у циркулацији и веома су битни јер представљају активни облик хормона. Између слободног и везаног облика хормона постоји равнотежа. Тироидни хормони имају кључну улогу у развоју нервног система, подстичу будност, повећавају осетљивост на различите стимулусе, утичу на осећај глади, памћење и способност учења, као и на одржавање нормалне трудноће (108).

Тиреокалцитонин је хормон који синтетишу парафоликуларне Ц ћелије. Овај хормон смањује концентрацију јона калцијума у плазми. Своје деловање остварује везивањем за мембранске рецепторе остеокласта инхибирајући њихову активност. Користи се као тумор маркер код медуларног карцинома штитасте жлезде.

Thyroid and Parathyroid Glands



Слика 7. Тироидна жлезда и паратиреоидне жлезде

(http://sr.wikipedia.org/sr/Штитаста_жлезда)

1.6.1 Малигни тумори штитасте жлезде

Када се говори о малигнитету ендокриног система најчешће се мисли на малигнитет штитасте жлезде. Он се јавља у 95% случајева свих дијагностикованих карцинома ендокриног система (109), а годишња стопа инциденце у различитим деловима света се креће од 0,5-10 случајева на 100,000 становника (110). У Србији, по подацима Института за заштиту здравља „ Др Милан Јовановић Батут“ из 2009. године, број новооболелих износи 1,6 мушкараца и 5,8 жена на 100,000 становника на годишњем нивоу (111).

И поред великог броја дијагностичких поступака веома је тешко поставити дијагнозу малигнитета, нарочито у случају појединачних нодуса у штитастој жлезди који могу бити бенигни или малигни. Савремени приступ постављања дијагнозе обухвата: клинички преглед, ултразвучни преглед, одређивање хормонског статуса, сцинтиграфију и цитолошку анализу пунктата (112; 113; 114). Најважнија је прецизна дијагностика и одговарајућа терапија које омогућавају у већини случајева дуго преживљавање пацијената. На основу бројних испитивања, примећено је да је у подручјима где је повећана радијација као последица нуклеарних катастрофа број оболелих са карциномом штитасте жлезде повећан (115; 116; 117; 118; 119). Такође и терапијска озрачивања пацијената оболелих од карцинома дојке, Hodgkin-ове болести и осталих малигнитета у пределу врата могу повећати осетљивост штитасте жлезде и довести до настанка малигнитета (120; 121). Бројне студије су испитивале повезаност исхране и навике људи као потенцијалне факторе за настанак карцинома. Повећан унос јода у организам може се довести у везу са настанком папиларног тиреокарцинома (РТС) (122; 123), док његов дефицит може допринети настанку фоликуларног тиреокарцинома (ФТС) (12).

Према данас важећој класификацији Светске Здравствене организације (WHO) (125; 126; 127) сви тумори штитасте жлезде се на основу њихове патохистолошке грађе могу поделити на (табела 1):

Табела 1. Патохистолошка подела тумора штитасте жлезде

I. Епителијални тумори:	II. Неепителијални тумори:
А. Бенигни тумори	А. Бенигни тумори
1. фоликуларни аденоми	Б. Малигни тумори
2. остали	1. фибросаркоми
Б. Малигни тумори	2. остали
1. фоликуларни карцином	III. Различити тумори
2. папиларни карцином	1. карциносарком
3. планоцелуларни карцином	2. малигни хемангиоендотелиом
4. недиферентовани (анапластични) карцином:	3. малигни лимфом
а. вретенастих ћелија	4. тератоми
б. џиновских ћелија	IV. Секундарни тумори
ц. малих ћелија	V. Некласификовани тумори
5. медуларни карцином	VI. Туморолике промене

Папиларни (PTC), фоликуларни (FTC), папиларно-фоликуларни и Hurthle cell карциноми се називају једним именом диферентовани карциноми штитасте жлезде (Differentiated thyroid carcinoma (DTC)) (128). Најчешћи су папиларни и фоликуларни карциноми, и чине око 90% свих малигних тумора штитасте жлезде (129).

Папиларни тиреокарцином (PTC) се јавља у око 80-90% случајева тиреоидног канцера. Обично се јавља око четрдесете године живота и три пута је чешћи код жена него код мушкараца (130). Најчешће се јавља у виду тврдог чвора у тироидној жлезди (131). Поред високе инциденце јављања има спор раст и доста добру прогнозу.

Фоликуларни тиреокарцином (FTC) се јавља у око 5-10% случајева тиреоидног канцера и чешће се јавља код жена. Агресиван је и даје метастазе у кости, плућа, јетру и мозак хематогеним путем. Сматра се да настаје прогресијом бенигних нодуса у дужем временском периоду (132).

1.6.2 Терапија радиоактивним јодом (^{131}I)

Лечење карцинома штитасте жлезде је у основи хируршко. Многе студије рађене у Европи и у Америци код пацијената са малигним туморима већим од 1 cm предлажу лечење тоталном тироидектомијом, а као допунско лечење TSH супресивном терапијом L-тироксином и радиоаблацију ^{131}I . Лечење ^{131}I се спроводи

више од 40 година било као аблативна терапија преосталог ткива после тиреоидектомије или терапије локалних остатака тумора, локалних рецидива, локалних и удаљених метастаза тумора после парцијалне или тоталне тиреоидектомије код добро диферентованих карцинома штитасте жлезде и то оних чије ћелије везују јод (133; 134; 135; 136). Основна карактеристика ових тумора је да имају очуваност функције NIS транспортера и способност синтезе тиреоглобулина. Терапијски ефекат ^{131}I се базира на емисији бета честица (β – око 90%) и гама зрака (γ – око 10%) при радиоактивном распаду до стабилног ^{131}Xe . Време физичког полураспада ^{131}I је 8,04 дана, а домет у ткиву 0,8 mm. Радиоактивни јод се уноси оралним путем у организам у виду капсула или раствора. Путем крвотока стиже до штитасте жлезде где се акумулира и уграђује у њене хормоне. Као такав рециркулише и равномерно се распоређује у сва ткива у телу. Око 90% органског радиојодида се враћа у крв и излучује преко крвотока бубрега и урина, а осталих 10% преко гастроинтестиналног тракта у спољашњу средину. Везивањем за ткиво тироидне жлезде бета честице уништавају тироидне ћелије, а гама фотони омогућавају посттераписки сцинтиграм на коме се може видети да ли има метастаза и где. Радиојодној терапији претходи сцинтиграфија целог тела са дозом од 74-185 MBq ^{131}I (13), а која се спроводи 4-6 недеља након хируршке интервенције. Неки аутори подржавају сцинтиграфију док је други предлажу само код одређених пацијената (137). Различити ставови су због могуће појаве „stunning”-а, тј. негативног деловања дијагностичке дозе ^{131}I на радиојодну терапију (138; 139). У том периоду пацијенту се саветује да не узима супституциону терапију хормонима штитасте жлезде да би вредност TSH била већа од 30 $\mu\text{U/mL}$ (134; 140; 135; 136). Многи аутори сматрају да TSH повећава експресију NIS (141) чиме се повећава везивање радиојода. Ако је сцинтиграфски налаз позитиван примењује се радиојодна терапија. Сматра се да лечење треба применити и код негативног сцинтиграфског налаза ако је повишена концентрација тиреоглобулина (Tg). У раду Mazzaferri-а где су праћени пацијенти са папиларним карциномом штитасте жлезде је приказано да мању стопу рецидива имају пацијенти који су лечени ^{131}I уз супресију тиреоидним хормонима, него пацијенти који су примали само тиреоидне хормоне (14). Постоје разлике у ставовима о величини активности дозе ^{131}I зависно од хистопатолошке класификације тумора, процене ризика и присутности метастазе.

Претходних година објављена су и обновљена упутства многих међународних лекарски друштава која се односе на постоперацијску примену ^{131}I . То су: Америчко удружење за штитасту жлезду (АТА), Европско удружење за штитасту жлезду (ЕТА), Европско друштво за медицинску онкологију (ESMO), Свеобухватна државна мрежа за рак USA (NCCN) и Европско друштво за нуклеарну медицину (EANM). Према њима болесници се могу сврстати у:

1. групу болесника код којих није индикована постоперацијска примена ^{131}I – група болесника ниског ризика по TNM класификацији (143; 144),
2. групу код које се може разматрати примена ^{131}I и
3. групу где постоји јасна индикација за примену ^{131}I – група болесника високог ризика по TNM класификацији (145).

Постоје и три приступа у одређивању терапијске активности ^{131}I : фиксни дозни приступ, затим давање максималне тераписке дозе којом се постиже максимално допуштена доза озрачености крви (костне сржи) и поступак израчунавања дозе за туморско ткиво за сваког пацијента. Најчешће се користи фиксни дозни приступ јер се заснива на искуству и успеху код пацијената. Користе се дозе у распону од 1110 MBq (30 mCi) до 3700 MBq (100 mCi) за аблацију остатка штитасте жлезде (146) или од 3700 MBq (100 mCi) до 11100 MBq (300 mCi) за лечење метастаза (147). Другим речима, циљ терапије је да се постигну најбољи могући тераписки ефекти ^{131}I на тиреоидном односно туморском ткиву са најмањом могућом дозом радиојода. Лечење радиоактивним јодом сматра се веома погодним код старијих пацијената који су срчани болесници или код пацијената који су једном већ оперисали штитасту жлезду.

1.6.3 Припрема пацијената за терапију ^{131}I

Пре давања радиојодне терапије треба извршити припрему пацијената. Вредност TSH треба да буде изнад 30 $\mu\text{U/ml}$ (148; 141). То се постиже обустављањем супституционе терапије најмање три недеље, а што може пацијента довести у стање хипотиреозе. У пракси је све више заступљена примена рекомбинантног хуманог TSH (rhTSH) који се аплицира пацијенту у дози од 0,9 mg интрамускуларно два дана (149; 150; 148; 151). Предност ове терапије је што се код пацијента избегава стање хипотиреозе, а лекару омогућава флексибилност у планирању терапије. Ради

постизања боље ефикасности радиојодне терапије пацијенту се саветује и дијета са смањеним уносом јода у организам (152; 135). Избегавати или максимално смањити: јодирану или морску со, јаја, морске плодове, усољене производе, млеко и млечне производе. Дијета се саветује пре апликације радиоактивног јода у трајању од 7-30 дана, а дневни унос јода је око 25-75 μg (153). Већина аутора сматра да је најбоље пре радиојодне терапије урадити контролу мерењем вредности излученог јода у урину (135; 136). Апсолутна контраиндикација за примену радиоактивног јода су трудноћа и дојење (154). Релативне контраиндикације су: депресија костне сржи, смањена функција плућа, поремећај функције пљувачних жлезда и присуство неуролошких оштећења.

1.6.4 Смештај пацијента у терапијски блок

Извор ^{131}I се добија у оргиналном, стандардизованом контејнеру и чува се у оловној каси у просторијама Центра за нуклеарну медицину. Непосредно пре уласка пацијента у собу терапијског блока, врши се пренос капсуле у контејнеру који се отвара у соби терапијског блока. Пацијенту се по доласку објасни како треба да се понаша при поступку испијања капсуле, а поступак се практично и обави „на хладно“ без радиоактивне капсуле. По узимању капсуле ^{131}I пацијент одлази у своју собу са засебним WC-ом, затвара врата и понаша се у складу са добијеним упутством. Даљи надзор и комуникација са пацијентом одвијају се путем аудио-визуелног система који је постављен у соби пацијента, соби дежурног особља и на пулту особља које ради непрекидно (155; 156).

Континуирано се даљински прате и виталне функције пацијента (дисање, рад срца, EKG, притисак), како током администрације ^{131}I тако и за време боравка у терапијском блоку. Овај систем обезбеђује високи степен сигурности за пацијента. Првог дана и сваког наредног дана у исто време, на мерном уређају (technical asociatiess TBM-15D) врши се читавање изложености јонизујућим зрачењима у тачно дефинисаној истој геометрији и прорачунава заостала активност. Пацијент се отпушта из собе терапијског блока на кућно лечење обично након 3 дана односно када активност ^{131}I у организму буде испод 400 MBq (157).

1.6.5 Нежељени ефекти терапије ¹³¹I

Сем жељених терапијских ефеката на тиреоидно ткиво, односно ткиво тумора, радиојод има ефекте и на друга ткива и органе чије ћелије садрже NIS као што су плувачне жлезде, желудачна мукоза, бубрези, ткиво дојке (158), зид мокраћне бешике, колон, гонаде, костна срж. Код неких пацијената у првих 12 сати од апликације радиојода могу да се јаве симптоми у виду мучнине, повраћања, металног укуса у устима и главобоља. Због пролазне депресије костне сржи може доћи до појаве анемије, леукопеније и тромбоцитопеније. Оток и бол у врату и бол у уху су чешћи код пацијената са великим тиреоидним остацима. Може да се јави и упала паротидних и субмандибуларних жлезда, која траје неколико дана. Ови рани нежељени ефекти су пролазни, реверзибилног су карактера и лече се супституционом терапијом. Сијалоаденитис може бити ограничен, а превентивно се даје пацијентима сок од лимуна (159; 160). Смањено задржавање радиојода у колону се постиже давањем лаксатива (161; 137), мада има и мишљења да давање лаксатива није неопходно (162). Ради скраћења времена проласка радиојода кроз уринарни систем пацијентима се саветује да узимају већу количину течности одмах након узимања терапије радиоактивног јода. Применом диуретика може се постићи убрзање елиминације радиојода урином (163). Супротно томе, нека истраживања указују да диуретик фуросемид примењен код пацијената који су били на дијети сиромашној јодом узрокује неочекивано смањење елиминације радиојода урином (164). Шта више, примена фуросемида код ануричних пацијената повећава акумулацију радиоактивног јода у тиреоидном остатку (155). Примена већих доза радиојода од 5,55 GBq може довести до оштећења DNK и удвостручити број мутација. Због тога се женама саветује да избегавају трудноћу следећих 6-12 месеци након терапије (165; 154).

Такође, код жена може да се јави поремећај функције јајника праћен поремећајем могућности зачећа (166), односно рани почетак менопаузе нарочито после поновљене терапије радиојодом (167). Код мушкараца може да се јави азоспермија (168) која је обично реверзибилна. Касни нежељени ефекти се ретко јављају. Обично се јављају код пацијената који су примали високе активности ¹³¹I због присуства метастаза (169; 170).

Код пацијената који имају дифузне плућне метастазе као последица зрачне терапије јодом могу да се јаве плућне фиброзе. Међутим, ризик од секундарних малигнитета код примене радиојодне терапије је ипак веома низак (169; 171). Примена поновљених доза ^{131}I у краћем временском интервалу може довести до настанка аплазије костне сржи и настанка секундарних малигнитета (169). Сматра се да је горња граница кумулативне дозе 37 GBq ^{131}I .

1.6.6 Праћење пацијената након примене ^{131}I

Праћење болесника након примене радиоактивног јода је доживотно. Започиње већ при отпуштању пацијента из терапијског блока када се ради посттерапијска сцинтиграфија целог тела. Касније пацијенти се по протоколу контролишу: 3., 6. и 12.-тог месеца и касније једном годишње доживотно. Све време пацијенти су под супресивно супституционом терапијом L-тироксина. Добра клиничка пракса подразумева да се годину дана након радиојодне аблације пацијенту обустави супституциона терапија у трајању од 4 недеље како би се урадио контролни сцинтиграм. Апликује се доза од 111 MBq ^{131}I и након 48h до 72h ради се whole body сцинтиграфија (WBS). Такође се одређује и вредност Tg у серуму пацијената након примене радиоактивног јода (172; 173; 174). Пораст Tg изнад 0,2 ng/mL у условима супримираног TSH (<0,2 mIU/mL) је упозорење, а у условима високог TSH (>30 mIU/mL) пораст Tg преко 2 ng/mL је аларм који нас упућује на поновно лечење радиојодом ако је јодавидно ткиво на основу WBS (175).

2 ЦИЉ

Циљ студије је да се код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде (DTC) испитају хематолошки параметри, параметри оксидативног стреса и антиоксидативне заштите пре и након апликације великих доза радиоактивног јода (^{131}I), те да се добијене вредности анализирају у односу на дозу апликованог ^{131}I (3,70 и 5,55 GBq), и време протекло од његове примене (3., 7. и 30. дана након терапије). У складу са овим општим циљем постављени су и следећи специфични циљеви:

Циљ 1. Испитати да ли постоји разлика у хематолошком статусу DTC пацијената пре и након терапије ^{131}I (3., 7. и 30. дана након терапије) и то у: броју леукоцита (Le), броју еритроцита (Er), броју тромбоцита (Tr), вредности хемоглобина (Hgb) и хематокрита (Hct).

Циљ 2. Испитати да ли постоји разлика у активности антиоксидативних ензима од DTC пацијената пре и након терапије ^{131}I (3., 7. и 30. дана након терапије) и то: супероксид дисмутазе (SOD), каталазе (CAT), као и у нивоу редукованог глутатиона (GSH).

Циљ 3. Испитати да ли постоји разлика у концентрацији реактивних врста кисеоника (ROS) код DTC пацијената пре и након терапије ^{131}I (3., 7. и 30. дана након терапије) и то: супероксид анјон радикала (O_2^-), водоник пероксида (H_2O_2) и азот оксида (NO).

Циљ 4. Испитати да ли постоји разлика у интензитету липидне пероксидације (TBARS) код DTC пацијената пре и након терапије ^{131}I (3., 7. и 30. дана након терапије).

Циљ 5. Испитати да ли постоји корелација између апликоване дозе радиоактивног јода (3,70 и 5,55 GBq) и: промена у хематолошким параметрима, активности антиоксидативних ензима, концентрације реактивних кисеоничних радикала и интензитета липидне пероксидације.

Циљ 6. Испитати да ли постоји корелација између промена хематолошких параметара и интензитета оксидативног стреса код DTC пацијената након терапије радиоактивним јодом током студијског периода од 30 дана.

3 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1 ПАЦИЈЕНТИ

Истраживање је одобрено од стране Етичког одбора Клиничког центра у Крагујевцу број 02-3034. Обухватило је 68 пацијената оба пола (50 жена и 18 мушкараца) од 21 до 76 година, просечне старости 54,4+14,3 година, којима је претходно урађена тотална тиреоидектомија и код којих је хистопатолошки дијагностификован диферентовани карцином штитасте жлезде (DTC). У циљу повећања ефикасности терапије ¹³¹I пацијентима се саветовала дијета сиромашна јодом (дневно око 25-75 mg) у трајању од две недеље пре почетка терапије.

Пацијенти нису имали потврђене удаљене метастазе и били су без супституције у трајању од 4-6 недеља са постигнутим нивоом TSH>30 mIU/L, када им је апликована аблациона доза радиоактивног јода ¹³¹I по EANM водичу (136) и то 3,70 GBq (34 пацијента) или 5,55 GBq (34 пацијента).

Узорци крви пацијената узимани су у Центру за нуклеарну медицину Клиничког центра Крагујевац, као и њихови основни подаци. Крв од пацијената узимана је венепункцијом пре терапије 0., затим 3., 7. и 30. дан након терапије радиоактивним јодом ¹³¹I. Узорци крви добијени су у складу са постојећим здравственим и етичким прописима Републике Србије. Сви пацијенти дали су сагласност са овим истраживањем. У истраживање нису били укључени пацијенти који су млађи од 18. година, пацијенти који су преосетљиви на препарате јода, пацијенти који имају депресију костне сржи, пацијенти са смањеном функцијом плућа, пацијенти који имају поремећај функције пљувачних жлезда, пацијенти са присутним неуролошким оштећењима и пацијенткиње које су трудне или доје децу.

3.1.1 Радиојодна терапија

Циљ радиојодне терапије код тиреоидектомираних пацијената је уништење преосталог функционалног ткива штитасте жлезде, ради терапије рецидива или локалних односно удаљених метастаза DTC. Вредност дозе јода која ће се дати пацијенту је конзилијарна одлука. У циљу повећања ефикасности терапије ¹³¹I

пацијентима се саветује дијета сиромашна јодом (дневно око 25-75 mg) у трајању од две недеље пре почетка терапије. Извор ^{131}I се добија у оригиналном контејнеру и чува се у оловној каси у просторијама Центра за нуклеарну медицину. Непосредно пре уласка пацијента у собу врши се пренос капсуле у контејнеру који се отвара у соби терапијског блока. Пацијенту се по доласку објасни начин како треба да се понаша при поступку испијања капсуле, и поступак се практично и обави „на хладно“ без радиоактивне капсуле. По узимању капсуле ^{131}I чија активност се креће у границама од 3,70 GBq до 5,55 GBq пацијент одлази у своју собу, затвара врата и понаша се у складу са добијеним упутством.

Даљи надзор и комуникација са пацијентом одвијају се путем аудио визуелног система који је постављен у соби пацијента, соби дежурног особља и на пулту особља које ради непрекидно. Првог дана и сваког наредног дана у исто време, дипломирани физичар запослен у Центру за нуклеарну медицину улази у терапијски блок, укључује монитор зрачења и читава експозициону дозу код пацијента.

Пацијент се отпушта из болнице-терапијског блока када активност ^{131}I у организму буде регистрована испод 400 MBq.

3.2 ПРИПРЕМА УЗОРАКА ИЗ КРВИ

Из узорака венске крви одређиване су вредности хематолошких параметара и маркера оксидационо-антиоксидационог статуса. Крв је узимана непосредно пре примене антијодне терапије (нулти дан), а затим трећег, седмог и тридесетог дана од примене радиојодида. У пуној крви одмах након узорковања одређивани су хематолошки параметри. Крвна плазма је замрзавана и у њој су мерени оксидативни параметри.

3.2.1 Крвна плазма

Свежа крв се центрифугира на 3000 обртаја, 10 минута, на 4°C, чиме су крвне ћелије оборене у талог, а крвна плазма је одвајана и чувана на -70°C .

3.2.2 Лизат крвних ћелија

Крв која је чувана на -70°C је отапана и снажно вортексована. Крви се затим додаје 2 волумена дестиловане воде и узорак се поново вортексује 1 минут уз држање на леду. После центрифугирања на 8600 обртаја, 10 минута на 4°C и обарања ћелијских мембрана у талог, супернатант (лизат) се одлива и чува на -70°C .

3.2.3 Екстракција хемоглобина (Hgb) из крвних ћелија

У 1 волумен лизата додаје се 1 волумен 95% етанола (-20°C) и 0,6 волумена 99% хлороформа (-20°C) и снажно вортексује 1 минут. После центрифугирања на 5000 обртаја, 10 минута на 4°C раздвојени су горња етанолска фракција, доња хлороформска фракција и Hgb у талогу. Горња етанолска фракција је одвајана и чувана на -70°C .

3.3 ОДРЕЂИВАЊЕ ХЕМАТОЛОШКИХ ПАРАМЕТАРА

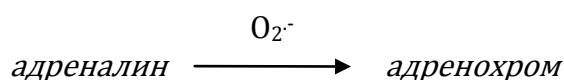
Хематолошки параметри који су мерени били су: број леукоцита ($\text{Le} \times 10^9/\text{L}$), број еритроцита ($\text{Er} \times 10^{12}/\text{L}$), концентрација хемоглобина (Hgb g/L), хематокрит (Hct L/L) и број тромбоцита ($\text{Tr} \times 10^9/\text{L}$). Вредности су одређиване у аутоматском анализатору COULTER A^C•T diff Analyzer (Beckman Coulter, Coulter Corporation, Miami, Florida 33196-2500 USA), одмах након вађења крви од пацијената.

3.4 ОДРЕЂИВАЊЕ АНТИОКСИДАТИВНИХ ПАРАМЕТАРА

Од параметара антиоксидационог статуса одређивани су: супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT) и редуковани глутатион (GSH).

3.4.1 Одређивање ензимске активности супероксид дисмутазе (SOD)

За одређивање ензимске активности SOD коришћена је адреналинска метода (176). Метода се заснива на праћењу смањења брзине аутооксидације адреналина у адренохрому у алкалној средини. SOD уклања O_2^- и при томе инхибира реакцију аутооксидације адреналина која се прати спектрофотометријски, променом апсорбанце на 480 nm. Процент инхибиције аутооксидације адреналина користи се као мера каталитичке активности ензима:



Експериментални поступак:

у 3,2 ml смеше састављене од 3 ml карбонатног пуфера (0,05 M Na_2CO_3 и 0,1 mM EDTA, pH=12) и 0,1 ml адреналина раствореног у 0,1 M HCl, додаје се 0,01 ml етанолске фракције. Аутооксидација адреналина се прати 4 минута на 480 nm. Реакција је стабилна на температури од 26-30°C. Упоредо се мери и контролна реакција (реакциона смеша без узорка). Процент инхибиције аутооксидације адреналина у присуству SOD из узорка, у односу на контролну реакцију аутооксидације адреналина се користи за израчунавање активности SOD по следећој једначини:

$$SOD - 1 = \frac{2 (\Delta K - \Delta A) \times R}{V \times Hb \times \Delta K}$$

ΔK – промена апсорбције контролне реакције у минути

ΔA – промена апсорбције реакције са узорком у минути

V – запремина узорка која се сипа у реакциону смешу у ml

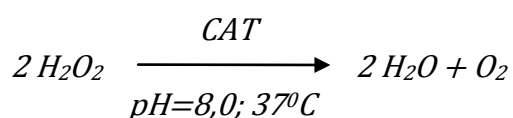
Hb – количина хемоглобина у g/100 ml лизата

R – разблажење

Активност SOD је изражена у јединицама SOD активности по граму хемоглобина (jed./gHb). Јединица SOD активности дефинисана је као количина протеина која у датим условима узрокује 50% инхибиције брзине аутооксидације адреналина у линеарном делу повећања апсорпције.

3.4.2 Одређивање ензимске активности каталазе (CAT)

Ензимска активност каталазе је одређивана по методи Beutler-a (177). Брзина разградње водоник пероксида (H_2O_2) је праћена спектрофотометријски у присуству CAT на таласној дужини од 230 nm. Активност CAT је директно пропорционална разградњи њеног супстрата H_2O_2 . Разградња H_2O_2 се прати директно као пад апсорбанце на таласној дужини од 230 nm.



Експериментални поступак:

у кварцну кивету се сипа 0,05 ml TRIS пуфера (1 M TRIS-HCl, 5 mM EDTA, pH=8,0), 0,900-0,945 ml 10 mM H_2O_2 и 0,005-0,05 ml узорка (у зависности од активности каталазе). Разградња H_2O_2 почиње одмах по додавању узорка у реакциону смешу. Опадање апсорбанце на таласној дужини од 230 nm се прати првих 2,5 минута реакције у току којих је зависност разградње H_2O_2 од активности CAT линеарна.

Ензимска активност CAT се дефинише као количина ензима која разгради 1 μmol H_2O_2 по минути на температури од 37°C и pH 8,0. Активност CAT изражена у јединицама по милиграму протеина (jed./mg prot.) се израчунава по следећој формули:

$$CAT \text{ (jed./mg prot.)} = \frac{R \times \text{neto } A_{230}/\text{min}}{C_p \times V \times e}$$

R – разблажење узорка у коме се мери активност CAT

neto A_{230}/min – разлика између A_{230}/min у узорку и контроли узорка

C_p – концентрација протеина у неразблаженом узорку (mg/ml)

V – волумен разблаженог узорка додатог у 1 ml реакционе смеше

e – милимоларни екстинкциони коефицијент за H₂O₂ на 230 nm, e=0,071

3.4.3 Одређивање ензимске активности редукованог глутатиона (GSH)

У еритроцитима ниво редукованог глутатиона (GSH) је одређен спектрофотометријски према Beutler-у (177) који је заснован на GSH оксидацији преко 5,5 дитио-бис-6,2-нитробензојевом киселином тј. Елмановим реагенсом (DTNB). GSH екстракт је добијен комбиновањем 0,1 ml 0,1% EDTA, 400 µl плазме и 750 µl кондезованог раствора (који садржи 1,67 g метафосфорне киселине, 0,2 g EDTA, 30 g NaCl допуњеног дестилованом водом до 100 ml). Раствор је стабилан до 3 недеље на 4°C. После вортексовања и екстракције на хладном леду (15 минута), изводи се центрифугирање на 4000 обртаја по минути (10 минута). За мерење се користи кварцна кивета (1 ml). 300 µl плазме, 750 µl Na₂HPO₄ и 100 µl DTNB (1 mg DTNB/ml 1 % натријум цитрата) се пипетира у тубама за тестирање. За слепу пробу користи се дестилована вода. Концентрација и количина редукованог глутатиона у плазми се одређује на бази калибрационог дијаграма (стандардне криве) за сваки тест. За конструисање стандардне криве користи се стандардни раствор GSH (концентрација 1,5 mmol/l). Да би се одредила концентрација глутатиона у стандардним узорцима (nmol/GSH/ml), у 4 тест тубе (уместо плазме) пипетира се 10, 20, 30 и 40 µl 1 mM GSH раствора и 300 µl дестиловане воде. Мерење абсорбанце (A) се изводи на λ_{max}=420 nm. За добијање финалне абсорбанце (ΔA), вредност слепе пробе абсорбанце (B) се одузима од абсорбанце (A). Да би се израчунала концентрација GSH у плазми користи се следећа формула:

$$\text{nmol GSH/ml plazma} = \Delta A / F$$

$$F = \frac{\Delta A}{\text{nmol GSH/cuv}}$$

3.5 ОДРЕЂИВАЊЕ ОКСИДАТИВНИХ ПАРАМЕТАРА (ПАРАМЕТАРА ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА)

Од оксидативних параметара (параметара оксидативног стреса) мерени су: индекс липидне пероксидације (TBARS), концентрација супероксид анјон радикала ($O_2^{\cdot-}$), водоник пероксида (H_2O_2) и азот оксида ($\cdot NO$).

3.5.1 Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)

Један од параметара оксидативног стреса је одређивање индекса липидне пероксидације. Индекс липидне пероксидације се одређује индиректно преко продукта реакције липидне пероксидације и тиобарбитурне киселине (ТВА - Thiobarbituric Acid). Липидна пероксидација доводи до разградње липида и стварања мноштва оксидативних продуката. Један од продуката липидне пероксидације је малондиалдехид (MDA) који настаје током аутооксидације масних киселина. Овај продукт се мери његовом реакцијом са тиобарбитурном киселином што доводи до стварања тиобарбитуратних реактивних супстанци TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) (178).

Одређивање концентрације TBARS у крвној плазми испитаника ради се на следећи начин: у епендорф епрувете се сипа 0,4 ml 28% тиобарбитурне киселине (ТВА) и 0,8 ml плазме и инкубира у леденом купатилу ($-4^{\circ}C$) 10 минута. Након тога смеша се 4 минута центрифугира на 15000 обртаја у минути, и у добијеном супернатанту се спектрофотометријски одређује концентрација TBARS-а. У епрувете (12x100 mm) пипетира се 800 μ l супернатанта плазме који се помеша са 200 μ l 1% ТВА у 0,05M NaOH и инкубира у воденом купатилу 15 минута на $100^{\circ}C$. Након инкубације узорак се охлади на собној температури, а концентрација ослобођених TBARS се мери спектрофотометријски на таласној дужини од 530 nm. У слепој проби се уместо екстракта плазме користи еквивалентна количина дестиловане воде.

Концентрација ослобођених TBARS израчунава се на основу следеће једначине:

$$nmol\ TBARS/ml\ plasma = \Delta A (Au - Asp) / 1.56 \times 1.25$$

Au – апсорбанца узорка

Asp – апсорбанца следеће пробе

1,56 и 1,25 – корекциони фактори

3.5.2 Одређивање концентрације супероксид анјон радикала ($O_2^{\cdot-}$)

За одређивање концентрације супероксид анјон радикала ($O_2^{\cdot-}$) у крвној плазми користи се реакција $O_2^{\cdot-}$ са нитро тетразолијум плавим (NBT - Nitro Blue Tetrazolium) до формирања нитроформаза плавог (179).

Експериментални поступак:

у епрувете (12x100 mm) пипетирати 50 μ l плазме и 950 μ l есејне смеше (50 mM TRIS-HCL пуфера (pH=8,6), 0,1 mM EDTA, 0,1 mg/ml желатина и 0,1 mM NBT). Мерење се врши на таласној дужини максималне апсорбције од 550 nm. Као слепа проба се уместо плазме користи адекватна количина дестиловане воде. На почетку мерења измерити екстинкцију смеше и означити као E_1 . Сваких 60 секунди се врши мешање смеше пластичним штапићем и бележи екстинкција. Ово се понавља до стабилизације, што подразумева добијање две узастопне приближно исте екстинкције. Последња екстинкција се означава као E_2 . Исти поступак се примењује и за слепо пробу.

Концентрација ослобођеног супероксид анјон радикала ($O_2^{\cdot-}$) израчунава се на основу следеће једначине:

$$\Delta E_u = E_{2u} - E_{1u} \quad (\text{узорак})$$

$$\Delta E_{sp} = E_{2sp} - E_{1sp} \quad (\text{слепа проба})$$

$$\Delta E = \Delta E_u - \Delta E_{sp}$$

$$nmol\ O_2^{\cdot-} / ml\ plazme = \Delta E / 0.015 \times 1 / 0.05$$

3.5.3 Одређивање концентрације водоник пероксида (H₂O₂)

Одређивање концентрације H₂O₂ у крвној плазми рађено је по методи Pick and Keisari-а (180), а заснива се на оксидацији фенол црвеног помоћу водоник пероксида уз помоћ ензима пероксидазе из коњске ротквице (HRPO - Horse Radish Per Oxidase). Овом реакцијом се ствара једињење чији је максимум апсорпције на 610 nm. Ова метода омогућује детерминацију настајања и ослобађања H₂O₂ за временски период од 5-60 минута.

Експериментални поступак:

у епрувете (12x100 mm) сипати 200 ml плазме и 800 ml свеже направљеног раствора фенол црвеног (PRS - Phenol Red Solution) који садржи 140 mM NaCl, 10 mM калијум фосфатног пуфера (pH=7,0), 5,5 mM D(+) глюкозе и 0,28 mM фенол црвеног. Узорцима додати по 10 ml (1:20) HRPO, припремљеног ex tempore. Узорке оставити на собној температури 10 минута, а затим подесити pH на више од 12 помоћу 1 M NaOH. Као слепа проба се уместо плазме користи иста количина дестиловане воде. У коронарном венском ефлуенту израчунава се концентрација ослобођеног H₂O₂ на основу калибрационог дијаграма (стандардне криве) која се одређује за сваки есеј. За формирање стандардне криве користи се стандардни (stock) раствор H₂O₂, уз претходну проверу концентрације (A₂₃₀ за 10 mM H₂O₂ износи 0,810). Уместо коронарног венског ефлуента, у три епрувете пипетирати: 5, 10 и 20 ml 1 mM раствора H₂O₂, 200 ml дестиловане воде, 800 ml раствора фенол црвеног и 10 ml (1:20) HRPO. То се инкубира 10 минута на собној температури, а затим додавањем 1 M NaOH (10 ml) подеси pH>12. У стакленим киветама запремине 1 ml у спектрофотометру (LKB Biochrom, model Ulltrospec 4050) мери се апсорбанца (A) на таласној дужини 610 nm. Од добијене апсорбанце одузима се вредност слепе пробе (B) чиме се добија коначна апсорбанца. Концентрација и количина ослобођеног H₂O₂ у коронарном венском ефлуенту израчунава се на основу фактор апсорбанце (F) по једном nmol-у водоник пероксида:

$$F = \Delta A / \text{nmol } H_2O_2 / \text{cuv}$$

Финална апсорбанца (ΔA) се израчунава на основу апсорбанце узорка на $\lambda_{\max}=610 \text{ nm}$ (A_u) и апсорбанце слепе пробе (A_{sp}) по следећој формули:

$$\Delta A(A = A_u - A_{sp})$$

Уз помоћ овако добијене апсорбанце, фактора F и количине коронарног венског ефлуента употребљеног у есеју (200 ml) израчунава се концентрација и количина H_2O_2 у коронарном венском ефлуенту по формули:

$$\text{nmol H}_2\text{O}_2/\text{ml plazme} = \Delta A/F$$

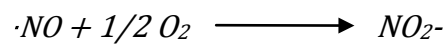
3.5.4 Одређивање концентрације азот оксида (NO)

Азот оксид (NO) се брзо разлаже при чему се формирају стабилни метаболити производа нитрита/нитрата. Имајући у виду да NO у реакцији са молекуларним облицима кисеоника (O_2) формира еквимоларну количину нитрита (NO_2^-), са великом сигурношћу се може тврдити да та количина ослобођених нитрита представља количину ослобођеног азот оксида. Одређивање концентрације нитрита у плазми ради се по методи базираној на Griss-овој реакцији (181).

Експериментални поступак:

у Епендорф епрувете пипетирати 0,1 ml 3 M PCA, 0,4 ml 20 mM EDTA и 0,2 ml плазме. Све заједно инкубирати у леденом купатилу на -4°C око 15 минута, а после тога центрифугирати 15 минута на 6000 обртаја. Добијени супернатант се одлије, а преципитат се дода у 2 M K_2CO_3 до $\text{pH}=7,4$. 0,2 ml екстракта плазме се дода 0,25 Грисеовог реагенса и амонијум пуфера ($\text{pH}=9$) (садржи амонијум хлорид NH_4Cl и содиум тетраборат $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) и пипетира се у тест тубе (12x100 mm) како би се стабилизовао диазо комплекс на собној температури 10 минута. Као слепа проба користи се иста количина дестиловане воде уместо плазме. Спектрофотометриском реакцијом уз употребу Griss-овог реагенса (1% сулфаниламида, 0,1% нафтилетилендиамин дихидрохлорид и 2% фосфорне киселине) се мери апсорбанца

на таласној дужини 550 nm. Концентрација ослобођених нитрита изражена је у nmol/ml екстракта.



Концентрација и количина ослобођених нитрита израчунава се помоћу одређивања стандардног фактора (F):

$$F = \frac{\textit{ekstinkcija slepe probe}}{\textit{koncentracija NaNO}_2 \textit{ u standardu}}$$

$$\textit{nmol (NO}_2\textit{) / ml ekstrakta} = \Delta E(E_s - E_{sp}) / F$$

3.6 СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Добијени подаци за хематолошке параметре анализирани су коришћењем статистичког програма SPSS верзија 13. Све вредности обрађене су методама дескриптивне статистике и приказане као средња вредност \pm стандардна девијација (SD). За тестирање значајности разлика појединих параметара код пацијената третираних истом дозом ^{131}I у различитим временским тачкама користили смо Т-тест за зависне узорке (Paired t-test), док смо за разлике вредности параметара код пацијената третираних различитим дозама ^{131}I користили Т-тест за независне узорке (Unpaired t-test). Резултати су приказани графички и табеларно.

Тестирање нормалитета дистрибуције података добијених анализама антиоксиданаса и слободних радикала показала је да у готово свим варијаблама постоје статистички значајна одступања од нормалне дистрибуције. Оба примењена теста нормалитета дистрибуције (Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk) показују да у свим тачкама процене постоје статистички значајна одступања од нормалне дистрибуције резултата у анализираним варијаблама.

Због утврђених одступања дистрибуције ових варијабли од нормалне дистрибуције, за даље анализе коришћене су непараметријске технике тестирања ефеката примењене терапије и разлика између доза терапије. За тестирање ефеката примењене терапије коришћен је Friedman Test, који је непараметријска алтернатива анализи варијансе за поновљена мерења. За тестирање разлика између појединих временских тачака (3., 7. и 30. дан) исте дозе, као posthoc теста ефеката, коришћен је је Wilkokson тест знакова (Wilcoxon Signed Ranks Test), који је алтернатива Т-тесту за зависне узорке. За тестирање разлика између истих временских тачака након различитих доза коришћен је Mann-Whitney Test који је алтернатива Т-тесту за независне узорке.

Корелисаност варијабли смо тестирали тестовима линеарне регресије и корелације (одређивањем Spearman-овог коефицијента), а добијене резултате смо графички приказали scatter дијаграмом. Разлике међу добијеним вредностима сматрамо значајним на нивоу $p < 0,05$.

4 РЕЗУЛТАТИ

4.1 ХЕМАТОЛОШКИ ПАРАМЕТРИ

4.1.1 Леукоцити (Le)

Табела 2. Вредности аритметичке средине и стандардне девијације за леукоците нултог (Le 0), трећег (Le 3), седмог (Le 7) и тридесетог дана (Le 30) након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабле	Доза (GBq)	AS (x 10 ⁹ /L)	SD	N
Le 0	3,70	7,51	2,11	34
	5,55	6,80	2,33	34
Le 3	3,70	6,56	2,06	34
	5,55	5,91	1,55	34
Le 7	3,70	6,43	1,88	34
	5,55	5,82	1,53	34
Le 30	3,70	5,85	1,55	34
	5,55	5,29	1,23	34

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; N – број узорака

Табела 3. Утицај времена, дозе и интеракције ова два параметра на промену вредности леукоцита након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабле	%	p
Интеракција	0,02	0,996
Време	8,99	0,000
Доза	2,78	0,005

У табели 3. подаци показују да након терапије ¹³¹I време и доза значајно утичу (p=0,000; p=0,005) на промену вредности леукоцита, а њихова интеракција не утиче значајно (p=0,996).

Табела 4. Промена вредности леукоцита у суседним временским интервалима након излагања дози од 3,70 GBq ¹³¹I.

Варијабле	Интервали	P	Eta ²
Леукоцити	Le 0 – Le 3	0,000	0,346
	Le 3 – Le 7	0,468	0,018
	Le 7 – Le 30	0,006	0,222

p – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Подаци из табеле 4. и слике 8. указују на снижене вредности леукоцита у прва три дана (p=0,000), као и у интервалу између 7. и 30. дана (p=0,006) након излагања дози од 3,70 GBq ¹³¹I.

Табела 5. Промена вредности леукоцита у суседним временским интервалима након излагања дози од 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабле	Интервали	P	Eta ²
Леукоцити	Le 0 – Le 3	0,016	0,165
	Le 3 – Le 7	0,635	0,007
	Le 7 – Le 30	0,001	0,303

p – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Статистички значајана снижена вредност леукоцита уочена је у прва 3 дана (p=0,016), као и у интервалу између 7. и 30. дана од примене терапије ¹³¹I од 5,55 GBq (p=0,001) (табела 5. и слика 9.).

Табела 6. Промене вредности леукоцита у трећем (Le 3), седмом (Le 7) и тридесетом дану (Le 30) у односу на нулти дан (Le 0) од излагања дози од 3,70 GBq ¹³¹I.

Варијабле	AS (x 10 ⁹ /L)	SD	T	p
Le 0	7,51	2,11	3,981	0,000
Le 3	6,56	2,06		
Le 0	7,51	2,11	4,647	0,000
Le 7	6,43	1,88		
Le 0	7,51	2,11	6,513	0,000
Le 30	5,85	1,55		

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; T – т-тест;
p – статистичка значајност

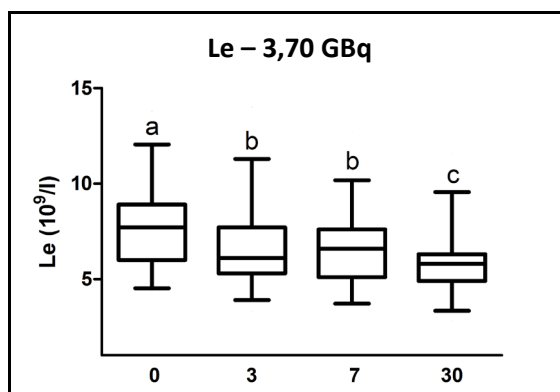
Подаци из табеле 6. и слике 8. показују да су након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I вредности леукоцита у 3., 7. и 30. дану статистички значајно снижене (p=0,000; p=0,000; p=0,000) у односу на вредност пре терапије (0. дан).

Табела 7. Промене вредности леукоцита у трећем (Le 3), седмом (Le 7) и тридесетом дану (Le 30) у односу на нулти дан (Le 0) од излагања дози од 5,55 GBq ¹³¹I.

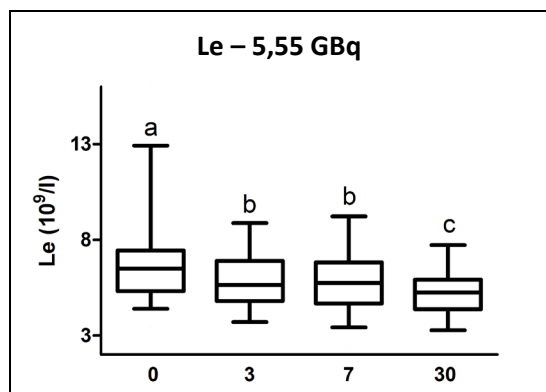
Варијабле	AS (x 10 ⁹ /L)	SD	T	p
Le 0	6,80	2,33	2,550	0,016
Le 3	5,91	1,55		
Le 0	6,80	2,33	2,933	0,006
Le 7	5,82	1,53		
Le 0	6,80	2,33	4,390	0,000
Le 30	5,29	1,23		

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; T– т-тест;
p – статистичка значајност

Из података приказаних у табели 7. и слике 9. се види да су вредности леукоцита у 3., 7. и 30. дану након излагања дози од 5,55 GBq ¹³¹I статистички значајно снижене (p=0,016; p=0,006; p=0,000) у односу на вредност пре примене терапије (0. дан).



Слика 8. Концентрације Le у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Paired t-тест).



Слика 9. Концентрације Le у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Paired t-тест).

Табела 8. Дозни ефекат ^{131}I на број леукоцита у трећем (Le 3), седмом (Le 7) и тридесетом дану (Le 30) од аплицирања 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I .

Варијабле			Разлика AS ($\times 10^9$ /L)	t	p
Le 3 ($\times 10^9$ /L)	3,70 GBq	6,56	0,65	1,452	0,152
	5,55 GBq	5,91			
Le7 ($\times 10^9$ /L)	3,70 GBq	6,43	0,61	1,425	0,159
	5,55GBq	5,82			
Le 30 ($\times 10^9$ /L)	3,70 GBq	5,85	0,56	1,628	0,109
	5,55 GBq	5,29			

t – t-тест; p – статистичка значајност; AS – аритметичка средина

Тестирање разлика у дозном ефекту зрачења на број леукоцита у 3., 7. и 30. дану је показало је да нема статистички значајне разлике у ефектима између доза од 3,70 и 5,55 GBq (табела 8.).

4.1.2 Еритроцити (Er)

Табела 9. Вредности аритметичке средине и стандардне девијације за еритроците нултог (Er 0), трећег (Er 3), седмог (Er 7) и тридесетог дана (Er 30) након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I .

Варијабле	Доза (GBq)	AS ($\times 10^{12}$ /L)	SD	N
Er 0	3,70	4,78	0,48	34
	5,55	4,77	0,39	34
Er 3	3,70	4,59	0,47	34
	5,55	4,59	0,48	34
Er 7	3,70	4,50	0,50	34
	5,55	4,54	0,46	34
Er 30	3,70	4,31	0,42	34
	5,55	4,33	0,45	34

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; N – број узорака

Табела 10. Утицај времена, дозе и интеракције ова два параметра на промену вредности еритроцита након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабла	%	p
Интеракција	0,04	0,990
Време	11,55	0,000
Доза	0,02	0,825

Подаци из табеле 10. показују да након терапије ¹³¹I време значајно утиче (p=0,000) на промену вредности еритроцита, док доза (p=0,825) и интеракција ова два параметра (p=0,990) не утичу значајно.

Табела 11. Промена вредности еритроцита у суседним временским интервалима након излагања дози од 3,70 GBq ¹³¹I.

Варијабла	Интервали	p	Eta ²
Еритроцити	Er 0 – Er 3	0,000	0,528
	Er 3 – Er 7	0,078	0,100
	Er 7 – Er 30	0,001	0,291

p – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Статистички значајане снижене вредности еритроцита код пацијената који су примили ¹³¹I у дози од 3,70 GBq уочена је у прва три дана (p=0,000) и у интервалу између 7. и 30. дана (p=0,001) након примене терапије (табела 11. и слика 10).

Табела 12. Промена вредности еритроцита у суседним временским интервалима након излагања дози од 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабла	Интервали	p	Eta ²
Еритроцити	Er 0 – Er 3	0,003	0,235
	Er 3 – Er 7	0,247	0,040
	Er 7 – Er 30	0,000	0,378

p – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Подаци приказани у табели 12. и слици 11. показују да се статистички значајне снижене вредности еритроцита код пацијената који су примили ¹³¹I у дози од 5,55 GBq

јављају у прва три дана ($p=0,003$) и између 7. и 30. дана ($p=0,000$) након примене терапије.

Табела 13. Промене вредности еритроцита у трећем (Er 3), седмом (Er 7) и тридесетом дану (Er 30) у односу на нулти дан (Er 0) од излагања дози од 3,70 GBq ^{131}I .

Варијабле	AS ($\times 10^{12}/\text{L}$)	SD	t	p
Er 0	4,78	0,48	5,798	0,000
Er 3	4,59	0,47		
Er 0	4,78	0,48	6,110	0,000
Er 7	4,50	0,50		
Er 0	4,78	0,48	10,340	0,000
Er 30	4,31	0,42		

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; t – t-тест; p – статистичка значајност

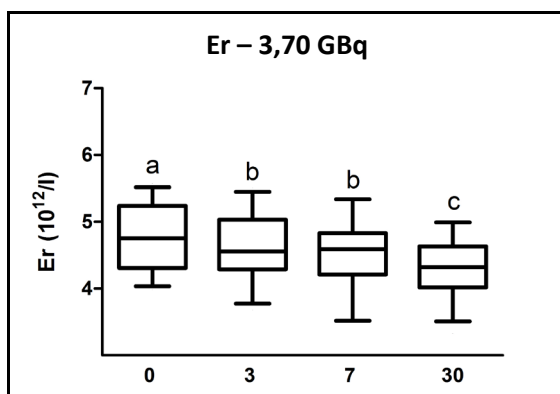
У табели 13. и слици 10. се види да су у све три временске тачке (3., 7. и 30. дан) вредности еритроцита статистички значајно снижене ($p=0,000$; $p=0,000$; $p=0,000$) у односу на вредност пре примене терапије ^{131}I .

Табела 14. Промене вредности еритроцита у трећем (Er 3), седмом (Er 7) и тридесетом дану (Er 30) у односу на нулти дан (Er 0) од излагања дози од 5,55 GBq ^{131}I .

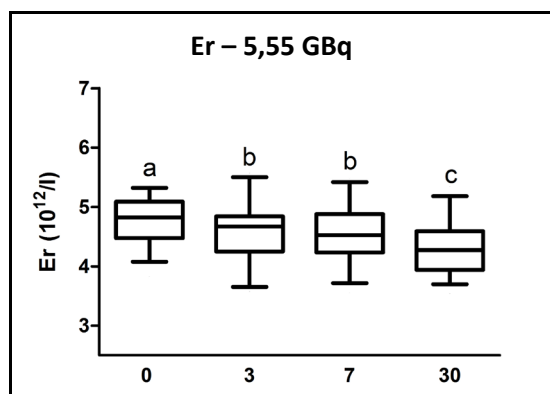
Варијабле	AS ($\times 10^{12}/\text{L}$)	SD	t	p
Er 0	4,77	0,39	3,185	0,003
Er 3	4,59	0,48		
Er 0	4,77	0,39	4,861	0,000
Er 7	4,54	0,46		
Er 0	4,77	0,39	8,697	0,000
Er 30	4,33	0,45		

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; t – t-тест; p – статистичка значајност

Из резултата приказаних у табели 14. и слици 11. се види да су вредности еритроцита у све три временске тачке (3., 7. и 30. дан) статистички значајно снижене ($p=0,003$; $p=0,000$; $p=0,000$) у односу на вредност пре примене терапије ^{131}I у дози од 5,55 GBq.



Слика 10. Концентрације Ег у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Paired t-тест).



Слика 11. Концентрације Ег у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Paired t-тест).

Табела 15. Дозни ефекат ¹³¹I на број еритроцита у трећем (Er 3), седмом (Er 7) и тридесетом дану (Er 30) од аплицирања 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабла			Разлика AS (x10 ¹² /L)	t	p
Er 3 (x10 ¹² /L)	3,70 GBq	4,59	0,00	0,033	0,973
	5,55 GBq	4,59			
Er 7 (x10 ¹² /L)	3,70 GBq	4,50	-0,04	0,269	0,789
	5,55 GBq	4,54			
Er 30 (x10 ¹² /L)	3,70 GBq	4,31	-0,02	0,201	0,841
	5,55 GBq	4,33			

t – t-тест; p – статистичка значајност; AS – аритметичка средина

Тестирање разлика у дозном ефекту зрачења на вредност еритроцита у испитиваним временским тачкама (3., 7. и 30. дан) је показало да нема статистички значајне разлике у ефектима између доза од 3,70 и 5,55 GBq (табела 15.).

4.1.3 Хемоглобин (Hgb)

Табела 16. Вредности аритметичке средине и стандардне девијације за хемоглобин нултог (Hgb 0), трећег (Hgb 3), седмог (Hgb 7) и тридесетог дана (Hgb 30) након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабле	Доза (GBq)	AS (g/L)	SD	N
Hgb 0	3,70	141,26	14,50	34
	5,55	140,41	14,19	34
Hgb 3	3,70	135,45	13,79	34
	5,55	136,18	14,79	34
Hgb 7	3,70	132,52	13,10	34
	5,55	133,82	13,06	34
Hgb 30	3,70	128,87	13,22	34
	5,55	128,65	13,72	34

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; N – број узорака

Табела 17. Утицај времена, дозе и интеракције ова два параметра на промену вредности хемоглобина након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабла	%	p
Интеракција	0,08	0,981
Време	9,34	0,000
Доза	0,01	0,888

Подаци из табеле 17. показују да након терапије ¹³¹I време статистички значајно утиче на вредност хемоглобина ($p=0,000$), док доза и интеракција ова два параметра не утичу значајно ($p=0,888$; $p=0,981$).

Табела 18. Промена вредности хемоглобина у суседним временским интервалима након излагања дози од 3,70 GBq ¹³¹I.

Варијабла	Интервали	p	Eta ²
Хемоглобин	Hgb 0 – Hgb 3	0,000	0,498
	Hgb 3 – Hgb 7	0,006	0,223
	Hgb 7 – Hgb 30	0,000	0,381

p – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Резултати из табеле 18. и слике 12. показују да се статистички значајне снижене вредности хемоглобина јављају у сва три посматрана временска интервала након примене ^{131}I у дози од 3,70 GBq ($p=0,000$; $p=0,006$; $p=0,000$).

Табела 19. Промена вредности хемоглобина у суседним временским интервалима након излагања дози од 5,55 GBq ^{131}I .

Варијабла	Интервали	p	Eta ²
Хемоглобин	Hgb 0 – Hgb 3	0,005	0,217
	Hgb 3 – Hgb 7	0,024	0,146
	Hgb 7 – Hgb 30	0,000	0,542

p – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Подаци приказани у табели 19. и слици 13. указују на статистички значајне снижене вредности хемоглобина након примене ^{131}I у дози од од 5,55 GBq у сва три посматрана временска интервала ($p=0,005$; $p=0,024$; $p=0,000$).

Табела 20. Промене вредности хемоглобина у трећем (Hgb 3), седмом (Hgb 7) и тридесетом (Hgb 30) дану у односу на нулти дан (Hgb 0) од излагања дози од 3,70 GBq ^{131}I .

Варијабла	AS (g/L)	SD	t	p
Hgb 0	141,26	14,50	5,452	0,000
Hgb 3	135,45	13,79		
Hgb 0	141,26	14,50	6,308	0,000
Hgb 7	132,52	13,10		
Hgb 0	141,26	14,50	8,881	0,000
Hgb 30	128,87	13,22		

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; t – t-тест;
p – статистичка значајност

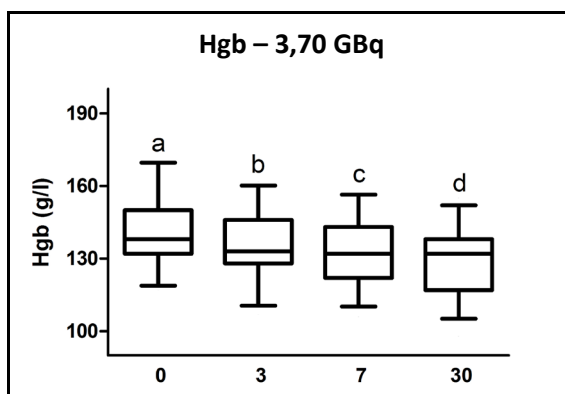
Након примене терапијске дозе ^{131}I у дози од 3,70 GBq, вредности хемоглобина су у све три посматране временске тачке (3., 7. и 30. дан) статистички значајно снижене ($p=0,000$; $p=0,000$; $p=0,000$) у односу на вредност хемоглобина пре примене терапије (Hgb 0.) (табела 20. и слика 12.).

Табела 21. Промене вредности хемоглобина у трећем (Hgb 3), седмом (Hgb 7) и тридесетом (Hgb 30) дану у односу на нулти дан (Hgb 0) од излагања дози од 5,55 GBq ¹³¹I.

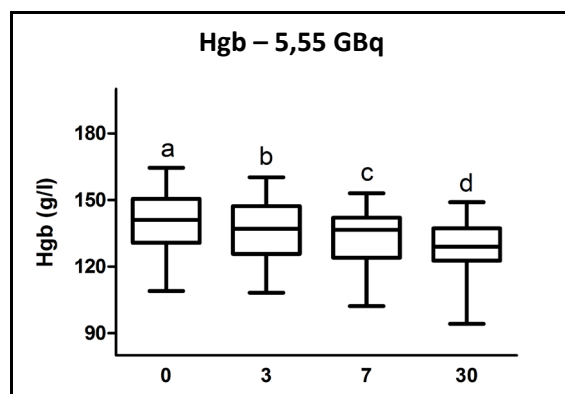
Варијабле	AS (g/L)	SD	t	p
Hgb 0	140,41	14,19	3,025	0,005
Hgb 3	136,18	14,79		
Hgb 0	140,41	14,19	6,895	0,000
Hgb 7	133,82	13,06		
Hgb 0	140,41	14,19	10,450	0,000
Hgb 30	128,65	13,72		

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; t – t-тест;
p – статистичка значајност

Подаци из табеле 21. и слике 13. показују да су вредности хемоглобина статистички значајно снижене 3., 7. и 30. дана ($p=0,005$; $p=0,000$; $p=0,000$) у односу на вредност хемоглобина пре излагања дози ¹³¹I од 5,55 GBq (Hgb 0).



Слика 12. Концентрације Hgb у крви DTC пацијената 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p<0,05$, Paired t-тест).



Слика 13. Концентрације Hgb у крви DTC пацијената 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p<0,05$, Paired t-тест).

Табела 22. Дозни ефекат ^{131}I на вредност хемоглобина у трећем (Hgb 3), седмом (Hgb 7) и тридесетом дану (Hgb 30) од аплицирања 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I .

Варијабла			Разлика AS (g/L)	t	p
Hgb 3 (g/L)	3,70 GBq	135,45	-0,73	0,204	0,839
	5,55 GBq	136,18			
Hgb7 (g/L)	3,70 GBq	132,52	-1,30	0,403	0,689
	5,55 GBq	133,82			
Hgb 30 (g/L)	3,70 GBq	128,87	0,22	0,067	0,947
	5,55 GBq	128,65			

t – т-тест; p – статистичка значајност; AS – аритметичка средина

Тестирање разлика у дозном ефекту зрачења између датих терапијских доза ^{131}I од 3,70 и 5,55 GBq на вредности хемоглобина у појединим тачкама мерења (3., 7. и 30. дан) је показало да нема статистички значајне разлике у ефектима између доза (табела 22.).

4.1.4 Хематокрит (Hct)

Табела 23. Вредности аритметичке средине и стандардне девијације за хематокрит нултог (Hct 0), трећег (Hct 3), седмог (Hct 7) и тридесетог дана (Hct 30) након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I .

Варијабле	Доза (GBq)	AS (L/L)	SD	N
Hct 0	3,70	0,42	0,04	34
	5,55	0,43	0,04	34
Hct 3	3,70	0,41	0,05	34
	5,55	0,41	0,05	34
Hct 7	3,70	0,40	0,04	34
	5,55	0,40	0,04	34
Hct 30	3,70	0,38	0,03	34
	5,55	0,38	0,04	34

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; N – број узорака

Табела 24. Утицај времена, дозе и интеракције ова два параметра на промену вредности хематокрита након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабле	%	р
Интеракција	0,24	0,873
Време	13,60	0,000
Доза	0,08	0,625

Резултати приказани у табели 24. показују да након терапије ¹³¹I време значајно утиче (р=0,000) на промену вредности хематокрита док доза (р=0,625) и интеракција ова два параметра (р=0,873) не утичу значајно.

Табела 25. Промена вредности хематокрита у суседним временским интервалима након излагања дози од 3,70 GBq ¹³¹I.

Варијабле	Интервали	р	Eta ²
Хематокрит	Нст 0 – Нст 3	0,003	0,254
	Нст 3 – Нст 7	0,309	0,034
	Нст 7 – Нст 30	0,000	0,374

р – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Приказани подаци из табеле 25. и слике 14. показују да се статистички значајне снижене вредности хематокрита јављају у прва три дана (р=0,003) и у интервалу између седмог и тридесетог дана (р=0,000) након примене терапије ¹³¹I у дози од 3,70 GBq.

Табела 26. Промена вредности хематокрита у суседним временским интервалима након излагања дози од 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабле	Интервали	р	Eta ²
Хематокрит	Нст 0 – Нст 3	0,000	0,381
	Нст 3 – Нст 7	0,339	0,028
	Нст 7 – Нст 30	0,000	0,422

р – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Резултати из табеле 26. и слике 15. указују на статистички значајне снижене вредности хематокрита у прва три дана (р=0,000) и у интервалу између седмог и

тридесетог дана ($p=0,000$) након примене терапије ^{131}I у дози од 5,55 GBq.

Табела 27. Промене вредности хематокрита у трећем (Hct 3), седмом (Hct 7) и тридесетом (Hct 30) дану у односу на нулти дан (Hct 0) од излагања дози од 3,70 GBq ^{131}I .

Варијабле	AS (L/L)	SD	t	p
Hct 0 Hct 3	0,42 0,41	0,04 0,05	3,200	0,003
Hct 0 Hct 7	0,42 0,40	0,04 0,04	5,341	0,000
Hct 0 Hct 30	0,42 0,38	0,04 0,03	9,454	0,000

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; t – t-тест;
p – статистичка значајност

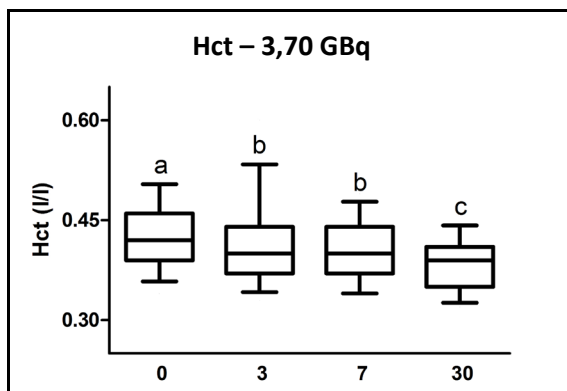
Подаци приказани у табели 27. и слици 14. показују да након примене терапије ^{131}I у дози од 3,70 GBq вредности хематокрита значајно опадају трећег, седмог и тридесетог дана ($p=0,003$; $p=0,000$; $p=0,000$) у односу на нулти дан.

Табела 28. Промене вредности хематокрита у трећем (Hct 3), седмом (Hct 7) и тридесетом (Hct 30) дану у односу на нулти дан (Hct 0) од излагања дози од 5,55 GBq ^{131}I .

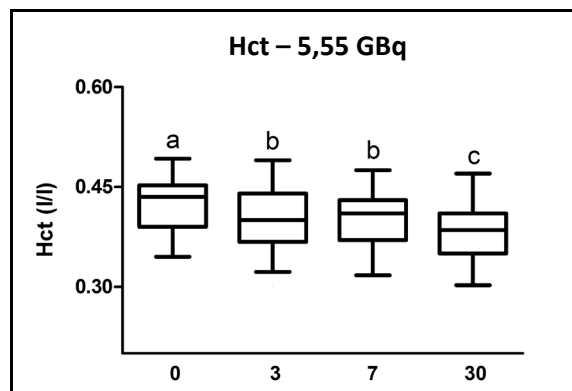
Варијабла	AS (L/L)	SD	t	p
Hct 0 Hct 3	0,43 0,41	0,04 0,05	4,510	0,000
Hct 0 Hct 7	0,43 0,40	0,04 0,04	6,690	0,000
Hct 0 Hct 30	0,43 0,38	0,04 0,04	11,320	0,000

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; t – t-тест;
p – статистичка значајност

Након примене терапије ^{131}I у дози од 5,55 GBq вредности хематокрита су статистички значајно снижене 3., 7. и 30. дана ($p=0,000$; $p=0,000$; $p=0,000$) у односу на вредност пре примене терапије (0. дан) (табела 28. и слика 15.).



Слика 14. Концентрације Нст у крви ДТС пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p < 0,05$, Paired t-тест).



Слика 15. Концентрације Нст у крви ДТС пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p < 0,05$, Paired t-тест).

Табела 29. Дозни ефекат ¹³¹I на вредности хематокрита у трећем (Нст 3), седмом (Нст 7) и тридесетом дану (Нст 30) од аплицирања 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабла			Разлика AS (L/L)	t	p
Нст 3 (L/L)	3,70 GBq	0,41	0,00	0,329	0,743
	5,55 GBq	0,41			
Нст 7 (L/L)	3,70 GBq	0,40	0,00	0,142	0,887
	5,55 GBq	0,40			
Нст 30 (L/L)	3,70 GBq	0,38	0,00	0,002	0,998
	5,55 GBq	0,38			

t – t-тест; p – статистичка значајност; AS – аритметичка средина

Подаци приказани у табели 29. показују да у испитиваним временским тачкама (3., 7. и 30. дан) нема статистички значајне разлике у ефектима између доза од 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

4.1.5 Тромбоцити (Tr)

Табела 30. Вредности аритметичке средине и стандардне девијације за тромбоците нултог (Tr 0), трећег (Tr 3), седмог (Tr 7) и тридесетог дана (Tr 30) након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабле	Доза (GBq)	AS (x10 ⁹ /L)	SD	N
Tr 0	3,70	239,68	51,64	34
	5,55	241,91	57,48	34
Tr 3	3,70	210,97	44,41	34
	5,55	225,53	64,72	34
Tr 7	3,70	223,39	53,76	34
	5,55	216,15	58,35	34
Tr 30	3,70	182,13	44,71	34
	5,55	182,35	56,90	34

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; N – број узорака

Табела 31. Утицај времена, дозе и интеракције ова два параметра на промену вредности тромбоцита након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабла	%	p
Интеракција	0,46	0,721
Време	13,18	0,000
Доза	0,04	0,719

Резултати приказани у табели 31. показују да време значајно утиче (p=0,000), док доза (p=0,719) и интеракција ова два параметра (p=0,721) не утичу значајно на промену вредности тромбоцита након терапије ¹³¹I.

Табела 32. Промена вредности тромбоцита у суседним временским интервалима након излагања дози од 3,70 GBq ¹³¹I.

Варијабла	Интервали	p	Eta ²
Тромбоцити	Tr 0 – Tr 3	0,000	0,541
	Tr 3 – Tr 7	0,013	0,188
	Tr 7 – Tr 30	0,000	0,558

p – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Статистички значајне снижене вредности тромбоцита јављају се у сва три посматрана временска интервала ($p=0,000$; $p=0,013$; $p=0,000$) након примене дозе од $3,70 \text{ GBq } ^{131}\text{I}$ (табела 32. и слика 16.).

Табела 33. Промена вредности тромбоцита у суседним временским интервалима након излагања дози од $5,55 \text{ GBq } ^{131}\text{I}$.

Варијабла	Интервали	p	Eta^2
Тромбоцити	Tr 0 – Tr 3	0,002	0,250
	Tr 3 – Tr 7	0,108	0,077
	Tr 7 – Tr 30	0,000	0,420

p – статистичка значајност; Eta^2 – укупни ефекат промена

Статистички значајне снижене вредности тромбоцита јављају се у прва три дана ($p=0,002$), као и у интервалу између 7. и 30. дана ($p=0,000$) након примене дозе од $5,55 \text{ GBq } ^{131}\text{I}$ (табела 33. и слика 17.).

Табела 34. Промене броја тромбоцита у трећем (Tr 3), седмом (Tr 7) и тридесетом (Tr 30) дану у односу на нулти дан (Tr 0) од излагања дози од $3,70 \text{ GBq } ^{131}\text{I}$.

Варијабле	AS ($\times 10^9/\text{L}$)	SD	t	p
Tr 0	239,68	51,64	5,931	0,000
Tr 3	210,97	44,41		
Tr 0	239,68	51,64	2,213	0,035
Tr 7	223,39	50,76		
Tr 0	239,68	51,64	7,910	0,000
Tr 30	182,13	44,71		

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; t – t-тест;
 p – статистичка значајност

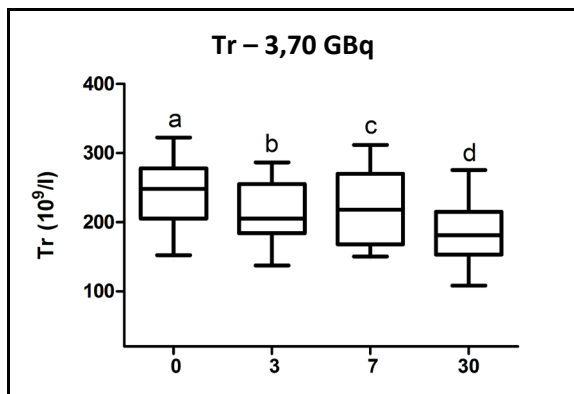
Подаци приказани у табели 34. и слици 16. показују да након примене ^{131}I у дози од $3,70 \text{ GBq}$ долази до статистички значајног пада броја тромбоцита у свим посматраним временским тачкама (3., 7. и 30. дан) ($p=0,000$; $p=0,035$; $p=0,000$) у односу на 0. дан.

Табела 35. Промена броја тромбоцита у трећем (Tr 3), седмом (Tr 7) и тридесетом (Tr 30) дану у односу на нулти дан (Tr 0) од излагања дози од 5,55 GBq ¹³¹I.

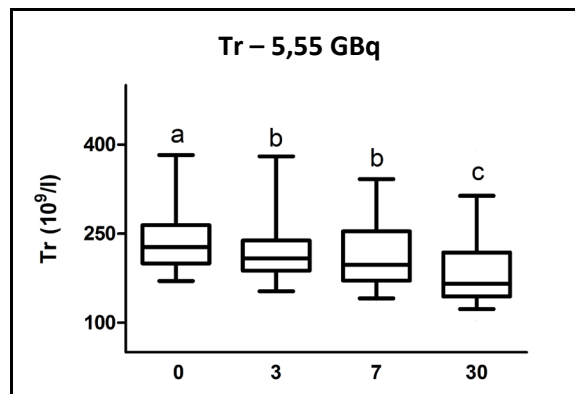
Варијабле	AS (x 10 ⁹ /L)	SD	t	P
Tr 0	241,91	57,48	3,317	0,002
Tr 3	225,53	64,72		
Tr 0	241,91	57,48	4,063	0,000
Tr 7	216,15	58,35		
Tr 0	241,91	57,48	9,441	0,000
Tr 30	182,35	56,90		

AS – аритметичка средина ; SD – стандардна девијација; t – т-тест;
p – статистичка значајност

Након примене ¹³¹I у дози од 5,55 GBq долази до статистички значајног пада броја тромбоцита у 3., 7. и 30. дану (p=0,002; p=0,000; p=0,000) у односу на 0. дан (табела 35. и слика 17.)



Слика 16. Концентрације Tr у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Paired t-тест).



Слика 17. Концентрације Tr у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Paired t-тест).

Табела 36. Дозни ефекат ^{131}I на број тромбоцита у трећем (Tr 3), седмом (Tr 7) и тридесетом дану (Tr 30) од аплицирања 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I .

Варијабла			Разлика AS ($\times 10^9/\text{L}$)	t	p
Tr 3 ($\times 10^9/\text{L}$)	3,70 GBq	210,97	-14,56	1,048	0,299
	5,55 GBq	225,53			
Tr 7 ($\times 10^9/\text{L}$)	3,70 GBq	223,39	7,24	0,519	0,606
	5,55 GBq	216,15			
Tr 30 ($\times 10^9/\text{L}$)	3,70 GBq	182,13	-0,22	-0,018	0,986
	5,55 GBq	182,35			

t – t-тест; p – статистичка значајност; AS – аритметичка средина

Испитивање разлика у дозном ефекту ^{131}I на вредност тромбоцита у појединим временским тачкама мерења (3., 7. и 30. дан) је показало да нема статистички значајне разлике у ефектима доза од 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I (табела 36.).

4.2 ПАРАМЕТРИ АНТИОКСИДАТИВНОГ СТАТУСА

4.2.1 Индекс липидне пероксидације (TBARS)

Табела 37. Friedman Test за дозу ^{131}I од 3,70 GBq.

Време	Медиана (nmol/ml плазме)	Средњи ранг
TBARS 0	1,610	1,92
TBARS 3	3,580	2,79
TBARS 7	3,880	2,79
TBARS 30	1,720	2,50

Friedman Test $\chi^2=0,530$; $p=0,023$

У табели 37. су приказане вредности медиане и средњих рангова TBARS-а 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I . Резултати Friedman Test-а, приказани испод табеле показују да ова доза индукује статистички значајне промене вредности TBARS-а ($p=0,023$).

Табела 38. Friedman Test за дозу ^{131}I од 5,55 GBq.

Време	Медиана (nmol/ml плазме)	Средњи ранг
TBARS 0	1,700	1,79
TBARS 3	3,100	3,00
TBARS 7	2,985	2,03
TBARS 30	3,530	3,18

Friedman Test $\chi^2=29,12$; $p=0,000$

У табели 38. су су приказане вредности медиане и средњих рангова TBARS-а 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I . Резултати Friedman Test-а, приказани испод табеле показују да ова доза индукује статистички значајне промене вредности TBARS-а ($p=0,000$).

Табела 39. Wilcoxon Signed Ranks Test промене TBARS-а по интервалима за дозу од 3,70 GBq ¹³¹I.

Интервали	z	p
TBARS 0 – TBARS 3	-2,538	0,011
TBARS 3 – TBARS 7	-0,862	0,389
TBARS 7 – TBARS 30	-1,646	0,099

z – вредност TBARS-а; p – статистичка значајност

Након дозе од 3,70 GBq ¹³¹I ниво TBARS-а је значајно повећан у интервалу између 0. и 3. дана од примене терапије (p=0,011). У осталим суседним временским интервалима (3-7 и 7-30) није уочена значајна промена вредности TBARS-а (табела 39. и слика 18.).

Табела 40. Wilcoxon Signed Ranks Test промене TBARS-а по интервалима за дозу од 5,55 GBq ¹³¹I.

Интервали	z	p
TBARS 0 – TBARS 3	-4,215	0,000
TBARS 3 – TBARS 7	-1,513	0,130
TBARS 7 – TBARS 30	-0,881	0,379

z – вредност TBARS-а; p – статистичка значајност

Након дозе од 5,55 GBq ¹³¹I ниво TBARS-а је значајно повећан у интервалу између 0 и 3. дана од примене терапије (p=0,000). У осталим суседним временским интервалима (3-7 и 7-30) није уочена значајна промена вредности TBARS-а (табела 40. и слика 19.).

Табела 41. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности TBARS-а у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ¹³¹I.

Интервали	z	p
TBARS 0 – TBARS 3	-2,538	0,011
TBARS 0 – TBARS 7	-2,931	0,003
TBARS 0 – TBARS 30	-1,709	0,087

z – вредност TBARS-а; p – статистичка значајност

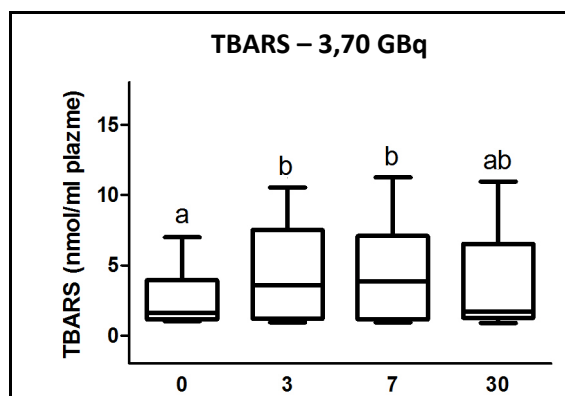
Након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I ниво TBARS-а је статистички значајно повећан 3. (p=0,011) и 7. (p=0,003) дана у односу на вредност пре терапије (0. дан) (табела 41. и слика 18.).

Табела 42. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности TBARS-а у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ¹³¹I.

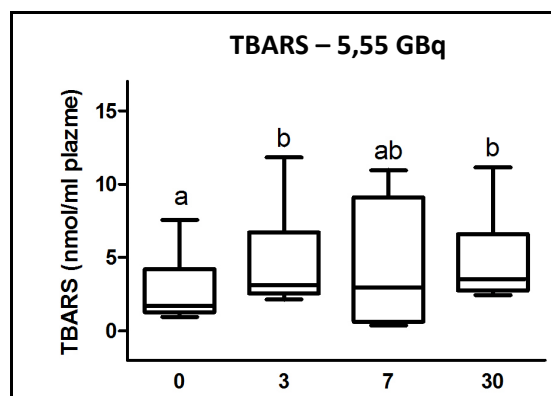
Интервали	z	p
TBARS 0 – TBARS 3	-4,215	0,000
TBARS 0 – TBARS 7	-1,393	0,163
TBARS 0 – TBARS 30	-4,488	0,000

z - вредност TBARS-а; p – статистичка значајност

Вредности TBARS-а показују статистички значајно повећање 3. и 30. дана (p=0,000; p=0,000) у односу на вредност пре примене терапије радиоактивним јодом дозом од 5,55 GBq (табела 42. и слика 19.).



Слика 18. Концентрација TBARS-а у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Wilcoxon Signed Ranks Test).



Слика 19. Концентрација TBARS-а у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Wilcoxon Signed Ranks Test).

Табела 43. Mann-Whitney Test разлика у ефекту доза од 3,70 и 5,55 GBq на ниво TBARS-а 3., 7. и 30. дана након терапије.

Варијабла	Доза	Медијана	U	p
TBARS 3	3,70 GBq	3,580	439,0	0,250
	5,55 GBq	3,100		
TBARS 7	3,70 GBq	3,880	447,0	0,296
	5,55 GBq	2,985		
TBARS 30	3,70 GBq	1,720	359,0	0,027
	5,55 GBq	3,530		

U – вредност TBARS-а; p – статистичка значајност

Тестирање разлика у ефектима доза од 3,70 GBq и 5,55 GBq ¹³¹I на ниво TBARS-а у 3., 7. и 30. дану након терапије је показало да дозе различито утичу на ниво TBARS-а само у 30. дану (p=0,027) од примене ¹³¹I (табела 43.)

4.2.2 СУПЕРОКСИД ДИСМУТАЗА (SOD)

Табела 44. Friedman Test вредности SOD са дозу од 3,70 GBq ¹³¹I.

Време	Медијана (jed/gHb)	Средњи ранг
SOD 0	268,620	1,87
SOD 3	936,100	2,85
SOD 7	822,220	2,73
SOD 30	626,780	2,55

Friedman Test $X^2=11,16$; p=0,011

У табели 44. су приказане вредности медиане и средњих рангова SOD активности 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. Резултати Friedman Test-а, приказани испод табеле показују да ова доза индукује статистички значајне промене вредности SOD (p=0,011).

Табела 45. Friedman Test вредности SOD за дозу од 5,55 GBq ¹³¹I.

Време	Медиана (jed/gHb)	Средњи ранг
SOD 0	658,690	2,04
SOD 3	944,240	2,72
SOD 7	1145,640	3,26
SOD 30	874,330	1,97

Friedman Test $X^2=23,22$; $p=0,000$

У табели 45. су приказане вредности медиане и средњих рангова SOD активности 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. Резултати Friedman Test-а, приказани испод табеле показују да ова доза индукује статистички значајне промене вредности SOD ($p=0,000$).

Табела 46. Wilcoxon Signed Ranks Test промене активности SOD по интервалима за дозу од 3,70 GBq ¹³¹I.

Интервали	z	p
SOD 0 – SOD 3	-2,871	0,004
SOD 3 – SOD 7	-0,854	0,392
SOD 7 – SOD 30	-0,941	0,346

z – вредност SOD; p – статистичка значајност

Након терапије ¹³¹I у дози од 3,70 GBq активност SOD је статистички значајно повећана само између 0 и 3. дана од примене терапије ($p=0,004$). У осталим суседним временским интервалима (3-7 и 7-30) нису уочене значајне промене SOD активности (табела 46. и слика 20.).

Табела 47. Wilcoxon Signed Ranks Test промене активности SOD по интервалима за дозу од 5,55 GBq ¹³¹I.

Интервали	z	p
SOD 0 – SOD 3	-2,173	0,029
SOD 3 – SOD 7	-1,598	0,109
SOD 7 – SOD 30	-2,949	0,003

z - вредност SOD; p – статистичка значајност

Након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I активност SOD је статистички значајно повећана у интервалу између 0. и 3. дана (p=0,029) и у интервалу од 7. до 30. дана (p=0,003) након примене терапије (табела 47. и слика 21.).

Табела 48. Wilcoxon Signed Ranks Test промене активности SOD у односу на вредност пре терапије дозом од 3,70 GBq ¹³¹I.

Интервали	z	p
SOD 0 – SOD 3	-2,871	0,004
SOD 0 – SOD 7	-1,351	0,176
SOD 0 – SOD 30	-3,167	0,001

z - вредност SOD; p – статистичка значајност

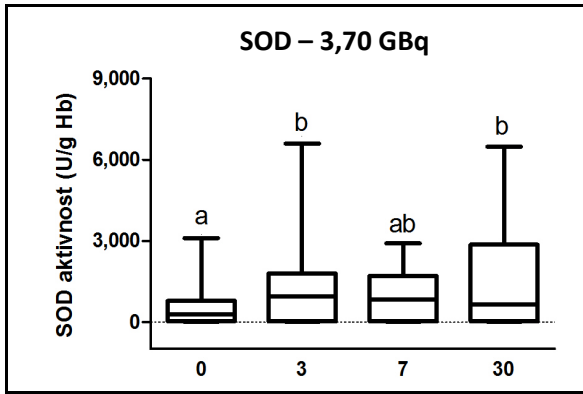
Активност SOD је статистички значајно повећана у 3. (p=0,004) и 30. дану (p=0,001) у односу на 0. дан од примене терапије радиоактивним јодом у дози од 3,70 GBq (табела 48. и слика 20.).

Табела 49. Wilcoxon Signed Ranks Test промене активности SOD у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ¹³¹I.

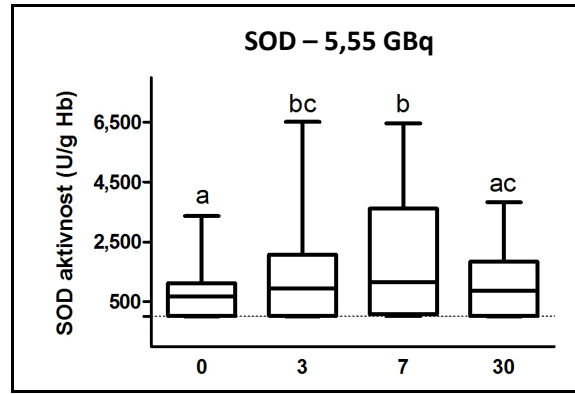
Интервали	z	p
SOD 0 – SOD 3	-2,173	0,030
SOD 0 – SOD 7	-3,325	0,000
SOD 0 – SOD 30	-1,137	0,255

z - вредност SOD; p – статистичка значајност

Након терапије ¹³¹I у дози од 5,55 GBq активност SOD показује статистички значајно повећање у 3. (p=0,030) и 7. (p=0,000) дану у односу на вредност пре терапије (0. дан) (табела 49. и слика 21.)



Слика 20. Активност SOD у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p < 0.05$, Wilcoxon Signed Ranks Test).



Слика 21. Активност SOD у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p < 0.05$, Wilcoxon Signed Ranks Test).

Табела 50. Mann-Whitney Test разлика у ефекту доза од 3,70 и 5,55 GBq на активност SOD 3., 7. и 30. дана након терапије.

Варијабла	Доза	Медијана	U	p
SOD 3	3,70 GBq	936,100	520,0	0,931
	5,55 GBq	944,240		
SOD 7	3,70 GBq	822,220	384,0	0,061
	5,55 GBq	1145,640		
SOD 30	3,70 GBq	626,780	516,0	0,890
	5,55 GBq	874,330		

U – вредности SOD; p – статистичка значајност

Тестирање разлика у ефектима доза од 3,70 GBq и 5,55 GBq ¹³¹I на активност SOD у 3., 7. и 30. дану након терапије је показало да ове дозе не утичу различито на ниво SOD ни у једној испитиваној временској тачки након примене ¹³¹I (табела 50.)

4.2.3 КАТАЛАЗА (CAT)

Табела 51. Friedman Test вредности CAT за дозу од 3,70 GBq ¹³¹I.

Време	Медиана (jed/mg протеина)	Средњи ранг
CAT 0	54,500	2,00
CAT 3	55,000	2,84
CAT 7	70,250	2,52
CAT 30	43,750	2,65

Friedman Test $X^2=7,30$; $p=0,063$

У табели 51. су приказане вредности медиане и средњих рангова CAT активности 0., 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. Резултати Friedman Test-a, приказани испод табеле показују да ова доза не утиче значајно на активност CAT ($p=0,063$).

Табела 52. Friedman Test вредности CAT за дозу од 5,55 GBq ¹³¹I.

Време	Медиана (jed/mg протеина)	Средњи ранг
CAT 0	52,500	2,22
CAT 3	61,000	1,96
CAT 7	126,000	3,38
CAT 30	68,125	2,44

Friedman Test $X^2=23,65$; $p=0,000$

У табели 52. су приказане вредности медиане и средњих рангова CAT активности 0., 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. Резултати Friedman Test-a, приказани испод табеле, показују да ова доза индукује статистички значајне промене вредности CAT ($p=0,000$).

Табела 53. Wilcoxon Signed Ranks Test промене CAT по интервалима за дозу од 3,70 GBq ¹³¹I.

Интервали	z	p
CAT 0 – CAT 3	-1,882	0,059
CAT 3 – CAT 7	-1,676	0,093
CAT 7 – CAT 30	-0,548	0,583

z – вредности CAT; p – статистичка значајност

Након дозе од 3,70 GBq ¹³¹I активности CAT не показују значајне разлике ни у једном од испитиваних суседних временских интервала (табела 53. и слика 22.).

Табела 54. Wilcoxon Signed Ranks Test промене CAT по интервалима за дозу од 5,55 GBq ¹³¹I.

Интервали	z	p
CAT 0 – CAT 3	-0,419	0,674
CAT 3 – CAT 7	-3,222	0,001
CAT 7 – CAT 30	-3,565	0,000

z – вредности CAT; p – статистичка значајност

Након дозе од 5,55 GBq ¹³¹I активности CAT показују статистички значајан пораст у интервалу од 3. до 7. (p=0,001) и између 7. и 30. дана (p=0,000) након терапије (табела 54. и слика 23.)

Табела 55. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности CAT у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ¹³¹I.

Интервали	z	p
CAT 0 – CAT 3	-1,882	0,059
CAT 0 – CAT 7	-1,707	0,087
CAT 0 – CAT 30	-3,067	0,002

z – вредности CAT; p – статистичка значајност

Након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I активности CAT показују статистички значајано снижење вредности 30. дана (p=0,002) у односу на вредност пре примене

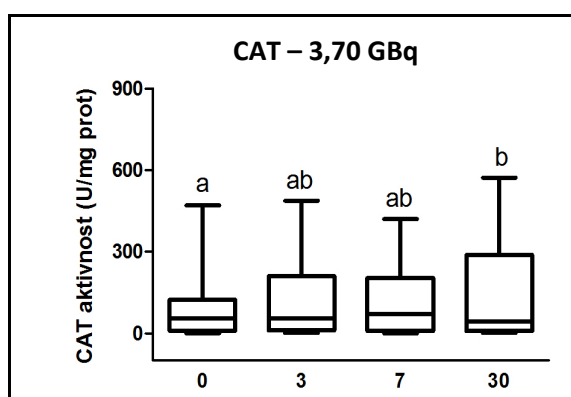
терапије. У 3. и 7. дану активности CAT нису значајно промењене у односу на 0 дан. (табела 55. и слика 22.).

Табела 56. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности CAT у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ¹³¹I.

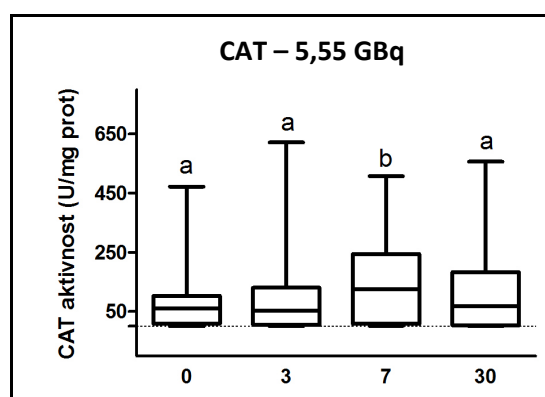
Интервали	z	p
CAT 0 – CAT 3	-0,420	0,674
CAT 0 – CAT 7	-3,496	0,000
CAT 0 – CAT 30	-1,701	0,088

z – вредности CAT; p – статистичка значајност

Подаци у табели 56. и слика 23. показују да терапија ¹³¹I у дози од 5,55 GBq статистички значајно повећава вредност CAT 7. дана (p=0,000) у односу на вредност пре примене терапије. У 3. и 30. дану активности CAT нису значајно промењене у односу на 0. дан.



Слика 22. Активност CAT у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Wilcoxon Signed Ranks Test).



Слика 23. Активност CAT у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Wilcoxon Signed Ranks Test).

Табела 57. Mann-WhitneyTest разлика у ефекту доза од 3,70 и 5,55 GBq на активност CAT 3., 7. и 30. дана након терапије.

Варијабла	Доза	Медијана	U	p
CAT 3	3,70 GBq	55,000	468,5	0,446
	5,55 GBq	61,000		
CAT 7	3,70 GBq	70,250	434,5	0,226
	5,55 GBq	126,000		
CAT 30	3,70 GBq	43,750	499,5	0,722
	5,55 GBq	68,125		

U – вредности CAT; p – статистичка значајност

Тестирање разлика у ефектима доза од 3,70 GBq и 5,55 GBq ¹³¹I на активност CAT у 3., 7. и 30. дану након терапије је показало да ове дозе не утичу различито на ниво каталазе ни у једној испитиваној временској тачки након примене ¹³¹I (табела 57.).

4.2.4 РЕДУКОВАНИ ГЛУТАТИОН (GSH)

Табела 58. Friedman Test вредности GSH за дозу од 3,70 GBq ¹³¹I.

Време	Медијана (nmol/ml плазме)	Средњи ранг
GSH 0	74229,830	2,05
GSH 3	67931,540	2,92
GSH 7	80128,430	2,89
GSH 30	33740,830	2,15

Friedman Test $\chi^2=12,35$; p=0,006

Приказане су вредност медиане и средњих рангова GSH у појединим временским тачкама (0, 3., 7. и 30. дана) након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. Резултати Friedman Test-а, приказани испод табеле показују да ова доза индукује статистички значајне промене вредности GSH (p=0,006) (табела 58.).

Табела 59. Friedman Test вредности GSH за дозу од 5,55 GBq¹³¹I.

Време	Медиана (nmol/ml плазме)	Средњи ранг
GSH 0	26924,690	1,85
GSH 3	37914,365	2,32
GSH 7	54422,280	3,47
GSH 30	15979,155	2,35

$$\chi^2=29,01; p=0,000$$

За дозу од 5,55 GBq¹³¹I вредности медиане и средњих рангова GSH 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq¹³¹I су приказани у табели 59. Резултати Friedman Test-а, приказани испод табеле, указују да ова доза статистички значајно утиче на промене вредности GSH (p=0,000).

Табела 60. Wilcoxon Signed Ranks Test промене GSH по интервалима за дозу од 3,70 GBq¹³¹I.

Интервали	z	p
GSH 0 – GSH 3	-1,409	0,159
GSH 3 – GSH 7	-1,676	0,094
GSH 7 – GSH 30	-2,273	0,023

z – вредност GSH; p – статистичка значајност

Након апликације дозе од 3,70 GBq¹³¹I вредност GSH је статистички значајно снижена у интервалу између 7. и 30. дана (p=0,023). У осталим суседним временским интервалима не долази до значајне промене овог параметра (табела 60. и слика 24.).

Табела 61. Wilcoxon Signed Ranks Test промене GSH по интервалима за дозу од 5,55 GBq¹³¹I.

Интервали	z	p
GSH 0 – GSH 3	-0,317	0,750
GSH 3 – GSH 7	-3,701	0,000
GSH 7 – GSH 30	-3,291	0,000

z – вредност GSH; p – статистичка значајност

Вредности GSH након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I су статистички значајно повећане у интервалу од 3. до 7. дана (p=0,000), док је у интервалу од 7. до 30. дана забележено статистички значајно снижење вредности овог параметра (p=0,000) (табела 61. и слика 25.).

Табела 62. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности GSH у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ¹³¹I.

Интервали	z	p
GSH 0 – GSH 3	-1,409	0,159
GSH 0 – GSH 7	-2,783	0,005
GSH 0 – GSH 30	-0,216	0,829

z – вредност GSH; p – статистичка значајност

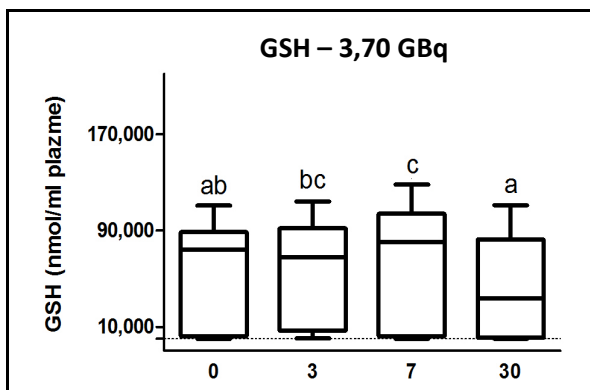
У табели 62. и слици 24. можемо приметити да је пораст вредности GSH седмог дана од примене терапије статистички значајна (p=0,005) у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ¹³¹I. Ниво GSH се не мења значајно 3. и 30. дана у односу на вредности забележене у дану 0.

Табела 63. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности GSH у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ¹³¹I.

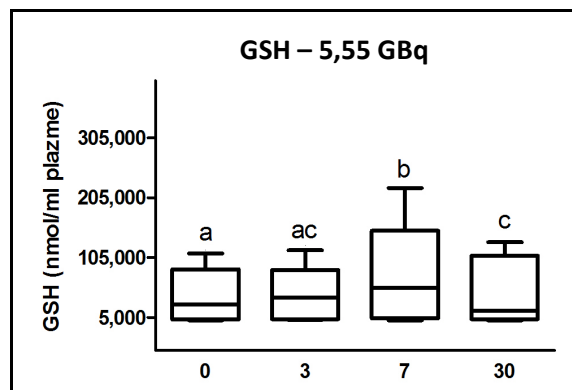
Интервали	z	p
GSH 0 – GSH 3	-0,318	0,751
GSH 0 – GSH 7	-4,197	0,000
GSH 0 – GSH 30	-2,402	0,016

z – вредност GSH; p – статистичка значајност

Након терапије ¹³¹I у дози од 5,55 GBq вредности GSH показују статистички значајно повећање 7. дана (p=0,000) и статистички значајно снижење 30. дана (p=0,016) у односу на вредност GSH у 0. дану (табела 63. и слика 25.)



Слика 24. Концентрација GSH у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p < 0.05$, Wilcoxon Signed Ranks Test).



Слика 25. Концентрација GSH у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I. „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p < 0.05$, Wilcoxon Signed Ranks Test).

Табела 64. Mann-Whitney Test разлика у ефекту доза од 3,70 и 5,55 GBq на ниво GSH 3., 7. и 30. дана након терапије.

Варијабла	Доза	Медијана	U	p
GSH 3	3,70 GBq	67931,540	469,5	0,454
	5,55 GBq	37914,365		
GSH 7	3,70 GBq	80128,430	429,0	0,200
	5,55 GBq	54422,280		
GSH 30	3,70 GBq	33740,830	461,0	0,389
	5,55 GBq	15979,155		

U – вредност GSH; p – статистичка значајност

Тестирање разлика у ефектима доза од 3,70 GBq и 5,55 GBq ¹³¹I на ниво GSH у 3., 7. и 30. дану након терапије је показало да коришћене дозе не утичу различито на ниво GSH ни у једној испитиваној временској тачки након примене ¹³¹I (табела 64.).

4.3 СЛОБОДНИ РАДИКАЛИ

4.3.1 СУПЕРОКСИД АНЈОН РАДИКАЛ ($O_2^{\cdot-}$)

Табела 65. Friedman Test вредности $O_2^{\cdot-}$ за дозу од 3,70 GBq ^{131}I .

Време	Медиана (nmol/ml плазме)	Средњи ранг
$O_2^{\cdot-}$ 0	5,270	2,55
$O_2^{\cdot-}$ 3	4,280	2,18
$O_2^{\cdot-}$ 7	4,940	2,61
$O_2^{\cdot-}$ 30	3,950	2,66

Friedman Test $\chi^2=2,84$; $p=0,42$

У табели 65. су приказане вредности медиане и средњих рангова концентрације $O_2^{\cdot-}$ 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I . Резултати Friedman Test-а, приказани испод табеле показују да ова доза не индукује статистички значајне промене вредности $O_2^{\cdot-}$ ($p=0,42$).

Табела 66. Friedman Test вредности $O_2^{\cdot-}$ за дозу од 5,55 GBq ^{131}I .

Време	Медиана (nmol/ml плазме)	Средњи ранг
$O_2^{\cdot-}$ 0	3,950	2,18
$O_2^{\cdot-}$ 3	5,910	2,71
$O_2^{\cdot-}$ 7	3,295	1,91
$O_2^{\cdot-}$ 30	8,255	3,21

Friedman Test $\chi^2=20,22$; $p=0,000$

За дозу од 5,55 GBq ^{131}I приказане су вредности медиане и средњих рангова нивоа $O_2^{\cdot-}$ за 0, 3., 7. и 30. дан након озрачивања. Резултати Friedman Test-а испод табеле показују да ова доза статистички значајно утиче на ниво $O_2^{\cdot-}$ ($p=0,000$) (табела 66.).

Табела 67. Wilcoxon Signed Ranks Test промене O_2^- по интервалима за дозу од 3,70 GBq ^{131}I .

Интервали	z	p
$O_2^- 0 - O_2^- 3$	-0,855	0,393
$O_2^- 3 - O_2^- 7$	-1,151	0,250
$O_2^- 7 - O_2^- 30$	-0,010	0,991

z – вредност O_2^- ; p – статистичка значајност

Посматрајући табелу 67. и слику 26. види се да нема статистички значајних промена нивоа O_2^- између суседних временских интервала након излагања дози од 3,70 GBq ^{131}I .

Табела 68. Wilcoxon Signed Ranks Test промене O_2^- по интервалима за дозу од 5,55 GBq ^{131}I .

Интервали	z	p
$O_2^- 0 - O_2^- 3$	-1,941	0,052
$O_2^- 3 - O_2^- 7$	-2,385	0,017
$O_2^- 7 - O_2^- 30$	-2,658	0,007

z – вредност O_2^- ; p – статистичка значајност

У табели 68. и слици 27. се види да постоји статистички значајно снижење нивоа O_2^- у интервалу од 3. до 7. ($p=0,017$) дана и значајно повећање вредности O_2^- у интервалу од 7. до 30. дана ($p=0,007$) након примене терапије ^{131}I у дози од 5,55 GBq.

Табела 69. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности O_2^- у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ^{131}I .

Интервали	z	p
$O_2^- 0 - O_2^- 3$	-0,854	0,393
$O_2^- 0 - O_2^- 7$	-0,496	0,620
$O_2^- 0 - O_2^- 30$	-0,134	0,893

z – вредност O_2^- ; p – статистичка значајност

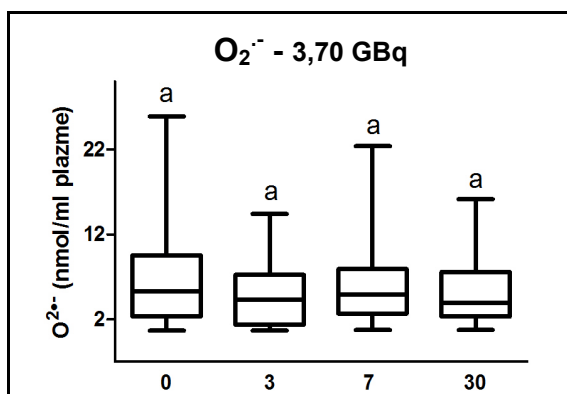
У табели 69. и слици 26. се види да вредности $O_2^{\cdot-}$ након дозе од 3,70 GBq ^{131}I нису статистички значајно промењене ни у једној испитиваној временској тачки у односу на вредност пре примене терапије.

Табела 70. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности $O_2^{\cdot-}$ у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ^{131}I .

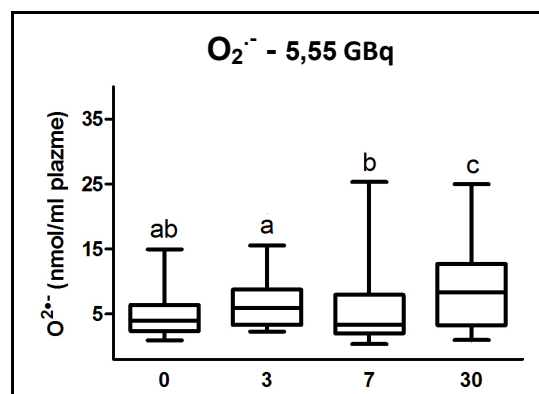
Интервали	z	p
$O_2^{\cdot-} 0 - O_2^{\cdot-} 3$	-1,941	0,052
$O_2^{\cdot-} 0 - O_2^{\cdot-} 7$	-1,181	0,237
$O_2^{\cdot-} 0 - O_2^{\cdot-} 30$	-4,334	0,000

z – вредност $O_2^{\cdot-}$; p – статистичка значајност

Након терапије ^{131}I у дози од 5,55 GBq ниво $O_2^{\cdot-}$ показује статистички значајно повећање само у 30. дану (p=0,000) у односу на вредност пре примене терапије (0. дан) (табела 70. и слика 27.).



Слика 26. Концентрација $O_2^{\cdot-}$ у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I . „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Wilcoxon Signed Ranks Test).



Слика 27. Концентрација $O_2^{\cdot-}$ у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I . „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују (p<0,05, Wilcoxon Signed Ranks Test).

Табела 71. Mann-Whitney Test разлика у ефекту доза од 3,70 и 5,55 GBq на ниво O_2^- 3., 7. и 30. дана након терапије.

Варијабла	Доза	Медијана	U	p
O_2^- 3	3,70 GBq	4,280	402,0	0,101
	5,55 GBq	5,910		
O_2^- 7	3,70 GBq	4,940	449,5	0,311
	5,55 GBq	3,295		
O_2^- 30	3,70 GBq	3,950	364,0	0,032
	5,55 GBq	8,255		

U – вредност O_2^- ; p – статистичка значајност

Тестирање разлика у ефектима доза од 3,70 GBq и 5,55 GBq ^{131}I на ниво O_2^- у 3., 7. и 30. дану након терапије је показало да дозе различито утичу на промену концентрације овог радикала само у 30. дану од примене ^{131}I (табела 71.).

4.3.2 ВОДНИК ПЕРОКСИД (H_2O_2)

Табела 72. Friedman Test вредности H_2O_2 за дозу од 3,70 GBq ^{131}I .

Време	Медиана (nmol/ml плазме)	Средњи ранг
H_2O_2 0	2,260	3,06
H_2O_2 3	2,120	2,45
H_2O_2 7	1,980	2,00
H_2O_2 30	2,120	2,48

Friedman Test $X^2=10,77$; $p=0,013$

У табели 72. су приказане вредности медиане и средњих рангова концентрације H_2O_2 0., 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I . Резултати Friedman Test-а, приказани испод табеле показују да ова доза индукује статистички значајне промене нивоа H_2O_2 ($p=0,013$).

Табела 73. Friedman Test вредности H_2O_2 за дозу од 5,55 GBq ^{131}I .

Време	Медиана (nmol/ml плазме)	Средњи ранг
H_2O_2 0	2,590	2,76
H_2O_2 3	2,810	2,47
H_2O_2 7	2,535	2,43
H_2O_2 30	2,485	2,34

Friedman Test $\chi^2=2,10$; $p=0,551$

Подаци у табели 73. приказују вредности медиане и средњих рангова концентрације H_2O_2 у појединим временским тачкама (0., 3., 7. и 30. дан) након излагања дози од 5,55 GBq ^{131}I . Резултати Friedman Test–а испод табеле показују да ова доза не утиче значајно на вредности H_2O_2 ($p=0,551$).

Табела 74. Wilcoxon Signed Ranks Test промене H_2O_2 по интервалима за дозу од 3,70 GBq ^{131}I .

Интервали	z	p
H_2O_2 0 – H_2O_2 3	-1,303	0,192
H_2O_2 3 – H_2O_2 7	-1,097	0,272
H_2O_2 7 – H_2O_2 30	-1,266	0,206

z – вредност H_2O_2 ; p – статистичка значајност

У табели 74. и слици 28. се види да нема статистички значајне промене нивоа H_2O_2 ни у једном од суседних временских интервала након примене ^{131}I у дози од 3,70 GBq.

Табела 75. Wilcoxon Signed Ranks Test промене H_2O_2 по интервалима за дозу од 5,55 GBq ^{131}I .

Интервали	z	p
H_2O_2 0 – H_2O_2 3	-1,000	0,317
H_2O_2 3 – H_2O_2 7	-0,589	0,555
H_2O_2 7 – H_2O_2 30	-0,658	0,510

z – вредности H_2O_2 ; p – статистичка значајност

У табели 75. и слици 29. се види да нема статистички значајних промена H_2O_2 ни у једном од суседних временских интервала након примене ^{131}I у дози од 5,55 GBq.

Табела 76. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности H_2O_2 у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ^{131}I .

Интервали	z	p
H_2O_2 0 – H_2O_2 3	-1,303	0,192
H_2O_2 0 – H_2O_2 7	-2,746	0,006
H_2O_2 0 – H_2O_2 30	-2,205	0,027

z – вредности H_2O_2 ; p – статистичка значајност

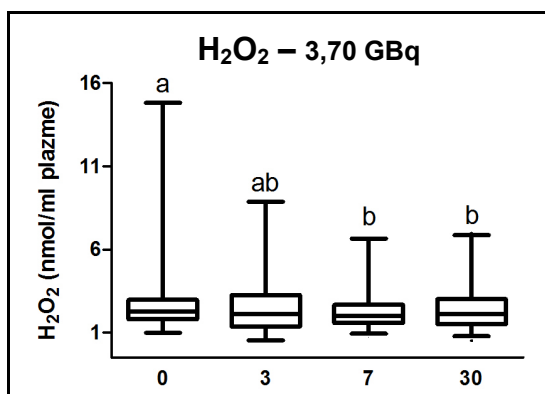
Након терапије ^{131}I у дози од 3,70 GBq ниво H_2O_2 показује статистички значајно снижење 7. и 30. дана ($p=0,006$; $p=0,027$) у односу на вредност пре терапије (табела 76. и слика 28.).

Табела 77. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности H_2O_2 у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ^{131}I .

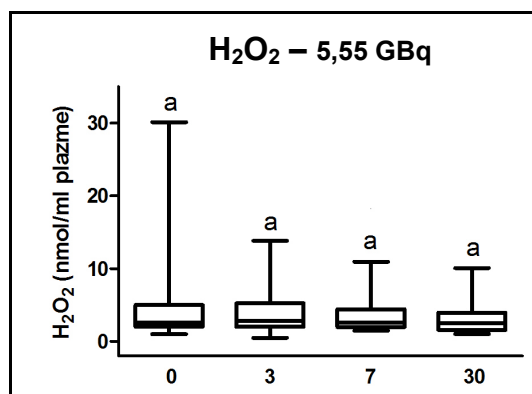
Интервали	z	p
H_2O_2 0 – H_2O_2 3	-1,000	0,317
H_2O_2 0 – H_2O_2 7	-0,956	0,339
H_2O_2 0 – H_2O_2 30	-1,617	0,105

z – вредности H_2O_2 ; p – статистичка значајност

Након терапије дозом од 5,55 GBq ^{131}I вредности H_2O_2 3., 7. и 30. дана нису статистички значајно промењене у односу на вредност пре терапије (табела 77. и слика 29.).



Слика 28. Концентрација H_2O_2 у крви ДТС пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I . „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p < 0,05$, Wilcoxon Signed Ranks Test).



Слика 29. Концентрација H_2O_2 у крви ДТС пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I . „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p < 0,05$, Wilcoxon Signed Ranks Test).

Табела 78. Mann-WhitneyTest разлика у ефекту доза од 3,70 и 5,55 GBq на ниво H_2O_2 3., 7. и 30. дана након терапије.

Варијабла	Доза	Медијана	U	p
H_2O_2 3	3,70 GBq	2,120	383,0	0,059
	5,55 GBq	2,810		
H_2O_2 7	3,70 GBq	1,980	341,5	0,015
	5,55 GBq	2,535		
H_2O_2 30	3,70 GBq	2,120	435,0	0,229
	5,55 GBq	2,485		

U – вредности H_2O_2 ; p – статистичка значајност

Тестирање разлика у ефектима доза од 3,70 GBq и 5,55GBq ^{131}I на ниво H_2O_2 у 3., 7. и 30. дану након терапије је показало да дозе различито утичу на промену концентрације H_2O_2 само у 7. дану од примене ^{131}I (табела 78.).

4.3.3 АЗОТ ОКСИД (NO)

Табела 79. Friedman Test вредности NO за дозу од 3,70 GBq ^{131}I .

Време	Медиана (nmol/ml екстракта)	Средњи ранг
NO 0	9,900	2,34
NO 3	8,850	2,19
NO 7	10,690	2,87
NO 30	11,770	2,60

Friedman Test $X^2=4,997$; $p=0,172$

Вредности медиане и средњих рангова концентрације NO у појединим временским тачкама (0., 3., 7. и 30. дан) након излагања дози од 3,70 GBq ^{131}I приказани су у табели 79. Резултати Friedman Test-а испод табеле показују да ова доза не утиче статистички значајно на вредности NO ($p=0,172$).

Табела 80. Friedman Test вредности NO за дозу од 5,55 GBq ^{131}I .

Време	Медиана (nmol/ml екстракта)	Средњи ранг
NO 0	12,045	2,10
NO 3	12,190	2,43
NO 7	12,425	2,88
NO 30	13,695	2,59

Friedman Test $X^2=6,487$; $p=0,090$

Вредности медиане и средњих рангова концентрације NO у појединим временским тачкама (0., 3., 7. и 30. дан) након излагања дози од 5.55 GBq ^{131}I приказани су у табели 80. Резултати Friedman Test-а испод табеле показују да ова доза не утиче статистички значајно на вредности NO ($p=0,090$).

Табела 81. Wilcoxon Signed Ranks Test промене $\dot{N}O$ по интервалима за дозу од 3,70 GBq ^{131}I .

Интервали	z	p
$\dot{N}O$ 0 – $\dot{N}O$ 3	-0,646	0,517
$\dot{N}O$ 3 – $\dot{N}O$ 7	-2,362	0,018
$\dot{N}O$ 7 – $\dot{N}O$ 30	-0,370	0,711

z – вредности $\dot{N}O$; p – статистичка значајност

У табели 81. и слици 30. се може уочити да вредности $\dot{N}O$ између суседних временских интервала након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I показују статистички значајно повећање само у интервалу од 3. до 7. дана (p=0,018).

Табела 82. Wilcoxon Signed Ranks Test промене $\dot{N}O$ по интервалима за дозу од 5,55 GBq ^{131}I .

Интервали	z	p
$\dot{N}O$ 0 – $\dot{N}O$ 3	-0,822	0,411
$\dot{N}O$ 3 – $\dot{N}O$ 7	-0,504	0,614
$\dot{N}O$ 7 – $\dot{N}O$ 30	-0,649	0,515

z – вредност $\dot{N}O$; p – статистичка значајност

Вредности $\dot{N}O$ између суседних временских интервала након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I нису статистички значајно промењене (табела 82. и слика 31.).

Табела 83. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности $\dot{N}O$ у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ^{131}I .

Интервали	z	p
$\dot{N}O$ 0 – $\dot{N}O$ 3	-0,646	0,517
$\dot{N}O$ 0 – $\dot{N}O$ 7	-0,573	0,115
$\dot{N}O$ 0 – $\dot{N}O$ 30	-0,705	0,480

z – вредност $\dot{N}O$; p – статистичка значајност

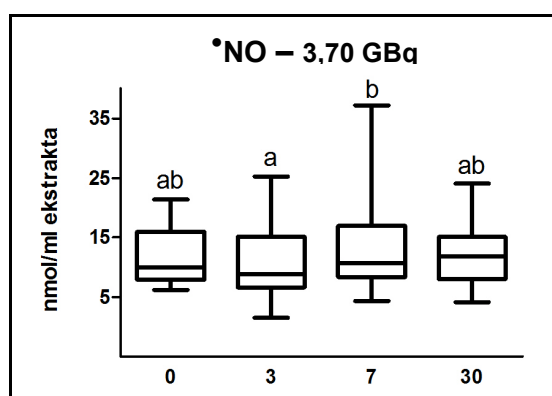
Вредности $\dot{N}O$ након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I нису статистички значајно промењене у односу на вредност пре терапије (табела 83. и слика 30.)

Табела 84. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности $\cdot\text{NO}$ у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ^{131}I .

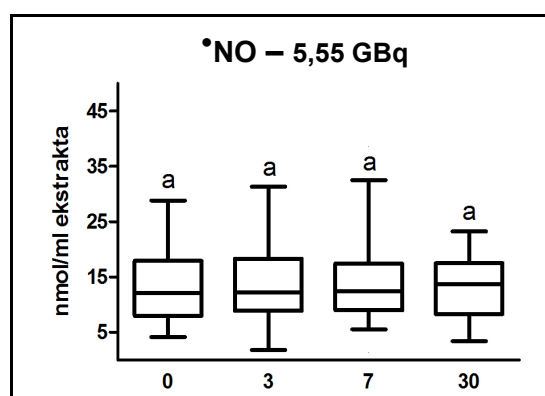
Интервали	z	p
$\cdot\text{NO}$ 0 – $\cdot\text{NO}$ 3	-0,822	0,411
$\cdot\text{NO}$ 0 – $\cdot\text{NO}$ 7	-1,308	0,191
$\cdot\text{NO}$ 0 – $\cdot\text{NO}$ 30	-0,778	0,436

z – вредност $\cdot\text{NO}$; p – статистичка значајност

Ниво $\cdot\text{NO}$ након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I није статистички значајно промењен у односу на вредност $\cdot\text{NO}$ пре терапије (табела 84. и слика 31.).



Слика 30. Концентрација $\cdot\text{NO}$ у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I . „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p < 0,05$, Wilcoxon Signed Ranks Test.)



Слика 31. Концентрација $\cdot\text{NO}$ у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I . „Кућице“ на графикону обухватају 5 - 95% измерених вредности, линија у кућици означава медијану, а цртице изнад и испод кућице најмању и највећу измерену вредност. Групе са различитим словним ознакама изнад кућица се међусобно статистички значајно разликују ($p < 0,05$, Wilcoxon Signed Ranks Test).

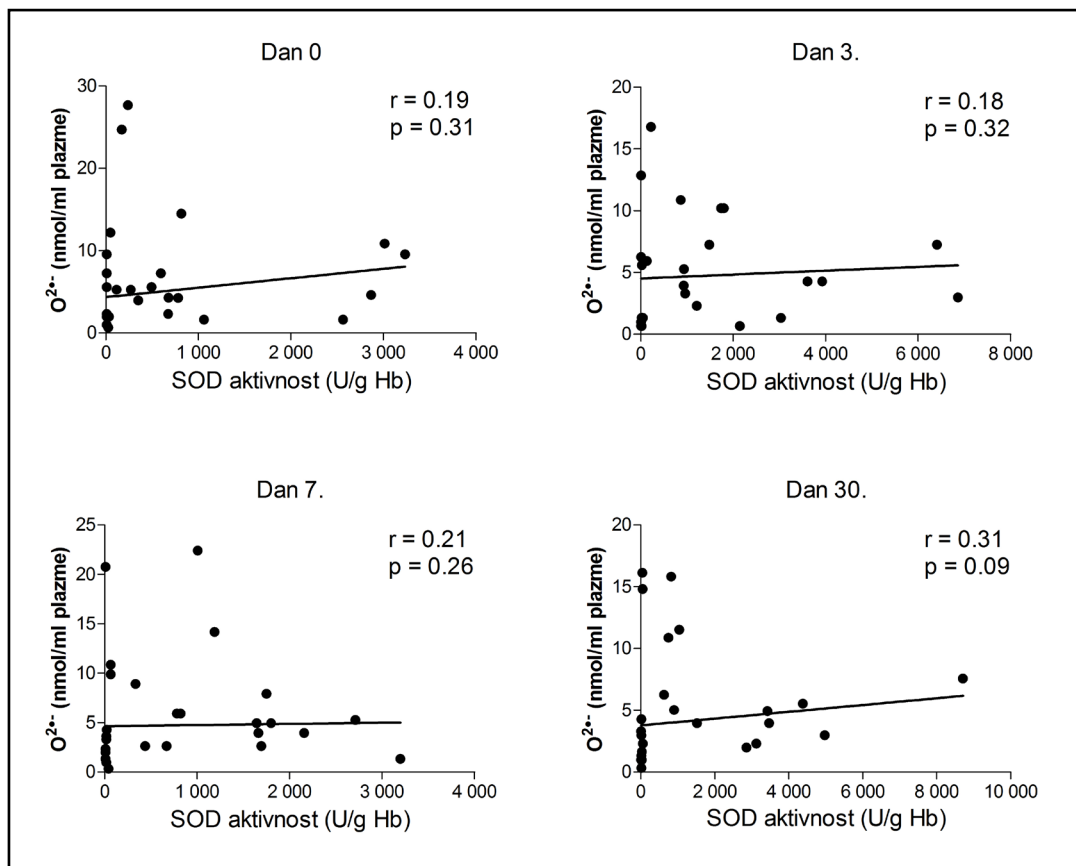
Табела 85. Mann-WhitneyTest разлика у ефекту доза од 3,70 и 5,55 GBq на ниво 'NO 3., 7. и 30. дана након терапије.

Варијабла	Доза	Медијана	U	p
'NO 3	3,70 GBq	8,850	370,5	0,040
	5,55 GBq	12,190		
'NO 7	3,70 GBq	10,690	452,0	0,327
	5,55 GBq	12,425		
'NO 30	3,70 GBq	11,770	493,5	0,664
	5,55 GBq	13,695		

U – вредност 'NO; p – статистичка значајност

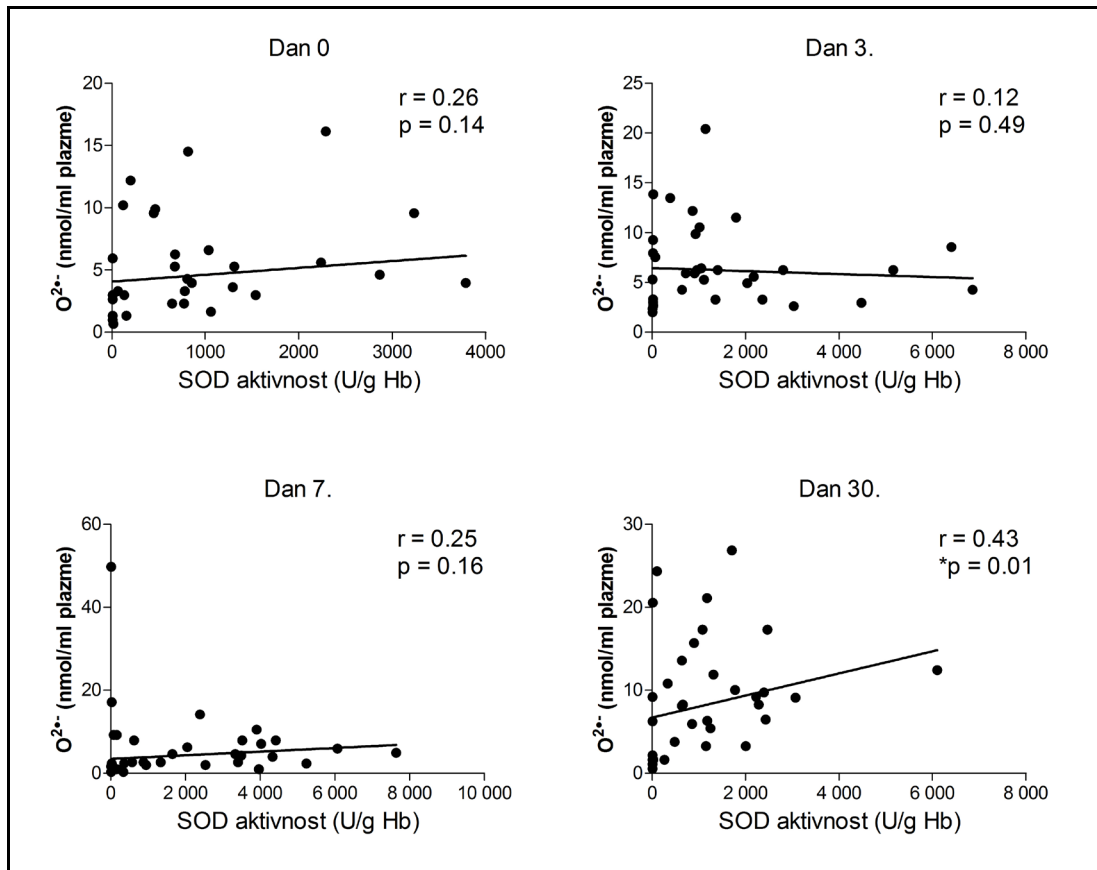
Тестирање разлика у ефектима доза од 3,70 GBq и 5,55 GBq ¹³¹I на ниво 'NO у 3., 7. и 30. дану након терапије је показало да дозе различито утичу на ниво 'NO само у 3. дану од примене ¹³¹I (табела 85.).

4.4 КОРЕЛИСАНОСТ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАТИВНИХ ЕНЗИМА И ЊИХОВИХ СУПСТРАТА



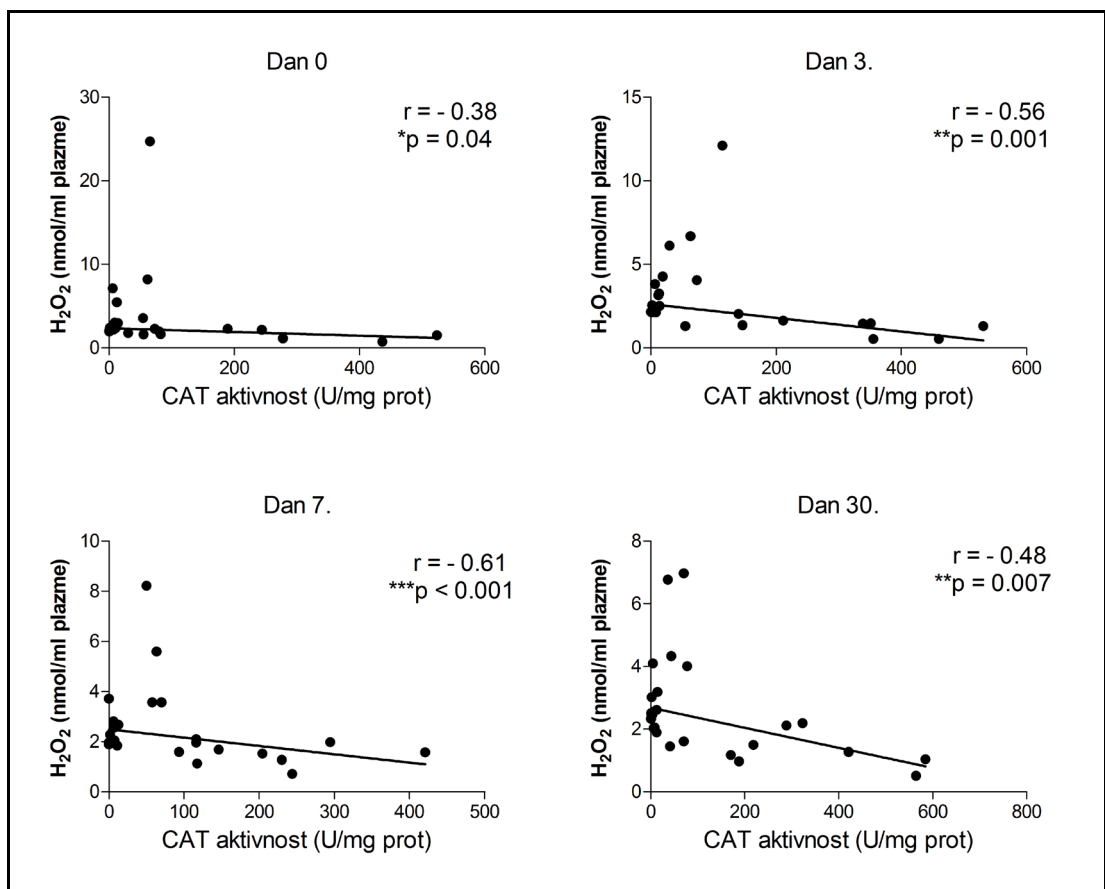
Слика 32. Сперманова корелација и линеарна регресија SOD активности и концентрације $O_2^{\cdot-}$ у крви DTC пацијената 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I (r – Сперманов коефицијент; p – вредност за Сперманов коефицијент).

На слици 32. анализа корелације показује да SOD активност није корелисана са нивоом $O_2^{\cdot-}$ ни у једној од испитиваних временских тачака.



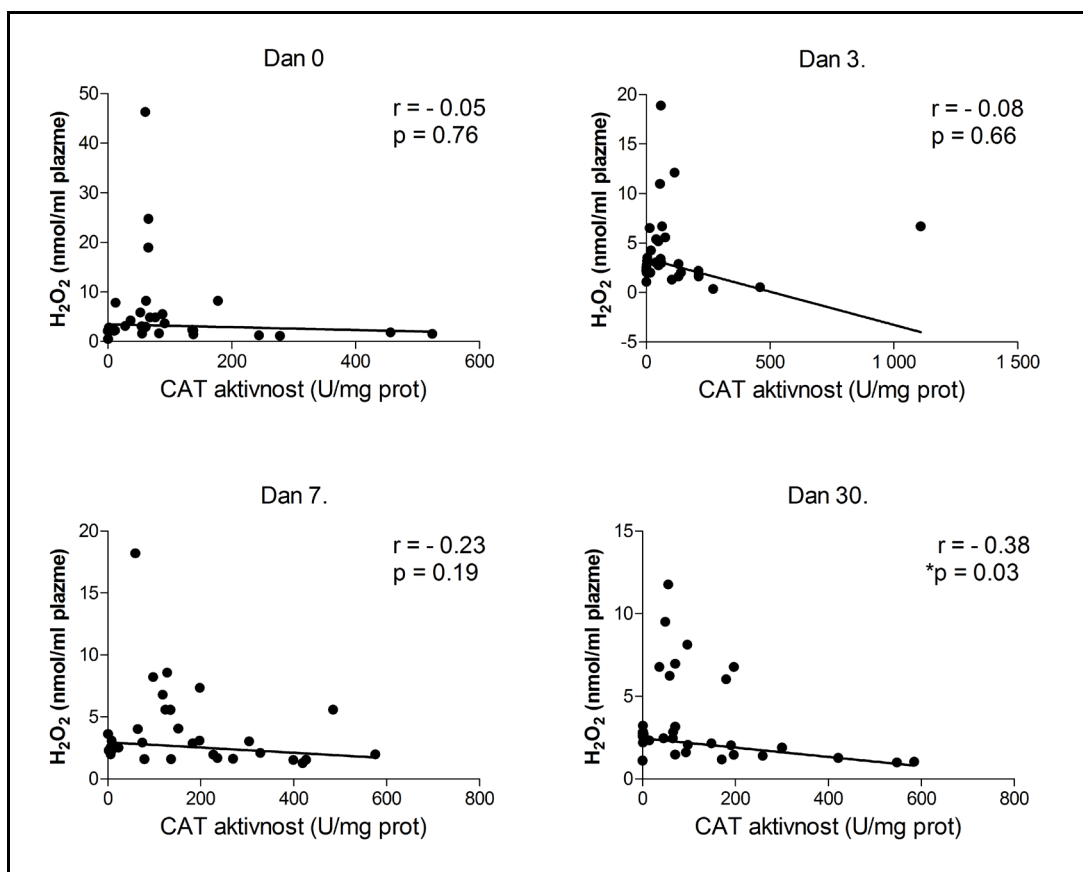
Слика 33. Сперманова корелација и линеарна регресија SOD активности и концентрације $O_2^{\cdot-}$ у крви DTC пацијената 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I (r – Сперманов коефицијент; p – вредност за Сперманов коефицијент).

На слици 33. анализа корелације показује да је SOD активност корелисана са нивоом $O_2^{\cdot-}$ ($p=0.01$) само 30. дана након примене дозе од 5.55 GBq ^{131}I . Ова корелација је позитивна.



Слика 34. Сперманова корелација и линеарна регресија CAT активности и концентрације H₂O₂ у крви DTC пацијената 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I (r – Сперманов коефицијент; p – вредност за Сперманов коефицијент).

На слици 34. активност CAT је негативно корелисана са нивоом H₂O₂ 3. дана (p=0.001), 7. дана (p<0.001) и 30. дана (p=0.007) након примене дозе од 3,70 GBq ¹³¹I.



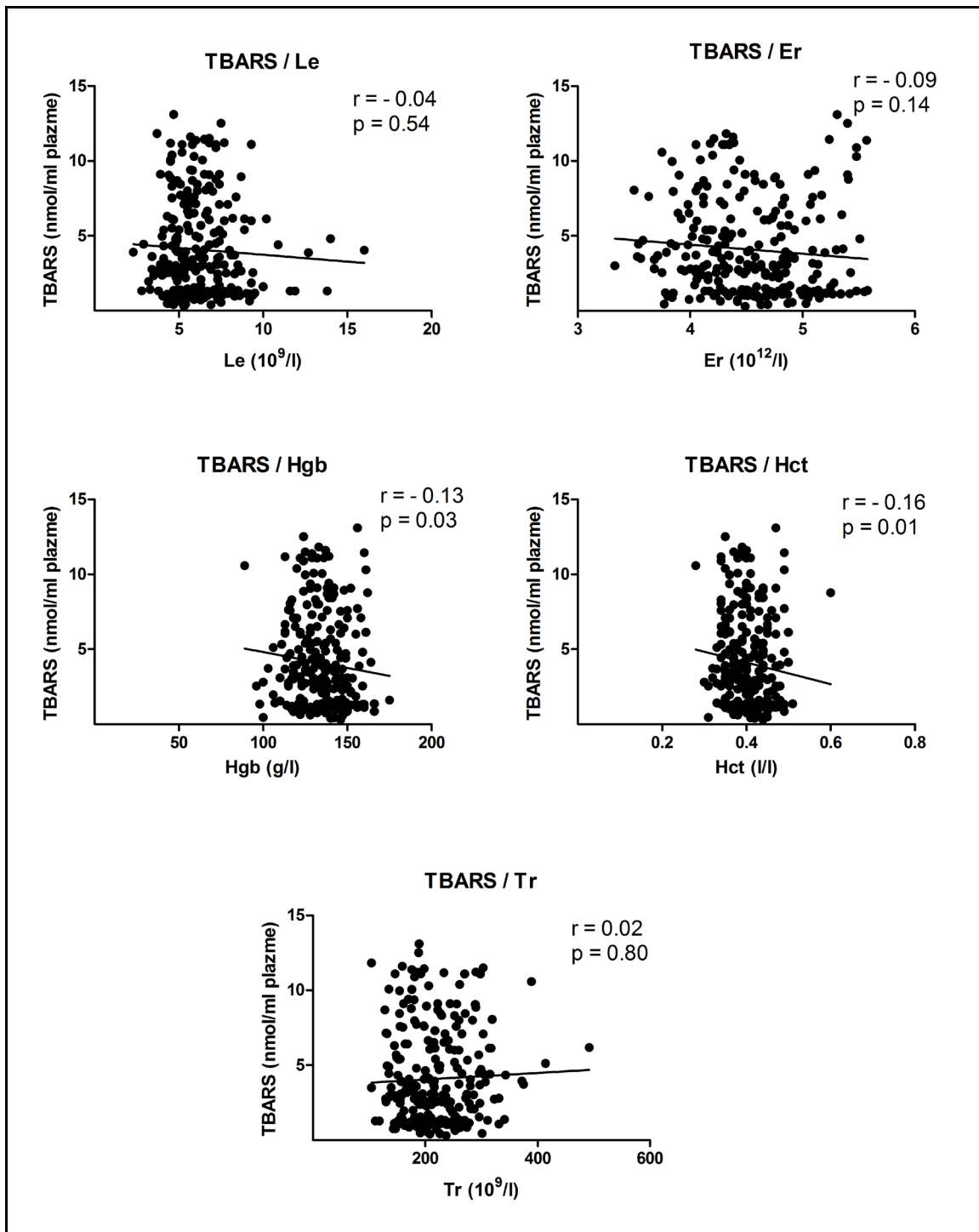
Слика 35. Сперманова корелација и линеарна регресија CAT активности и концентрације H₂O₂ у крви DTC пацијената 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ¹³¹I (r – Сперманов коефицијент; p – вредност за Сперманов коефицијент).

На слици 35 активност CAT је негативно корелисана са нивоом H₂O₂ само 30. дана (p=0.03) након примене дозе од 5.55 GBq ¹³¹I.

Табела 86. Резултати Мултипле регресије методом Аутоматског линеарног моделовања у којој је вредност TBARS-а узета као зависна, а вредности SOD, CAT, GSH, O₂⁻, H₂O₂ и 'NO као независне варијабле. Приказане су само варијабле са значајним предиктивним вредностима.

Предиктор	Коефицијент	Ст. грешка	t	P
SOD	0.000	0.000	3.142	0.004
H ₂ O ₂	-0.140	0.051	-2.718	0.006
O ₂ ⁻	0.111	0.050	2.062	0.038

Резултати Мултипле линеарне регресије су показали да од пет тестираних параметара (SOD, CAT, GSH, O₂⁻, H₂O₂ и 'NO) само активност SOD и концентрације H₂O₂ и O₂⁻ значајно утичу на ниво TBARS-а у крви DTC пацијената.



Слика 36. Сперманова корелација и линеарна регресија концентрације TBARS-а и нивоа хематолошких параметара (Le, Er, Hgb, Hct, Tr) у крви DTC пацијената (r – Сперманов коефицијент; p – вредност за Сперманов коефицијент).

На слици 36. ниво TBARS-а је негативно корелисан са нивоима Hgb ($p=0.03$) и Hct ($p=0.01$) док остали хематолошки параметри нису значајно корелисани са нивоом липидне пероксидације.

5 ДИСКУСИЈА

Када се говори о малигнитету ендокриног система најчешће се мисли на малигнитет штитасте жлезде. Он се јавља у 95% случајева свих дијагностикованих карцинома ендокриног система (182), а годишња стопа инциденце у различитим деловима света се креће од 0,5-10 случајева на 100,000 становника (183). Америчко удружење за рак предвиђа да ће се у 2017. години у САД појавити 1,688,780 нових случајева свих облика рака са 600,920 смртних исхода (стопа инциденце карцинома је 20% већа код мушкараца него код жена, док је стопа смртности 40% већа). Међутим, стопа инциденце за карцином штитасте жлезде је три пута већа код жена него код мушкараца (21 према 7 на 100,000 становника)(184). Упркос доказаној ефикасности примене ^{131}I у лечењу диферентованог карцинома штитасте жлезде, јављају се и нежељени ефекти повезани са његовом употребом. Међу њима се истичу поремећаји функције пљувачних жлезда (185), оштећење сузних жлезда (186), поремећаји функције репродуктивних органа (187) и хематолошки поремећаји(188).

Имајући у виду да су пацијенти који примају ^{131}I хипотироидни и да је клиренс бубрега код таквих пацијената снижен (189), то омогућава дуже задржавање јода у организму и његово штетно деловање. Многи аутори сматрају да TSH повећава експресију NIS (190) чиме се интензивира везивање радиојода у ткивима и повећава укупна апсорбована доза. Рани ефекти зрачења јављају се током неколико сати до неколико недеља након излагања (191). Терапија ^{131}I може довести до реверзибилних промена у броју ћелија периферне крви (192; 193), што зависи од укупне примљене дозе, од учесталости третмана, постојеће резерве костне сржи и радиосензитивности саме особе. Зато смо ми у нашем раду посматрали промене вредности броја леукоцита, еритроцита, тромбоцита, концентрације хемоглобина и вредности хематокрита у периферној крви пацијената пре и после примене радиоактивног јода у дози од 3,70 GBq и 5,55 GBq трећег, седмог и тридесетог дана од терапије. Бројне студије показују да је примена ^{131}I повезана са хематолошким променама које трају најмање годину дана (188). У многобројним ранијим радовима (194; 195), као и у неким скоријим (196; 197), број ћелија периферне крви је значајно снижен, а нарочито број леукоцита који опада већ у првих месец дана након примене терапије. Резултати

нашег истраживања указују на значајно снижење броја леукоцита 3., 7. и 30. дана након примене радиоактивног јода за обе посматране дозе. Овако добијени подаци су у складу и са резултатима Врндић и сарадника (198) где је статистички значајно смањен број леукоцита 7. дана од апликације радиоактивног јода. У раду Van Nostrand-а и сарадника (199) такође је показан пад броја леукоцита у првих месец дана, док Ozata и сарадници (200) у свом раду показују пад броја леукоцита од другог до шестог месеца после терапије. Према њиховим резултатима до пада броја леукоцита долази као последица депресије костне сржи изазване зрачењем. За разлику од њих Schober и сарадници (201) су у својој ретроспективној студији пратили 296 пацијената око 65 месеци након терапије ^{131}I укупном дозом од 536 mCi и приметили смањење броја леукоцита у периферној крви у 11% случајева, као и пораст броја леукоцита у 23% случајева. У раду Keldsen-а и сарадника (202) од 24 посматраних пацијената, који су примили терапију радиоактивног јода активности од 1,9 до 4,6 GBq по третману, код њих 5 је већ после две недеље број ћелија костне сржи опао за 50% од почетне вредности пре третмана као последица депресије костне сржи зрачном терапијом. Loyd и Dolphin (203) сматрају да пад укупног броја леукоцита у периферној крви настаје као последица смањења броја лимфоцита (субпопулације леукоцита) због њихове миграције у друга ткива, а не као последица њихове озрачености и смрти ћелије. До сличних података су дошли и Врндић и сарадници (198) јер су у периферној крви пацијената са DTC након терапије ^{131}I нашли повећан проценат апоптотичних лимфоцита. Ми у нашем раду нисмо пратили подврсте леукоцита већ само укупан број леукоцита па не можемо рећи која субпопулација највише доприноси забележеном паду броја леукоцита већ 3. дана након примене терапије, али претпостављамо да су главни узроци свакако повећана радоосетљивост и миграција у ткива која су изложена дејству ^{131}I .

5.1 ЕРИТРОЦИТИ, ХЕМОГЛОБИН И ХЕМАТОКРИТ

У нашем истраживању уочено је статистички значајно смањење броја ћелија периферне крви у току првих 30 дана након примене радиоактивног јода. У складу са другим студијама (204; 196) и код наших пацијената се јавља снижен број еритроцита трећег, седмог и тридесетог дана у односу на вредност пре примене обе аблационе дозе јода.

Имајући у виду да зрели еритроцити живе око 120 дана и да припадају групи радиорезистентних ћелија, њихово смањење не би се могло објаснити деловањем јонизујућег зрачења на незреле прекурсоре у костној сржи, а такође ни повећаном осетљивошћу зрелих еритроцита у периферној крви. У раду Aggio MC (204) истиче да су еритроидне ћелије осетљивије на дејство јонизујућег зрачења од прекурсора леукоцита и мегакариоцита објашњавајући да зрачење доводи до депресије еритропоезе тако што ремети процес инкорпорације гвожђа у еритроците. Molinaro и сарадници (188) су приметили да примена ^{131}I од 3,70 GBq код пацијената изазива снижење броја еритроцита, али не и вредности хемоглобина годину дана након примене терапије. Vikas и сарадници (196) уочили су снижен број еритроцита и вредност хемоглобина првог и шестог месеца након терапије ^{131}I од 5,55 GBq. Према њиховим резултатима снижене вредности еритроцита су последица пролазне депресије костне сржи услед деловања радиоактивног јода. За разлику од других студија које су испитивале хематолошке параметре након месец дана или више, ми смо у нашој студији посматрали ране ефекте зрачења дозама од 3,70 GBq и 5,55 GBq на вредности еритроцита, хемоглобина и хематокрита које су значајно снижене већ трећег дана и те снижене вредности одржавају се и седмог и тридесетог дана након терапије. Наши резултати су у сагласности са резултатима Sonmez-a и сарадника (194) који су у свом раду показали да су вредности хемоглобина значајно ниже месец дана након терапије, док је Ozata (200) то снижење забележио у прва два месеца. Такође, у свом раду Van Nostrand и сарадници (199), као и Namasivajm и сарадници (205) су забележили снижене вредности броја еритроцита код пацијената са папиларним карциномом у поређењу са вредностима код здравих испитаника. И у раније публикованим радовима забележен је пад броја еритроцита и концентрација хемоглобина код пацијената који су лечени ^{131}I (202). Ни и сарадници (206) су

претпоставили да снижење броја еритроцита и вредност хемоглобина у првом месецу после терапије и значајно повећање након 6 месеци није само последица супресије костне сржи. Они сматрају да краткорочно хипотиреоидно стање пре радиоактивног третмана може проузроковати анемично стање пацијената, које се опоравља применом хормона штитасте жлезде након терапије ¹³¹I. Поред тога, губитак крви због саме операције штитасте жлезде може проузроковати снижене вредности хемоглобина. Сличне вредности за хемоглобин, али и за снижене вредности хематокрита, добили су у свом раду и Padovani и сарадници (197) и те су се вредности одржавале до годину дана након примењене терапије. Анализа корелисаности хематолошких параметара са нивоом TBARS-а је показала постојање негативне корелације TBARS/хематокрт и TBARS/хемоглобин, док остали параметри нису значајно корелисани са нивоом липидне пероксидације (слика 36.).

Познато је да су зрели еритроцити посебно склони оксидативном оштећењу јер су стално изложени високим нивоима кисеоника, а и гвожђе ослобођено из хемоглобина може деловати као катализатор за генерисање хидроксилних радикала Фентоновом реакцијом (207). У нормалним околностима еритроцити су од оксидативног оштећења заштићени активношћу својих АО ензима и молекула. Међутим, зрели еритроцити имају ограничени капацитет да замене оштећене протеине *de novo* синтезом, па у условима повећаног оксидативног стреса и нарушеног АО капацитета може доћи до оксидацијом индуковане денатурације биомолекула у еритроцитима, што резултује превременим уклањањем ових крвних ћелија (208). Осим на нивоу биомолекула, оксидативни стрес може деловати и директно на еритроците мењајући многе њихове особине. Показано је, на пример, да оксидативним умрежавањем спектрина долази до повећања чврстоће и смањења еластичности ћелијске мембране; оксидативни стрес може утицати на промене мембранске пропустљивости, али и изазвати „препознавање“ еритроцита од стране имуног система (209; 210).

5.2 ТРОМБОЦИТИ

Опште је познато да јонизујуће зрачење у зависности од дозе доводи до пада броја свих ћелија крви (211). У нашем раду поред снижења броја леукоцита и еритроцита дошло је до статистички значајног снижења броја тромбоцита у крви пацијената са DTC већ трећег дана након примене терапије ^{131}I за обе дозе у односу на број тромбоцита нултог дана. Тај снижен број тромбоцита у крви пацијената се одржавао и 7. и 30. дана после терапије ^{131}I .

Док смо ми у нашем раду испитивали вредности тромбоцита као рани ефекат деловања јонизујућег зрачења, Sonmez и сарадници (194) су показали да примена радиоактивног јода у дозама 3,70-7,40 GBq изазива смањење броја тромбоцита најмање годину дана након терапије. Ozata (200) је приметио да се код пацијената који су примили терапијску дозу ^{131}I од 5,55 GBq број тромбоцита након четири месеца смањило у односу на почетну вредност пре терапије. На основу добијених резултата дошли су до закључка да ови ефекти смањења броја тромбоцита зависе од дозе радиоактивног јода и пролазне депресије костне сржи. За разлику од њих Schober и сарадници (201) су у својој студији приметили изражену тромбоцитопенију код 35% пацијената након третирања дозом од 3,70 GBq, док код осталих пацијената који су третирани истом дозом није било промена у односу на вредност тромбоцита пре терапије. Према њиховим резултатима за овакве ефекте одговорна је индивидуална осетљивост пацијената са DTC. Такође Rosario и сарадници (212) су показали да је смањење броја тромбоцита 2 месеца након примене аблационе терапије било процентуално веће код пацијената којима је хипотиреоза постигнута обустављањем супституционе терапије, а мања код оних пацијената који су примали rhTSH непосредно пре примене ^{131}I . У студији коју су радили Molinaro и сарадници (188) уочено је да на снижење броја тромбоцита у периферној крви пацијената праћених годину дана након аблације не утичу ни метода припреме пацијената, а ни ангажована активност ^{131}I , већ само индивидуална осетљивост пацијената. И у недавно публикованим студијама Ни и сарадника (206) приказано је да апликација ^{131}I доводи до пада тромбоцита током неколико дана од примене терапије. Наши резултати су у складу са њиховим резултатима и већ 3. дана након примене ^{131}I долази до статистички значајног пада броја тромбоцита. Ако се зна да је век тромбоцита од 7-10

дана можемо претпоставити да снижене вредности тромбоцита могу настати као последица оштећења костне сржи или напуштања периферне крви, или пак као последица смањене способности организма да поправља оштећења настала деловањем јонизујућег зрачења применом ^{131}I .

Из до сада публикованих радова (188; 213) може се закључити да различите дозе радиоактивног јода доводе до снижења броја целуларних елемената крви. То снижење зависи од дозе ^{131}I и јавља се као последица пролазне супресије костне сржи (194; 214). На основу свих анализираних промена хематолошких параметара 3., 7. и 30. дана након примене дозе ^{131}I од 3,70 GBq и 5,55 GBq, у нашем раду може се закључити да нема статистички значајне разлике у ефектима између доза. Обе дозе ^{131}I су у свим посматраним временима довеле до значајног снижења броја свих праћених хематолошких параметара највероватније као последица реверзibilне депресије костне сржи, али и различите индивидуалне осетљивости на зрачење.

5.3 ПАРАМЕТРИ АНТИОКСИДАТИВНОГ СТАТУСА

5.3.1 ОКСИДАТИВНИ СТРЕС

Умерене вредности ROS-а су неопходне у многим биохемијским процесима у нашем организму, али у неким случајевима њихова хиперпродукција или недовољно уклањање од стране антиоксидативног система могу довести до настанка оксидативног стреса (215). Показатељи оксидативног стреса су промене активности антиоксидативних ензима, оштећења DNK, стварање продукта оксидације протеина и липидне пероксидације. Оксидативни стрес индукован применом радиоактивног јода у терапији карцинома тироидне жлезде није ограничен само на локалну зону администрације радиофармака (тироидну жлезду), него се може детектовати и у серуму, плазми и урину (216).

Резултати ове дисертације показују да постоји значајан оксидативни стрес у првих 30 дана након примене терапије ^{131}I дозама од 3,70 GBq или 5,55 GBq у крви пацијената са DTC. Познато је да се рани ефекти зрачења појављују већ након неколико сати или недеља од излагања организма ^{131}I (191). Истраживања изнета у овој докторској дисертацији су такође показала да постоји оксидативни дисбаланс веома рано након апликације ^{131}I . Већ 3. дана након примене ^{131}I забележено је повећање TBARS-а као индекса липидне пероксидације и то повећање је уочено након примене обе дозе радиоактивног јода. Промене активности АО су се 3. дана манифестовале кроз повећање активности SOD за обе примењене дозе, док се активност CAT и концентрација GSH у овој временској тачки нису статистички значајно мењале у односу на вредност пре примене терапије. С обзиром да је изостало повећања концентрације H_2O_2 и O_2^- за обе апликоване дозе, сматрамо да ови подаци упућују да је у тој временској тачки (3. дан) након терапије јодом АО систем одбране био довољан да одржи редокс баланс на почетном нивоу. Прецизније, може се закључити да је у 3. дану за одржање концентрације ових кисеоничних радикала на почетном нивоу била довољна непромењена активност CAT, али истовремено повишена активност SOD. У крви пацијената са DTC обухваћених овом студијом вредности медиане SOD показују да обе дозе статистички значајно утичу на вредност

SOD 3., 7. и 30. дана. Односно за дозу од 3,70 GBq, вредност SOD је статистички значајно повећана 3. и 30. дана, а за дозу од 5,55 GBq статистички значајно повишена 3. и 7. дана у односу на вредност пре терапије. Такође и друга истраживања су потврдила индукцију зрачењем SOD (217). Могуће је да се овај тип регулације SOD активности одвија посредством редокс сензитивних транскрипционих фактора као што су NF-κB, AP-1 и Nrf2 (218).

У ранијим студијама уочено је да туморске ћелије имају повишене нивое антиоксидативних ензима у односу на нормалне, здраве ћелије, али се те активности међу различитим врстама тумора разликују (219). Код пацијената са хипотиреозом због успореног метаболизма присутно је и смањење нивоа слободних радикала (220). Слободни радикали углавном настају као последица деловања јонизујућег зрачења на молекуле воде који се налазе у ћелијама. Sabith-а и сарадници (221) су у свом раду приметили да је вредност еритроцитне ензимске активности SOD, CAT и GPx знатно снижена после терапије ¹³¹I. SOD има улогу да O₂⁻ конверзује у H₂O₂ и тиме између осталог онемогући реакцију O₂⁻ са 'NO и формирање пероксинитритних анјона (ONOO[·]) који покрећу липидну пероксидацију. Резултати ове докторске студије показују да у крви пацијената са DTC нема статистички значајне промене вредности 'NO 3. дана од апликације ¹³¹I за обе дозе у поређењу са вредностима добијених пре апликације ¹³¹I. На основу овога може се закључити да наведени пут стварања ONOO[·] није одговоран за повећање липидне пероксидације који је регистрован код пацијената обухваћених овом студијом. Могуће је да је за уочено повећање липидне пероксидације одговоран хидрокси радикал, чије испитивање није обухваћено овом студијом. Хидроксилни радикал је мала, високо мобилна и хемијски најреактивнија врста ROS-а која неселективно реагује са биомолекулима удаљеним само неколико нанометара од места свог настанка. Добро је познато да хидроксил радикал има примарну улогу у настанку биолошких оштећења изазваних зрачењем (222), а добро су проучени и механизми којима овај слободни радикал индукује липидну пероксидацију (223).

Основна улога CAT је разградња водоник пероксида до воде и молекулског кисеоника. У свом раду Kumaraguruaran и сарадници (224) су показали да је у малигном ткиву дојке повећана вредност продукта липидне пероксидације као и ензимских антиоксиданаса SOD, CAT и GPx у поређењу са здравим ткивом. Durak и сарадници (225) су у свом раду констатовали повећање активности MDA и смањење

активности антиоксидативних ензима у канцерогеним ткивима у односу на здрава ткива. Активност CAT у крви пацијената испитиваних у овој докторској дисертацији је статистички значајно повећана 7. дана након примењене терапије ^{131}I дозом од 5,55 GBq у односу на вредност пре терапије. Код пацијената којима је дата аблациона доза ^{131}I од 3,70 GBq активност CAT је статистички значајно снижена 30. дана након терапије у односу на 0. дан. Концентрација H_2O_2 је била статистички значајно снижена 7. и 30. дана за дозу ^{131}I од 3,70 GBq, док концентрација H_2O_2 за дозу ^{131}I од 5,55 GBq током читавог посматраног периода (3., 7. и 30. дан) није показивала статистички значајну промену вредности у односу на вредност пре примене терапије 0. дана. На основу свих приказаних промена CAT и њеног супстрата H_2O_2 , може се закључити да је активност овог ензима у првих 30. дана након примене обе дозе ^{131}I довољна да одржи концентрацију H_2O_2 на ниском нивоу. Одсуство значајније индукције активности CAT уз истовремену спречену хиперпродукцију пероксида вероватно је, макар делимично, омогућено активношћу глутатион пероксидазе, ензима који поред CAT такође одговоран за уклањање пероксида. Наиме, сматра се да GPx има доминантну улогу у уклањању физиолошки ниских концентрација H_2O_2 (226), док је CAT одговорна за уклањање високих концентрација пероксида (227). Генерално се може закључити да је пероксидни стрес изазван примењеним дозама ^{131}I у нашој студији недовољан да индукује активност CAT, а посредно и да је низак ниво H_2O_2 вероватно одржан активношћу GPx.

Анализа корелисаности је показала да је концентрација H_2O_2 након излагања дози од 3,70 GBq у свим испитиваним временским тачкама негативно корелисана са активношћу CAT што указује да је у тим условима регулација нивоа H_2O_2 у крви DTC пацијената првенствено последица ензимске активности каталазе. На слици 34. се може уочити да статистички значајна корелисаност ова два параметра постоји 0. дана, а постаје још израженија 3., 7. и 30. дана након озрачивања. Негативна корелација ова два параметра у 30. дану, када је забележена повећана вредност H_2O_2 а снижена активност CAT, евентуално указује на могућност оксидативне инактивације CAT. Овакав начин регулације CAT активности показан је на многим сисарским ћелијама које, за разлику од нпр. CAT из гљива, подлежу реверзибилној инхибицији и иреверзибилној инактивацији водоник пероксидом (228).

Након излагања дози од 5,55 GBq, активност CAT је негативно корелисана са нивоом H₂O₂ само 30. дана након третмана радиоактивним јодом (слика 35). Са друге стране, активност CAT је повећана само у седмом дану, уз истовремено непромењен ниво H₂O₂. С обзиром да вредности TBARS-а указују на константно присутан оксидативни стрес, може се претпоставити да је повећање активности CAT у 7. дану индуковано неким механизмом повезаним са уоченим редокс променама. У свом раду на ембрионским ћелијама мишјег фибробласта, Сао и сарадници (229) су закључили да је при ниским концентрацијама ROS-а активност CAT стимулирана фосфорилацијом посредованом c-Abl/Arg тирозин киназама. Међутим, у условима продуженог оксидативног стреса c-Abl и Arg дисосују са CAT и њена активност опада, вероватно услед дефосфорилације или због убикитинизације фосфорилисане CAT.

Како након излагања дози од 5,55 GBq активност CAT и у нашем раду показује тенденцију пораста после кога у 30. дану следи значајан пад, могуће је да су уочене промене и у крви DTC пацијената регулисане неким сличним, редокс зависним механизмом.

Глутатион је важан у целуларној одбрани од оксидативног стреса изазваног зрачењем (230). GSH вредност у крви пацијената обухваћених овом студијом била је статистички значајно повећана 7. дана након обе примењене дозе ¹³¹I. У 30. дану од озрачивања код обе групе пацијената уочено је снижење нивоа GSH, али је оно статистички значајно само код оних који су третирани дозом од 5,55 GBq. Уочено повећање GSH 7. дана указује да се у првим данима након радиотерапије дешава интензивирање и неензиматске АО заштите (321). Слично томе Sadani и Nadcarni (232) су показали да код пацова након примене аблационе дозе ¹³¹I долази до скока вредности GSH за 16% у првих 24 часа, али да је до 18. дана вредност GSH опала за 15%.

Поред улоге у ензимским и неензимским антиоксидативним процесима, новија истраживања указују да GSH регулише и ћелијску апоптозу (233), а такође је неопходан за пренос ћелијских сигнала, синтезу цитокина и имунски одговор (234). У свом раду Копикођлу и сарадници (235) су приметили да су код тиреоидектомисаних пацијената вредности GSH ниже у односу на вредности GSH код здравих испитаника. Међутим два дана након терапије ¹³¹I дозом од 3,70 GBq или 5,55 GBq, активности GSH су значајно повећане у поређењу са њиховим почетним нивоима пре терапије. Они такође

сматрају да код пацијената који су третирани ^{131}I долази до повећања вредности пероксида као последица унутрашњег озрачивања. Наиме, ^{131}I може изазвати значајну апоптозу и митотску ћелијску смрт у преосталом ткиву штитасте жлезде, стварањем цитокина и токсичних метаболита који онда индукују липидну пероксидацију и продукцију пероксида (236), а све то повећава синтезу GSH чија вредност у даљем периоду због повећане потрошње и истрошености због пероксида и H_2O_2 (237) доводи до снижавања вредности GSH.

У нашем раду ниво $\cdot\text{NO}$ у свим испитиваним тачкама за обе дозе ^{131}I није статистички значајно промењен у односу на вредност $\cdot\text{NO}$ пре примене терапије. У студији Vaskol-а и сарадника (238) показано је да хипотироидни пацијенти имају повишене вредности $\cdot\text{NO}$ у односу на контролну групу здравих испитаника, односно да хипотироидни пацијенти имају повећане вредности ROS-а који доводе до смањене активности антиоксидантних ензима, а повећања вредности MDA и $\cdot\text{NO}$. Ми у нашем раду нисмо имали контролну групу здравих испитаника већ смо упређивали вредности $\cdot\text{NO}$ пре и после терапије ^{131}I код хипотироидних пацијената. Вероватно је у нашој студији, код пацијената из групе 0. дана, вредност $\cdot\text{NO}$ која је узета као референтна већ повећана у односу на здраву популацију. Као последице тога могуће да су код пацијената третираних са обе дозе ^{131}I добијене “лажно” неизмењене вредности $\cdot\text{NO}$.

Вредности $\text{O}_2^{\cdot-}$ 3., 7. и 30. дана за дозу ^{131}I од 3,70 GBq нису статистички значајно промењене у односу на вредност $\text{O}_2^{\cdot-}$ пре примене аблационе дозе. Код пацијената којима је апликована доза ^{131}I од 5,55 GBq ниво $\text{O}_2^{\cdot-}$ показује статистички значајно повећање само 30. дана у односу на вредност $\text{O}_2^{\cdot-}$ пре примене терапије, па се може рећи да је делом одговоран за добијено повећање липидне пероксидације. Ово је у складу са другим студијама у којима је показано да јонизујуће зрачење индукује стварање слободних радикала (239), а да интензитет оксидативног стреса зависи од концентрације АО на месту деловања радиотерапије односно од трошења унутрашњих резерви АО (240).

Ниво $\text{O}_2^{\cdot-}$ има највећу забележену вредност 30. дана након излагања дози од 5,55 GBq. Занимљиво је да је само у овој тачки концентрација $\text{O}_2^{\cdot-}$ позитивно корелисана са активношћу SOD (слика 33.), што указује да се индукција активности овог ензима супстратом дешава тек при овако повећаној продукцији супероксидног анјона. Након озрачивања дозом од 3,70 GBq ниво $\text{O}_2^{\cdot-}$ се не мења ни у једној од испитиваних

временских тачака, па је очекивано и одсуство корелације овог слободног радикала са активношћу SOD (слика 32.), што су резултати ове студије и показали. Забележено повећање активности SOD у 3. и 30. дану након излагања дози од 3,70 GBq дакле није индуковано повећаном количином супстрата, али би могло бити регулисано редокс променама за које је у неким истраживањима показано да утичу не само на количину активног SOD протеина (241) већ и на дужину његовог полуживота (242).

Липидна пероксидација настаје дејством слободних радикала и подразумева оксидацију полинезасићених масних киселина у ћелијским мембранама. Повећана LPO примећена је код многих болести: од мултипле склерозе (243) до карцинома (244; 198) пошто оштећене ћелије и ткива могу да троше пероксидазу брже него друга ткива (245). Као последица пероксидације настаје велика количина цитотоксичних оксидационих продуката од којих је најзначајнији малондиалдехид (MDA). У нашем раду концентрација TBARS-а код пацијената са DTC је статистички значајно повећана 3. и 7. дана од примене терапије код пацијената који су били третирани дозом 3,70 GBq. Код пацијената који су примили терапију ¹³¹I од 5,55 GBq концентрација TBARS-а је била статистички значајно повећана 3. и 30. дана. До сличних резултата су дошли Alavi и сарадници (246) и Врндић и сарадници (198) који су уочили значајно повећање нивоа MDA у крви DTC пацијената 72 сата после радиотерапије. Такође, Konukoğlu и сарадници (235) су приметили да пацијенти којима је одстрањена штитаста жлезда имају повишене вредности MDA у ћелијским мембранама еритроцита два дана након радиојодне терапије дозама од 3,70 GBq или 5,55 GBq. У нашој студији резултати мултипле линеарне регресије су показали да од пет тестираних параметара (SOD, CAT, GSH, O₂⁻, H₂O₂ и NO) само активност SOD и концентрације H₂O₂ и O₂⁻ значајно утичу на ниво TBARS-а у крви DTC пацијената (табела 86). Kumaraguruparan и сарадници (224) су показали да је у малигном ткиву дојке повећана вредност продуката липидне пероксидације: TBARS-а, CD (коњуговани диени), LP као и активност SOD, CAT, GPx у поређењу са здравим ткивом дојке. Такође, Sadani и Nadcarni (232) су код пацијената са карциномом штитасте жлезде нашли повишене вредности LP, SOD, CAT и GSH у односу на вредности код здравих испитаника. До сличних резултата су дошли Gil и сарадници (247) који су показали да је мало повећање MDA месец дана након радиотерапије праћено сигнификантним смањењем MDA шест месеци касније (247). Као последица зрачења LPO индукује апоптозу и митотичку ћелијску смрт у ткиву

штитасте жлезде заосталом након тиреоидектомије (248). Слободни радикали, који су моћни агенси оксидације биомолекула и индукују липидну пероксидацију, имају релативно кратак полуживот и ограничен домет па делују у близини места настанка (249). Пероксидација липида се може генерално описати као поступак у коме оксиданти као што су слободни радикали нападају липиде који садрже угљеник-угљеник незасићену везу, нарочито полинезасићене масне киселине (PUFA) (250). Међутим, слободно радикалска оксидација није једини узрок липидне пероксидације. Њу могу узроковати и ROS независна неензимска оксидација, као и ензимска оксидација (251), и оне су највероватније бар делом одговорне за повећани ниво TBARS-а у крви забележен у овој студији код пацијената са DTC.

Важно је истаћи да је код DTC пацијената обухваћених овом студијом ниво оксидативног стреса вероватно већи него што би се могло закључити из наших резултата, јер је вредност LPO пре терапије ¹³¹I којег смо користили за упоређивање, заправо већ вишеструко већи код пацијената са карциномом него код здравих испитаника (252). -

На основу добијених резултата и испитивањем дозног ефекта повећани ниво TBARS-а који је примећен у нашој студији показао је да су пацијенти са DTC-ом под сталним оксидативним стресом током 30 дана након примењене радиотерапије. Забележене промене компоненти редокс система и њихове динамичке варијације, најчешће су могући механизми који управљају тим процесима. Разумевање тих феномена је важно јер не постоји латентни период за излагање јонизујућим зрачењима а рани оксидативни стрес може покренути низ догађаја који доводе до касних учинака терапије.

6 ЗАКЉУЧЦИ

1. Код пацијената са DTC терапија радиоактивним јодом доводи до снижења броја свих испитиваних ћелија периферне крви (Le, Er, и Tr) и вредности Hgb и Hct у посматраним временским тачкама у односу на вредност пре примене терапије.
 - Снижене вредности Le, Er и Hct код пацијената који су примили ^{131}I у дози од 3,70 GBq и 5,55 GBq уочене су у прва три дана и у интервалу између 7. и 30. дана након примене терапије.
 - Значајано снижене вредности хемоглобина јављају се код пацијената са DTC у сва три посматрана временска интервала након примене ^{131}I у дози од 3,70 GBq и 5,55 GBq.
 - Снижене вредности тромбоцита јављају се у сва три посматрана временска интервала код пацијената са DTC након примене ^{131}I у дози од 3,70 GBq, док након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I статистички значајано снижене вредности тромбоцита јављају се у прва три дана као и у интервалу између 7. и 30. дана.
 - Испитивањем разлика у дозном ефекту ^{131}I на број ћелија периферне крви 3. 7. и 30. дана показало је да нема статистички значајне разлике у ефектима доза од 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I .
 - Анализа корелисаности хематолошких параметара са нивоом TBARS-а је показала постојање негативне корелације TBARS/хематокрит и TBARS/хемоглобин, док остали параметри нису значајно корелисани са нивоом липидне пероксидације.
2. Пацијенти са DTC су под сталним оксидативним стресом који се додатно интензивира након примене терапије ^{131}I .
 - Већ 3. дана уочено је да обе аблационе дозе ^{131}I индукују статистички значајно повећање вредности TBARS-а, у односу на вредност пре терапије. Ниво TBARS-а је након примене дозе од 3,70 GBq статистички значајно повећан 3. и 7. дана, а након дозе од 5,55 GBq повећање је уочено у 3. и 30. дану у односу на вредност пре терапије.

- Резултати мултипле линеарне регресије су показали да од пет тестираних параметара (SOD, CAT, GSH, $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 и $\cdot NO$) само активност SOD и концентрације H_2O_2 и $O_2^{\cdot-}$ значајно утичу на ниво TBARS-а у крви DTC пацијената.
3. Терапија ^{131}I код пацијената са DTC индукује промене вредности АО параметара у односу на вредности пре примене терапије.
- Обе дозе ^{131}I код пацијената са DTC индукују статистички значајно повећање активности SOD у односу на вредности пре примене терапије. Активност SOD након примене ^{131}I у дози од 3,70 GBq значајно је повећана 3. и 30. дана, а након примене ^{131}I у дози од 5,55 GBq активност SOD је повећана 3. и 7. дана у односу на вредност пре терапије.
 - Код пацијената са DTC обе аблационе дозе ^{131}I индукују статистички значајне промене активности CAT. Након дозе од 3,70 GBq активност CAT показује снижење 30. дана у односу на 0. дан, док доза ^{131}I од 5,55 GBq повећава активност CAT 7. дана у односу на вредност пре примене терапије.
 - Обе аблационе дозе ^{131}I индукују статистички значајне промене вредности GSH. Доза од 3,70 GBq ^{131}I доводи до значајног пораста вредности GSH 7. дана у односу на вредност пре терапије. Након терапије ^{131}I дозом од 5,55 GBq, ниво GSH је значајно повећан 7. дана и значајно снижен 30. дана у односу на 0. дан.
 - Тестирање разлика у ефектима доза ^{131}I на активност АО ензима код пацијената са DTC је показало да се дозни ефекат не јавља ни у једној од испитиваних временских тачака.
 - Анализом корелисаности ензима и њихових супстрата утврђено је да је активност SOD позитивно корелисана са нивоом $O_2^{\cdot-}$ само 30. дана након примене дозе од 5.55 GBq.
 - Активност CAT је негативно корелисана са H_2O_2 у свим посматраним временским тачкама након дозе од 3,70 GBq ^{131}I , а након дозе од 5.55 GBq само 30. дана.
4. У односу на вредности пре терапије дозе радиоактивног јода индукују значајне промене нивоа слободних радикала у крви DTC пацијената.

- Вредности O_2^- након примене ^{131}I у дози од 3,70 GBq нису статистички значајно промењене 3., 7. и 30 дана у односу на вредност 0. дана. Након примене терапије ^{131}I у дози од 5,55 GBq ниво O_2^- показује статистички значајно повећање само у 30. дану у односу на вредност пре примене терапије.
- Након терапије ^{131}I дозом од 3,70 GBq ниво H_2O_2 у крви DTC пацијената показује статистички значајно снижење 7. и 30. дана у односу на вредност пре терапије. Након терапије дозом ^{131}I од 5,55 GBq вредности H_2O_2 3., 7. и 30. дана нису статистички значајно промењене у односу на вредност пре терапије.
- Ниједна од примењених доза ^{131}I не индукује статистички значајне промене вредности $^{\bullet}NO$ у односу на вредност пре терапије.

На основу добијених резултата може се закључити да терапија радиоактивним јодом код пацијената са DTC доводи до смањења свих хематолошких параметара, као и до промене антиоксидативног статуса у односу на одговарајуће вредности пре примене терапије. Наши резултати показују да терапија ^{131}I индукује повећање оксидативног стреса, које се огледа у повећању нивоа TBARS-а, али и у нарушеном балансу ензимских и неензимских компоненти антиоксидативне заштите и продукције слободних радикала. Уочене промене редокс баланса не само да указују на измењен антиоксидативни статус DTC пацијената него могу имати и значајан утицај на касније ефекте терапије ^{131}I .

7 ЛИТЕРАТУРА

1. Ward JF. The Yield of DNA Double-Strand Breaks Produced Intracellularly by Ionizing Radiation: a Review, *Int. J. Radiat. Biol.* 1990;57(6):427-432.
2. Savage JRK. Clasification and relationship of induced chromosome structural changes. *Journal of Medical Genet.* 1976;12:103-122.
3. Gonchareva RI, Rybokan NI, Smolich II. Genetic effects of low-dose irradiation in mammals and comparison of efficiency between chronic and acute irradiation. Annual Meeting of Radiation Research Society, Warszawa 2000, Poland; 2000.
4. Goodhead DT. Spatial and Temporal Distribution of Enefgy, *Health Psysics.* 1988;55(2):231-240.
5. Beyer GJ, Čomor JJ, Daković M, Soloviev M, Tamburella C, Hageb E, Allan B, Dimitrev SN, Yaitseva NG, Starodub NYa, Molokanova LG, Vranješ S, Miederer M. and the Isolde Collaboration, Production routes of the alpha emitting 149-TbF for medical application, *Radiochim. Acta.* 2002;90:1-6.
6. Miederer M, Beyer GJ, Heidl CH, Vranješ S, Čomor JJ, et al. 149-Tb amd 213-Bi: Impact of particle energy for alpha radioimmuno therapy, Abstract of the 48th Annual Meeting of the World Society of Nuclear Medicine, Toronto, Canada, A Supplement to The Junrnal of Nuclear Medicine. 2001;42(5):315P.
7. Vranješ J, Čomor J, Miederer M, Seneković-Schmidtke R, Isolde Collaboration et al, Mogućnosti korišćenja antitela obeleženih alfa emiterima u terapiji kancera, VIII Jugoslovenski kongres Nuklearne medicine sa internacionalnim učešćem, Kragujevac; 2000.
8. IAEA. Technical Report Series No. 260, Biological Dosimetry, Chromosomal aberration analysis for dose assessment, 1986;16-27.
9. Tucker JD, Morgan WF, Awa AA, et al. A proposed system for scoring srructural aberrations detected by chromosome painting, *Cytogenetic Cell Genetic.* 1995;68:211-221.

10. Joksić G, Petrović-Novak A, Stanković M, Kovačević M. Radiosensitivity of human lymphocytes in vitro correlates more with proliferative ability of cells than with the incidence of radiation-induced damage of the genome, *Neoplasma*. 1999;46(1):40-49.
11. Kawano T. Roles of the reactive oxygen species –generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction, *Plant Cell Rep*. 2003;21:829-837.
12. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function, *Physiol. Rev*. 2002;82:47-95.
13. Wood ZA, Poole LB, Karplus PA. Peroxiredoxin evolution and the regulation of hydrogen peroxide signaling, *Science*. 2003;300:650–653.
14. Ghezzi P, Bonetto V, Fratelli M. Thiol-disulfide balance: from the concept of oxidative stress to that of redox regulation, *Antioxid. Redox Signal*. 2005;7:964–972.
15. Brandes N, Schmitt S, Jakob U. Thiol-based redox switches in eukaryotic proteins. *Antioxid. Redox Signal*. 2009;11:997–1014.
16. Forman HJ, Maiorino M, Ursini F. Signaling functions of reactive oxygen species, *Biochemistry*. 2010;49:835–842.
17. Fomenko DE, Koc A, Agisheva N, Jacobsen M, Kaya A, Malinouski M, Rutherford JC, Siu KL, Jin DY, Winge DR, Gladyshev VN. Thiol peroxidases mediate specific genome-wide regulation of gene expression in response to hydrogen peroxide, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2011;108:2729–2734.
18. Veal E, Day A. Hydrogen peroxide as a signaling molecule, *Antioxid. Redox Signal*. 2011;15:147–151.
19. Klomsiri C, Karplus PA, Poole L.B. Cysteine-based redox switches in enzymes, *Antioxid. Redox Signal*. 2011;14:1065–1077.
20. Valko M, Rhodes CJ, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chem Biol Interact*. 2006;160(1):1-40.
21. Štajn AŠ, Žikić RV, Saičić ZS. Ekofiziologija i ekotoksikologija životinja, Udžbenik, PMF Kragujevac, 2007;1-449.

22. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life, *Plant Physiology*. 2006;141(2):312-322
23. Halliwell B, Gutteridge JMC *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th ed. 2007; Oxford University Press: Oxford, UK.
24. Bremer HJ, Duran M, Kamerling JP, Przyrembel H, Wadman SK. Glutathione; In: *Disturbances of Amino Acid Metabolism: Clinical Chemistry and Diagnosis*. (Bremer HJ, Duran M, Kamerling JP, Przyrembel H, Wadman SK eds.). Baltimore-Munich: Urban and Schwarzenberg, 1981;80-82.
25. Chawla RK, Lewis FW, Kutner MH, Bate DM, Roy RG, Rudman D. Plasma cysteine, Cystine, and glutathione in cirrhosis, *Gastroenterology*. 1984;87:770-776.
26. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view, *Nutr. Rev.* 1994;52:253-265.
27. Lange A, Ausseil O, Segner H. Alterations of tissue glutathione levels and metallothionein mRNA in rainbow trout during single and combined exposure to cadmium and zinc, *Comp.Bioch.Physiol.* 2002;131:231-243.
28. Anderson ME. *Free Radicals: A Practical Approach*, eds.(N. A. Punchaud and F. J. Kelly), Oxford Press; 1996.
29. Jones DP, Carlson JL , Mody VC, Cai J, Lynn MJ, Sternberg P. Redox state of glutathione in human plasma, *Free Radic. Biol. Med.* 2000;28:625-665.
30. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes, *J. Nutr. Biochem.* 2005;16:577-586.
31. Shan X, Aw TY, Jones DP. Glutathione dependent protection against oxidative injury, *Pharmacol.Ther.* 1990;47:61-71.
32. De Leve LD, Kaplowitz N. Importance and regulation of hepatic glutathion, *Semin. Liver Dis.* 1990;10:251-266.

33. Meister A, Larsson A. Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the γ -glutamyl cycle. In: Scriver CR, Kinzler KW, Wallw D et al., eds. The metabolic and molecular bases of inherited diseases. New York: Mc Graw-Hill. 1995;1461-1477.
34. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. Anezymic function for erythrocyte hemoglobin (hemocuprein), J. Biol. Chem. 1969;244:6049-6055.
35. Getzoff ED, Tainer JA, Stemien MM, Bell GI, Hallewell RA. Evolution of CuZn superoxide dismutase and the greek key beta-barrel structural motif. Proteins, S-structure, Function and Genetics. 1989;5:322-336.
36. Hasnan SS, Strange RW. Marriage of XAFS and crystallography for structure-function studies of metalloproteins, J. Synchrotron Rad. 2003;10:9-15.
37. Levanon D, Lieman-Hurwitz J, Dafni N, Widgerson M, Sherman L, Bernstein Y, Laver-Rudich Z, Danciger E, Stein O, Groner Y. Architecture and anatomy of the chromosomal locus in human chromosome 21 encoding the Cu/Zn superoxide dismutase, EMBO J. 1985;4:77-84.
38. Minc-Golomb D, Knobler H, Groner Y. Gene dosage of CuZnSOD and Down's syndrome: diminished prostaglandin synthesis in human trisomy 21, transfected cells transgenic mice, EMBO J. 1991;10:2119-2124.
39. De Haan JB, Wolvetang EJ, Cristiano F, Iannello R, Bladier C, Kelner MJ, Kola I. Reactive oxygen species and their contribution to pathology in Down syndrome, Adv. Pharmacol. 1997;38:397-402.
40. Elchuri S, Oberley TD, Qi W, Eisenstein RS, Jackson Roberts L, van Remmen H, Epstein CJ, Huang TT. CuZnSOD deficiency leads to persistent and widespread oxidative damage and hepatocarcinogenesis later in life, Oncogene. 2005;24(3):367-80.
41. Muller F, Song W, Jang Y, Liu Y, Sabia M, Richardson A, et al. Denervation-induced skeletal muscle atrophy is associated with increased mitochondrial ROS production, Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2007;293:R1159-68.

42. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, Donaldson D, Goto J, O'Regan JP, Deng HX, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis, *Nature*. 1993;362:59-62.
43. Fridovich I. Oxygen toxicity: a radical explanation, *J. Exp. Biol.* 1998;201:1203-1209.
44. Tsan MF. Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity: lessons from transgenic and knockout mice, *Int. J. Mol. Med.* 2001;7:13-19.
45. Marklund SL. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids, *Acta Physiol Scand Suppl.* 1980;492:19-23.
46. Marklund SL. Human copper- containing superoxide dismutase of high molecular weight, *Proc.Natl.Acad Sci USA.* 1982;79(24):7634-763.
47. Marklund SL. Extracellular superoxide dismutase in human tissues and human cell lines, *J. Clin.Invest.* 1984;74:1398-1403.
48. Folz RJ, Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase (SOD3): Tissue-specific expression, genomic characterization and computer-assisted sequence analysis of the human ESSOD gene, *Genomics.* 1994;22:162-171.
49. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in Biology and Medicine*, Third edition, Oxford University Press. Inc. New York; 1999.
50. Radi R, Turrens JF, Chang LY, Bush KM, Crapo JD, Freeman BA. Detection of catalase in rat heart mitochondria, *J Biol Chem.* 1991;266:22028-22034.
51. Quan T, Korneluk RG, Tropak MB, Gravel RA. Isolation and characterization of human catalase gene, *Nucleic. Acids Res.* 1986;13:5321-5335.
52. Jones, et al. Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes: relative contributions of catalase and glutathione peroxidase in decomposition of endogenously generated H₂O₂, *Arch Biochem Biophys.* 1981;210:505-516.
53. Switala J, Loewen C.P. Diversity of properties among catalases, *Arch. Biochem. Biophys.* 2002;401:145-154.

54. Deisseroth A, Dounce AL. Physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role, *Physiol. Rev.* 1970;50:319-75.
55. Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses, *Brazilian J. Medic. Biol Research.* 2005;38:995-1014.
56. Ogata M. Acatalasemia, *Hum. Genet.* 1991;86:331-340.
57. Vuillaume M. Reduced oxygen species, mutation, induction and cancer initiation, *Mutat. Res.* 1987;186:43-72.
58. Yabuki M, Kariya S, Ishisaka R, Yasuda T, Yoshioka T, Horton A.A, Utsumi K. Resistance to nitric oxide-mediated apoptosis in HL-60 variant cells is associated with increased activities of Cu,Zn-superoxide dismutase and catalase, *Free Radic. Biol. Med.* 1999;26:325-332.
59. Miyamoto T, Hayashi M, Takeuchi A, Okamoto T, Kawashima S, Takii T, Hayashi H, Onozaki K. Identification of a novel growth-promoting factor with a wide target cell spectrum from various tumor cells as catalase, *J. Biochem.* 1996;120:725-730.
60. Liu B, Larsson L, Caballero A, Hao X, Oling D, Grantham J, Nystiom T. The Polarisome is required for segregation and retrograde transport of protein aggregates, *Cell.* 2010;140(2):257-267.
61. Barnett YA, King CM. An investigation of antioxidant status, DNA repair capacity and mutation as a function of age in humans. *Mutat. Res.* 1995;338:115-128.
62. Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehtab O, Guigo R, Gladyshev VN. Characterization of mammalian selenoproteomes, *Science.* 2003;300:1439–1443.
63. Chambers J, Frampton P, Goldfarb N, Affara W, McBain P.R. Harrison. The structure of the mouse glutathione peroxidase gene: the selenocysteine in the active site is encoded by the 'termination' codon, TGA, *EMBO J.* 1986;(5):1221–1227.

64. Perry AC, Jones R, Niang LS, Jackson RM, Hall L. Genetic evidence for an androgen-regulated epididymal secretory glutathione peroxidase whose transcript does not contain a selenocysteine codon. *Biochem. J.* 1992;285:863–870.
65. Baruchel S, Wainberg MA. The role of oxidative stress in disease progression in individuals by the human immunodeficiency virus. *J Leucocyte Biol.* 1992;52:111-114.
66. Mullineaux PM, Creissen G. Glutathione reductase: Regulation and Role in Oxidative Stress, *Oxidative Stress and Molecular Biology of Antioxidant Defenses.* 1997;667-713.
67. Reden J. Molsidomine. *Blood Vessels.* 1990;27:282-294.
68. Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J.* 1973;134(3):707-16.
69. Michelson AM. Medical aspects of superoxide dismutase, in: „Life Chemistry Reports“, ed. Harwood Academic Publ., GmbH, United Kingdom, 1987;1-142.
70. Flenley DC. What should an ideal antioxidant do (and not do)?, *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.* 1987;23:279-285.
71. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 1984;219:1-14.
72. Beckman KB, Ames BN. Oxidative decay of DNA, *J. Biol. Chem.* 1997;272:19633-19636.
73. Grassmann J, Hippeli S, Elstner EF. Plants defence and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxigen stress. *Plant Physiol. Biochem.* 2002;40:471-478.
74. Reinke LA, Lai EK, Dubose CM, Mc Cay PB. Reactive free radical generation in vivo in heart and liver of ethanol-fed rats: Correlation with radical formation in vitro, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987;84:922-9227.
75. Jacques PF, Chylack LT, Mc Gandy RB, Hartz SC. Antioxidant status in persons with and without senile cataracte. *Arch. Ophthamol.* 1988;106:337-340.

76. Opara EC. Oxidative stress. In: Colonic Diseases, Koch TR (ed.). Totowa NJ: Humana Press. 003;179-189.
77. Dryden GW Jr, Deaciuc I, Arteel G, Mc Clain CJ. Clinical implications of oxidative stress and antioxidant therapy. *Curr. Gastroenterol. Rep.* 2005;7:308-316.
78. Dugas B, Dugas N, Conti M, Calenda A, Pino P, Thomas Y, Mazier D, Vouldoukis I. Wheat gliadin promotes the interleukin-4-induced IgE production by normal human peripheral mononuclear cells through a redox-dependent mechanism. *Cytokine.* 2003;21:270-280.
79. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39:44-84.
80. Trueba G, Zapata S, Madrid K, Cullen P, Haake D. Cell aggregation: a mechanism of pathogenic leptospira to survive in fresh water. *Int. Microbiol.* 2004;(7):35-40.
81. Sies H. Biochemistry of oxidative stress. *Angew. Chem. Int.* 1986;25:1058-1071.
82. Maher P, Schubert D. Signaling by reactive oxygen species in the nervous system. *Cell Mol. Life Sci.* 2000; 57(8-9):1287-1305.
83. Kuppusamy P. EPR spectroscopy in biology and medicine. *Antioxid. Redox Signal.* 2004;6:583-585.
84. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in Biology and Medicine.* Clarendon Press, Oxford; 1989.
85. Schafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med.* 2001;30:1191-1212.
86. Borges F, Fernandes E, Roleira F. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Curr Med Chem.* 2002;9:195-217.
87. Cross AR, Jones OT. Enzymic mechanisms of superoxide production. *Biochim. Biophys. Acta.* 6. 1991;1057(3):281-298.

88. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 2002;82:47-95.
89. Petkau A. Protection and repair of irradiated membranes, In: Free radicals, aging and dehenrative diseases (Liss AR, ed.). Ed Wiley-Liss Inc., New York, 1986;481-508.
90. Trush MA, Minnaugh EG. Different roles for superoxide anion in the toxic actions of bleomycin and paraquat, In: Oxy radicals and their scavenger systems (Greewald A, Cohen G, eds.). Elsevier Beomedical, New York, 1983;305-308.
91. Cannio R, Fiorentino G, Morana A, Rossi M, Bartolucci S. Oxygen: friend or foe? Archaeal superoxide dismutases in the protection of intra- and extracellular oxidative stress. *Journal Frontiers in Bioscience.* 2000;5:768-779.
92. Chessman KH, SLater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 1993;49:481-493.
93. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett.* 2000;486:10-13.
94. Benzie IFF. Evolution of antioxidant defence mechanisms. *European Journal of Nutrition.* 2000;39(2):53-61.
95. Reddy JK, Hashimoto T. Peroxisomal β -oxidation and peroxisome proliferator-activated receptor α : An Adaptive Metabolic System. *Ann. Rev. Nutr.* 2001;21:193-230.
96. Jones et al. Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes: relative contributions of catalase and glutathione peroxidase in decomposition of endogenously generated H_2O_2 . *Arch Biochem Biophys.* 1981;210: 505-516
97. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants, and mammalian tireodoxin system. *Free Rad Biol Med.* 2001;31:1287-1312.
98. Di Mascio P, Briviba K, Bechara EJ, Medeiros MH, Sies H . Reaction of peroxyntrite and hydrogen peroxide to produce singlet molecular oxygen ($^1\Delta_g$). *Methods Enzymol.* 1996;269:395-400.

99. Steinbeck MJ, Khan AU, Karnovsky MJ. Intracellular singlet oxygen generation by phagocytosing neutrophils in response to particles coated with a chemical trap. *J. Biol. Chem.* 1992;267:13425-13433.
100. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Rad. Res. Comms.* 1990;9:1-32.
101. Ghafourifar P, Cadenas E. Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol. Sci.* 2005;26:190-195.
102. Beckman JS. -OONO:rebounding from nitric oxide. *Circ. Res.* 2001;89:295-297
103. Keros P. Anatomska istraživanja opasnosti, posljedica i prevencije kljenuti glasiljki kod operacija na štitnoj žljezdi. *Radovi Medicinskog fakulteta u Zagrebu.* 1965;13:237-274.
104. Yoshida A, Taniguchi S, Hisatome I, Royaux IE, Green ED, Kohn LD, et al. Pendrin is an iodide-specific apical porter responsible for iodide efflux from thyroid cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:3356-3361.
105. Rodriguez AM, Perron B, Lacroix L, Caillou B, Leblanc G, Schlumberger M, et al. Identification and characterization of a putative human iodide transporter located at the apical membrane of thyrocytes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:3500-3503.
106. Larsen PR, Davies TF, Schiumberger MJ, Hay ID. Iodine and the synthesis and secretion of thyroid hormones, In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS. *Williams text book of endocrinology.* 10th ed. Philadelphia:Saunders, 2003;333-373.
107. Hall R, Kobberling J. Thyroid disorders associated with iodine deficiency and excess (Serono symposia publications). New York, Raven Press. 1985;101-107
108. Hamburger JI. Evolution of toxicity in solitary nontoxic autonomously functioning thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980;50:1089-1093.
109. American Cancer Society, Cancer facts and figures 2009. Available at: <http://www.cancer.org>. Accessed: September 2, 2017.

110. Dal Maso L, La Vecchia C, Franceschi S, Preston-Martin S, Ron E, Levi F, Mack W, Mark SD, McTiernan A, Kolonel L, Mabuchi K, Jin F, Wingren G, Galanti MR, Hallquist A, Glatte E, Lund E, Linos D, Negri E. A pooled analysis of thyroid cancer studies. *Cancer Causes Control* 2000;11:137-144
111. Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“, Zdravstveno-statistički godišnjak Republike Srbije 2009. Beograd, 2010;1-365.
112. Jayaram G, Basu D. Cytology in the diagnosis of thyroid lesions – a review. *J Assoc Physicians India*. 1993;41(3):164-169.
113. Pacini F, Burrioni L, Cinoli C, Di Cairano G, Guarino E. Management of thyroid nodules: a clinicopathological, evidence-based approach. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004;31(10):1443-1449.
114. Yeung MJ, Serpell JW. Management of the solitary thyroid nodule. *Oncologist*. 2008;13(2):105-112.
115. Stevens C, Lacey C, Miller K, Elde R. Seybold. Biochemical characterization and regional quantification of mu, delta and kappa opioid binding sites in rat spinal cord. *Brain Research*. 550:77-85.
116. Kerber RA, Till JE, Simon SL, et al. A cohort study of thyroid disease in relation to fallout from nuclear weapons testing. *JAMA*. 1993;270(17):2076–2082.
117. Nikiferov YE, Gnepp DR. Pathomorphology of thyroid gland lesions associated with radiation exposure: the Chernobyl experience and review of the literature. *Adv. Anat Pathol*. 1999;6(2):78-91.
118. Tuttle RM, Leboeuf R, Robbins RJ, Qualey R, Pentlow K, Larson SM, Chan CY. Empiric radioactive iodine dosing regimens frequently exceed maximum tolerated activity levels in elderly patients with thyroid cancer. *J Nucl Med*. 2006;47(10):1587-91.
119. Nagano J, Mabuchi K, Yoshimoto Y, Hayashi Y, Tsuda N, Land C, Kodoma K. A case-control study in Hiroshima and Nagasaki examining non-radiation risk factors for thyroid cancer. *J Epidemiol*. 2007;17(3):76-85.

120. Albright EC, Allday RW. Thyroid carcinoma after radiation therapy for adolescent acne vulgaris. *JAMA*. 1967;199(4):180-1.
121. Vassilopoulou-Selin R, Schultz PN, Haynie TP. Clinical outcome of patients with papillary thyroid carcinoma who have recurrence after initial radioactive iodine therapy. *Cancer*. 1996;78:439-501.
122. Fraker DL, Skarulis M, Livolsi V. Thyroid Tumors. In: DeVita VT Jr., Hellman S, Rosenberg SA, editors. *Cancer: principles and practice of oncology*. Philadelphia: Lippincott-Raven. 1997;1629–1652.
123. Feldt-Rasmussen U. Iodine and cancer. *Thyroid*. 2001;11(5):483-6.
124. Williams ED, Doniach I, Bjarnason O, Michie W. Thyroid cancer in an iodine rich area. A histopathological study. *Cancer*. 1977;39:215–222.
125. Attie JN. Modified neck dissection in treatment of thyroid cancer: a safe procedure. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1988;24(2):315-24.
126. Moley JF. Medullary thyroid cancer. *Surg Clin North Am*. 1995;75(3):405-20.
127. Ivančević D, Didig Z, Kusić Z. *Klinička nuklearna medicina Zagreb, 1999: Ispitivanje i lečenje endokrinih žlezda poglavlje 2;59*
128. Kilfoy BA, Zheng T, Holford TR, et al. International patterns and trends in thyroid cancer incidence, 1973-2002. *Cancer Causes Control*. 2009;20:525-531.
129. Sipsos JA, Mazzaferri EL. Thyroid cancer epidemiology and prognostic variables. *Clinical Oncology*. 2010;22(6):395-404.
130. Hay ID, Grant CS, Van Heerden JA, Goellner JR, Ebersold JR, Bergstralh EJ. Papillary thyroid microcarcinoma: a study of 535 cases observed in a 50-year period. *Surgery*. 1992;112(6):1139-1146.
131. Hedinger C, Williams ED, LH S editors. *International histologic typing of thyroid tumors*, 2nd ed. Berlin: springer-verlag; 1988.
132. Williams ED. Thyroid Cancer in United Kingdom children and in children exposed to fall-out from Chernobyl. In: *Nagasaki Symposium on Chernobyl: Update and Future*,

- Sh. Nagataki (ed.), ExcerptaMedica Intern. 1994; Congress Series 1074: Elsevier: 89-94.
133. Maxon HR, Smith HS. Radioiodine-131 in the diagnosis and treatment of metastatic well differentiated thyroid cancer. *Endocrinol. Metab. Clin North Am.* 1990;19(3):685-718.
 134. Pacini, et al. Radioiodine Ablation of Thyroid Remnants after Preparation with Recombinant Human Thyrotropin in Differentiated Thyroid Carcinoma: Results of an International, Randomized, Controlled Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:926-932.
 135. Dietlein M, Dressler J, Eschner W, Grunwald F, Lassmann M, Leisner B, et al. Procedure guidelines for radioiodine therapy of differentiated thyroid cancer (version 3). *Nuklearmedizin.* 2007;46:213-219.
 136. Luster M, Clarke SE, Dietlein M, Lassmann M, Lind P, Oyen WJG, Tennvall J, Bombardieri E. Guidelines for radioiodine therapy of differentiated thyroid cancer. EANM guidelines, version of 23 April. 2008;54.
 137. De Klerk JM, De Keizer B, Lelissen PM, Lips CM, Koppeschaar HP. Fixed dosage of ¹³¹I for remnant ablation in patients with differentiated thyroid carcinoma without pre-ablative diagnostic ¹³¹I scintigraphy. *Nucl Med Commun.* 2000;21(6):529-32.
 138. Park HM, Park YH, Lhou XH. Detection of thyroid remnant/metastasis without stunning: an ongoing dilemma. *Thyroid.* 1977;7(2):277-80.
 139. Lees W, Mansberg R, Roberts J et al. The clinical effects of thyroid *stunning* after diagnostic whole-body scanning with 185 MBq ¹³¹I. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2002;29:1421–1427
 140. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, Mazzaferri EL, McIver B, Sherman SI, Tuttle RM. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid.* 2006;16(2):109-42.130
 141. June-Key Chung. Sodium Iodide Symporter: Its Role in Nuclear Medicine *J Nucl Med.* 2002;43:1188-1200.131

142. Mazzaferri EL. Management of a solitary thyroid nodule. *N Engl J Med.* 1993;328(8):553-9.
143. Rosario PW, Reis JS, Barroso AL, Rezende LL, Padrao EL, Fagundes TA. Efficacy of low and high ¹³¹I doses for thyroid remnant ablation in patients with differentiated thyroid carcinoma based on post-operative cervical uptake. *Nucl Med Commun.* 2004;25(11):1077-81.
144. Robbins PJ, Schlumberger MJ. The evolving role of (131)I for the treatment of differentiated thyroid carcinoma. *J Nucl Med.* 2005;46(1):28S-37S.
145. Durante C, Haddy N, Baudin E, Leboulleux S, Hartl D, Travagli JP, Caillou B, Ricard M, Lumbroso JD, De Vathaire F, Schlumberger M. Long-term outcome of 444 patients with distant metastases from papillary and follicular thyroid carcinoma: benefits and limits of radioiodine therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(8):2892-9.
146. Silberstein EB, Alavi A, Balon HR, Clarke S, Divgi C, Gelfand MJ, et al. The SNM Practice Guideline for Therapy of Thyroid Disease with I 3.0*. *JNM.* 2012;53(10):1-19.
147. Beierwaltes WH, Rabbani R, Dmuchowski C, Loyd RV, Eyre P, Mallette S. An analysis of "ablation of thyroid remnants" with I-131 in 511 patients from 1947-1984: experience at University of Michigan. *J Nucl Med.* 1984;25(12):1287-93.
148. Pacini et al. Ablation of thyroid residues with 30 mCi (131) I: a comparison in thyroid cancer patients prepared with recombinant human TSH or thyroid hormone withdrawal. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:4063-8
149. Ladenson PW, Braverman LE, Mazzaferri EL, et al. C of administration of recombinant human thyrotropin with withdrawal of thyroid hormone for radioactive iodine scanning in patients with thyroid carcinoma. *N Eng J Med.* 1997;337:888-96.
150. Robbins, et al. Radioiodine ablation of thyroid remnants after preparation with recombinant human thyrotropin. *Thyroid.* 2001;11:865-9.
151. Luster M, Lippi F, Jarzab B, Perros P, Lassmann M, Reiners C, Pacini F. rhTSH-aided radioiodine ablation and treatment of differentiated thyroid carcinoma: a comprehensive review. *Endocr Relat Cancer.* 2005;12:49-64.

152. Pluijmen M, Eustatia-Rutten C, Goslings BM, Stokkel MP, Pereira Arias AM, Diamant M, et al. Effects of low iodide diet on postsurgical radioiodide ablation therapy in patients with differentiated thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;58:428-435.
153. Maxon HR, Thomas SR, Hertzberg VS, Kereiakes JG, Chen IW, Sperling MI, et al. Relation between effective radiation dose and outcome of radioiodine therapy for thyroid cancer. *N Engl J Med*. 1983;309:937-41.
154. Sisson JC, Freitas J, Mc Dougall IR, Dauer LT, Hurley JR, et al. Radiation safety in treatment of patients with thyroid diseases by radioiodine 131I:Practice recommendations of the American Thyroid Association. From the American Thyroid Association taskforce on radioiodine safety. *Thyroid*. 2011;21(4):335-346.
155. Matovic M, Jankovic S, Jeremic M, Vlajkovic M, Matovic V. Online remote monitoring of patients with differentiated thyroid carcinomas and neuroendocrine tumors treated with high doses of radionuclides. *Telemed J E Health* 2012;18(4):264-270.
156. Matovic MD, Jeremic M, Jankovic S, Urosevic V, Ravlic M, Vlajkovic M .THYRPAN TM Prototype: New System for Online Telemonitorig of Patients with Thyroid Carcinoma During the Treatment with a High Dose of Radioiodine. *Telemed J E Health* 2015; 21(9):756-760.
157. Pravilnik o primeni izvora jonizujućih zračenja u medicini. *Sl. glasnik RS*. 1/12
158. Welcsh PL, Mankoff DA. Cancer: taking up iodide in brast tissue. *Nature*. 2000;406:688-9.145 158
159. Mandel SJ, Mandel L. Radioactive iodine and the salivary glands. *Thyroid*. 2003;13:265-271.
160. Nakada K, Ishibashi T, Takei T, Hirata K, Shinohara K, Katoh S, Zhao S, Tamaki N, Noguchi Y, Noguchi S. Does lemon candy decrease salivary gland damage after radioiodine therapy for thyroid cancer? *Journal of Nuclear Medicine*. 2005;46:261-266.

161. Ceccarelli C, Battisti P, Gasperi M, Fantuzzi E, Pacini F, Gualdrini G, Pierantoni MR, Luciani A, Djokich D, Pinchera A. Radiation dose to the testes after ¹³¹I therapy for ablation of post-surgical thyroid remnants in patients with differentiated thyroid cancer. *Journal of Nuclear Medicine*. 1999;40:1716-1721.
162. Hays MT. Colonic excretion of iodide in normal human subjects. *Thyroid*. 1993;3(1):31-35.
163. Seabold JE, Ben Haim S, Pettit WA, Gurli NJ, Rojeski MT, Flanigan MJ et al. Diuretic enhanced ¹³¹I clearance after ablation therapy for differentiated thyroid cancer. *Radiology* 1993;187:839-842.
164. Matović M, Janković SM, Jeremić M, Tasić Z, Vlajković M. Unexpected effect of furosemide on radioiodine urinary excretion in patients with differentiated thyroid carcinoma treated with iodine 131. *Thyroid*. 2009;19(8):843-848.
165. Schlumberger M, De Vathaire F, Ceccarelli C, Delisle MJ, Francese C, Couette JE, Pinchera A, Parmentier C. Exposure to radioactive iodine-131 for scintigraphy or therapy does not preclude pregnancy in thyroid cancer patients. *Journal of Nuclear Medicine*. 1996;37:606-612.
166. Glinoe D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocr Rev*. 1997;18(3):404-433.
167. Ceccarelli C, Benicivelli W, Morciano D, Pinchera A, Pacini F. ¹³¹I therapy for differentiated thyroid cancer leads to an earlier onset of menopause: results of a retrospective study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2001;86:3512-3515.
168. Pacini F, Gasperi M, Fugazzda L et al. Testicular function in patients with differentiated thyroid carcinoma treated with radioiodine. *J Nucl Med*. 1994; 35:1418-1422
169. Rubino C, De Vathaire F, Dottorini ME, Hall P, Schwartz C, Couette JE, Dondon MG, Abbas MT, Langlois C, Schlumberger M. Second primary malignancies in thyroid cancer patients. *British Journal of Cancer*. 2003;89:1638-164.

170. de Vathaire F, Schlumberger M, Delisle MJ, Francese C, Challeton C, de la Genardi re E, Meunier F, Parmentier C, Hill C, Sancho-Garnier H. Leukaemias and cancers following iodine-131 administration for thyroid cancer. *Br J Cancer*. 1997;75(5):734-9.
171. Brown AP, Chen J, Hitchcock YJ, Szabo A, Schrieve DC, Tward JD. The risk of second primary malignancies up to three decades after the treatment of differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol metab*. 2008;93:504-515.
172. Mazzaferri EL, Robbins RJ, Spencer CA, et al. A consensus report of the role of serum thyro-globulin as a monitoring method for low-risk patients with papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:1433-1441.
173. Kim TY, Kim WB, Kim ES, Ryu JS, Yeo JS, Kim SC, Hong SJ, Shong YK. Serum thyroglobulin levels at the time of 131I remnant ablation just after thyroidectomy are useful for early prediction of clinical recurrence in low-risk patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(3):1440-1445.
174. Francis Z, Schlumberger M. Serum thyroglobulin determination in thyroid cancer patients. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2008;22(6):1039-1046.
175. Schlumberger M, Mancusi F, Baudin E, Pacini F. 131I therapy for elevated thyroglobin levels. *Thyroid*. 1997;7(2):273-276.151
176. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide-anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem*. 1972;247:31780-3175.
177. Beutler E. Catalase. In: Beutler E (ed) *Red cell metabolism, a manual of biochemical methods*. Grune and Stratton, New York, 1982; pp. 105-115.
178. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem*. 1979;95:351-358.
179. Auclair C, Voisin E. Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenvald RA (ed) *Handbook of methods for oxygen radical research*. CRC Press Une., Boca Raton, 1985;123-132.

180. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J. Immunol. Methods.* 1980;38:161-170.
181. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem.* 1982;126:131-138.
182. American Cancer Society, Cancer facts and figures 2009, Available at:<http://www.cancer.org>.
183. Dal Maso L, La Vecchia C, Franceschi S, Preston-Martin S, Ron E, Levi F, Mack W, Mark SD, McTiernan A, Kolonel L, Mabuchi K, Jin F, Wingren G, Galanti MR, Hallquist A, Glatte E, Lund E, Linos D, Negri E. A pooled analysis of thyroid cancer studies. *Cancer Causes Control.* 2000;11:137-144
184. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016;66: 7-30
185. Lee J.Y. et al. Salivary Gland Dysfunction after Radioactive Iodine (I-131) Therapy in Patients Following Total Thyroidectomy: Emphasis on Radioactive Iodine Therapy Dose, *Clin. Imaging.* 2015;39(3):396-400
186. Zettinig, G., et al., Long-Term Impairment of the Lacrimal Glands after Radioiodine Therapy: a Cross-Sectional Study, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2002;29(11):1428-1432
187. Krassas G.E., Pontikides N. Male Reproductive Function in Relation with Thyroid Alterations, *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2004;18(2):183-195
188. Molinaro E, Leboeuf R, Shue B, et al. Mild decreases in white blood cell and platelet counts are present one year after radioactive iodine remnant ablation. *Thyroid.* 2009;19:1035-41.
189. Bradley SE, Stephan F, Coelho JB et al. The thyroid and the kidney. *Kidney Int.* 1974; 6: 346-65
190. June-Key Chung. Sodium Iodide Symporter: Its Role in Nuclear Medicine. *J Nucl Med.* 2002;43:1188-1200.

191. Formenti, S.C., Demaria, S. Systemic effects of local radiotherapy. *Lancet Oncol.* 2009;10(7):718-726
192. Van Nostrand D. The benefits and risks of I-131 therapy in patients with well-differentiated thyroid cancer. *Thyroid.* 2009;19:1381–1391
193. Fard-Esfahani A, Emami-Ardekani A, Fallahi B, et al. Adverse effects of radioactive iodine-131 treatment for differentiated thyroid carcinoma. *Nucl Med Commun.* 2014; 35:808-17
194. Sönmez B, Doğanı, Yavruoğlu C, Can G, Sönmez M. The changes in complete bloodcount in thyroid cancer patients treated with radioactive iodine ablation therapy. *Turk J Hematol.* 2010;27:269-74.
195. Gunter HH, Schober, Schwarzrock R, Hundeshagen H. Long-term hematologic changes caused by radioiodine treatment of thyroid cancer II. Bone marrow changes including leukemia. *Strahlenther Onkol.* 1987;163:475-485.
196. Bikas A, Schneider M, Desale S, et al. Effects of dosimetrically Guided I-131 therapy on hematopoiesis in patients with differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(4):1762-1769
197. Padovani RP, Tuttle RM, Grewae R, Larson SM, Boncai L. Complete blood counts are frequently abnormal 1 year after dosimetry guided radioactive iodine therapy for metastatic thyroid cancer. *Endocr Pract.* 2014;20(3):213-20
198. Vrndić O, Milošević-Djordjević O, Djurdjević P, et al. Radioiodine therapy accelerates apoptosis in peripheral blood lymphocytes of patients with differentiated thyroid cancer. *Neoplasma.* 2013;60(5):568-575
199. Van Nostrand D, Neutze J, Atkins F. Side effects of 'rational dose' iodine-131 therapy for metastatic well-differentiated thyroid carcinoma. *J Nucl Med.* 1986;27:1519–1527.
200. Özata M, Ergun H, Özişik G, et al. Effect of radioiodine therapy on several hematological and immune parameters in patients with differentiated thyroid carcinoma. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism.* 2000;2:45-50

201. Schober O, Gunter HH, Schwarzrock R, et al. Long-term hematologic changes caused by radioiodine treatment of thyroid cancer. Peripheral blood changes. *Strahlenther Onkol.* 1987;163:464-74
202. Keldsen N, Mortensen BT, Hansen HS. Haematological effects from radioiodine treatment of thyroid carcinoma. *Acta Oncol.* 1990;29:1035-9
203. Lloyd DC & Dolphin GW. Radiation-induced chromosome damage in human lymphocytes. *Occup Environ Med.* 1977;34:261-73.
204. Aggio MC. Post irradiation erythropoietic recovery in splenectomized mice. *Scand J Haematol.* 1978;21:163-16
205. Namasivayam S, Shanmugam M. Lipid peroxidation and antioxidants status in patients with papillary thyroid carcinoma in India. *Asia Pac J Clin Nutr* 2004;13(4):391-395
206. Hu T, Meng Z, Zhang G, et al. Influence of the first radioactive iodine ablation on peripheral complete blood count in patients with differentiated thyroid cancer. *Medicine.* 2016;95:35
207. Hebbel RP, Eaton JW. Pathobiology of heme interaction with the erythrocyte membrane. *Semin Hematol.* 1989;26:136-149.
208. Chan JY, Kwong M, Lo M, Emerson R, Kuypers FA. Reduced oxidative-stress response in red blood cells from p45 NFE2-deficient mice. *Blood.* 2001;97(7):2151-8.
209. Lubin B, Chiu DTY. Properties of vitamin E-deficient erythrocytes following peroxidant injury. *Pediatr Res.* 1982;16:928-932
210. Low P, Waugh SM, Zinke K, Drenckhahan D. The role of hemoglobin denaturation and band 3 clustering in red blood cell aging. *Science.* 1985;227:531-533
211. Dainiak N. Hematologic consequences of exposure to ionizing radiation. *Exp Hematol.* 2002; 30:513-528.

212. Rosário PW, Borges MA & Purisch S. Preparation with recombinant human thyroid stimulating hormone for thyroid remnant ablation with ¹³¹I is associated with lowered radiotoxicity. *J Nucl Med.* 2008;49:1776-82
213. Grunwald F, Schomburg A, Menzel C, Steinecker S, Spath G, Bockish A, Fimmer R, Hotze AL, Biersck HJ. Changes in the blood picture after radioiodine therapy of thyroid cancer. *Med Klin.(Munich).* 1994;89:522-529.
214. Vrndic BO, Djurdjevic MP, Jovanovic DD, et al. Blood cells in thyroid cancer patients: a possible influence of apoptosis. *Open Med (Wars).* 2016;11(1):87–92.
215. Valko M, Rhodes CJ, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006;160(1):1-40.
216. Wolfram RM, Budinsky AC, Palumbo B. Radioiodine therapy induces dose-dependent in vivo oxidation injury: evidence by increased isoprostane 8-epi-PGF(2 alpha). *J Nuc Med.* 2002;43(9):1254-8
217. Yamaoka K, et al. Change of glutathione peroxidase synthesis along with that of superoxide dismutase synthesis in mice spleens after low-dose X-ray irradiation. *Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj.* 1998;1381(2):265-270
218. Miao L, St Clair DK. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in diseases. *Free Radical Biol. Med.* 2009;47(4):344-356
219. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Rad. Biol. Med.* 1990;8:583-599
220. Erdamar H, Demirci H, Yaman H et al. The effect of hypothyroidism, hyperthyroidism and their treatment on parameters of oxidative stress and antioxidant status. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46:1004-1010
221. Sabitha KE, Shyamaladevi CS. Oxidant and antioxidant activity changes in patients with oral cancer and treated with radiotherapy. *Oral Oncol.* 1999;35:273-7
222. Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol.* 1994;65(1):27-33

223. Tajero I, Gonzalez-Lafont A, Lluch JM, Eriksson LA. Theoretical modeling of hydroxyl-radical induced lipid peroxidation reactions. *J Phys Chem.* 2007;111:5684-5693
224. Kumaraguruparan R, Kabalimootthy J, Nagini S. Correlation of tissue lipid peroxidation and antioxidants with clinical stage and menopausal status in patients with adenocarcinoma of the breast. *Clin Biochem.* 2005;38:154-158.
225. Durak I., Bayram F., Kavutcu M., Canbolat O., Ozturk HS. Impaired enzymatic antioxidant defense mechanism in cancerous human thyroid tissues. *J Endocrinol Invest.* 1996;19:312-315
226. Flohe L, et al. Glutathione peroxidase, V. The kinetic mechanism. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1972;353(6):987-99.
227. Makino N, et al. Kinetic studies on the removal of extracellular hydrogen peroxide by cultured fibroblasts. *J Biol Chem.* 1994;269(2):1020-5.
228. Lardinois, OM, Mestdagh MM, Rouxhet PG. Reversible inhibition and irreversible inactivation of catalase in presence of hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology.* 1996;1295(2):222-238.
229. Cao C, Leng Y, Liu X, Yi Y, Li P, Kufe D. Catalase is regulated by ubiquitination and proteosomal degradation. Role of the c-Abl and Arg tyrosine kinases. *Biochemistry.* 2003;42(35):10348-53.
230. Deneke SM, Fanburg BL. Regulation of cellular glutathione. *Am J Physiol.* 1989;257(4 Pt 1):L163-L173.
231. Neradilova M, Hrubá F, Novakova U. Investigation of the relationship between thyroid function and alpha-tocopherol concentrations of serum and in some organs of the rat. *Int J Vitam Nutr Res.* 1973;43:283-90.
232. Sadani GR, Nadkarni GD. Changes in lipid peroxide levels and the activity of reactive oxygen scavenging systems in thyroid tissue after exposure to radioactive iodine in rats. *Thyroid.* 1997;7(6):937-41

233. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J. Nutr. Biochem.* 2005;16:577-586.
234. Wu G, et al. Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *J. Nutr.* 2004; 134(3):489-492
235. Konukoglu D, Hatemi H, Arıkan S et al. Radioiodine treatment and oxidative stress thyroidectomy patients for differentiated thyroid cancers. *Pharmacol Res.* 1998; 38:311-315
236. Sweeney DC, Johnston GS. Radioiodine therapy for thyroid cancer. *Endocrinol Metab Clin N Am.* 1995;24(4):803-39.
237. Shimizu T, Iwanaga M, Yasunaga A, et al. Protective role of glutathione synthesis on radiation-induced DNA damage in rabbit brain. *Cell Mol Neurobiol.* 1998;18(3):299–310.
238. Baskol G, Atmaca H, Tanrıverdi F, Baskol M, Kocer D, Bayram F: Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with hypothyroidism before and after treatment. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2007;15:522-6.
239. Yoon YS, Lee JH, Hwang SC, Choi KS, Yoon G. TGF beta1 induces prolonged mitochondrial ROS generation through decreased complex IV activity with senescent arrest in Mv1 Lu cells. *Oncogene.* 2005;24:1895-1903.
240. Malathi M, Vijay M, Shivashankara AR. The Role of oxidative stress and the effect of radiotherapy on the plasma oxidant-antioxidant status in head and neck cancer. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2011;5(2):249-251.
241. Furukawa Y, Torres AS, O'Halloran TV. Oxygen-induced maturation of SOD1: a key role for disulfide formation by the copper chaperone CCS. *EMBO J.* 2004;23:2872–2881
242. Furukawa Y, O'Halloran TV. Amyotrophic lateral sclerosis mutations have the greatest destabilizing effect on the apo- and reduced form of SOD1, leading to unfolding and oxidative aggregation. *J. Biol. Chem.* 2005;280:17266–17274.

243. Yousefi B, et al. Serum Arsenic and Lipid Peroxidation Levels in Patients with Multiple Sclerosis. *Biol. Trace Elem. Res.* 2014;158(3):276-279
244. Didziapetriene J, et al. Significance of Blood Serum Catalase Activity and Malondialdehyde Level for Survival Prognosis of Ovarian Cancer Patients. *Medicina, (Kaunas)*. 2014;50(4):204-208
245. Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J.* 1987; 1(5):358-64.
246. Alavi M, Zal F, Zamani F, Kazemi M, Rasti M. Evaluation of a number of blood biochemical markers after radioiodine therapy in papillary thyroid cancer patients. *Middle East Journal of Cancer.* 2017;8(2):77-82
247. Gil OM, et al. Cytogenetic alterations and oxidative stress in thyroid cancer patients after Iodine-131 therapy. *Mutagenesis.* 2000;15(1):69-75
248. Jaffiol C, Daures JP, Sakal N, et al. Long term follow up of medical treatment of differentiated thyroid cancer. *Ann Endocrinol.* 1995;56(2):119-26
249. Ward JF. The yield of DNA double-strand breaks produced intracellularly by ionizing radiation: a Review. *Int. J. Radiat. Biol.* 1990;57(6):427-432.
250. Ayala A, Munoz FM, Arquelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;1-31
251. Shichiri MY, Yoshida and Niki E. Chapter 4 - Unregulated Lipid Peroxidation in Neurological Dysfunction A2 - Watson, Ronald Ross, in *Omega-3 Fatty Acids in Brain and Neurological Health*, F.D. Meester, Editor. Academic Press: Boston. 2014;31-55.
252. Makarewicz J, et al. Radioiodine Remnant Ablation of Differentiated Thyroid Cancer Does not Further Increase Oxidative Damage to Membrane Lipids – Early Effect. *Thyroid. Res.* 2010;3(1):7

БИОГРАФИЈА

Вера Спасојевић-Тишма је рођена 15.01.1960. године у Земуну. Основну школу и гимназију завршила је у Земуну. На Медицинском факултету Универзитета у Београду је дипломирала 1986. године. Последипломске студије је наставила на истом факултету, где је одбранила магистарски рад под насловом: Улога слезине у гранулоцитопоези пацова у условима стерилне инфламације 1995. године и стекла академско звање магистра медицинских наука. 1998. године положила је специјалистички испит на Медицинском факултету Универзитета у Београду и стекла стручно звање специјалиста медицине рада, а 2007. године је полагала и субспецијалистички испит из радиолошке заштите.

У периоду од 1987. до 1988. године била је запослена у средњој медицинској школи "Вељко Дугошевић" у Београду. Од 1988. до 2009. године радила је у Институту за нуклеарне науке Винча у Заводу за радиолошку здравствену заштиту. Од 2009. године запослена је у Јавном предузећу Нуклеарни објекти Србије у Поликлиничкој служби где и данас ради.

Од 2008. до 2011. године учествовала је у међународној клиничкој студији одвикавање од пушења "2RST" где је координатор студије био Swedish Match-Švedska. Почев од 1998. године учествовала је на следећим пројектима Министарства за науку:

1. Програм нуклеарне декомисије реактора у Институту Винча (ВИНД Пограм)
2. Пројекат одлагања радиоактивног отпада

Члан је организационог одбора друштва за заштиту од зрачења Србије. Такође је члан Удружења здравствених радника Србије.

БИБЛИОГРАФИЈА

Магистарски рад:

Спасојевић-Тишма В.: УЛОГА СЛЕЗИНЕ У ГРАНУЛОЦИТОПОЕЗИ ПАЦОВА У УСЛОВИМА СТЕРИЛНЕ ИНФЛАМАЦИЈЕ, Универзитет у Београду, Медицински факултет, Јул 1995.

Специјалистички рад:

Спасојевић-Тишма В.: АНАЛИЗА ХЕМАТОЛОШКИХ ПАРАМЕТАРА КОД ЗАПОСЛЕНИХ У ПРОИЗВОДЊИ И ПРИМЕНИ РАДИОНУКЛИДА, Универзитет у Београду, Медицински факултет, Октобар 1998.

Радови објављени у часописима међународног значаја (M53):

1. Joksic G., Vidakovic A., Spasojevic-Tisma V.: CYTOGENETIC MONITORING OF PESTICIDE SPRAYERS, Environmental research.1997; 75:113-118
2. Joksic G., Nikolic M., Spasojevic-Tisma V.: RADIOSENSIVITY OF DIFFERENT AGED HUMAN LYMPHOCYTES FOLLOWING ELECTRON IRRADIATION IN VITRO, Neoplasma.1997;44(2):117-121
3. Joksic G., Spasojevic-Tisma V.: CHROMOSOME ANALYSIS OF LYMPHOCYTES FROM RADIATION WORKERS IN TRITIUM-APPLYING INDUSTRY, International Archives of Occupation and Environmental Health. 1998; 213-220
4. Krstic D., Krinulovic K., Spasojevic-Tisma V., Joksic G., Momic T., Vasic V.: EFFECTS OF DIDOXIN AND GITOXIN ON THE ENZYMATIC ACTIVITY AND KINETIC PARAMETERS OF Na^+/K^+ -ATPase, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2004;19: 409-415
5. Joksic G., Spasojevic-Tisma V., Antic R., Nilsson,R., Rutqvist L.E.: RANDOMIZED, PLACEBO-CONTROLLED DOUBLE-BLIND TRIAL OF SWEDISH SNUS FOR SMOKING REDUCTION AND CESSATION, Harm Reduction Journal. 2011; 8:25
6. Spasojevic-Tisma V., Celeketic D., Tisma J., Milacic S., Papovic-Djukic G.: HEALTH RISK ASSESSMENT OF JOBS INVOLVING IONIZING RADIATION SOURCES, Nuclear Technology Radiation Protection. 2011; 26(3): 233-236
7. Jeremic M., Matovic M., Jankovic S., Milosev M., Novakovic M., Spasojevic-Tisma V., Urosevic V.: COMPARISON OF THREE METHODS USED FOR MEASUREMENT OF RADIOJODINE FIXATION IN THYROID GLAND OF MICE. Nuclear Technology Radiation Protection. 2013; 28(2):225-231

8. Vera D. Spasojević-Tišma, Milovan D. Matović, Olgica B. Mihaljević, Snežana T. Živančević-Simonović, Marija Ž. Jeremić, Vladimir Lj. Jakovljević, Vera N. Todorović, Ivan Lj. Pavlović, Snežana A. Pejić, Ana U. Todorović. REDOX PARAMETERS IN BLOOD OF THYROID CANCER PATIENTS AFTER THE RADIOIODINE ABLATION. Nuclear Technology Radiation Protection. 2017; 32(4): 358-365

Радови објављени у часописима националног значаја (M52):

1. Нешковић Г., Јовановић-Чупић С., Живковић Ј., Спасојевић-Тишма В.: МОЛЕКУЛАРНА БИОЛОГИЈА ХЕПАТИТИС Ц ВИРУСА, Acta Infectologica Yugoslavica. 2004;1: 5-11
2. Stojanovic N., Jovic G., Petakov M., Biljanovic-Paunovic L., Koko V., Todorovic V., Spasojevic-Tisma V., Morardet N.: THE ROLE OF THE SPLEEN HEMATOPOETIC CELL PRODUCTION DURING THE ACUTE PHASE OF STERILE INFLAMMATION IN RATS, Acta Veterinaria. 2005; 45 (5-6): 269-280
3. N.Spasojević, P. Jovanović, V. Spasojević-Tišma, N. Đelić, S.Dronjak. DIFFERENTIAL IN VIVO REGULATION OF TH AND DBH mRNA IN RAT ATRIA BY MAPROTILINE AND FLUOXETINE, Archives of Biological Sciences. 2011; 63(3): 597-601

Радови објављени у часописима националног значаја (M51):

1. Joksic G., Ilic N., Spasojevic-Tisma V.: RADIOPROTECTIVE PROPERTIES OF NUTRACEUTICAL GONEBAZOL: IN VIVO STUDY, Arch Oncol 2006;14(1-2): 15-8.

Саопштења са међународног скупа штампана у целини (M33):

1. Spasojevic-Tisma V.: MEDICAL SURVEILLANCE OF EMPLOYEES IN NUCLEAR INSTITUTE VINCA, Medjunarodna konferencija, Preventive Engineering and Living Environment, Nis, November 1995; J9-1-2

2. Joksic G., Kljajic R., Orlic M., Spasojevic-Tisma V., Nikolic M.: CONTROL OF THE EXPOSURE DURING THE WORK WITH IONIZING RADIATION SOURCES, Medjunarodna konferencija, Preventive Engineering and Living Environment, Nis 1995; J8-1-2
3. Спасојевић-Тишма В., Милачић С., Божанић-Крнета М.: ХЕМАТОЛОШКИ ПАРАМЕТРИ КОД ОСОБА КОЈЕ ПРОФЕСИОНАЛНО РАДЕ СА РАДИОНУКЛИДИМА, Зборник радова, XIX Југословенски симпозијум за заштиту од зрачења, Голубац, 18-20. Јун 1997; 269-272
4. Joksic G., Nikolic M., Spasojevic-Tisma V.: APPLICATION OF THE MICRONUCLASUS ASSAY TO HUMAN BIOMONITORING, Proceedings of the second international Yugoslav nuclear society conference (YUNSC'98), Belgrade, 28. September-1. October 1998; 695-698
5. Spasojevic-Tisma V., Pavelkic V.: STATE OF HEALTH OF MEDICAL WORKER EMPLOYED IN RTG-CABINET ANNUAL PERIODICAL MEDICAL CHECKUP, 4th International Yugoslav Nuclear Society Conference, Belgrade 2002; 597-598
6. Pavelkic V., Vasic V., Savic J., Spasojevic-Tisma V., Andjelkovic S.: ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOLUTIONS FOR CLEANING AND CONDITIONING RIGID GAS PERMEABLE CONTACT LENSES, Third International Symposium on Antisepsis, Disinfection and Sterilisation, Prcanj 10-15. June 2002; 221-223
7. Pavelkic V., Spasojevic-Tisma V., Krstic D.: N-METHYL-INDOXIL ACETATE AS A SPECIFIC SUBSTRATE FOR FLUORIMETRIC CHOLINESTERASE ACTIVITY DETERMINATION, Proceedings of the 6th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, 26-28. September 2002; 353-355
8. Pavelkic V., Krinulovic K., Spasojevic-Tisma V.: KINETICS OF HUMAN ERYTHROCYTE AND SERUM CHOLINESTERASE INHIBITION BY ORGANO-PHOSPHOROUS INHIBITOR MALATHION, Proceedings of the 6th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade 26-28. September 2002; 350-352
9. Vasic V., Krstic D., Joksic G., Krinulovic K., Spasojevic-Tisma V., EFFECTS OF DIGOXIN ON Na^+/K^+ -ATPase ACTIVITY ISOLATED FROM HUMAN BLOOD ERYTHROCYTES, Proceedings of the 6th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, 26-28. September 2002; 332-334
10. Спасојевић-Тишма В., Илић Ж., Павелкић В.: УЛОГА ЗДРАВСТВЕНИХ КОНТРОЛА У ПРОФЕСИОНАЛНОЈ ЕКСПОЗИЦИЈИ, Интернационални конгрес "Здравље за све" – Перспективе здравља у 21. веку, Бања Лука, 4-8. Јун 2003; 148-151
11. Илић Ж., Спасојевић-Тишма В., Цирај О., Јоксић Г.: ПРИМЕНА БИОЛОШКИХ ТЕСТОВА У ЗДРАВСТВЕНОЈ КОНТРОЛИ ПРОФЕСИОНАЛНО ИЗЛОЖЕНИХ ЛИЦА, Интернационални конгрес "Здравље за све" – Перспективе здравља у 21. веку, Бања Лука, 4-8. Јун 2003; 152-159

12. Pavelkic V., Zivanovic M., Spasojevic-Tisma V., Ilic M.: KINETICS OF HEAT DENATURATION OF PEPSIN IN A STRONG ACID MEDIA, Proceedings of the 7th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, 2004; 240-242

13. Вера Спасојевић-Тишма. Правилник и критеријуми за оцену радне способности професионално изложених лица у зони јонизујућих зрачења. Међународни конгрес екологија, здравље, рад, спорт. зборник радова, Бања Лука 2012; 401-403

Саопштења са међународог скупа штампана у изводу (M34):

1. Spasojevic-Tisma V., Joksic G., Ilic Z., Milanovic S.: HEALTH DISORDERS IN MEDICAL WORKERS IN SURGERY BLOCK, Book of abstracts, 3th International Yugoslav Nuclear Society Conference, Belgrade, 2000; 105

2. Pavelkic V., Spasojevic-Tisma V., Ilic Z.: ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY IN THE NEUTROPHILIC GRANULOCYTES, Programme and Abstract, 13th balcan Biochemical Biophysical Days and Meeting on Metabolic Disorders, Kusadasi, 12-15. October 2003; 144-145

3. Pavelkic V., Zivanovic M., Spasojevic-Tisma V.: INFLUENCE OF Al³⁺ IONS ON PEPSIN ACTIVITY AT pH 2, Programme and Book of Abstracts, 22nd International Symposium on Biophysics, 9-13. Sveti Stefan. October 2004; S4: 11

4. Pavelkic V., Spasojevic-Tisma V.: FLUORIMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF CHOLINESTERASE ACTIVITY BASED ON INDOXYL-ACETATE AS A SPECIFIC SUBSTRATE, 3rd International Conference of the Societies of the South-Eastern European Countries, 22-25 Bucharest, September 2002; 178: 332.

Саопштења са скупа националног значаја штампана у целини (M63):

1. Спасојевић-Тишма В., Јоксић Г., Милачић С.: ВРЕДНОСТ ХЕМАТОЛОШКИХ ПАРАМЕТАРА КОД ОСОБА ПРОФЕСИОНАЛНО ИЗЛОЖЕНИХ ЗАТВОРЕНИМ ИЗВОРИМА ЗРАЧЕЊА, Зборник радова, XX Симпозијум ЈДЗЗ, Тара 1999; 327-329

2. Спасојевић-Тишма В., Илић С., Кошутић Д., Павелкић В., Милановић С.: ЗДРАВСТВЕНО СТАЊЕ МЕДИЦИНСКИХ РАДНИКА У ОПЕРАЦИОНОЈ САЛИ, Зборник радова, XXI Симпозијум ЈДЗЗ, Кладово 10-12. Октобар 2001; 341-343

3. Илић Ж., Спасојевић-Тишма В., Цирај О., Јоксић Г.: БИОЛОШКИ ОЦИВ ОРГАНИЗМА ПРОФЕСИОНАЛНО ИЗЛОЖЕНОГ НИСКИМ ДОЗАМА Х-ЗРАЧЕЊА, Зборник радова, XXI Симпозијум Југословенског друштва за заштиту од зрачења, Кладово 10-12. Октобар 2001; 331-336
4. Павелкић В., Спасојевић-Тишма В.: БАКТЕРИОЛОШКА КОНТРОЛА ВОДЕ ПРИМЕНОМ РЕАКЦИОНОГ СИСТЕМА ЛУЦИФЕРИН-ЛУЦИФЕРАЗА, Конференција о актуелним проблемима коришћења и заштите вода, Вода 2002, Врњачка Бања 11-14. Јун 2002; 347-352
5. Спасојевић-Тишма В., Павелкић В., Илић Ж., Челекетић Д.: КИНЕТИЧКИ МЕТОД ОДРЕЂИВАЊА АКТИВНОСТИ АЛКАЛНЕ ФОСФАТАЗЕ У ГРАНУЛОЦИТИМА ПЕРИФЕРНЕ КРВИ, Зборник радова, XXII Симпозијум ЈДЗЗ, Петровац 29. Септембар-1. Октобар 2003; 259-262
6. Илић Ж., Спасојевић-Тишма В., Чукнић О., Јоксић Г., Милановић С., Шукало-Миљковић И., Перишић Ј.: РЕЗУЛТАТИ ЗДРАВСТВЕНЕ КОНТРОЛЕ РАДНИКА АНГАЖОВАНИХ НА УКЛАЊАЊУ ОЗРАЧЕНОГ НУКЛЕАРНОГ ГОРИВА У ИНН ВИНЧА, Зборника радова, XXII Симпозијум ЈДЗЗ, Петровац 29. Септембар-1. Октобар 2003; 335-338
7. Илић Ж., Перишић Ј., Чукнић О., Спасојевић-Тишма В.: МЕДИЦИНСКО ЗБРИЊАВАЊЕ ЉУДИ КОНТАМИНИРАНИХ РАДИОАКТИВНИМ МАТЕРИЈАЛОМ, Зборник радова, XXII Симпозијум ЈДЗЗ, Петровац 29. Септембар-1. Октобар 2003; 339-344
8. Илић Ж., Спасојевић-Тишма В., Милановић С., Перишић Ј.: КАКО ЗАШТИТИТИ ЗАШТИТУ ОД ЗРАЧЕЊА, Свет рада, Часопис за питања безбедности и заштите здравља на раду, Медицина рада и заштите животне средине за Југоисточну Европу. 2004; 1(3); 399-400
9. Спасојевић-Тишма В., Јоксић Г., Челекетић Д.: НЕПОХОДНОСТ ЗДРАВСТВЕНЕ КОНТРОЛЕ ЗДРАВСТВЕНИХ РАДНИКА У ЗОНИ ЈОНИЗУЈУЋИХ ЗРАЧЕЊА, XXIII Симпозијум ДЗЗ Србије и Црне Горе, Доњи Милановац 2005; .277-279
10. Јоксић Г., Илић В., Спасојевић-Тишма В., Лесковац А.: ПРОТЕКТИВНИ ЕФЕКТИ: IN VITRO-IN VIVO, Зборник радова, XXIII Симпозијум Друштва за заштиту од зрачења Србије и Црне Горе, Доњи Милановац 26-28. Септембар 2005; 269-272
11. Спасојевић-Тишма В., Јоксић Г., Илић Ж., Милановић С., Ђурић Ј., Тишма Ј., Челекетић Д., Чукнић О., Перишић Ј., Каљевић Ј., Милачић С.: УЧЕСТАЛОСТ ХРОМОЗОМСКИХ АБЕРАЦИЈА КОД РАДНИКА ПРИ РАДУ СА РАЗЛИЧИТИМ ИЗВОРИМА ЈОНИЗУЈУЋИХ ЗРАЧЕЊА, Зборник радова, XXIV Симпозијум Друштва за заштиту од зрачења Србије и Црне Горе, Златибор 2007; 177-182
12. Милановић С., Илић Ж., Спасојевић-Тишма В.: МЕСТО И УЛОГА ХРОНИЧНОГ СТРЕСА У ПРОЦЕНИ РИЗИКА РАДНОГ МЕСТА И РАДНЕ СРЕДИНЕ КОД ЛИЦА ПРОФЕСИОНАЛНО ИЗЛОЖЕНИХ ЈОНИЗУЈУЋИМ ЗРАЧЕЊИМА, Зборник радова, XXIV Симпозијум Друштва за заштиту од зрачења Србије и Црне Горе, Златибор 2007; 183-188

13. Спасојевић-Тишма В., Павловић С., Милачић С., Радисављевић Б., Тишма Ј., Целекетић Д.: ЗДРАВСТВЕНИ РИЗИК ЗАПОСЛЕНИХ ПРИ РАДУ СА РАЗЛИЧИТИМ ИЗВОРИМА ЈОНИЗУЈУЋИХ ЗРАЧЕЊА, Зборник радова, XXV Симпозијум Друштва за заштиту од зрачења Србије и Црне Горе, Копаоник 2009; 208-213
14. Спасојевић-Тишма В., Дацин Ж., Илић Ж, Чукнић О.: МЕДИЦИНСКИ НАЛАЗИ ОСОБА КОЈЕ СУ БОРАВИЛЕ У ЈАПАНУ У ТОКУ АКЦИДЕНТА У НУКЛЕАРНОЈ ЕЛЕКТРАНИ ФУКУШИМА 1, Зборник радова, XXVI Симпозијум ЈДЗЗ, Тара 2011; 280-283
15. Милачић С., Ђоковић Ј., Јовичић Д., Спасојевић - Тишма В., Пантелић Г.: ПРОФЕСИОНАЛНИ МУЛТИПЛИ МИЈЕЛОМ – ПРИКАЗ СЛУЧАЈА, Зборник радова, XXVI Симпозијум ЈДЗЗ, Тара 2011; 267-270
16. Спасојевић-Тишма В., Кошутић Д.: ПРИМЕНА ВИСОКИХ АКТИВНОСТИ 131И У ЛЕЧЕЊУ КАРЦИНОМА ШИТАСТЕ ЖЛЕЗДЕ, Зборник радова, XXVII Симпозијум Друштва за заштиту од зрачења Србије и Црне Горе, Врњачка бања 2013; 317-320
17. В. Спасојевић-Тишма, Д. Кошутић. Примена високих активности 131-И у лечењу карцинома штитасте жлезде. Зборник радова, XXVII Симпозијум ДЗЗ, Врњачка бања 2013; 317-320

Саопштења са скупа националног значаја штампана у изводу (М64):

1. Илић Ж., Спасојевић-Тишма В., Цирај О., Јоксић Г.: БИОЛОШКИ ОДЗИВ ОРГАНИЗМА ПРОФЕСИОНАЛНО ИЗЛОЖЕНОГ НИСКИМ ДОЗАМА Х-ЗРАЧЕЊА, Зборник радова, Шести конгрес Домова здравља са међународним учешћем, Златибор 18-23. Мај 2003; 204
2. Спасојевић-Тишма В., Илић Ж., Павелкић В., Милановић С.: ПРИМЕНА ЗАКОНСКИХ РЕГУЛАТИВА У РАДИОЛОШКОЈ ЗАШТИТИ, Игало 20-22. Мај 2004, Свет рада. 2004;1(3): 401
3. Спасојевић-Тишма В., Јоксић Г., Павелкић В., Целекетић Д.: ЗДРАВСТВЕНО СТАЊЕ ЛИЦА ПРОФЕСИОНАЛНО ИЗЛОЖЕНИХ МАЛИМ ДОЗАМА ЈОНИЗУЈУЋИХ ЗРАЧЕЊА, Свет рада. 2005; 2(4): 518
4. Спасојевић-Тишма В., Милачић С., Тишма Ј., Целекетић Д.: ЗДРАВСТВЕНИ РИЗИК ЗАПОСЛЕНИХ ПРИ РАДУ СА РАЗЛИЧИТИМ ИЗВОРИМА ЈОНИЗУЈУЋИХ ЗРАЧЕЊА,

Књига абстракта, Конгрес удружења нуклеарне медицине Србије, Крагујевац 2010; 132

5. Спасојевић-Тишма В., Дацин З., Пешикан М., Ивановић Т., Рашић С., Ковачевић Ј.: ЈОНИЗУЈУЋЕ ЗРАЧЕЊЕ, КАНЦЕРОГЕНЕЗА И ЗНАЧАЈ ЗДРАВСТВЕНЕ КОНТРОЛЕ, Зборник радова, Конгрес здравствених радника Србије са међународним учешћем, Златибор 2010; 213-214

6. Кошутић Д., Спасојевић-Тишма В.: ПРИМЕНА ¹³¹I У РАДИОНУКЛИДНОЈ ТЕРАПИЈИ, Књига абстракта, Конгрес удружења нуклеарне медицине Србије, Крагујевац 2010; 126

7. Спасојевић-Тишма В.: ХУМАНА ДЕКОНТАМИНАЦИЈА Зборник радова, Симпозијум здравствених радника Србије са међународним учешћем, Златибор 2016; 213-21

ПРИЛОГ

8.1. КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

Редни број:

РБ

Идентификациони број:

ИБР

Тип документације: Монографска публикација

ТД

Тип записа: Текстуални штампани материјал

ТЗ

Врста рада: Докторска дисертација

ВР

Аутор: Вера Спасојевић-Тишма

АУ

Ментор/коментор: др сци Ана Годоровић

МН

Наслов рада:

Утицај терапије радиоактивним јодом ^{131}I на хематолошке параметре и антиоксидативни статус пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде

Језик публикације: Српски

ЛП

Језик извода: Српски

ЛИ

Земља публикавања: Република Србија
ЗП

Уже географско подручје: Шумадија
УГП

Година: 2018
ГО

Издавач: Ауторски репринт
ИЗ

Место и адреса:
МС

Физичи опис рада:
Дисертација има 7 поглавља,
128 страна, 36 слика, 86 табела ,
252 референце

ФО

Научна област: Медицина

Научна дисциплина: Нуклеарна медицина, онкологија
ДИ

Предметна одредница/ кључне речи
Оксидативни стрес, антиоксидативни ензими, липидна пероксидација, радиотерапија,
диферентовани карцином штитасте жлезде
ПО

УДК

Чува се: У библиотеци Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу,
Србија

Важна напомена:

Извод: Малигни тумори штитасте жлезде представљају 95% случајева свих дијагностикованих карцинома ендокриног система. Годишња стопа инциденце у различитим деловима света се креће од 0,5-10 случајева на 100,000 становника, а у Србији број новооболелих износи 1,6 мушкараца и 5,8 жена на 100,000 становника на годишњем нивоу.

Терапијска примена радиоактивног јода (^{131}I) ради аблације постоперативно преосталог ткива штитасте жлезде и јодавидних метастаза је део стандардне процедуре лечења оболелих од диферентованих тиреоидних карцинома (DTC). Терапија ^{131}I , иако релативно безбедна, носи изванредан ризик од појаве нежељених ефеката који су последица радијационог оштећења здравих ткива и органа, међу којима су костна срж и периферна крв. Циљ ове студије је да се код пацијената са DTC испитају хематолошки параметри (ниво леукоцита, еритроцита, тромбоцита, хемоглобина и хематокрита), параметри оксидативног стреса (активности антиоксидативних ензима, концентрација реактивних кисеоничних врста и интензитет липидне пероксидације) пре и након апликације великих доза радиоактивног ^{131}I (3,70 и 5,55 GBq). Такође, циљ студије је био и да се добијене вредности анализирају у односу на дозу апликованог ^{131}I и време протекло од његове примене (3, 7 и 30 дана након терапије). Истраживањем је обухваћено 68 пацијената оба пола, којима је урађена тиреоидектомија, постављена дијагноза добро диферентованог карцинома штитасте жлезде и аплициран ^{131}I у дози од 3,70 или 5,55 GBq. Добијени резултати указују да терапија било којом од испитиваних доза ^{131}I доводи до смањења свих хематолошких параметара у посматраним временским тачкама у односу на вредност пре терапије. Обе аблационе дозе ^{131}I индукују повећање оксидативног стреса које се огледа у повећању нивоа TBARS-а, и то у 3. и 7. дану након примене дозе од 3,70 GBq, а у 3. и 30. дану након дозе од 5,55 GBq. Терапија ^{131}I код пацијената са DTC индукује и промене вредности АО параметара. Активност SOD након примене ^{131}I у дози од 3,70 GBq значајно је повећана 3. и 30. дана, а након примене ^{131}I од 5,55 GBq 3. и 7. дана у односу на вредност пре терапије. Након дозе од 3,70 GBq активност CAT показује снижење 30. дана, док доза ^{131}I од 5,55 GBq повећава активност CAT 7. дана у односу на 0. дан. Обе дозе ^{131}I доводе до значајног пораста вредности GSH 7. дана, док само доза од 5,55 GBq доводи до снижења GSH 30. дана у односу на 0. дан. ^{131}I индукује значајне промене нивоа слободних радикала у крви DTC пацијената. Терапија ^{131}I у дози од 5,55 GBq повећава ниво O_2^- само у 30. дану, док вредности O_2^- након примене дозе од 3,70 GBq нису значајно промењене у односу на 0. дан. Ниво H_2O_2 у крви DTC пацијената је снижен 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70 GBq, а не мења се значајно ни након примене дозе од 5,55 GBq. Ниједна од испитиваних доза ^{131}I не индукује статистички значајну промену вредности NO у односу на ниво пре терапије. Анализа корелисаности TBARS-а и хематолошких параметара је показала да је TBARS негативно корелисан са Hgb и Hct. Анализом корелисаности ензима и њихових супстрата утврђено је да је активност SOD позитивно корелисана са нивоом O_2^- само 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq. Активност CAT је негативно корелисана са H_2O_2 у свим посматраним временским тачкама након дозе од 3,70 GBq ^{131}I , а након дозе од 5,55 GBq само 30. дана. Резултати мултипле линеарне регресије су показали да од пет тестираних параметара (SOD, CAT, GSH, O_2^- , H_2O_2 и NO) само активност SOD и концентрације H_2O_2 и O_2^- значајно утичу на ниво TBARS-а у крви DTC пацијената.

Резултати ове студије указују да терапија ^{131}I индукује повећање оксидативног стреса, које се огледа у повећању нивоа TBARS-а, али и у нарушеном балансу ензимских и

неензимских компоненти антиоксидативне заштите и продукције слободних радикала који могу имати значајан утицај на касније ефекте терапије ^{131}I .

Датум прихватања теме од стране ННВ: 01.03.2017. година
ДП

Датум одбране:
ДО

Чланови комисије:

1. Доц. др Олгица Михаљевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник;
2. ВНС Снежана Пејић, виши научни сарадник лабораторије за молекуларну биологију и ендокринологију Института за нуклеарне науке Винча за ужу научну област Биомедицина, члан;
3. Доц. Др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан.

8.2. KEY WORDS DOCUMENTATION

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Documentation type: Monograph documentation

DT

Type of record: Textual printed material

TR

Contents code: PhD Thesis

CC

Author: Vera Spasojevic Tisma

AU

Menthor/co-mentor PhD Ana Todorovic

MN

Title: The effect of radioactive iodine therapy ^{131}I on the haematological parameters and the antioxidant status of patients with differentiated thyroid carcinoma

TI

Language of text: Serbian

Language of abstract: English / Serbian

Country of publication: Republic of Serbian

CP

Locality of publication: Šumadija

LP

Publication year: 2018

PY

Publisher: Author reprint

PU

Publication place:

PP

Physical description 7 chapters /

128 pages / 36 pictures /86 tables/

252 references

PD

Scientific field: Medicine

SF

Scientific discipline: Nuclear medicine, Oncology

SD

Subject/key words: oxidative stress, antioxidant enzymes, lipid peroxidation, radioiodine therapy, differentiated thyroid carcinoma

SKW

Holding data: Library of the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia

Note:

N

Abstract: Malignant tumors of the thyroid gland represent 95% of all diagnosed endocrine cancers. The annual incidence rate ranges from 0.5 to 10 cases per 100 000 inhabitants, and in Serbia this incidence is 1.6 men and 5.8 women per 100 000.

Therapeutic use of radioactive iodine (^{131}I) for the ablation of postoperatively residual thyroid tissue and iodine metastases is part of the standard procedure for patients with differentiated thyroid carcinoma (DTC). Although treatment is tolerated well by most patients adverse effects of DTC treatment have been increasingly recognized, and are reason for a debate on the required aggressiveness of DTC treatment. Adverse effects result from radiation damage of the healthy tissues and organs, including bone marrow and peripheral blood.

This study included 68 patients of both sexes who were diagnosed with DTC, underwent thyroidectomy, and were treated with fixed doses of 3.70 or 5.55 GBq of ^{131}I . The aim of the study was to investigate hematologic parameters (leukocyte, erythrocyte, platelet, hemoglobin and hematocrit levels) as well as oxidative stress parameters (antioxidant enzymes activity, levels of reactive oxygen species and lipid peroxidation) their correlation and significance for lipid peroxidation in blood of DTC patients 0, 3, 7 and 30 days after therapy. The obtained results indicate that compared to the pre-therapy values in the 3rd, 7th and 30th day after radiotherapy both of the examined ^{131}I doses a decrease in all hematological parameters. TBARS level was elevated in 3rd and 7th day after a dose of 3.70 GBq, and in 3rd and 30th day after exposure to dose of 5,55 GBq. Following dose of 3.70 GBq the SOD activity was significantly increased in the 3rd and 30th days, and after the application of 5.55 GBq in the 3rd

and 7th days after therapy. Activity of CAT was decreased in 30th day after a dose of 3.70 GBq, while a dose 5.55 GBq increased CAT activity only in 7th day compared to day 0. Both doses of ¹³¹I led to a significant increase in GSH values in 7th day, while only a dose of 5.55 GBq induced a GSH reduction in 30th day after radiotherapy. As regards the level of free radicals, therapy with 5.55 GBq of ¹³¹I increased the level O₂⁻ only in 30th days, while administration of 3.70 GBq did not change the O₂⁻ level in any of the examined time points. The H₂O₂ level in the blood of the DTC patients was decreased in 7th and 30th day after a dose of 3.70 GBq, and it was not changed significantly following the dose of 5.55 GBq. None of the examined ¹³¹I doses induced a significant change in NO value compared to its pre-treatment level.

The correlation analysis of TBARS and hematological parameters showed that TBARS was negatively correlated with Hgb and Hct. Regarding enzymes activity and levels of their substrates it was found that SOD correlated with the O₂⁻ only in 30th day after a dose of 5.55 GBq, and the correlation was positive. The CAT activity was negatively correlated with H₂O₂ in all observed time points after a dose of 3.70 GBq, and after a dose of 5.55 GBq only in 30th day following exposure. Results of multiple linear regression analysis indicated that among all five tested parameters (SOD, CAT, GSH, O₂⁻, H₂O₂ and NO), only SOD activity and levels of H₂O₂ and O₂⁻ had the statistically significant importance on TBARS level in blood of DTC patients.

This study showed that treatment with high doses of ¹³¹I induced an increase in oxidative stress, seen as increased level of TBARS, disturbed balance of enzymatic and nonenzymatic antioxidant components and production of free radicals. Understanding of these early redox processes is important since their progress could affect the latter effects of ¹³¹I therapy.

AB

Accepted by the Scientific Board on: March 1, 2017

ASB

Defended on:

DE

Thesis defended board

(Degree/name/surname/title/faculty)

1. PhD Олига Михаљевић, Assistant professor Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Department of Pathologist Physiology, President
2. PhD Снежана Пејић, Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Biology and Endocrinology, Vinca Institute of Nuclear Sciences, University of Belgrade, Member
3. PhD Иван Срејовић, Assistant professor Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Department of Physiology, Member

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Вера Спасојевић-Тишма, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Утицај терапије радиоактивним јодом ^{131}I на хематолошке параметре и антиоксидативни статус пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде

која је одбрањена на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,

да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 19. 10. 2018. године,

потпис аутора

Образац 2

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Вера Спасојевић-Тишма,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Утицај терапије радиоактивним јодом ^{131}I на хематолошке параметре и антиоксидативни статус пацијенат са диферентованим карциномом штитасте жлезде

која је одбрањена на Факултету медицинских наука

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

1) Ауторство

2) Ауторство - делити под истим условима

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу , 19. 10. 2018. године,

потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>

HEALTH RISK ASSESSMENT OF JOBS INVOLVING IONIZING RADIATION SOURCES

by

Vera D. SPASOJEVIĆ-TIŠMA^{1*}, Dušica Č. Čeleketić², Jelena M. TIŠMA³, Snežana B. MILAČIĆ⁴, and Gordana V. PAPOVIĆ-ĐUKIĆ⁵

¹Department of Medical Protection, Public Company Nuclear Facilities of Serbia, Belgrade, Serbia

²Department of Haematology, Zemun Medical Centre, Zemun,

³Serbia Faculty of Dentistry, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

⁴Institute of Occupational Health, Belgrade, Serbia

⁵Health Centre Vrbas, Vrbas, Serbia

Short paper

UDC: 613.648.4:612.014.48:539.12

DOI: 10.2298/NTRP1103233S

The study included 75 subjects exposed to low doses of external ionizing radiation and 25 subjects from the control group, all male. The first group (A) consisted of 25 subjects employed in the production of technetium, with an average job experience of 15 years. The second group (B) consisted of 25 subjects exposed to ionizing radiation from enclosed sources, working in jobs involving the control of X-ray devices and americium smoke detectors, their average work experience being 18.5 years. The third group (C) consisted of 25 subjects involved in the decontamination of the terrain at Borovac from radioactive rounds with depleted uranium left over after the NATO bombing of Serbia in 1999, their average job experience being 18.5 years. The control group (K) consisted of 25 subjects who have not been in contact with sources of ionizing radiation and who hold administrative positions.

Frequencies of chromosome aberrations were determined in lymphocytes of peripheral blood and compared to the control group. The average annual absorbed dose determined by thermoluminescent dosimeters for all three groups did not exceed 2 mSv. In the present study, the largest number of observed changes are acentric fragments and chromosome breaks. The highest occupational risk appears to involve subjects working in manufacturing of the radioisotope technetium.

Key words: chromosome aberrations, ionizing radiation, human lymphocytes, occupational exposure

INTRODUCTION

Most sensitive to radiation is the biological macromolecule – DNA. The most frequent lesions caused by radiation are DNA chain breaks. Breaks may be found in a single-chain or in both chains simultaneously. Damages of single bases also happen, as well as irregular crossings of facing chains of DNA or DNA and proteins. Lesions generated in this way can hardly be completely corrected via reparative enzyme systems. Most frequently, they are repaired inadequately, producing new errors in the DNA duplication process, leading to the appearance of various chromosome forms that normally do not exist in the human karyotype. These forms are observable in the metaphase of the cell cycle and are called chromosome aberrations [1].

Chromosome aberrations can be numerical (changes in the chromosome count) and structural (changes in chromosome structure). Structural chromosome aberrations can be classified as unstable or stable. Unstable chromosome aberrations are indicators of recent irradiation. They manifest themselves as dicentric, ring, and polycentric chromosomes. A characteristic they all share is the existence of an acentric fragment which disappears from the cell's genetic material during cell division, due to the lack of a centromere. With each subsequent division, the number of cells that carry unstable chromosome aberrations in their karyotype is decreased to one half, creating an impression that aberrations also disappear [2]. An aberrant cell can live through ten divisions at the most.

According to the International Atomic Energy Agency, structural chromosome aberrations include chromosome and chromatid abnormalities [3]. If ionizing radiation acts in the G1 phase, before the genetic

*Corresponding author; e-mail: jelena.m.tisma@gmail.com

material is doubled, chromosome aberrations occur. If ionizing radiation acts in the S phase of the cell cycle when the genetic material is doubled, chromatid aberrations occur.

The objective of the present work was to determine differences in frequencies of structural chromo-somal aberrations with respect to the type of the source, *i. e.* type of radioactive emission [4].

MATERIAL AND METHODS

The study included 75 subjects exposed to ionizing radiation and 25 subjects from the control group, all male.

The first group (A) consisted of 25 subjects, average age 40, working in the production of technetium. Technetium is obtained from molybdenum generators, by passing the physiological solution (0.9% NaCl) through a column. The length of work-related exposure varied between 3 and 30 years. The average job experience was 15 years. Protective gloves were used as a personal protection measure.

The second group (B) consisted of 25 subjects, average age 43, exposed to ionizing radiation from enclosed sources, working in the control of X-ray devices and americium smoke detectors. Their work-related exposure varied from 2 to 34 years. The average length of employment was 18.5 years. In this group, no personal protection accessories were used.

The third group (C) consisted of 25 subjects, average age 43, working on the decontamination of the terrain at Borovac from radioactive rounds with depleted uranium left over after the NATO bombing of Serbia in 1999. These workers mechanically removed the surface layer of soil to a depth of 50 cm. During this procedure, they occasionally encountered parts of depleted uranium rounds. Decontamination is an extraordinary procedure organized in accordance with the law and the individuals involved need to be educated for the task and under constant health control measures. In this case, they were selected from a group of individuals who were otherwise professionally exposed to ionizing radiation from enclosed sources in their everyday jobs. Their work-related exposure varied from 2 to 34 years. Their average length of work experience was 18.5 years. During the decontamination procedure itself, the exposure lasted 30 to 120 days. Protective clothing, gloves, and respirators were used as personal protection means.

Control group (K) consisted of 25 subjects, average age 42, who have not been in contact with sources of ionizing radiation, holding administrative positions.

Data for the said groups of subjects were obtained from the respective logs of their periodical medical check-ups in 2005. A modified Morhaed's method was used for the chromosome aberration analysis. Perma-

nent samples were created, Gimza-dyed, and analysed under the microscope. The analysis included at least 200 lymphocytes in the first *in vitro* division. At least once a year, the contamination of the work premises was checked by a GM-counter and, indirectly, by swipes of the work surfaces. A work surface of 10 cm × 10 cm was swiped by filter paper which was then measured for radioactivity by a calibrated GM-counter. When activity was found, the radionuclide was identified by a multichannel analyser. Each work surface contaminated above $4 \cdot 10^5$ Bq/m³ was treated as an accident.

For personal protection, the workers carried thermoluminescent dosimeters (TLD) attached to the pockets of their laboratory gowns. Readings of absorbed doses from personal dosimeters were done once in three months. The average annual absorbed dose for all three groups did not exceed 2 mSv.

The results were statistically processed by Student's t-test (software Statistica 5.5 for Windows 98) and a Chi-square test (χ^2) with contingency tables 2×3 .

RESULTS AND DISCUSSION

Chromosome aberrations in the lymphocytes of peripheral blood in subjects from all groups (A, B, C, and K) are given in fig. 1.

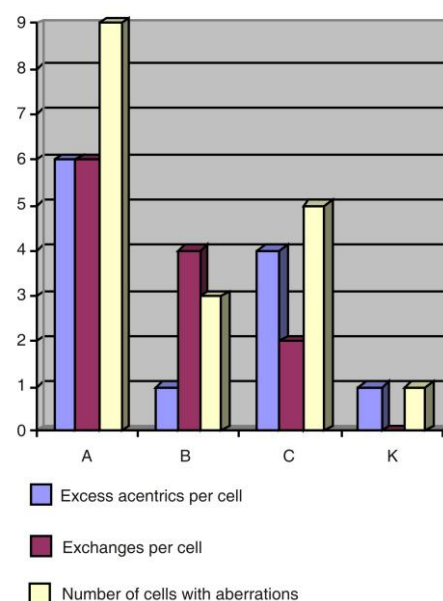


Figure 1. Chromosome aberrations in lymphocytes of peripheral blood in subjects from all groups (A – subjects working in technetium production; B – subjects exposed to ionizing radiation from enclosed sources, employed in the control of X-ray devices and americium smoke detectors; C – subjects involved in the decontamination of the terrain at Borovac from radioactive rounds with depleted uranium left over after the NATO bombing of Serbia in 1999; K – subjects who have not been in contact with sources of ionizing radiation and who hold administrative positions)

By comparing structural chromosomal aberrations in groups under study, as presented in tab. 1, statistically significant increases of the number of structural chromosomal aberrations were found in group A (the group that works in the production of technetium), as compared to control group K. In order to confirm this, a χ^2 test was applied (2×3 contingency tables), being an analytical method for the evaluation of significant differences of non-parametric values.

Table 1. Comparative ratio of group A with group K

Group	0*	1**	2***	Total
A	16	6	3	25
K	24	1	0	25
S	40	7	3	50

* – without chromosome aberrations
 ** – with acentric fragments
 *** – with chromosome breaks

Table 2 shows the empirical value of the Chi-square test ($\chi^2 = 8.16$) for the degrees of freedom DF = 2 and the probability of risk 0.05, which is higher than the theoretical value. It can, thus, be concluded that the frequency of structural chromosomal aberrations is statistically significantly higher in group A, with respect to control group K ($p < 0.05$).

Table 2. Empirical values of the Chi-square test ($\chi^2 = 8.16$)

f*	f'***	f - f'	(f - f') ²	(f - f') ² /f'
16	20	-4	16	0.80
6	3.5	2.5	6.25	1.78
3	1.5	1.5	2.25	1.50
14	20	4	16	0.80
1	3.5	-2.5	6.25	1.78
0	1.5	-1.5	2.25	1.50
S				8.16

* – f means the o r e t i c a l f r e q u e n c e
 ** – f' means empirical frequency

In the present study, the highest number of structural chromosomal aberrations involves acentric fragments and chromosome breaks [5]: the type of aberrations that are called unstable structural chromosome aberrations, those that disappear during cell division. Upon exposure to low doses, there is no difference in disease risk. However, 5% to 10% of the population are naturally radiosensitive, and all radiation doses above natural levels may result in biological damage. Exposure to low doses lasting more than 3 years may result in cumulative biological aberrations and damage of DNA [6].

It has been documented that exposure to ionizing radiation (X-rays) may cause chromosomal damage of cells [7]. Structural chromosome aberrations, dicentric and acentric, are induced by ionizing radiation and represent a result of enzyme mechanisms of

repair in the cell's nucleus, followed by chromosome damage [8]. In cases of exposure to low and very low doses of X-rays, the damage which does not correlate with the doses in question is the result of a cumulative effect, while the probability of DNA lesions increases with the duration of exposure time [9].

In subjects exposed to low doses of radiation (external exposure) of alpha, beta, and gamma rays that cover a period lasting between 7 and 34 years, higher frequencies of dicentric and acentric chromosomes were found than in the control group [10].

The decontamination of the terrain from depleted uranium did not contribute to the relative radiation risk. The frequency of the damaged biological material was 0.12%, *i. e.* 12 in 10,000 or, 1 in 1,000 workers. The highest risk was found in workers involved in the production of technetium: 0.245% *i. e.* 24.5 in 10,000 or 2 in 1,000 workers. Workers in the production of isotopes also have an exposure of at least 2 years and an average of more than 10 years of everyday laboratory work, whereas the decontamination lasted only a few months. It has also to be said that these procedures were carried out by trained staff, professionals in radiological protection, wearing appropriate protective gear.

It is interesting that none of the groups showed characteristic chromosome figures (forms) induced by radiation (of the dicentric or ring type), probably because all professional subjects carried protective gear. An acentric fragment can be considered as its dicentric equivalent, but, it also appeared sporadically, in individual cases only. However, one should not neglect the appearance of complete chromosome breaks (double break DNA), because they precede the induction of dicentrics. Besides, such a lymphocyte is less damaged for the subsequent mitosis, thus living longer and capable of accumulating new doses in subsequent exposure during which complete aberrations occur. This is why such subjects should be monitored, especially if the exposure continues [11, 12].

REFERENCES

- [1] Budd, M. E., Campbell, J. L., In ter re la t i o n s h i p s between DNA Repair and DNA Replication, *Mutation Research*, 451 (2001), 1-2, pp. 241-255
- [2] Awa, A., Analysis of Chromosome Aberrations in Atomic Bomb Survivors for Dose Assessment: Studies at the Radiation Effects Research Foundation from 1968 to 1993, *Stem Cells*, 15 (1997), 2, pp. 163-173
- [3] IAEA, Technical Report Series No. 260., Biological Dosimetry, Chromosomal Aberration Analysis for Dose Assessment, 1986, pp. 16-27
- [4] Joksić, G., Nikolić, M., Chromosomal Aberrations in Occupational Exposure to Radionuclides, *Proceedings*, 18th Symposium of Radiation Protection Society of Serbia and Montenegro, Bečići, Montenegro, 1995, pp. 48-52
- [5] Joksić, G., Petrović-Novak, A., Stanković, M., Kovačević, M., Radiosensitivity of Human Lympho-

- cytes in vitro Correlates More with Proliferative Ability of Cells Than with the Incidence of Radiation-Induced Damage of the Genome, *Neoplasma*, 46 (1999), 1, pp. 40-49
- [6] Wones, R., *et al.*, Do Persons Living Near a Uranium Processing Site Have Evidence of Increased Somatic Cells Gene Mutations a First Study, *Mutat Res.*, 335 (1995), 2, pp. 171-184
- [7] Lloyd, D. C., *et al.*, Doses in Radiation Accidents Investigated by Chromosome Aberration Analysis, a Review of Cases Investigated; 1977, UK National Radiological Protection Board, Harwell, Rep. NRPB-R-70
- [8] Rozgaj, R., Kasuba, V., Simić, D., The Frequency of Dicentric and Acentric and the Incidence of Rogue Cells in Radiation Workers, *Mutagenesis*, 17 (2002), 2, pp. 135-139
- [9] Pfeiffer, P., Goedecke, W., Obe, G., Mechanism of DNA Double-Strand Break Repair and Their Potential to Induce Chromosomal Aberrations, *Mutagenesis*, 15 (2000), pp. 289-302
- [10] Batanjac, J., Enhanced Frequency of Chromosomal Aberrations in Workers Occupationally Exposed to Ionizing Radiations, *Facta Universitatis*, 7 (2000), 1, pp. 46-48
- [11] Milačić, S., Frequency of Chromosomal Lesions and Damaged Lymphocytes of Workers Occupationally Exposed to X-Rays, *Health Phys.*, 88 (2005), 4, pp. 334-339
- [12] Spasojević-Tišma, V., Joksić, G., Čeleketić, D., Necessity of Routine Medical Health Check up of Radiologists and Technicians Working in the Zone of Ionizing Radiation, *Proceedings*, 23rd Symposium of Radiation Protection Society of Serbia and Montenegro, Donji Milanovac, 2005, pp. 277-279

Received on May 15, 2011

Accepted on November 18, 2011

**Vera D. SPASOJEVIĆ-TIŠMA, Dušica Č. ČELEKETIĆ, Jelena M. TIŠMA,
Snežana B. MILAČIĆ, Gordana V. PAPOVIĆ-ĐUKIĆ**

**PROCENA ZDRAVSTVENOG RIZIKA PRI RADU SA
IZVORIMA JONIZUJUĆIH ZRAČENJA**

Istraživanjem je obuhvaćeno 75 lica profesionalno izloženih jonizujućem zračenju i 25 osoba iz kontrolne grupe; sve su osobe muškog pola. Ispitanici su bili izloženi malim dozama zračenja (spoljna ekspozicija). Prvu grupu čini 25 lica koja rade na poslovima proizvodnje tehnecijuma, sa prosečnim radnim stažom od 15 godina. Drugu grupu čini 25 lica izložena jonizujućem zračenju iz zatvorenih izvora, koja rade poslove kontrole rendgen aparata sa X-zračenjem i javljača požara u kojima se nalazi americijum, sa prosečnim radnim stažom od 18,5 godina. Treću grupu čini 25 lica koja su radila na dekontaminaciji terena Borovac od radioaktivne municije sa osiromašenim uranijumom ostale od NATO bombardovanja 1999. godine, sa prosečnim radnim stažom od 18,5 godina. Kontrolnu grupu čini 25 lica koja nisu u kontaktu sa izvorima jonizujućih zračenja i koja rade finansijsko-ekonomske poslove. Ispitivana je učestalost hromozomskih aberacija u limfocitima periferne krvi i upoređivana u odnosu na kontrolnu grupu. Prosečna godišnja apsorbirana doza merena termoluminiscentnim dozimetrima za sve tri grupe nije prelazila 2 mSv. U ovom radu najveći broj nađenih promena su tipa acentričnih fragmenta i hromozomskih prekida.

Najveći profesionalni rizik imaju ispitanici koji rade u proizvodnji radioizotopa tehnecijuma.

Ključne reči: hromozomske aberacije, jonizujuće zračenje, humani limfociti, profesionalna ekspozicija

COMPARISON OF THREE METHODS USED FOR MEASUREMENT OF RADIOIODINE FIXATION IN THYROID GLAND OF MICE

by

Marija Ž. JEREMIĆ^{1*}, Milovan Đ. MATOVIĆ^{1,2}, Slobodan M. JANKOVIĆ^{1,2}, Milorad Z. MILOŠEV², Milan L. NOVAKOVIĆ², Vera D. SPASOJEVIĆ-TIŠMA³, and Vlade D. UROŠEVIĆ⁴

¹Clinical Center Kragujevac, Kragujevac, Serbia
²Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia
³Public Company Nuclear Facilities of Serbia, Belgrade, Serbia
⁴Faculty of Technical Science, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

Scientific paper
DOI: 10.2298/NTRP1302225J

The aim of this work is to compare the results of estimation of radioiodine uptake using three methods in a study on mice, and to test reliability of the radioiodine uptake estimation by gamma camera. The study is conducted on 21 white, Swiss-type mice of both sex at age of 10 weeks, weighing between 25 g and 34 g. The mice were injected intraperitoneally with 0.37 ± 0.03 MBq of radioiodine ¹³¹I. After 72 hours the mice were anesthetized, and radioactivity of thyroid region was measured by gamma camera (the 1st method, *in situ*). After the measurement, the animals were sacrificed, their thyroid glands were carefully excised together with adjacent trachea and placed at the bottom of a test tube. The radioactivity of the excised tissue was then measured by both gamma camera (the 2nd method) and gamma counter (the 3rd method). This method is treated as a standard and the most accurate. In the study we used Siemens *e_cam* gamma camera and Wallac Wizard 1470 Automatic Gamma counter. The radioiodine fixation determined using those three methods was $25.25 \pm 7.32\%$, $26.08 \pm 8.55\%$ and $25.74 \pm 7.18\%$, without statistically significant differences between methods ($p > 0.05$). The high correlation between the three methods of measuring radioiodine fixation in thyroid gland was observed: (1) the correlation coefficient between the fixation rate obtained by gamma camera *in situ* and the fixation rate obtained by measuring the radioactivity of excised thyroids by gamma camera was 0.869 ($p < 0.01$); (2) the correlation coefficient between fixation rate obtained by gamma camera *in situ* and the fixation rate obtained by measuring radioactivity of excised thyroids by gamma counter was 0.890 ($p < 0.01$); (3) the correlation coefficient between fixation rate obtained by measuring radioactivity of excised thyroids by gamma camera and the fixation rate obtained by measuring radioactivity of excised thyroids by gamma counter was 0.835 ($p < 0.01$).

Key words: thyroid gland, radioiodine uptake test, gamma camera

INTRODUCTION

One of the oldest diagnostic tests in nuclear medicine, the radioiodine uptake test (RAIU) was initially performed by J.G. Hamilton in 1938. This test gives information about intensity and velocity of iodine metabolism in thyroid gland, *i. e.*, about the functional status of the gland. Nowadays, the test is mostly used for making or confirming diagnosis of subacute thyroiditis, as well as for determination of therapeutic

dose of radioactive iodine for benign thyroid diseases. Besides, the test is sometimes employed after thyroidectomy in patients with differentiated thyroid cancers, in order to estimate the amount of residual thyroid tissue and calculate optimal ablative dose of radioiodine ¹³¹I [1].

Some of (the) newer studies used the radioiodine uptake test for determining borderline values of thyroid gland normal function in certain geographical regions [2], as well as for the quantification of impact made by table salt iodination on incidence of thyroid diseases [3].

*Corresponding author; e-mail: marijafiz@yahoo.com

The main point of the Radioiodine Uptake Test is calculating oral dose fraction of radioiodine ^{131}I which is fixed for thyroid tissue after certain time. Typically, the measurement is scheduled 3 and 24 hours after the oral intake of radioiodine, in order to determine two physiological parameters: the uptake of iodine in thyroid gland (based on measured radioactivity after 3 hours) and the retention of radioiodine in thyroid tissue, *i. e.*, its metabolic activity (based on measured radioactivity after 24 hours). [4]

A human thyroid gland with normal function binds on average from 8% to 20% of radioiodine ^{131}I in the first 3 hours, and from 20% to 45% in the first 24 hours [5]. The rest of radioiodine is excreted mostly in urine. Both urinary excretion and thyroid uptake of radioiodine are significantly influenced by diuretics, [6, 7] and the direction of this influence is species-specific [8].

The thyroid gland binds up to 790 mGy per MBq of the administered ^{131}I radioactivity during the test, depending on the fixation rate in the thyroid. The other organs absorb much lower dose (*e. g.* up to 0.049 mGy/MBq for adrenals [9]). Although the radioiodine ^{131}I has unfavorable physical characteristics, its high tissue selectivity considerably adds to the safety of this diagnostic procedure.

The radioiodine ^{123}I has more favorable physical characteristics than radioiodine ^{131}I , and the radiation risk is lower when it is used for the fixation test instead of the radioiodine ^{131}I . However, the half-life of the radioiodine ^{123}I is relatively short (about 13 hours), and its availability is limited (it is produced by cyclotrone), making the radioiodine ^{131}I still the most widely used isotope.

There were also some attempts to evaluate the thyroid function by rapid technetium test ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate) with low radiation risk, instead of using the radioiodine ^{131}I fixation, but short half-life of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate (6 hours) and its capacity to evaluate only function of NaI symporter (*i. e.* to measure only iodine intake and not metabolic activity of thyrocytes), precluded its wide-spread use in diagnostics [10].

Although the radioiodine fixation test in clinical practice is used less frequently than various imaging methods, it is still a valuable diagnostic tool. Apart from being used with specially designed systems, the radioiodine fixation test could be conducted with gamma scintillation camera, a device which is available in every department for nuclear medicine. However, the reliability studies of the radioiodine fixation test conducted with gamma camera are very rare. The aim of our study was to test the reliability of measurements of radioiodine fixation in thyroid gland made by gamma camera *in vivo*, through their comparison with the results of radioiodine fixation measurements in excised thyroid glands by gamma camera or gamma counter.

MATERIALS AND METHODS

Experimental animals

The study was conducted on 21 white, Swiss-type mice of both sex at age of 10 weeks, weighing between 25 g and 34 g, which were bought from animal farm of Military-Medical Academy, Belgrade. The animals were kept in separate cages, exposed to 12-hours light and dark cycles, at temperature 21 ± 20 °C, with free access to water and food *ad libitum*. The experiment was conducted in compliance with the directive EU(86/609/EEC) [11] and with permission of local Ethics Committee from Medical Faculty, University of Kragujevac, Serbia.

Radioiodine application and radioactivity measurements

The mice were injected intraperitoneally with 0.37 ± 0.03 MBq of radioiodine ^{131}I (the injection volume was 0.5 mL). The applied dose of radioactivity was calculated as a difference between radioactivity of the solution in a syringe before (full syringe) and after (empty syringe) the injection. After the administration of ^{131}I , the mice were transferred to the same cages.

All measurements were performed with gamma camera SIEMENS e.cam Dual Head (Siemens, 1997, USA) with high-energy colimator, at 5 cm distance and for 15 minutes, using ^{131}I photopeak of 364 keV, with window 20% and matrix 256 × 256 pixels. The measurements were further processed by gamma counter Wallac Wizard 1470 Automatic (PerkinElmer Life Sciences, Wallac Oy, 2005, Finland), using the same ^{131}I photopeak of 364 keV, with duration of one minute. All measurements were corrected for background radioactivity.

The relative efficacy of measurement of gamma counter is about 50% for ^{131}I gamma quanta energy of 364 keV. According to the product declaration, the gamma camera equipped with high-energy colimators used in the study (Siemens e.cam Dual Head) has overall sensitivity of 3.65 cpm/kBq* for ^{131}I .

After 72 hours the mice were anesthetized by thiopentone sodium, and we conducted *in vivo* measurement of thyroid radioactivity by gamma camera. After that, mice were sacrificed and their thyroid glands were carefully excised together with the adjacent trachea (fig. 1), and placed at the bottom of a test tube. The radioactivity of the excised tissue was then measured by gamma camera, under the same conditions as previously (*in vitro* measurement on gamma camera). After the measurements by gamma camera were completed, the recordings were processed by a special software. The regions of interest (ROI) in quadrature

* cpm means counts per minute

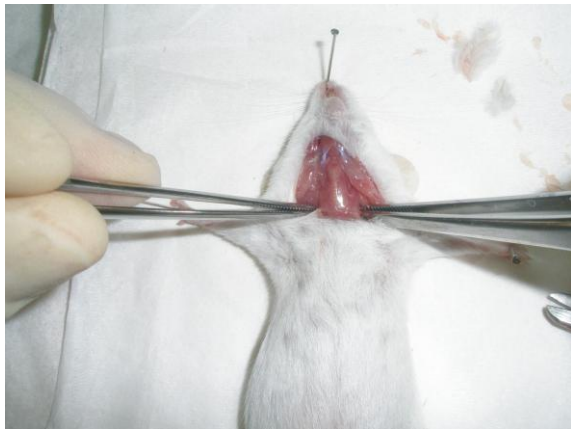


Figure 1. Mouse thyroid gland in situ immediately before the extirpation

shapes, 50 × 50 pixels large, were delineated around the contours of “full syringe”, “empty syringe”, mouse thyroids in situ and extirpated thyroids in test tubes, as well as around the background picture (fig. 2). The background radioactivity was then subtracted from the radioactivity of the “full syringe”, “empty syringe”, mouse thyroids in situ and extirpated thyroids in the test tubes.

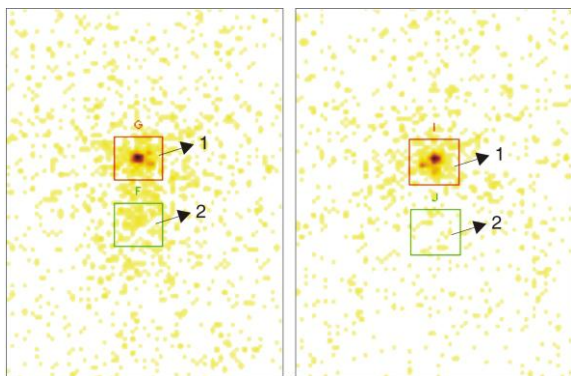


Figure 2. The ROI around the mouse thyroid (1) and the ROI for background (2). The left panel shows thyroid in situ, and the right panel shows extirpated thyroid

The radioactivity of the test tubes was then measured in gamma counter Wallac Wizard 1470 Automatic during 1 minute (*in vitro* measurement in gamma counter), under the same conditions as “full syringe” and “empty syringe” were measured previously. The volumes of the extirpated tissues were about 0.5 mL. Those volumes were similar to the volumes of the “full syringe”, which provided for the same efficacy of detection by gamma camera as well as gamma counter.

Based on these results, the radioiodine fixation for each mouse was calculated in the following way: after correction of background radioactivity, the number of impulses counted for “empty syringe” was sub-

tracted from the number of impulses counted for “full syringe”. This is amount of administered radioactivity. Besides, the correction for radioactive decay of ^{131}I was made, since 72 hours elapsed from administration of radioactivity to the measurement. Equation (1) shows those calculations

$$f = 13. \quad \frac{A_t}{A_0} \cdot 100 [\%] \quad (1)$$

where A_t is the radioactivity of thyroid after the time $t = 72$ hours, A_0 – the administered radioactivity in the time t_0 , and 1.3 – the correction factor for radioactive decay of ^{131}I after 72 hours

The statistical calculations were made by SPSS software, version 18. The data were primarily described by central tendency measure and by measure of variability (mean and standard deviation). The significance of differences between three methods used for estimation of radioiodine fixation was tested by Student's *t*-test. The strength of correlation between the results of measurements by the three methods was tested by Pearson's correlation coefficient. The results were considered statistically significant if probability of null hypothesis was less than 0.05.

RESULTS

The results of all measurements and calculations are shown in tabs. 1 and 2. Table 1 contains results obtained by gamma camera both *in vivo* and *in vitro*. Table 2 contains values of measurements obtained by gamma counter *in vitro*. Figure 3 shows radioiodine fixation values obtained by all three methods of measurement.

The calculated radioiodine fixation values, *i. e.* percentages of binding of ^{131}I for thyroid tissue obtained by the three types of measurements are shown in the last columns of tabs. 1 and 2.

The radioiodine fixation in mouse thyroid measured by gamma camera *in vivo*, from the thyroid

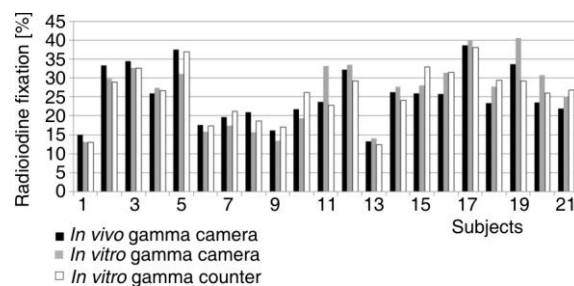


Figure 3. The radioiodine fixation in mouse thyroid measured by three methods: (1) by gamma camera *in vivo*, from the thyroid gland in situ; (2) by gamma camera *in vitro*, from the extirpated thyroid gland; and (3) by gamma counter *in vitro*, from the extirpated thyroid gland

Table 1. The results of *in vivo* and *in vitro* measurements of radioactivity by the gamma camera

Subject No.	Administered radioactivity [counts]	Thyroid radioactivity <i>in vivo</i> [counts]	Thyroid radioactivity <i>in vitro</i> [counts]	Radioiodine fixation estimated from <i>in vivo</i> measurement [%]	Radioiodine fixation estimated from <i>in vitro</i> measurement [%]
1	18390	2750	2400	14.95	13.05
2	18140	6040	5410	33.30	29.82
3	19310	6640	6310	34.39	32.68
4	18220	4730	5000	25.96	27.44
5	20590	7700	6400	37.40	31.08
6	18760	3310	2970	17.64	15.83
7	20230	3980	3520	19.67	17.40
8	20550	4310	3230	20.97	15.72
9	18900	3050	2530	16.14	13.39
10	20300	4410	3920	21.72	19.31
11	18930	4480	6280	23.67	33.17
12	18780	6040	6280	32.16	33.44
13	15260	2010	2150	13.17	14.09
14	18120	4750	5020	26.21	27.70
15	22250	5780	6220	25.98	27.96
16	18050	4660	5670	25.82	31.41
17	21590	8350	8640	38.68	40.20
18	23250	5420	6450	23.31	27.74
19	16400	5520	6650	33.66	40.55
20	19170	4520	5900	23.58	30.78
21	18360	4020	4600	21.90	25.05
Mean ± SD				25.25 ± 7.32	26.08 ± 8.55

Table 2. The results of *in vitro* measurements of radioactivity by the gamma counter

Subject No.	Administered radioactivity [counts]	Thyroid radioactivity <i>in vitro</i> [counts]	Radioiodine fixation estimated from <i>in vitro</i> measurement [%]
1	2253525	292302	12.97
2	2478326	717787	28.96
3	2367138	770092	32.53
4	2225324	593059	26.65
5	2289267	843492	36.85
6	2229377	386331	17.33
7	2303506	486230	21.11
8	2240810	515550	18.54
9	2173727	370144	17.03
10	2331414	609011	26.12
11	2206749	503232	22.80
12	2355927	688607	29.23
13	1912427	235493	12.31
14	2341824	565624	24.15
15	2056977	677449	32.93
16	1849613	582827	31.51
17	2564505	975551	38.04
18	2423172	711772	29.37
19	2324964	678541	29.19
20	2375559	618991	26.06
21	2134338	570792	26.74
Mean ± SD			25.74 ± 7.18

gland *in situ* was 25.25% ± 7.32%. The radioiodine fixation in mouse thyroid measured by gamma camera *in vitro*, from the extirpated thyroid gland, was 26.08% ± 8.55%. The radioiodine fixation in mouse thyroid measured by gamma counter *in vitro*, from the

extirpated thyroid gland, was 25.74% ± 7.18%. There are not statistically significant differences between those three methods ($p > 0.05$). The results were also analysed by the Pearson's correlation test (tab. 3). We have found high correlation

Table 3. The results of determined Pearson's correlation coefficient

		Correlations		
		Radioiodine fixation obtained by gamma camera <i>in vivo</i>	Radioiodine fixation obtained by gamma camera <i>in vitro</i>	Radioiodine fixation obtained by gamma counter <i>in vitro</i>
Radioiodine fixation obtained by gamma camera <i>in vivo</i>	Pearson correlation	1	0.869*	0.890*
	Sig. (1-tailed)		0.000	0.000
	N	21	21	21
Radioiodine fixation obtained by gamma camera <i>in vitro</i>	Pearson correlation	0.869*	1	0.835*
	Sig. (1-tailed)	0.000		0.000
	N	21	21	21
Radioiodine fixation obtained by gamma counter <i>in vitro</i>	Pearson correlation	0.890*	0.835*	1
	Sig. (1-tailed)	0.000	0.000	
	N	21	21	21

* Cor relation is significant at the 0.01 level (1-tailed)

between these three methods of measuring radioiodine fixation in thyroid gland: (1) the correlation coefficient between the fixation rate obtained by gamma camera *in vivo* and the fixation rate obtained by measuring extirpated thyroids by gamma camera was 0.869, (2) the correlation coefficient between the fixation rate obtained by gamma camera *in vivo* and the fixation rate obtained by measuring extirpated thyroids by gamma counter was 0.890, and (3) the correlation coefficient between the fixation rate obtained by measuring extirpated thyroids by gamma camera and the fixation rate obtained by measuring extirpated thyroids by gamma counter was 0.835. All abovementioned values of correlation coefficient were statistically significant ($p < 0.01$).

DISCUSSION

Measuring fixation of radioiodine in thyroid gland by gamma camera is easy and comfortable for both patients and physicians, thanks to the useful and simple software tools implemented in computer systems which accompany the camera. However, the obtained values of radioiodine fixation depend on many objective factors, like methodology of measurement, performance of the gamma camera detector, software precision when delineating the ROI, *etc.* On the other hand, there are also subjective factors influencing measurement results, like knowledge and skills of a health worker conducting the test, right positioning of a patient, choosing appropriate ROI, *etc.* This was the reason why we decided to test reliability of radioiodine fixation measurement by gamma camera in comparison with measurement by gamma counter, which is more accurate method.

In comparison with the measurements by gamma camera, the measurements by gamma counter are more exact, since they are conducted using near 4 π geometry, with much thicker crystal, and almost in direct contact. Knowing that error of measurement depends on absolute count of impulses, measurement by gamma counter is much more precise, because number

of impulses was more than thousand times higher from that obtained by gamma camera. The gamma camera measures only impulses from one plane, while gamma counter captures almost all photons irradiated from the tissue. [12]

The thickness of the crystal in gamma camera is 3/8 inches, while the thickness of the crystal in gamma counter is 2 inches, making efficiency of the measurement better. Besides, the gamma camera is collimated in order to obtain a better resolution of the picture, and many photons are lost in the collimator's septa; such loss is not happening with the gamma counter [8]. In other words, gamma counter is much more efficacious device for detection of gamma quanta with energy of 364 keV. It captures much more quanta from the same sample than if the measurement was made by gamma camera.

In our study, the measurements by gamma camera were made from the distance of only 5 cm, in order to achieve a higher efficiency of the detection, and taking into account a small volume of mice thyroid gland. The distance was very small in comparison with measurements in humans, but it was proportional to the size of the gland. Increase of the distance to 30 cm would decrease the number of captured impulses. The optimal distance of gamma camera from the neck depends on the volume of the thyroid gland (the target volume), as shown by other authors [13].

Besides, since the geometry of measurements was the same in all measurements conducted in this study, the chosen distance of 5 cm could not affect differences between the measurement results [14].

The measuring procedures on gamma camera and gamma counter make compromise between chosen amount of ^{131}I radioactivity which is administered (it directly affects the count rate) and duration of measurement on one side, and possible adverse effects of radioactivity on patients and health workers on the other side. The aim is to minimise uncertainty of measurements, and maximise safety of the procedure for both health workers and environment in general [15].

The radioactivity that we applied to mice was 0.37 MBq \pm 0.03 MBq, which provided sufficient

count rate even with short measurement period, without significant risk for investigators. The measurements by gamma camera lasted for 15 minutes, and from one "full syringe" more than 20000 impulses were collected. With such high number of impulses, the uncertainty of measurement is below 3%, with the reliability level of more than 99.7%. Measuring of "empty syringe", thyroid glands in situ and extirpated thyroids by gamma camera collected for 15 minutes more than 2000 impulses, giving uncertainty of measurement below 5%, and reliability level of more than 95% [16]. On the other hand, such small amount of radioactivity bears no risk of adverse effects or contamination of environment.

CONCLUSIONS

Our study showed that differences in fixation rate obtained by gamma camera *in vivo* and *in vitro* and gamma counter *in vitro* were not statistically significant.

In spite of higher number of captured impulses by gamma counter than by gamma camera, the measured radioiodine fixation rates by gamma camera from the thyroid gland *in situ*, by gamma camera from the extirpated thyroid gland, and by gamma counter from the extirpated thyroid gland correlate well. Our results confirm high reliability of measuring radioiodine fixation in thyroid gland by gamma camera.

ACKNOWLEDGEMENT

This work has been supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, under projects 175007 and III41007.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Theoretical analysis was carried out by M. D. Matović and M. Ž. Jeremić. Experiments were carried out by M. Ž. Jeremić, S. M. Janković, M. Z. Milošev, M. L. Novaković, V. D. Spasojević-Tišma, and V. D. Urošević. All authors analyzed and discussed the results. The manuscript was written by M. Ž. Jeremić and M. D. Matović. Figures and tables were prepared by M. Ž. Jeremić and V. D. Urošević.

REFERENCES

- *** Verkooijen, R. B., et al., The Success Rate of I-131 Ablation in Differentiated Thyroid Cancer: Comparison of Uptake-Related and Fixed-Dose Strategies, *Eur. J. Endocrinol*, 159 (2008), 3, pp. 301-307

- * Al-Muqbel, K. M., Tashtoush, R. M., Patterns of Thyroid Radioiodine Uptake: Jordanian Experience, *J. Nucl. Med. Technol.*, 38 (2010), 1, pp. 132-136
- * Milaković, M., et al., Effect of Life long Iodine Supplementation on Thyroid 131-I Uptake: A Decrease in Uptake in Euthyroid But not Hyperthyroid Individuals Compared to Observations 50 Years Ago, *Eur. J. Clin. Nutr.*, 60 (2006), 2, pp. 210-213
- * Spasojević-Tišma, V. D., Health Rise Assessment of Jobs Involving Ionizing Radiation Sources, *Nucl Technol Radiat*, 26 (2011), 3, pp. 233-236
- * Bernard, J. D., McDonald, R. A., Nesmith, J. A., New Normal Ranges for the Radioiodine Uptake Study, *J. Nucl. Med.*, 11 (1970), 7, pp. 449-451
- * Matović, M. D., et al., Unexpected Effect of Furosemide on Radioiodine Urinary Excretion in Patients with Differentiated Thyroid Carcinomas Treated with Iodine-131, *Thyroid*, 19 (2009), 8, pp. 843-848
- * Matović, M., et al., Furosemide Increases Thyroid Uptake of Radioiodine in an Anuric Patient: First Observation (Letter), *Hell. J. Nucl. Med.*, 15 (2012), 1, 66-67
- * Matović, M. D., et al., Effect of Furosemide on Radioiodine-131 Retention in Mice Thyroid Gland, *Hell. J. Nucl. Med.*, 12 (2009), 2, pp. 129-131
- * ***, ICRP, Radiation Dose to Patients from Radiopharmaceuticals, ICRP Publication 53, Elsevier, *Ann ICRP*, 18 (1987), 1-4
- * Ramos, C. D., et al., Thyroid Uptake and Scintigraphy Using ^{99m}TcPertechnetate: Standardization in Normal Individuals, *Sao Paulo Med. J.*, 120 (2002), 2, pp. 45-48
- * ***, Council Directive of 24 November 1986 on the Approximation of Laws, Regulations, and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes, Official Journal of the European Communities, 1986, L358, 1-29
- * Perkin, E., Life Sciences, The Gamma Counting Handbook, A Guide to State of Art of Gamma Counting, Turku, Finland, 1997, p. 59, Online Textbook. Available at: http://www.groco.is/groco/upload/files/nemi/fraedigreinar/%28perkin-elmer%29_gamma_counting_handbook.pdf
- * Dietlein, M., et al., German Society of Nuclear Medicine, German Society of Medical Physics, Procedure Guide-line for Radioiodine Test (Version 3), *Nuklearmedizin*, 46 (2007), 5, pp. 198-202
- * Balon, H., et al., Society of Nuclear Medicine Procedure Guideline for Thyroid Uptake Measurement, Version 3.0, (2006), Available at: <http://interactive.snm.org/docs/Thyroid%20Uptake%20Measurement%20v3%200.pdf>
- * Griggs, W. S., Divgi, C., Radioiodine Imaging and Treatment in Thyroid Disorders, *Neuroimaging Clin. N. Am.*, 18 (2008), 3, pp. 505-515
- * Sprawls, P. Jr., Statistics of Radiation Events, in: Sprawls, P. Jr., Physical Principles of Medical Imaging, 2nd ed, Aspen Publishers, 1993, p. 656, Online textbook. Available at: <http://www.sprawls.org/ppmi2/STATS/>

Received on November 21, 2012

Accepted on May 21, 2013

Marija Ž. JEREMIĆ, Milovan D. MATOVIĆ, Slobodan M. JANKOVIĆ, Milorad Z. MILOŠEV, Milan Q. NOVAKOVIĆ, Vera D. SPASOJEVIĆ-TIŠMA, Vlade D. UROŠEVIĆ

**KOMPARACIJA TRI METODE KORIŠĆENE ZA MEREW
RADIOJODNE FIKSACIJE U TIREOIDNOJ ŽLEZDI MIŠEVA**

Cilj ovog rada je da se uporede vrednosti testova fiksacija dobijenih proračunom na osnovu tri metoda merenja u studiji na miševima. Istraživanje je sprovedeno na 21 belom švajcarskom mišu oba pola, u uzrastu od 10 nedelja, težine između 25 g i 34 g. Miševima su intraperitonealnim ubrizgavanjem aplikovane približno iste doze ^{131}I , prosečne aktivnosti $0.37 \text{ MBq} \pm 0.03 \text{ MBq}$. Nakon 72 sata miševi su anestetizirani i merena im je radioaktivnost tiroidnog regiona na gama kameri (prvi metod, *in situ*). Nakon toga su žrtvovani i pažljivo im je odstranjena tiroidna žlezda zajedno sa susednom trahejom i smeštena na dno serumske epruvete. Radioaktivnost tako odstranjenog tkiva je merena i na gama kameri (drugi metod) i u gama brojaču (treći metod). Ovaj metod je uzet za standard kao najtačniji. U studiji su korišćene gama kamere Siemens e.cam Dual Head (Siemens, 1997, USA) i gama brojač Wallac Wizard 1470 Au tomatic (Wallac Oy, 2005. Finland).

Radiojodna fiksacija određena korišćenjem ove tri metode je bila $25.25\% \pm 7.32\%$, $26.08\% \pm 8.55\%$ i $25.74\% \pm 7.18\%$, bez statistički signifikantne razlike između metoda ($p > 0.05$). Dobijen je visok koeficijent korelacije između tri metoda merenja testa radiojodne fiksacije:

** koeficijent korelacije između vrednosti fiksacija dobijenih merenjima na gama kameri *in situ* i ekstirpiranih tiroideja na gama kameri je bio 0.869 ($p < 0.01$); (2) koeficijent korelacije između vrednosti fiksacija dobijenih merenjima na gama kameri *in situ* i ekstirpiranih tiroideja u gama brojaču je bio 0.890 ($p < 0.01$); (3) koeficijent korelacije između vrednosti fiksacija dobijenih merenjima ekstirpiranih tiroideja na gama kameri i ekstirpiranih tiroideja u gama brojaču bio je 0.835 ($p < 0.01$).

Ključne reči: štitažlezda, test radiojodne fiksacije, gama kamera

REDOX PARAMETERS IN BLOOD OF THYROID CANCER PATIENTS AFTER THE RADIOIODINE ABLATION

by

Vera D. SPASOJEVIĆ-TIŠMA¹, Milovan D. MATOVIĆ^{2,4}, Olgica B. MIHALJEVIĆ³, Snežana T. ŽIVANČEVIĆ-SIMONOVIĆ³, Marija Ž. JEREMIĆ⁴, Vladimír Lj. JAKOVLJEVIĆ^{5,6}, Vera N. TODOROVIĆ⁷, Ivan Lj. PAVLOVIĆ⁸, Snežana A. PEJIĆ⁸, and Ana U. TODOROVIĆ⁸

¹Public Company Nuclear Facilities of Serbia, Belgrade, Serbia

⁵Department of Nuclear Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

³Department of Pathophysiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

^{2,3,5}Department of Nuclear Medicine, Clinical Center Kragujevac, Kragujevac, Serbia

⁶Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

⁷Department of Human Pathology, I. E. Sechenov First Medical University, Moscow, Russia

⁸Faculty of Stomatology, Pancevo, University of Business Academy, Novi Sad, Serbia

Laboratory of Molecular Biology and Endocrinology, Vinča Institute of Nuclear Sciences, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

Scientific paper

<http://doi.org/10.2298/NTRP1704358S>

The radioactive iodine (¹³¹I) ablation is a well-accepted treatment modality for differentiated thyroid cancer patients. Unfortunately, the radiation induces the oxidative stress and damages cells and tissues, simultaneously activating the mechanisms of antioxidative defense. Since the mechanisms of those processes are not completely known, we wanted to examine the changes in the most important reactive oxygen species and antioxidative components, as well as their correlation and significance for lipid peroxidation. Our results showed that the level of thiobarbituric acid reactive substances was increased during the first 30 days after the radiotherapy. Among antioxidant components, superoxide dismutase was increased in the 3rd and 30th day; catalase in 7th and reduced glutathione in 3rd and 7th day after the radiotherapy. As regards the prooxidants, the reduction of hydrogen peroxide (H₂O₂) was recorded in 7th and 30th day, and superoxide anion radical (O₂⁻) was unchanged after the exposure to ¹³¹I. These results indicate that differentiated thyroid cancer patients are under constant oxidative stress despite the observed increase in antioxidative and reduction in prooxidative parameters. The understanding of these early processes is important since their progress determines the latter effects of ¹³¹I therapy.

Key words: oxidative stress, antioxidant enzyme, lipid peroxidation, radiotherapy, thyroid cancer

INTRODUCTION

The cancer of the thyroid gland is the most common malignant tumor of the endocrine system and represents 1-2 % of all malignancies in the world [1]. Based on the US National Cancer Institute (NCI) 5-year data set for 2009-2013, the number of new cases of thyroid cancer was 13.9 and the number of deaths was 0.5 per 100 000 men and women per year [2]. The surgical resection (thyroidectomy), radioactive iodine ablation, and thyroid stimulating hormone (TSH) suppression therapy are all well accepted treatment modalities for differentiated thyroid cancers. The exposure to radiation (¹³¹I is beta and gamma emitter) leads to the formation of the re-

active oxygen species (ROS) and damages cells and tissues. Since the exact mechanisms of redox processes induced by the exposure to ¹³¹I are not completely known, we wanted to examine the changes in the most important factors (ROS, enzymatic and non-enzymatic antioxidative components), and their correlation and significance for the formation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), as the measure of lipid hydroperoxidation (LPO).

MATERIALS AND METHODS

Subjects

The study population included 45 differentiated thyroid cancer (DTC) patients of both genders (33 fe-

* Corresponding author; e-mail: anato@vin.bg.ac.rs

males and 12 males, of average age 42.5 ± 14.3 years) after the total thyroidectomy. Among them, 39 patients had papillary carcinoma and 6 patients had follicular carcinoma. After 10 days of a low-iodine diet, all patients were treated with a fixed dose of 3.7 GBq (100 mCi) or 5.55 GBq (150 mCi) of sodium-iodide administered orally, according to the EANM guidelines [3]. At the time of ^{131}I administration, all patients were hypothyroid (the concentration of thyroid-stimulating hormone in blood was $\text{TSH} > 30 \text{ mIU L}^{-1}$). This was achieved by withdrawing the replacement therapy for at least three weeks. The patients were discharged from special premises dedicated to the radionuclide therapy to home treatment when the measured ^{131}I activity in the body was under 400 MBq (usually after 3 days, or later). Blood samples from DTC patients were obtained 4-times: before and 3, 7 and 30 days after the treatment with ^{131}I . The patients who were younger than 18 years, hypersensitive to iodine preparations, had bone marrow depression, with reduced lung function, with salivary gland dysfunction and patients with neurological impairments were excluded from the study. The following antioxidant parameters and parameters of oxidative stress were determined: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), reduced glutathione (GSH), index of lipid peroxidation (TBARS), the concentration of superoxide anion radi-

cal (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2), and nitric oxide (NO).

The study was approved by the Ethical Committee of the Clinical Center Kragujevac. Also, all patients gave written informed consent to participate in the study according to the Helsinki Declaration.

Sample preparation

Plasma and erythrocytes were separated from the whole blood in a procedure known as the 'washing' of erythrocytes. In the first step, the blood was centrifuged (10 min at 3000 rpm) for the extraction of plasma (usual volume 1-2 ml). The rest of the plasma was aspirated in order to keep only erythrocytes. In step two, the saline was added to erythrocytes (ratio 2:1) and vortexed. The mixture was centrifuged three times (10 min at 3000 rpm). After every centrifugation, the supernatant was aspirated. Following the last centrifugation, 1 ml of erythrocytes was taken and mixed with 3 ml of cold distilled water. In the final step, the solution was placed into the cold water jacket for 30 min.

Determination of oxidative stress parameters

Superoxide anion radical concentration

The concentration of O_2^- was evaluated with the method of Auclair and Voisin [4]. The method is based

on the reduction of nitroblue-tetrazolium (NBT) to monoformazan by O_2^- in the alkaline nitrogen saturated medium. The yellow product of this reaction was measured spectrophotometrically at 550 nm. The concentration of O_2^- was expressed in nmol ml^{-1} plasma.

Hydrogen peroxide concentration

The determination of H_2O_2 concentration in blood plasma was done by the method of Pick and Keisari [5]. In reaction, the horseradish peroxidase converts the hydrogen peroxide into the water and the oxygen. This causes the oxidation of phenol red, thus forming the adduct with the dextrose, and has the maximum absorbance of 610 nm. The concentration of H_2O_2 was expressed in nmol/ml plasma.

Nitric oxide concentration

The nitrite, a stable NO oxidation product, was determined using the Griess reaction [6]. The samples were mixed with an equal volume of Griess reagent (1 % sulfanilamide, 0.1 % naphthylethylenediamine dihydrochloride, and 2 % phosphoric acid) and incubated at room temperature for 10 min. With the NaNO_2 to generate a standard curve, nitrite production was measured at 550 nm. The concentration of released nitrites was expressed in nmol ml^{-1} extract.

Lipid peroxidation concentration

The TBARS was determined according to the Ohkawa *et al.* [7]. The TBARS measures the malondialdehyde, a product of lipoperoxidation caused mainly by free hydroxyl radicals. Firstly, plasma was deproteinised with the trichloroacetic acid (TCA) and then the precipitate was treated with the thiobarbituric acid (TBA) at 100°C for 15 min. The TBARS was determined by the absorbance at 535 nm and calculated as nmol ml^{-1} plasma.

Determination of antioxidant parameters

SOD activity

The SOD activity was measured by the epinephrine method of Misra & Fridovich [8]. This method belongs to the „negative” type group of methods, since it monitors a decrease of autooxidation speed in alkaline medium, which is dependent on O_2^- . The speed of epinephrine autooxidation to adrenochrome was detected spectrophotometrically as the change of the absorbance at 480 nm. One unit of SOD activity was defined as the amount of extract that inhibits the rate of adrenochrome formation by 50 %. The concentration of SOD was expressed in units of SOD activity per gram of hemoglobin (unit per gram Hb).

CAT activity

The activity of catalase (CAT) was assayed by the method of Beutler [9]. It was based on the measurement of hydrogen peroxide degradation speed in the presence of catalase (CAT) at 230 nm. The CAT activity was expressed in unit of mg^{-1} protein. One unit of CAT activity is defined as 1 μmol of H_2O_2 decomposed per minute under the assay conditions.

GSH level

The reduced glutathione (GSH) was measured at an absorbance of 412 nm according to the method of Beutler [9]. In this method, the reduced GSH present in the sample reacts with the di-thio-nitrobenzoic acid (DTNB) and the intensity of the color was measured at 412 nm, and calculated as nmol ml^{-1} plasma.

Statistical analysis

Due to a non-Gaussian distribution of values, to compare parameters level before and after the ^{131}I therapy, the Friedman's test was used, followed by Nemenyi's multiple pairwise comparisons with Bonferroni correction. The Spearman's rank coefficient was applied to investigate the $\text{SOD}/\text{O}_2^{\times-}$ and $\text{CAT}/\text{H}_2\text{O}_2$ correlations. The automatic linear modeling (ALM) was used to estimate the predictive values of all examined redox parameters on LPO level. A

2-tailed $p < 0.05$ was considered statistically significant. All data were analyzed using IBM SPSS Statistics version 23 and GraphPad Prism 4 software.

RESULTS

When compared to the value before the ^{131}I therapy, the SOD activity after the therapy was increased in all three examined time points, but only the increase in days 3 ($p = 0.000$) and 30 ($p = 0.000$) was found to be statistically significant. The activity of CAT was unchanged in days 3 and 7 and increased in day 30 after the therapy with ^{131}I ($p = 0.003$). The level of GSH was found to be significantly increased in days 3 ($p = 0.000$) and 7 ($p = 0.003$), after which it returned to the base level on the day 30.

The level of H_2O_2 was significantly decreased on the 3rd ($p = 0.000$) and 7th ($p = 0.003$) day after the ^{131}I therapy. The post therapy level of $\text{O}_2^{\times-}$ reached its maximum in day 30, but this increase was significant only when compared with the $\text{O}_2^{\times-}$ levels on the 3rd ($p = 0.009$) and 7th ($p = 0.007$) day after ^{131}I therapy. The level of NO was not significantly changed in any of the three tested time points.

After the therapy with ^{131}I , the concentration of TBARS was increased in all three examined time points, but significantly only in day 7th ($p = 0.001$), (fig. 1 and tab. 1).

The correlation analysis showed that SOD activity was positively correlated to $\text{O}_2^{\times-}$ level at days 3 ($p = 0.01$) and 30 ($p = 0.01$) (fig. 2).

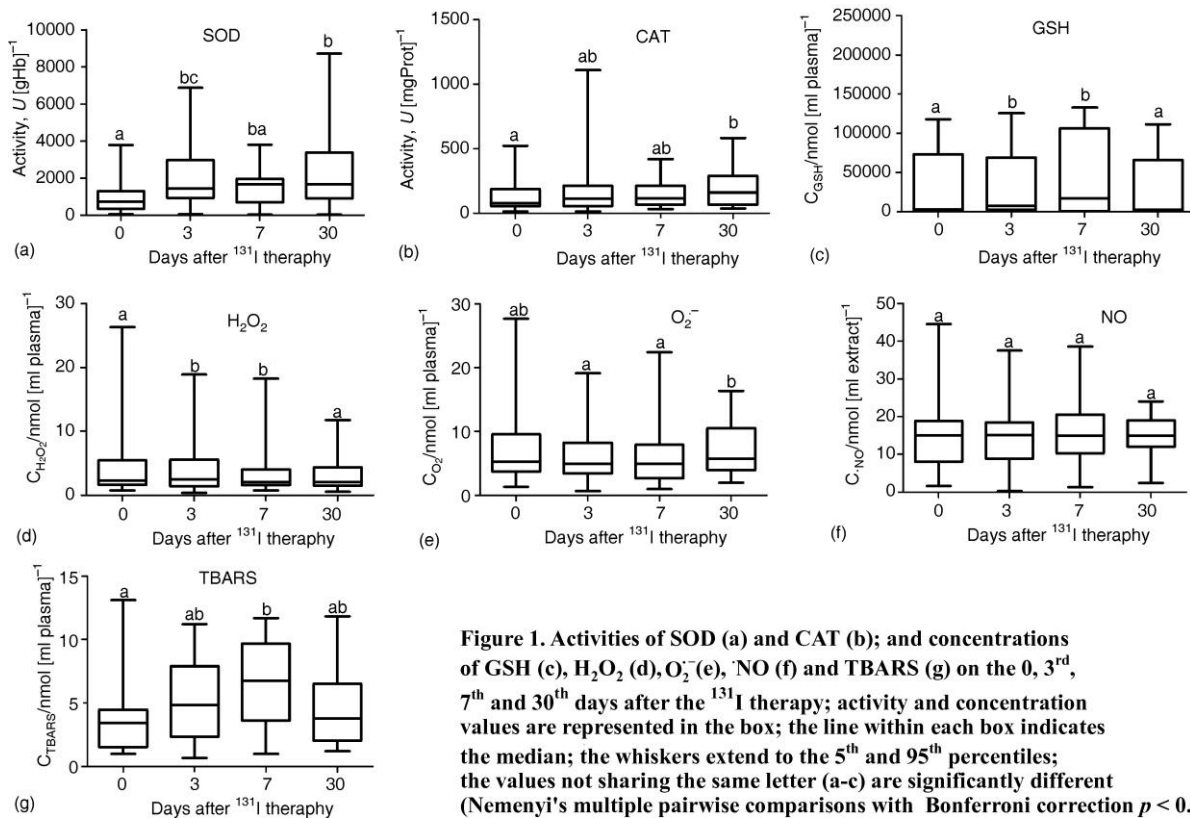


Figure 1. Activities of SOD (a) and CAT (b); and concentrations of GSH (c), H_2O_2 (d), $\text{O}_2^{\times-}$ (e), NO (f) and TBARS (g) on the 0, 3rd, 7th and 30th days after the ^{131}I therapy; activity and concentration values are represented in the box; the line within each box indicates the median; the whiskers extend to the 5th and 95th percentiles; the values not sharing the same letter (a-c) are significantly different (Nemenyi's multiple pairwise comparisons with Bonferroni correction $p < 0.05$)

Table 1. Ex act p -values for all pairwise comparisons (Nemenyi's multiple pairwise comparisons test with Bonferroni correction); Freidman's test p -val ues are also re ported for all ex amined param e ters

SOD	Freidman's test: $p < 0.0001$			CAT	Freidman's test: $p = 0.006$		
	0 days	3 days	7 days		0 days	3 days	7 days
3 days	0.000	1	0.066	3 days	0.447	1	0.960
7 days	0.330	0.066	1	7 days	0.198	0.960	1
30 days	0.000	1.000	0.060	30 days	0.003	0.198	0.447
GSH	Freidman's test: $p < 0.0001$			H ₂ O ₂	Freidman's test: $p = 0.001$		
	0 days	3 days	7 days		0 days	3 days	7 days
3 days	0.000	1	0.896	3 days	0.000	1	0.896
7 days	0.003	0.896	1	7 days	0.003	0.896	1
30 days	1.000	0.000	0.003	30 days	1.000	0.000	0.003
O ₂ ^{x-}	Freidman's test: $p = 0.003$			NO	Freidman's test: $p = 0.017$		
	0 days	3 days	7 days		0 days	3 days	7 days
3 days	0.731	1	1.000	3 days	0.995	1	0.098
7 days	0.681	1.000	1	7 days	0.054	0.098	1
30 days	0.141	0.009	0.007	30 days	0.141	0.231	0.976
TBARS	Freidman's test: $p = 0.003$						
	0 days	3 days	7 days				
3 days	0.268	1	0.231				
7 days	0.001	0.231	1				
30 days	0.308	1.000	0.198				

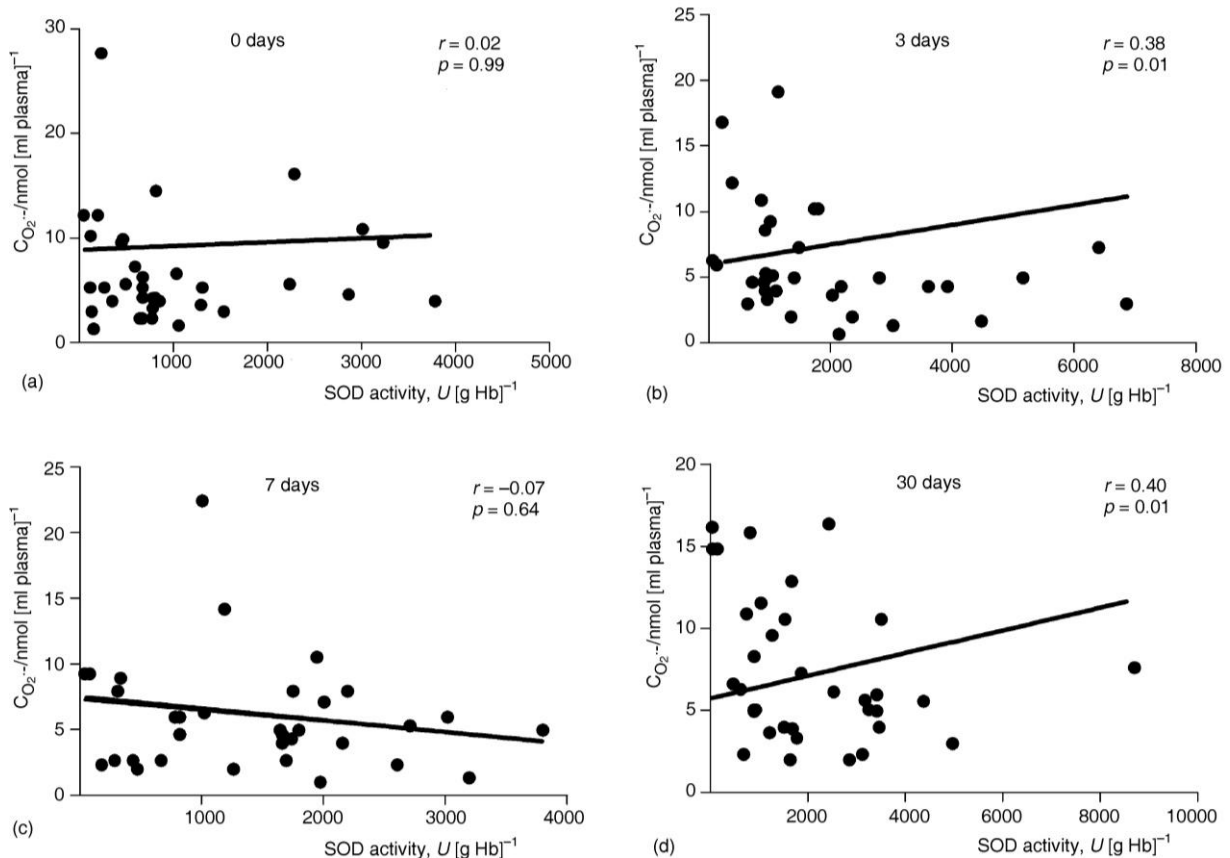


Figure 2. Scatter plot of SOD activity against O₂^{x-} level after 0 (a), 3 (b), 7 (c), and 30 (d) days following the ¹³¹I therapy

The activity of CAT was positively correlated to H₂O₂ level on the 0 ($p < 0.001$), 3rd ($p < 0.001$) and 7th ($p < 0.001$) day, but negatively correlated on day 30 ($p < 0.001$) (fig. 3).

The results of multiple linear regression analysis indicated that among all five tested parameters, only SOD activity, H₂O₂ and O₂^{x-} levels had the statistically significant importance on TBARS level (tab. 2).

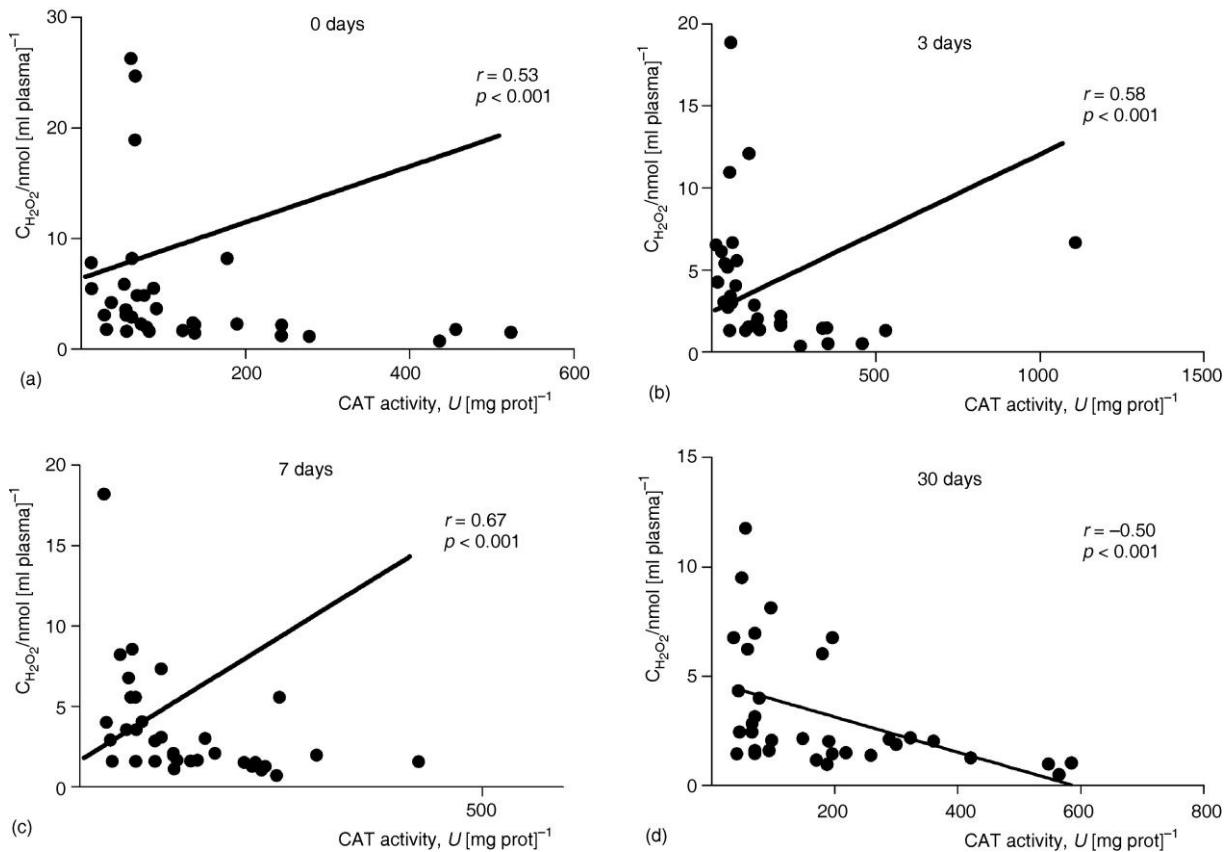


Figure 3 Scatter plot of CAT activity against H₂O₂ level 0 (a), 3 (b), 7 (c), and 30 (d) days after ¹³¹I therapy

Table 2. Multiple linear regression analysis using automatic linear modeling with TBARS as the dependent variable and activities of SOD and CAT; the levels of GSH, O₂^{•-}, H₂O₂, and NO as independent variables; only variables with significant predictive values are shown

Predictor	Coefficient	Std. error	t	p
SOD	0.000	0.000	3.134	0.002
O ₂ ^{•-}	-0.148	0.055	-2.715	0.007
H ₂ O ₂	0.107	0.052	2.057	0.041

DISCUSSION

Despite the proven efficacy of ¹³¹I administration in the treatment of differentiated thyroid cancer, there are several serious side effects associated with its use. They include salivary gland dysfunction, impairment of the lacrimal glands, reproductive disturbances and hematologic abnormalities [10-12]. The oxidative stress induced by the ¹³¹I therapy of the thyroid gland is also not restricted to the area of administration but is detectable even in plasma, serum, and urine [13]. The radioactive iodine is considered to be related with the hematologic changes which persist for at least 1 year [14]. The results obtained in the current study indicated that a significant oxidative imbalance was present in the blood of DTC patients in the first 30 days after the ¹³¹I therapy.

The early effects of radiation occur during the several hours to a few weeks after the exposure and typically include manifestations like cell death, inflammation, and oxidative stress [15]. The results of our study confirmed the existence of early redox imbalance on 3rd day after the treatment with ¹³¹I. At this time point we observed an increase in TBARS (whose level was increased by 52% although not statistically significant) and induction of AO system perceived as an increase in SOD activity and GSH level. The absence of increase in concentrations of H₂O₂, O₂^{•-} and

*NO indicated that AO defense system is sufficient to maintain the redox balance at the baseline level. Other authors also reported that SOD [16], CAT [17], GSH [18],

and GSH synthesis-related proteins [19] are induced by irradiation.

In blood of DTC patients examined in this study, the SOD activity was statistically increased on the 30th day, but also more than doubled on the 3rd day after the ¹³¹I treatment. These changes are significant for overall AO protection, since the SOD activity and the level of O₂^{•-} were among the three most important parameters for prediction of TBARS as an indicator of oxidative stress. Based on the positive SOD/O₂^{•-} correlation in the same time points, it seems that the SOD was, at least partially, induced by its own substrate. It is most likely that this regulation is performed through the redox-sensitive transcriptional factors such as NF-κB, AP-1, and Nrf2 [20].

The SOD activity protects against the free radical injury by converting O_2 to H_2O_2 , thus disabling $O_2^{\cdot -}$ to combine with NO and form peroxynitrite anion (ONOO \bullet), which initiates the lipid peroxidation. Our results showed that in the blood of DTC patients NO and $O_2^{\cdot -}$ levels were unchanged in all examined time points compared to the basal levels obtained before the therapy, so it seems that this path of formation of ONOO \bullet is not responsible for the observed increase of LPO.

The activity of CAT was increased in all three post therapy time points, although the increase was statistically significant only on the 30th day after the exposure. Such CAT activity was apparently sufficient to prevent the peroxide-induced oxidative stress, as the H_2O_2 level during the entire post radiation period was decreased in comparison to the value before the treatment. Our results also showed that on days 0, 3 and 7, the CAT activity was positively correlated with the level of H_2O_2 , while on the 30th day this relation was negative. It seems that the expressional regulation of CAT activity observed in the first 7 days, shifted to a non-expressional mechanism in the 30th day after the exposure to the ^{131}I . This indicates that not only the mechanisms of AO protection after the ^{131}I therapy vary in patients with hyperthyroidism and cancer [21], but that in the DTC patients these processes change in the course of time.

The GSH level in blood of DTC patients was increased on the 3rd and 7th day after the exposure to ^{131}I , indicating that the non-enzymatic AO protection was also elevated in the first days after the radiotherapy. Similarly, Sadani and Nadkarni showed that in rats, the subablation doses of ^{131}I elevated GSH level for 16 % after 24 hours, but by the day 18th its concentration was declined by 15 % [22]. The GSH has multiple roles in the regulation of cellular homeostasis. In addition to its importance in enzymatic and nonenzymatic antioxidative processes, the GSH is required for cell proliferation and apoptosis, signal transduction, cytokine production and immune response [23]. Also, as the GSH can directly neutralize $O_2^{\cdot -}$ and OH, leading to the formation of oxidized glutathione [24], its increased amount in blood of DTC patients can help SOD in maintaining the basal level of $O_2^{\cdot -}$ after the exposure to ^{131}I .

Increased amounts of LPO end products can be detected in many diseases, from multiple sclerosis [25] to cancer [26, 27], as damaged cells and tissues may peroxidase more rapidly than the normal ones [28]. In our experiment, the TBARS level in DTC patients was increased in all three time points after the irradiation. The increase was significant on the 7th, and enlarged by 52 % and 33 % on the 3rd and 30th day after the ^{131}I therapy. Similar results were reported by Konukoglu *et al.*, who observed that the thyroidectomised patients had higher MDA levels in the erythrocyte membranes 2 days after the treatment with 3.7-5.55 GBq ^{131}I [29]. Gil *et al.* examined the later changes and found that a small

initial increase in MDA level 1 month after the radiotherapy was followed by a significant decrease in MDA 6 months afterwards [30]. The excess of LPO in serum may result from the radiation induced apoptotic and mitotic cell death in the remaining thyroid tissue. Contrary to the radicals that attack biomolecules in their immediate surroundings, the lipid peroxidation products can easily diffuse across membranes and covalently modify biomolecules far from their site of origin [31]. Thus it seems that the elevated serum LPO level indicate increased free radicals production in tissues, as has already been observed by Arguelles *et al.* [32]. It should be noted that in DTC patients the extent of oxidative stress was probably wider than it could be concluded from our results, as serum LPO level before the ^{131}I therapy, which we used for comparison, is several times higher in cancer patients than in healthy subjects [33].

CONCLUSIONS

The increased TBARS level observed in this study indicated that the DTC patients are under the constant oxidative stress during the first 30 days after the radiotherapy. Also, the recorded changes of redox components and their dynamic indicated the most possible mechanisms that govern these processes. Understanding of these phenomena is important since there is no latent period for radiation exposure and the early oxidative stress can promote a cascade of downstream events that lead to late effects of ^{131}I therapy.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Projects III41007 and 175007).

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

V. D. Spasojević performed the experimental work, analyzed the data, and wrote the manuscript. M. D. Matovič participated in study design and editing. O. Mihaljević and S. T. Živančević-Simonović provided technical expertise and revision of the manuscript. M. Ž. Jeremić and V. Lj. Jakovljević contributed to data acquisition, and V. N. Todorović to critical revision of the article. I. Lj. Pavlović and S. A. Pejić performed final approval of the version to be published. A. U. Todorović participated in data analysis and in writing the manuscript.

REFERENCES

- [6] Sipos, I., Mazzaferrri, E. L., Thyroid Cancer Epidemiology and Prognostic Variables, *Clin. Oncol.*, 22 (2010), 6, pp. 395-404
- [7] ***, National Cancer Institute The Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2013, 2016

- [10] Pacini, F., *et al.*, Radioiodine Ablation of thyroid remnants after preparation with Recombinant Human Thyrotropin in Differentiated Thyroid Carcinoma: Results of an International, Randomized, Controlled Study, *Clin. Endocrinol. Metab.*, *91* (2006), 3, pp. 926-932
- [11] Auclair, C., Voisin, E., CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research, CRC Press, Boca Raton, Fla., USA, 1985, pp. 123-132
- [12] Pick, E., Keisari, Y., A Simple Colorimetric Method for the Measurement of Hydrogen Peroxide Produced by Cells in Culture, *J. Immunol. Methods.*, *38* (1980), 1-2, pp. 161-170
- [13] Green, L. C., *et al.*, Analysis of Nitrate, Nitrite, and [15N] Nitrate in Biological Fluids, *Anal. Biochem.*, *126* (1982), 1, pp. 131-138
- [14] Ohkawa, H., *et al.*, Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction, *Anal. Biochem.*, *95* (1979), 2, pp. 351-358
- [15] Misra, H. P., Fridovich, I., The Role of Superoxide Anion in the Autoxidation of Epinephrine and a Simple Assay for Superoxide Dismutase, *J. Biol. Chem.*, *247* (1972), 10, pp. 3170-3175
- [16] Beutler, E., Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods, Grune and Stratton, New York, USA, 1982, p. 105
- [17] Lee, J. Y., *et al.*, Salivary Gland Dysfunction after Radioactive Iodine (I-131) Therapy in Patients Following Total Thyroidectomy: Emphasis on Radioactive Iodine Therapy Dose, *Clin. Imaging.*, *39* (2015), 3, pp. 396-400
- [18] Zettinig, G., *et al.*, Long-Term Impairment of the Lacrimal Glands after Radioiodine Therapy: a Cross-Sectional Study, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.*, *29* (2002), 11, pp. 1428-1432
- [19] Krassas, G. E., Pontikides, N., Male Reproductive Function in Relation with Thyroid Alterations, *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, *18* (2004), 2, pp. 183-195
- [20] Wolfram, R. M., *et al.*, Radioiodine Therapy Induces Dose-Dependent *in vivo* Oxidation Injury: Evidence by Increased Isoprostane 8-Epi-PGF₂ (alpha), *J. Nucl. Med.*, *43* (2002), 9, pp. 1254-1258
- [21] Molinaro, E., *et al.*, Mild Decreases in white Blood Cell and Platelet Counts are Present One Year after Radioactive Iodine Remnant Ablation, *Thyroid.*, *19* (2009), 10, pp. 1035-1041
- [22] Formenti, S. C., Demaria, S., Systemic Effects of Local Radiotherapy, *Lancet Oncol.*, *10* (2009), 7, pp. 718-726
- [23] Yamaoka, K., *et al.*, Change of Glutathione Peroxidase Synthesis along with that of Superoxide Dismutase Synthesis in Mice Spleens after Low-Dose X-Ray Irradiation, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.*, *1381* (1998), 2, pp. 265-270
- [24] Kim, R. K., *et al.*, Beneficial Effects of Low Dose Radiation in Response to the Oncogenic KRAS Induced Cellular Transformation, *Sci. Rep.*, *5* (2015), Oct., p. 15809
- [25] Kojima, S., *et al.*, Elevation of Glutathione Induced by Low-Dose Gamma Rays and Its Involvement in Increased Natural Killer Activity, *Radiat. Res.*, *157* (2002), 3, pp. 275-280
- [26] Kojima, S., *et al.*, Localization of Glutathione and Induction of Glutathione Synthesis-Related Proteins in Mouse Brain by Low Doses of Gamma-Rays, *Brain Res.*, *808* (1998), 2, pp. 262-269
- [27] Miao, L., St Clair, D. K., Regulation of Superoxide Dismutase Genes: Implications in Diseases, *Free Radical Biol. Med.*, *47* (2009), 4, pp. 344-356
- [13] Yildiz, M., *et al.*, Oxidative Stress of Radioiodine Treatment in Patients with Hyperthyroidism, *Turk. J. Med. Sci.*, *38* (2008), 5, pp. 405-408
- [14] Sadani, G. R., Nadkarni, G. D., Changes in Lipid Peroxide Levels and the Activity of Reactive Oxygen Scavenging Systems in Thyroid Tissue after Exposure to Radioactive Iodine in Rats, *Thyroid.*, *7* (1997), 6, pp. 937-941
- [15] Wu, G., *et al.*, Glutathione Metabolism and Its Implications for Health, *J. Nutr.*, *134* (2004), 3, pp. 489-492
- [16] Kosower, N. S., Kosower, E. M., The Glutathione Status of Cells, *Int. Rev. Cytol.*, *54* (1978), pp. 109-160
- [17] Yousefi, B., *et al.*, Serum Arsenic and Lipid Peroxidation Levels in Patients with Multiple Sclerosis, *Biol. Trace Elem. Res.*, *158* (2014), 3, pp. 276-279
- [18] Didziapetriene, J., *et al.*, Significance of Blood Serum Catalase Activity and Malondialdehyde Level for Survival Prognosis of Ovarian Cancer Patients, *Medicina (Kaunas)*, *50* (2014), 4, pp. 204-208
- [19] Vrdic, O. B., *et al.*, Oxidative Stress in Patients with Differentiated Thyroid Cancer, Early Effects of Radioiodine Therapy, *Indian J. Biochem. Biophys.*, *51* (2014), 3, pp. 223-229
- [20] Halliwell, B., Oxidants and Human Disease: Some New Concepts, *FASEB J.*, *1* (1987), 5, pp. 358-364
- [21] Konukoglu, D., *et al.*, Radioiodine Treatment and oxidative Stress in Thyroidectomized Patients for Differentiated Thyroid Cancers, *Pharmacol. Res.*, *38* (1998), 4, pp. 311-315
- [22] Gil, O. M., *et al.*, Cytogenetic Alterations and Oxidative Stress in Thyroid Cancer Patients after Iodine-131 Therapy, *Mutagenesis*, *15* (2000), 1, pp. 69-75
- [23] Negre-Salvayre, A., *et al.*, Advanced Lipid Peroxidation end Products in Oxidative Damage to Proteins, Potential Role in Diseases and Therapeutic Prospects for the Inhibitors, *Br. J. Pharmacol.*, *153* (2008), 1, pp. 6-20
- [24] Arguelles, S., *et al.*, Do the Serum Oxidative Stress Biomarkers Provide a Reasonable Index of the General Oxidative Stress Status?, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.*, *1674* (2004), 3, pp. 251-259
- [25] Makarewicz, J., *et al.*, Radioiodine Remnant Ablation of Differentiated Thyroid Cancer Does not Further Increase Oxidative Damage to Membrane Lipids – Early Effect, *Thyroid. Res.*, *3* (2010), 1, p. 7

Received on August 30, 2017

Accepted on November 10, 2017

Vera D. SPASOJEVIĆ-TIŠMA, Milovan D. MATOVIĆ, Olgica B. MIHALJEVIĆ, Snežana T. ŽIVANČEVIĆ-SIMONOVIĆ, Marija Ž. JEREMIĆ, Vladimir LJ. JAKOVLJEVIĆ, Vera N. TODOROVIĆ, Ivan LJ. PAVLOVIĆ, Snežana A. PEJIĆ, Ana U. TODOROVIĆ

REDOKS PARAMETRI U KRVI PACIJENATA SA TIROIDNIM KANCEROM NAKON ABLACIJE RADIOAKTIVNIM JODOM

Ablacija radioaktivnim jodom (^{131}I) je tretman izbora za pacijente sa diferentovanim karcinomom štitne žlezde. Međutim, zračenje indukuje oksidativni stres i oštećenje zdravih ćelija i tkiva, istovremeno aktivirajući procese antioksidativne odbrane. Kako mehanizmi tih procesa nisu u potpunosti poznati, želeli smo da ispitamo promene najvažnijih reaktivnih vrsta kiseonika i antioksidativnih komponenata, kao i njihovu povezanost sa peroksidacijom lipida kao pokazateljem oksidativnog stresa. Naši rezultati su ukazali na povećanje nivoa peroksidacije lipida tokom prvih 30 dana nakon radioterapije. Među antioksidativnim komponentama superoksid dismutaza je povećana u 3. i 30. danu; katalaza u 7. a glutation u 3. i 7. danu nakon izlaganja ^{131}I . Što se tiče prooksidativnih komponenata, smanjenje nivoa vodonik peroksida zabeleženo je 3, 7. i 30. dana, a superoksid anjon radikala u 30. danu nakon radioterapije. Prikazani rezultati ukazuju da su pacijenti sa diferentovanim karcinomom štitne žlezde tretirani ^{131}I pod konstantnim oksidativnim stresom uprkos uočenom povećanju nivoa antioksidansa i smanjenju nivoa prooksidativnih komponenti. Razumevanje ovih ranih postradijacionih procesa je važno, jer njihov razvoj određuje kasnije efekte ^{131}I terapije.

Ključne reči: oksidativni stres, antioksidativni enzim, lipidna peroksidacija, radioterapija, tiroidni kancer
